短篇论著

文章编号:1000-5404(2011)07-0750-03

丁基苯酞对慢性脑缺血老龄大鼠核因子-κB、环氧合酶-2表达的影响

翟锴华[1],刘伯语[2],卢 宏[3] (453100 河南 新乡,新乡医学院:第一附属医院神经内科[1],第三附属医院内科[2];450052 郑州,郑州大学第一附属医院神经内科[3])

[摘要] **目的** 检测慢性脑缺血老龄大鼠核因子-κB(nuclear factor κB,NF-κB)、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2,COX-2)的表达,探讨丁基苯酞(DBT)在慢性脑缺血中的抗炎作用。**方法** 健康Wistar大鼠60只,按随机数字表分为4组,分别为对照组、模型组、缺血高剂量DBT组、缺血低剂量DBT组,每组15只。采用光镜及免疫组织化学方法对各组大鼠海马CA1区及颞叶皮层组织形态学、NF-κB及COX-2的表达进行检测。**结果** 与模型组比较,丁基苯酞不同剂量治疗1个月后,大鼠海马CA1区及颞叶皮层神经元变性、坏死不同程度减轻;NF-κB p65、COX-2阳性细胞数表达减少($P<0.01$),高低剂量组阳性细胞数差异有统计学意义($P<0.01$)。**结论** 丁基苯酞可以减轻慢性脑缺血老龄大鼠神经元变性、坏死;减少NF-κB p65、COX-2的表达,可能是丁基苯酞抑制炎症反应的途径之一。

[关键词] 丁基苯酞;慢性脑缺血;老龄大鼠;核因子-κB;环氧合酶-2

[中图法分类号] R972;R965;R743 **[文献标志码]** A

随着世界人口老龄化,慢性脑缺血已经成为威胁人类的重要临床难题。慢性脑缺血具有较长的临床前期可干预,研究慢性脑缺血的机制可能为临床治疗提供合适的策略。核因子-κB(nuclear factor κB,NF-κB)、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2,COX-2)是参与缺血性脑损伤的2种重要炎症反应因子,但在慢性脑缺血中对NF-κB、COX-2表达的研究罕见报道。丁基苯酞(DBT)是一类新型抗脑缺血药物,对急性脑卒中有明确疗效[1]。但有关丁基苯酞在慢性脑缺血中的治疗作用研究甚少。本研究关注在慢性脑缺血中NF-κB激活和下游基因COX-2的表达,探讨丁基苯酞在慢性脑缺血中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雄性Wistar大鼠60只,22~24月龄,体质量450~550 g,由河南省实验动物中心提供。

1.2 药物和主要试剂

DBT由石药集团恩必普药业提供,为淡黄色油状液体,芹菜味,批号031101;COX-2多克隆抗体、NF-κB p65单克隆抗体均购自Santa Cruz公司,S-P试剂盒购于北京中杉生物技术有限公司。

1.3 方法

慢性脑缺血模型按Olsson等[2]方法,双侧颈总动脉永久性结扎(2-VO)制作。60只大鼠按随机数字表分为4组,每组15只。A组:对照组(假手术+溶剂);B组:模型组(手术+溶剂);C组:缺血高剂量组(手术+高剂量DBT+溶剂);D组:缺血低剂量组(手术+低剂量DBT+溶剂),持续灌服1个月,溶剂为消毒后的花生油。C组和D组2-VO术后2个月分别给予12、6 mg/(100 g·d)丁基苯酞灌胃;A组和B组给予消毒后的精制花生油2 ml/d灌胃;均持续1个月。病理观察及免疫组化结果判断参照文献[3]。

1.4 统计学分析

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 10.0统计软件进行单因素方差分析,多个样本均数的两两比较用q检验法。取$\alpha=0.05$作为检验水准。

2 结果

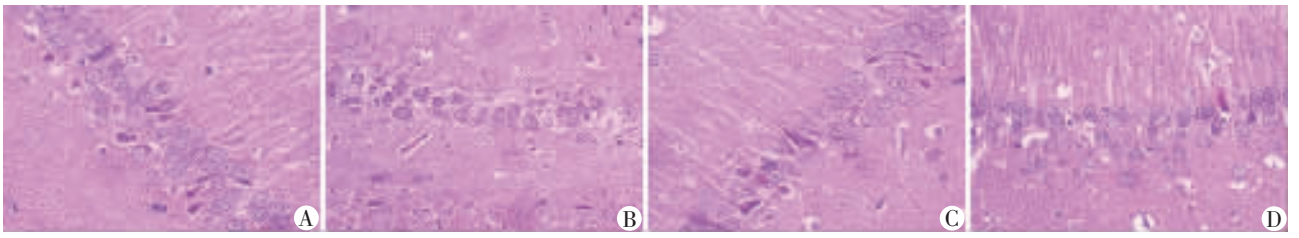
2.1 海马HE染色组织病理学改变

选择海马CA1区及颞叶皮层作为观察部位。光镜可见对照组大鼠细胞正常,排列紧密,偶见变性坏死细胞;高倍镜下,细胞核大而圆、透明、染色浅、细胞质丰富(图1A)。模型组大鼠细胞体积小/胞浆浓缩,核固缩、核破裂,排列紊乱、弥散;高倍镜下,形态正常的细胞数明显减少,许多细胞结果变得不完整,细胞严重脱失、基质疏松、微空泡形成,胞核固缩(图1B)。高剂量丁基苯酞组细胞丢失显著减少,可见少量变性坏死细胞(图1C);低剂量丁基苯酞组细胞脱失有所改善,但远不及大剂量丁基苯酞治疗组(图1D)。

2.2 慢性脑缺血后NF-κB p65的表达及DBT的影响

对照组可见大鼠的海马CA1区和颞叶皮层有极少量弱染的NF-κB p65阳性神经元;模型组可见大量深染的NF-κB p65阳性神经元;高剂量丁基苯酞组NF-κB p65阳性神经元明显减少,仅见少量弱染及中等强度染色的NF-κB p65阳性神经元;低剂量丁基苯酞组介于高剂量丁基苯酞组和模型组之间。各组之间NF-κB p65的表达差异有统计学意义($P<0.01$,表1)。

[通信作者] 卢 宏,电话:(0373)66913290,E-mail:lh111@163.com



A:对照组;B:模型组;C:缺血高剂量组;D:缺血低剂量组

图 1 慢性脑缺血后各组大鼠海马 CA1 区 HE 染色观察 (×400)

表 1 慢性脑缺血后各组大鼠海马 CA1 区 NF-κB p65 阳性细胞的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	n	海马 CA1 区	颞叶皮层
对照组	13	1.45 ± 0.34	2.32 ± 0.46
模型组	11	22.72 ± 0.56[a]	26.18 ± 0.54[a]
高剂量组	11	8.67 ± 0.44[ab]	12.33 ± 0.39[ab]
低剂量组	10	15.20 ± 0.46[abc]	19.96 ± 0.38[abc]

a:$P<0.01$,与对照组比较;b:$P<0.01$,与模型组比较;c:$P<0.01$,与高剂量组比较

2.3 慢性脑缺血后 COX-2 的表达及 DBT 的影响

取大鼠的海马 CA1 区和颞叶皮层 2 个部位进行统计分析:对照组可见极少量弱染及中等强度染色的 COX-2 阳性细胞;模型组可见大量深染的 COX-2 阳性细胞;高剂量丁基苯酞组 COX-2 阳性细胞显著减少,仅见少量弱染及中等强度染色的 COX-2 阳性细胞;低剂量丁基苯酞组介于高剂量组和模型组之间。各组之间 COX-2 的表达差异有统计学意义($P<0.01$,表 2)。

表 2 慢性脑缺血后各组大鼠海马 CA1 区 COX-2 阳性细胞的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	n	海马 CA1 区	颞叶皮层
对照组	13	1.28 ± 0.41	2.40 ± 0.37
模型组	11	26.25 ± 0.46[a]	32.00 ± 0.63[a]
高剂量组	11	9.00 ± 0.58[ab]	16.41 ± 0.49[ab]
低剂量组	10	15.05 ± 0.51[abc]	24.36 ± 0.45[abc]

a:$P<0.01$,与对照组比较;b:$P<0.01$,与模型组比较;c:$P<0.01$,与高剂量组比较

3 讨论

2-VO 模型操作简便、重复性好、成功率较高,本组造模成功率为 33.2%,符合临床慢性脑缺血的特点。本实验在 2-VO 的基础上进行改进,将双侧颈总动脉结扎后剪断,保证了双侧颈总动脉血供被永久性中断,确保了模型的可靠性。本实验中对照组死亡 2 只,造模死亡 11 只,治疗过程中因误吸死亡 2 只。

1995 年 Salminen 等首先提出脑缺血再灌注时 NF-κB 的活性增高,并认为其与脑内炎性细胞浸润有关。Terai 等从临床病理学角度证明 NF-κB 激活参与了脑梗死病理过程。NF-κB 位点为 COX-2 转录激活所必需,COX-2 是 NF-κB 调节的下游靶基因之一。COX-2 蛋白及其代谢产物可在 3 个环节加重缺血性脑损伤,影响脉管系统,促进血-脑屏障开放以及直接损伤神经元[4]。老年痴呆发病过程中 COX-2 的高表达,充分提示了炎性基因通路对于脑损伤反应的重要性。本实验采用慢性脑缺血模型,观察 NF-κB、COX-2 蛋白在老年脑组织海马 CA1 区的表达。

慢性脑缺血主要损伤海马[5],尤其 CA1 区神经元呈选择性丢失。本实验中模型组海马及颞叶神经元变性、丢失严重,符合目前研究结果。高剂量丁基苯酞治疗后神经元变性、坏死细胞显著减少,细胞排列较规整,但不如对照组大鼠,提示在形态学方面丁基苯酞对慢性脑缺血大鼠有一定改善作用,但不能完全恢复,与目前研究符合。低剂量丁基苯酞治疗组大鼠的组织病理学也有一定改善,但远不及高剂量组,提示高剂量丁基苯酞在慢性脑缺血中有较好的保护作用。本实验结果与文献[6]符合。

本实验中,对照组大鼠海马 CA1 区和颞叶皮层的细胞中,模型组胞核内 NF-κB 的表达明显增加,与对照组相比有显著差异($P<0.01$)。推测老龄大鼠慢性脑缺血后,通过某种机制活化 NF-κB,增加 NF-κB 的表达。炎性因子 NF-κB 的高表达,可能在慢性脑缺血的炎性损伤中发挥一定作用。丁基苯酞治疗后,大鼠海马 CA1 区和颞叶皮层中 NF-κB 的表达均有显著下降($P<0.01$),脑组织病理学的变化也显示脑损伤明显减轻,推测丁基苯酞可能通过某种机制抑制 NF-κB 的表达,发挥对慢性脑缺血老龄的脑保护作用。高剂量丁基苯酞组大鼠 NF-κB 的表达低于低剂量组,与低剂量组比较,高剂量组大鼠的脑组织病理学损伤减轻较明显,与目前研究符合[7],推测大剂量的丁基苯酞在慢性脑缺血中有较好的保护作用。

生理状态下,COX-2 在核膜和内质网中极少量表达,组织缺血缺氧后,COX-2 在细胞中的表达水平将以 8~10 倍的速度急剧增加。本实验发现,对照组大鼠的海马 CA1 区和颞叶皮层细胞中 COX-2 极低水平表达,与以往研究符合。在模型组大鼠海马的 CA1 区和颞叶皮层细胞中的表达显著升高,与对照组比较有显著差异($P<0.01$),推测慢性脑缺血后可诱导大鼠脑组织中 COX-2 表达增加。结合本实验脑组织病理学变化推测,COX-2 可能参与慢性脑缺血后的炎症反应,

进一步造成神经元的损伤,但具体机制尚不清楚,需要进一步研究。高剂量丁基苯酞治疗后,大鼠海马CA1区和颞叶皮层细胞中的COX-2表达显著低于模型组大鼠($P<0.01$)。丁基苯酞可能通过某种机制减少COX-2的表达,抑制慢性脑缺血后的炎症反应,发挥脑保护作用。低剂量丁基苯酞也可减少大鼠海马CA1区和颞叶皮层细胞中COX-2的表达,但其抑制强度不及高剂量丁基苯酞,提示高剂量的丁基苯酞在慢性脑缺血中的治疗效果较好。

慢性脑缺血后海马CA1区损伤是多种因子、机制的共同作用,目前NF-κB、COX-2蛋白持续诱导和表达,在促进细胞死亡的作用机制仍不十分清楚[8]。本实验中丁基苯酞治疗后大鼠脑组织形态学的改善,NF-κB和COX-2的表达减少,推测丁基苯酞可能通过抑制NF-κB和COX-2的表达,从而抑制慢性脑缺血后的炎症损伤作用,对缺血的脑组织有一定的保护作用,但具体机制仍需进一步的研究。

参考文献:

[1] 崔丽英,李舜伟,吕传真,等. 恩必普软胶囊治疗中度急性缺血性卒中的多中心开放临床研究[J]. 中国脑血管病杂志, 2005, 2(3):112-115.
[2] Olsson Y, Brun A, Englund E. Fundamental pathological lesions in vascular dementia [J]. Acta Neurol Scand Suppl, 1996, 168:31-38.
[3] 宋志宇,卢宏,翟锴华,等. 血管性痴呆大鼠海马区核因子-κB、环氧合酶-2的表达变化[J]. 中风与神经疾病杂志, 2008, 25(5):564-566.
[4] Mracsko E, Hugyecz M, Institoris A, *et al*. Changes in pro-oxidant and antioxidant enzyme levels during cerebral hypoperfusion in rats [J]. Brain Res, 2010, 1321:13-19.
[5] Melani A, Cipriani S, Corti F, *et al*. Effect of intravenous administration of dipyridamole in a rat model of chronic cerebral ischemia[J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1207:89-96.
[6] 沈瑞乐,王兴萍,滕军放,等. 丁基苯酞对慢性脑缺血老龄大鼠海马胆碱乙酰基转移酶mRNA表达的影响[J]. 郑州大学学报:医学版,2008,43(2):306-608.
[7] Choi S H, Langenbach R, Bosetti F. Cyclooxygenase-1 and -2 enzymes differentially regulate the brain upstream NF-kappa B pathway and downstream enzymes involved in prostaglandin biosynthesis[J]. J Neurochem, 2006, 98(3):801-811.
[8] 黄河清,唐军,周振华,等. 西酞普兰对血管性痴呆大鼠海马DG神经发生和认知障碍影响的初步研究[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(10):946-949.

(收稿:2010-10-21;修回:2010-12-30)
(编辑 汪勤俭)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2011)07-0752-01

心内及心上混合型完全性肺静脉异位引流MDCT诊断1例

高 芬[1],王 毅[1],张伟国[1],钟前进[2],陈建明[2] (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所:[1]放射科,[2]心血管外科)

【关键词】 肺静脉异位引流;多层螺旋CT;血管造影术;三维重建
【中图法分类号】 R816.2 【文献标志码】 B

1 临床资料

患者女性,25岁,因"发现房间隔缺损25年"于2010年7月2日入院。患者刚出生时发现哭闹后出现嘴唇及指甲紫绀,当地医院B超检查发现"房间隔缺损"。后发现活动后均出现紫绀,不能剧烈运动。患者因经济原因一直未行手术治疗,近年来家庭经济条件得到改善,遂来我院诊治。查体:双肺呼吸音粗糙,心界大,胸骨左侧第2肋间闻及收缩期杂音,杵状指。超声检查:左心房、右心房、右心室增大,室间隔、右心室前壁增厚,房间隔缺损,冠状静脉扩张,部分性肺静脉异位引流,肺动脉增宽,肺动脉瓣发育异常、狭窄、关闭不全(轻度返流),三尖瓣轻度返流,左心室舒张功能降低。多排螺旋CT(multi-detector CT, MDCT)检查采用GE LightSpeed 64排MDCT,采用心电门控技术行心脏大血管增强扫描,选择各房室及大血管显影最佳时相,采用容积再现(VR)技术分别重建左右房室、肺静脉、冠状静脉窦、无名静脉、垂直静脉及上腔静脉,行图像融合后向右旋转30°~45°显示左上肺静脉、垂直静脉与无名静脉之间的联系,再向后下旋转90°~120°显示其余肺静脉、冠状静脉窦与右心房之间的联系。MDCT表现:房间隔缺损,右侧肺静脉及左下肺静脉汇合后经冠状静脉窦与右心房连接,左上肺静脉与无名静脉连接,提示混合心内及心上完全性肺静脉异位引流(图1)。手术所见:采用体外循环行完全性肺静脉异位引流矫治术及房间隔缺损修补术,术中见全心增大,以右心显著,冠状静脉窦明显增宽,直径达2 cm;房间隔缺损为继发孔-中央型,缺损大小约2 cm×2.5 cm,将房间隔缺损与冠状静脉窦间间隔切除,切除组织大小约1.5 cm×3.5 cm,见3支肺静脉流入冠状静脉窦,取4 cm×5 cm补片修补整个缺损并将冠状静脉隔入左心房,将左心耳与左上肺静脉相应部位行侧侧吻合,吻合口大小约1.5 cm×2.5 cm,连续双层缝合左心房。手术证实为混合心内及心上完全性肺静脉异位引流合并房间隔缺损。术后对患者行MDCT心脏大血管成像复查,影像所见全部异位引流的肺静脉均得到了很好的矫正,4支肺静脉均显影良好,未见肺静脉梗阻等并发症。

(下转755页)

【通信作者】 王 毅,E-mail:ywhxl@yahoo.com.cn