论著

文章编号:1000-5404(2005)09-0850-03

内毒素血症大鼠颈迷走神经传出放电变化

黄 健,杨志焕 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所第四研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400042)

提 要: 目的 观察内毒素血症时大鼠颈迷走神经传出放电的变化。**方法** SD大鼠随机分为两组:内毒素组静脉注射内毒素5 mg/kg;对照组注射等容量生理盐水。应用神经电生理技术,记录并分析内毒素注射后30 min、1、2、4 h颈迷走神经传出放电频率的改变。**结果** 两组基础放电差异无显著性意义($P>0.05$)。大鼠注射内毒素后各时间点放电频率明显升高,与基础放电及注射生理盐水组的对应时间点相比,差异有显著性意义($P<0.05$)。**结论** 内毒素血症时颈迷走神经传出活动增强,这种改变可能是机体发挥其内源性抗炎保护作用的途径之一。

关键词: 迷走神经;内毒素血症;传出放电

中图法分类号: R322.85; R338.8; R631.1 **文献标识码**: A

Changes of cervical vagal efferent discharge induced by lipopolysaccaride in rats

HUANG Jian, YANG Zhi-huan (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 4, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of cervical vagal efferent discharge induced by lipopolysaccaride in rats. **Methods** Ten rats were randomly divided into two groups, receiving lipopolysaccaride (5 mg/kg) or normal saline through intravenous injection. Frequency of cervical vagal efferent discharge was recorded at 30 min, 1, 2 and 4 h after the injection. **Results** The frequency of cervical vagal efferent discharge was significantly increased after LPS injection ($P<0.05$) while no significant changes after saline injection. **Conclusion** LPS enhanced the activation of cervical vagal efferent discharge. Vagus might play an important role when systemic inflammatory response syndrome occurs.

Key words: vagus nerve; lipopolysaccaride; efferent discharge

内毒素血症及其所引起的全身炎症反应是创伤或感染后多种并发症,如休克、多器官功能不全综合征等的重要病理基础。资料表明,使用电刺激兴奋迷走神经可抑制内毒素(lipopolysaccharide, LPS)诱导的全身炎症反应,并降低动物的死亡率[1,2],即所谓的"胆碱能抗炎通路",为控制全身炎症反应综合征提供了新的思路。有人发现,腹腔注射白介素-1β可诱导迷走神经感觉(传入)中枢神经元c-fos表达[3],表明外周炎性刺激可使迷走神经传入兴奋性增强。但在机体受到炎性刺激后,迷走神经传出兴奋性是如何变化的,相关文献较少。为此,本研究观察了内毒素血症大鼠颈迷走神经传出放电的变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

清洁级SD大鼠10只,雌雄不拘,体质量290~320 g,由第三军医大学实验动物中心提供。饲养环境:温度控制在20~25 ℃,实验前3天8:00~20:00开灯,20:00~8:00熄灯。实验前24 h动物自由进食水。动物按随机数字表分为LPS组($n=6$)和对照组($n=4$)。LPS组以LPS(5 mg/kg, *E. coli* 026:B6, Sigma公司)静脉注射;对照组注射等量生理盐水。

1.2 模型制作

实验时大鼠以250 g/L乌拉坦(800 mg/kg, 腹腔注射)麻醉后固定于脑立体定位仪上(Narishige, ST-7型,日本),经右股静脉插管,用于注射药物。颈部剪毛后消毒,于颈部正中切开皮肤,逐层分离肌肉组织,沿气管右侧暴露出颈动脉鞘,在手术显微镜下用玻璃分针分离出右侧迷走神经干,夹伤外周端。伤口周围组织覆盖石蜡膜使迷走神经与周围组织绝缘。将迷走神经置于钩状双极铂金电极上(极间距为2 mm)以备引导放电,并将迷走神经浸泡于37 ℃温热石蜡油中以防止神经干燥。实验期间动物用红外线保温,维持肛温在37 ℃左右。

1.3 传出放电记录

将迷走神经放电信号分别引导至VC-10双通道示波器(日本光电)及图像采集仪(成都泰盟公司),并通过直方图仪(DAB-1100,日本光电)作放电频率直方图,同时输入二道记录仪(RJ-4022,日本光电)记录。采样速率1 kHz/s,滤波范围100~1 000 Hz。

1.4 观察指标

于药物注射前、注射后30 min、1、2、4 h分别观察迷走神经

作者简介:黄 健(1969-),湖北省恩施市人,博士研究生,主治医师,主要从事疼痛和危重病医学方面的研究,发表论文9篇。电话:(023)68757481

收稿日期:2004-07-02;修回日期:2005-02-14

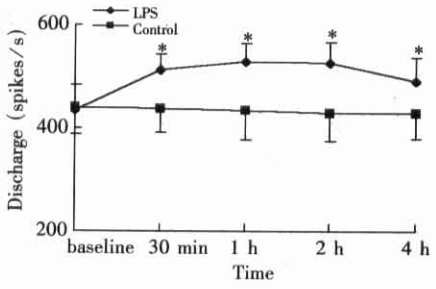
放电频率的变化,注射前的放电作为基础放电。每个时间点放电观察取 60 s,将放电频率绘制成频率直方图进行分析。同时将心电引导至 VC-10 示波器上,对心率进行常规监测。

1.5　统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用 SPSS 10.0 软件,组内各时间点的比较采用单因素方差分析,组间对应时间点的比较用 t 检验。

2　结果

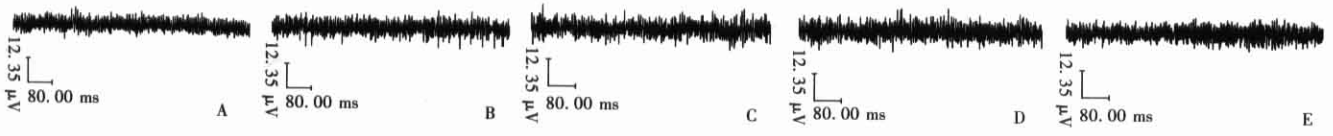
夹伤迷走神经后,动物心率加快,呼吸次数减少,但幅度加大。对照组在各时间点颈迷走神经放电未见明显变化($P > 0.05$)。LPS 组注药后各时间点放电频率明显升高,放电频率由基础的(436 ± 47)次/s 分别上升至(513 ± 32)次/s、(529 ± 35)次/s、(526 ± 42)次/s、(491 ± 46)次/s,差异有显著性意义($P < 0.05$,图 1)。但在 LPS 注射后所观察的 4 个时间点之间,其放电频率无显著性差异($P > 0.05$)。图 2 为 LPS 组其中 1 只大鼠各时间点颈迷走神经放电原始图形。



*: $P < 0.05$, *vs* control

图 1　大鼠全身炎症反应时颈迷走神经传出放电变化

Fig1　Changes of cervical vagal efferent discharge induced by LPS in rats



A: Basal discharge; B: 30 min after LPS injection; C: 1 h after LPS injection; D: 2 h after LPS injection; E: 4 h after LPS injection

图 2　LPS 注射前后颈迷走神经传出放电图形

Fig 2　Snapshot of raw recording of cervical vagal efferent discharge before and after LPS injection

3　讨论

神经系统和免疫系统之间存在着复杂的相互作用[4]。已经证明,二者之间可能存在着间接的体液性免疫脑通讯机制,如通过前列腺素 E_2 介导[5],一些细胞因子可通过血脑屏障进入脑内,从而使外周免疫信息进入中枢神经系统。近年来,人们认为在神经系统和免疫系统之间可能存在着直接的联系,其中迷走神经在免疫信息传递中的作用越来越受到重视。如膈下迷走神经切断后可阻断白细胞介素-1β(IL-1β)腹腔注射引起的发热[6]。新近 Tracey 等[2]报道,电刺激迷走神经传出端能明显抑制 LPS 导致的全身炎症反应,减少肝、肺、肾、心、脾组织内肿瘤坏死因子合成,降低血清肿瘤坏死因子水平。反之,迷走神经切断则显著增加 LPS 诱导肿瘤坏死的产生,增敏动物对 LPS 的致死作用。体外实验表明,迷走神经递质乙酰胆碱主要通过烟碱型受体来抑制 LPS 刺激后单核细胞促炎细胞因子的产生[7]。但在机体受到炎性刺激时,迷走神经传出功能将会如何变化呢? 由于植物神经系统具有调节机体稳态的作用,因而可以推测推测,在机体发生全身炎症反应时,迷走神经传出功能可能会发生相应的改变,使机体适应改变了的内外环境。

LPS 为 G^- 菌细胞壁成分,是一种典型的强力炎症刺激物,也是创伤或感染后引起全身炎症反应的主要原因之一。一般认为,LPS 诱导的全身炎症反应所产生的促炎细胞因子,如 IL-1β、肿瘤坏死引子-α(TNF-α)等,在内毒素注射后 2 ~ 4 h 才达到高峰。但本研究观察到在注射 LPS 后的 30 min,迷走神经传出兴奋兴奋性即升高,且注射后的各时间点间并无显著差异,可能是 LPS 本身及其刺激后所产生的细胞因子共同介导了迷走神经传出兴奋性的增高;或者是机体在应激状态下,随着交感神经的兴奋,迷走神经传出兴奋性也随之相应升高,以维持机体的稳态,因为在交感神经和迷走神经的中枢,彼此存在着解剖联系[8]。

本研究应用神经电生理技术,观察到在内毒素血症时,大鼠迷走神经传出放电频率明显升高,表明机体在内毒素血症时迷走神经传出兴奋性增强。这种传出冲动的增多可能是中枢神经系统在接受到外周炎性刺激信息后,机体发生的适应性改变之一,也表明迷走神经和免疫系统间存在着直接的联系。

结合上述已有的其它资料,说明迷走神经可能在机体发挥其内源性抗炎保护作用的过程中具有重要作用。由于神经反射的特点,迷走神经介导的抗炎方式比通过体液传递的抗炎方式更加快捷和直接。同时,由于全身炎症反应也可能使机体处于一种应激状态,考虑到交感和迷走神经相互拮抗的功能特点,迷走神经传出兴奋性的升高也具有抑制交感神经过度兴奋的作用。因而,在全身炎症反应时,迷走神经传出功能的

这种改变,可能对机体是有益的。

参考文献:

[1] Libert C. Inflammation: A nervous connection[J]. Nature, 2003, 421(6921): 328-329.

[2] Tracey K J. The inflammatory reflex[J]. Nature, 2002, 420(6917): 853-859.

[3] Goehler L E, Gaykema R P, Hammack S E, *et al*. Interleukin-1 induces c-Fos immunoreactivity in primary afferent neurons of the vagus nerve [J]. Brain Res, 1998, 804(2): 306-310.

[4] Steinman L. Elaborate interactions between the immune and nervous systems [J]. Nat Immunol, 2004, 5(6): 575-581.

[5] Ek M, Engblom D, Saha S, *et al*. Inflammatory response: pathway across the blood-brain barrier[J]. Nature, 2001, 410(6827): 430-431.

[6] Sehic E, Blatteis C M. Blockade of lipopolysaccharide-induced fever by subdiaphragmatic vagotomy in guinea pigs[J]. Brain Res, 1996, 726(1-2): 160-168.

[7] Borovikova L V, Ivanova S, Zhang M, *et al*. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin [J]. Nature, 2000, 405(6785): 458-462.

[8] Pavlov V A, Wang H, Czura C J, *et al*. The cholinergic anti-inflammatory pathway: a missing link in neuroimmunomodulation[J]. Mol Med, 2003, 9(5-8): 125-134.

(编辑 薛国文)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2005)09-0852-01

卵清白蛋白宫内致敏胎鼠的实验研究

Window phage of ovalbumin sensitization for the fetal mice

胡 燕,黎海芪,李英存 (重庆医科大学儿童医院儿童保健科,重庆 400014)

Th1或Th2型免疫反应在由环境过敏原引发的多数过敏性疾病中起重要作用。了解对抗原物质产生特定的Th细胞免疫记忆反应最初如何形成是研究过敏性疾病病因的关键问题,因此寻找"致敏的窗口期"就显得非常重要[1]。临床表明,纯母乳喂养的婴儿生后从未接触其它食物抗原如牛奶、鸡蛋等,但很早出现皮肤或消化道症状,并被证实为牛奶或鸡蛋过敏,提示母孕期食物抗原暴露可能是早期致敏原因之一。本研究通过对不同妊娠期BALB/c鼠腹腔注射食物抗原—卵清白蛋白(ovalbumin, OVA)的方法,寻找宫内致敏的窗口期。

1 材料与方法

1.1 实验动物

重庆医科大学实验动物中心提供的雌性BALB/c小鼠40只,按Kinppels方法要求[2],以特殊纯种饲料(不含鸡蛋)饲养,连续传两代,以第3代6~8周龄成年雌鼠,平均体质量(20±2)g,做为实验对象。

1.2 实验设计

40只孕鼠,按腹腔注射OVA的不同时间分为4组:Ⅰ组(1~7 d,孕早期注射),Ⅱ组(8~14 d,孕中期注射),Ⅲ组(15~21 d,孕晚期注射),Ⅳ组为无抗原暴露的对照组;每组10只。各实验组分别给予腹腔注射OVA(Grade V, Sigma公司)和Al(OH)$_3$(Sigma公司)混悬液3次,每次间隔3 d。取同窝5 d龄新生仔鼠脾淋巴细胞混合,培养后进行OVA特异性淋巴细胞增殖反应检测(^{3}H-TdR,中国原子能科学院同位素研究所)。和细胞培养上清中细胞因子测定(深圳晶美生物公司ELISA Kit)。对照组孕鼠不进行腹腔注射,余处理同各实验组。

1.3 观察指标及检测方法

制备新生鼠脾单个核细胞悬液,设加OVA孔或空白孔培养72 h,离心收集培养上清,检测IFN-γ和IL-4。以单个核细胞悬液检测OVA特异性淋巴细胞增殖反应。结果表示:增殖指数(Stimulation index, SI)=刺激孔CPM均值/未刺激孔CPM均值。

1.4 统计学方法

采用SPSS 10.0统计软件,行单因素方差分析。

2 结果

2.1 一般情况

各组内动物体质量在实验进行前后无明显改变。由于各种原因[如实验过程中小鼠死亡,或在(21±2)d内未分娩者放弃]使得最终完成全部实验的小鼠共36只。

2.2 OVA诱导淋巴细胞增殖实验

表1结果显示:将各实验组结果与对照组进行两两比较,Ⅲ组的新生仔鼠出现抗原特异性淋巴细胞增殖反应较其它组新生仔鼠强($P<0.05$)。

2.3 各组新生仔鼠脾淋巴细胞培养上清中IFN-γ及IL-4水平

实验各组新生仔鼠与对照组新生仔鼠IFN-γ水平进行两两比较后发现,Ⅲ组的仔鼠IFN-γ水平明显下降($P<0.05$)(表2)。

(下转855页)

作者简介:胡 燕(1974-),女,重庆市人,博士,主治医师,主要从事儿童食物过敏方面的研究。电话:(023)63622764,E-mail:hy420@126.com

收稿日期:2004-09-20;修回日期:2005-03-18