本中可能存在PCR反应抑制物。但对此标本用生理盐水进行了3次洗涤以及对模板DNA稀释后，重复PCR检测仍为阳性结果，可能为培养假阳性。因为我们采用肉汤培养基用于脲原体的培养，根据培养基的颜色变化判断阴、阳性结果，而没有转种固体培养基，因此不能判断此标本一定为培养阳性标本。所以用肉汤培养法对PCR法进行确切的评价，有一定的局限性。

Povlsen等[5]通过液相杂交法对脲原体阳性临床标本进行分型。生物Ⅰ型为80%、生物Ⅱ型为13.5%，两者同时存在为6.5%。我们的研究显示U.P阳性标本为69.2%，U.U阳性为30.8%，没有检测到U.P和U.U同时存在的标本，可能与标本量少有关。

总之，我们建立的2个PCR反应体系能够快速、同步对临床标本中脲原体进行U.P和U.U分种鉴别，具有高度特异性和灵敏性，可以用于临床泌尿生殖系统脲原体感染性疾病的检测以及用于研究脲原体不同种与疾病发生的关系和进行脲原体不同的种在人群分布的流行病学调查，同时为我们下一步建立脲原体U.P和U.U实时定量检测方法奠定了基础。

参考文献：

[1] COLAIZY T T, KUFORIJI T, SKEAR R S, *et al*. PCR methods in clinical investigations of human mycoplasmas: a minireview [J]. Mol Gen Metab, 2003, 80(4): 389-397.
[2] KONG F, JAMES G, MA Z, *et al*. Phylogenetic analysis of Ureaplasma urealyticum support for the establishment of a new species, Ureaplasma parvum [J]. Int J Syst Bacteriol, 1999, 49(Pt 4): 1879-1889.
[3] DEGUCHI T, YOSHIDA T, MIYAZAWA T, *et al*. Association of Ureaplasma urealyticum (biovar 2) with nongonococcal urethritis [J]. Sex Transm Dis, 2004, 31(3): 192-195.
[4] MALLARD K, SCHOPFER K, BODMER T. Development of real-time PCR for the differential detection and quantification of Ureaplasma urealyticum and Ureaplasma parvum [J]. J Microb Meth, 2005, 60(1): 13-19.
[5] POVLSEN K, JENSEN J S, LIND I. Detection of Ureaplasma urealyticum by PCR and biovar determination by liquid hybridization [J]. J Clin Microbiol, 1998, 36(11): 3211-3216.

（编辑 龙 亮）

文章编号：1000-5404(2006)17-1787-01

个案与短篇

AMPA受体拮抗剂对新生鼠缺氧缺血性脑损伤的保护作用

王丽雁，赵聪敏，张雨平，温恩懿 （第三军医大学新桥医院儿科，重庆 400037）

缺氧缺血性脑损伤（hypoxic-ischemic brain damage，HIBD）是造成新生儿死亡和神经系统发育障碍的主要原因之一，目前尚无理想治疗方案。研究表明α-氨基-3-羟基-5-甲基异恶唑-4-丙酸（alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid，AMPA）谷氨酸受体在HIBD发生发展过程中起重要作用[1]。本实验建立HIBD动物模型，应用选择性非竞争性AMPA受体拮抗剂GYKI-52466进行干预，测定大鼠脑半球横截面积和脑内高分子量神经丝（heavy neurofilament，NF-H）蛋白表达变化，观察AMPA受体拮抗剂对HIBD的保护作用，为临床治疗HIBD提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

7日龄Wistar大鼠24只，体质量10～13 g，雌雄不限（第三军医大学实验动物中心提供）。小鼠抗大鼠磷酸化NF-H单克隆抗体（NeoMarkers公司）。AMPA受体拮抗剂GYKI-52466（Sigma公司）。SABC试剂盒、DAB显色试剂（武汉博士德公司）。

1.2 方法

1.2.1 动物模型及标本采集 7日龄Wistar大鼠分为假手术组、缺氧缺血组及GYKI-52466干预组，每组8只。参照Rice法制备HIBD模型：结扎左侧颈总动脉后置于缺氧仓内，以氧氮混合气（$N_2$92%/$O_2$8%）灌注2.5 h。缺氧缺血（HI）后出现自发左旋或夹尾左旋者纳入实验。假手术组暴露颈总动脉，不结扎，不缺氧；干预组于HI后即刻开始腹腔注射GYKI-52466，每次10 mg/kg，每小时1次，共4次；缺氧缺血组予等量生理盐水腹腔注射。各组大鼠于HI后1周4%多聚甲醛心脏灌注，断头取前脑，切除额极2 mm，剩余脑组织前半部分冰冻切片，片厚20 μm。

1.2.2 NF-H免疫组化 采用SABC法。磷酸化NF-H单克隆抗体（1∶200）室温孵育24 h。

1.2.3 图像分析 免疫组化染色结果用image-proplus 4.5图像分析处理软件进行分析。参照Paxinos[2]鼠脑立体定位图谱，选取前联合水平（Paxinos鼠脑立体定位图谱C13－14层面）冠状切片，于双侧脑半球选择3个位置相应、不重复的视野（胼胝体、外囊、纹状体各1个），测出阳性染色积分光密度（IOD）

（下转1797页）

作者简介：王丽雁（1975－），女，浙江省义乌市人，博士研究生，主治医师，讲师，主要从事缺氧缺血性脑损伤方面的研究。电话：（023）68774602，E-mail：wangliyan@163.com
通讯作者：赵聪敏，电话：（023）68755602
收稿日期：2005-10-31；修回日期：2006-06-16

胱逼尿肌中均存在，但其表达量产生了变化，有可能导致通道的功能变化，因而对逼尿肌的兴奋调节作用也可能出现变化，正常与 DI 逼尿肌的这种差异性表达有可能成为 DI 发生的组织学基础。

综上所述，引起 DI 膀胱逼尿肌兴奋性改变的因素是多方面的，BKcaα1 基因表达的改变可能与 DI 的发生有关，值得我们进一步的研究。

参考文献：

[1] 宋　波. 逼尿肌兴奋性及逼尿肌不稳定[J]. 第二军医大学学报，2003，25(22)：1969－1971.

[2] PARK S Y，LEE M Y，KEUM E M，*et al*. Ionic currents in single smooth muscle cells of the human vas deferens[J]. J Urol，2004，172(2)：628－633.

[3] 邱功阔，宋　波，金锡御，等. 逼尿肌不稳定发病机制的研究[J]. 中华实验外科杂志，2003，20(1)：91.

[4] 邱功阔，宋　波，金锡御，等. 膀胱出口梗阻对逼尿肌兴奋性、收缩性及顺应性影响的实验研究[J]. 中华泌尿外科杂志，2000，21(7)：421－423.

[5] TANG Q Y，QI Z，NARUSE K，*et al*. Characterization of a functionally expressed stretch-activated BKca channel cloned from chick ventricular myocytes[J]. J Membr Biol，2003，196(3)：185－200.

[6] WELLNER M C，ISENBERG G. Properties of stretch-activated channels in myocytes from the guinea-pig urinary bladder[J]. J Physiol，1993，466：213－227.

[7] CHIANG H T，WU S N. Inhibition of large-conductance calcium-activated potassium channel by 2-methoxyestradiol in cultured vascular endothelial (HUV-EC-C) cells[J]. J Membr Biol，2001，182(3)：203－212.

[8] 杨　航，宋　波，金锡御，等. 逼尿肌不稳定中钙激活钾/氯通道 mRNA 表达差异的实验研究[J]. 第二军医大学学报，2004，26(9)：781－783.

[9] 李　新，宋　波，李益人，等. 钙通道在大鼠逼尿肌不稳定膀胱中的表达及变化[J]. 第三军医大学学报，2003，25(13)：1165－1167.

（编辑　陈聪连）

（上接 1787 页）

值，3 个视野总 IOD 值作为该侧脑组织阳性染色 IOD 值，计算左侧与右侧 IOD 值之比，以 L: R_{NF} 表示。每例标本选择 3 张相邻切片，取平均值作为此例标本 L: R_{NF} 结果。同时用图像分析软件分别测定双侧脑半球横截面积，计算左侧与右侧脑半球横截面积之比，以 L: R_{AREA} 表示，每例标本选择 3 张相邻切片，取平均值为此例 L: R_{AREA} 结果。

1.3　统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，以 SPSS 11.0 统计软件进行方差分析。

2　结果

HI 后 1 周缺氧缺血组左侧脑组织 NF-H 表达明显减少，以外囊、纹状体最为明显。缺氧缺血组 L: R_{NF} 值明显小于假手术组（$P<0.01$），干预组 L: R_{NF} 值高于缺氧缺血组（$P<0.05$）。缺氧缺血组 L: R_{AREA} 值较假手术组明显下降（$P<0.01$）。干预组 L: R_{AREA} 值较缺氧缺血组明显升高（$P<0.01$）（表 1）。

表 1　HI 后 1 周双侧脑半球横截面积及磷酸化 NF-H 积分光密度比值（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	L: R_{NF}	L: R_{AREA}
假手术组	8	0.990 ± 0.010^{b}	0.985 ± 0.023^{b}
缺氧缺血组	8	0.475 ± 0.106	0.680 ± 0.043
干预组	8	0.671 ± 0.145^{a}	0.804 ± 0.031^{b}

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与缺氧缺血组比较

3　讨论

神经丝是轴突细胞骨架的主要成分。除支持作用外，在物质运输、能量转化、以及跨膜信号传递等病理生理过程中发挥重要作用[3]。哺乳动物的神经丝主要由 NF-L、NF-M、NF-H 3 种亚基组成。磷酸化 NF-H 主要分布于轴突[4]，是轴突成熟的标志之一。通过与其他神经丝蛋白亚基产生的静电斥力保持轴索圆管形结构，决定轴突直径；并与临近的细胞骨架成分相连接，影响轴突转运。本实验应用 NF 单克隆抗体标记磷酸化 NF-H，观察轴突蛋白表达。

本实验显示新生鼠 HIBD 后患侧磷酸化 NF-H 表达明显减少，与 Stys 等[5]的结果一致。磷酸化 NF-H 的破坏可能使得轴突管径缩小，轴浆流动改变[6]，从而影响轴突运输功能，造成细胞器、递质传送障碍，最终导致轴突结构与功能的破坏。本实验还显示 HI 后立即予 GYKI-52466 治疗使得脑半球面积减少程度显著下降，NF-H 表达明显增加。提示 AMPA 受体拮抗剂 GYKI-52466 能有效缓解 HI 对发育中脑组织的病理损害，减轻轴突损伤。

关键词：受体，AMPA；脑缺血；脑缺氧；神经丝

中图法分类号：R743.31；R741.05　　**文献标识码**：B

参考文献：

[1] GRESSENS P，SPEDDING M，GIGLER G，*et al*. The effects of AMPA receptor antagonists in models of stroke and neurodegeneration [J]. Eur J Pharmacol，2005，519(1－2)：58－67.

[2] PAXINOS G，WATSON C. The rat brain in stereotaxic coordinates [M]. Sydney：Academic Press，1982.

[3] ACKERLEY S，THORNHILL P，GRIERSON A J，*et al*. Neurofilament heavy chain side arm phosphorylation regulates axonal transport of neurofilaments[J]. J Cell Biol，2003，161(3)：489－495.

[4] SHAW G，YANG C，ELLIS R，*et al*. Hyperphosphorylated neurofilament NF-H is a serum biomarker of axonal injury[J]. Biochem Biophys Res Commun，2005，336(4)：1268－1277.

[5] STYS P K，JIANG Q. Calpain-dependent neurofilament breakdown in anoxic and ischemic rat central axons[J]. Neurosci Lett，2002，328(2)：150－154.

[6] ARONOWSKI J，CHO K H，STRONG R，*et al*. Neurofilament proteolysis after focal ischemia；when do cells die after experimental stroke? [J]. J Cereb Blood Flow Metab，1999，19(6)：652－660.

（编辑　王　红）