海洛因依赖对大鼠直肠神经肽 Y 表达的影响

洪 艳,梁文妹,李一欣,谢 莉 (贵阳医学院组织学与胚胎学教研室,贵州 贵阳 550004)

[摘 要] **目的** 探讨海洛因依赖期间大鼠直肠内神经肽 Y(NPY)免疫反应阳性细胞的形态学改变。**方法** 选取成年 SD 大鼠,分为海洛因依赖组、盐水对照组和正常对照组,皮下注射海洛因建立大鼠海洛因依赖模型,取直肠组织用免疫组织化学 SABC 法及图像分析法进行研究。**结果** 与正常及盐水对照组比较,海洛因依赖组大鼠直肠 NPY 阳性细胞的细胞数均增多。图像分析显示海洛因依赖期间大鼠直肠内 NPY 阳性细胞的平均灰度值均低于正常及盐水对照组($P<0.05$);以 17 d 时间组最低($P<0.05$)。**结论** 海洛因依赖期间直肠 NPY 阳性细胞的平均灰度值发生变化,提示 NPY 合成和分泌增多。

[关键词] 海洛因依赖;NPY;直肠;免疫组织化学;图像分析

[中图分类号] R392.31;R-332;R996 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2011)05-0513-03

Influence of heroin dependence on expressions of neuropeptide Y in rat rectum

HONG Yan, LIANG Wen-Mei, LI Yi-Xin, XIE Li (Department of Histology and Embryology, Guiyang Medical College, Guiyang Guizhou 550004, China)

Abstract: Objective To explore the morphological changes of neuropeptide Y (NPY) immunoreactive positive cells in rat rectum during the period of heroin dependence. **Methods** Adult SD rats were divided into normal control group (NCG), saline control group (SCG), and heroin dependence group (HDG). Subcutaneous injection of heroin was performed and the rat model of heroin dependence was established. Immunohistochemical SABC method and image analysis were used in the study. **Results** The number and immunohistochemical reaction of rectum NPY positive-cells increased in HDG compared with those in NCG and SCG. The results of image analysis showed that the mean grey scale of the rectum NPY positive-cells decreased in HCG compared with those in NCG and SCG ($P<0.05$). The mean grey scale was the lowest on 17st day ($P<0.05$). **Conclusion** The changes in the mean grey degree of NPY positive-cells during the period of heroin dependence indicate that the function of NPY positive-cells will enhance the synthesis and secretion.

Keywords: heroin dependence; neuropeptide Y, NPY; rectum; immunohistochemistry; image analysis

阿片类药物滥用对胃肠道功能的影响已引起国内外学者的广泛关注,也证实药物滥用将导致直肠癌的发病率增加[1]。阿片肽引起胃肠运动减弱和影响胃酸分泌,还对一些胃肠肽类激素的分泌有调节作用[2-3]。神经肽 Y(neuropeptide Y, NPY)是调节能量代谢和控制食欲的肽类物质,属胰多肽家族,广泛分布于中枢及外周神经组织,此外, NPY 被发现存在于哺乳类的肠道, 还可与胰高血糖素、5-羟色胺等胃肠激素共存在胃肠胰系统中[4]。本实验以海洛因依赖大鼠为动物模型,用免疫组织化学方法对大鼠海洛因成瘾期间直肠内 NPY 的表达改变进行研究,探讨机体在海洛因依赖期间胃肠激素的作用机理。

[基金项目] 贵州省优秀科技教育人才省长专项基金资助(黔科教办 2005-14)

[作者简介] 洪 艳(1973 -),女,贵州省安顺市人,副教授,硕士,主要从事神经内分泌与组织发生方面研究。电话:(0851)6908567, E-mail: hongyanb@163.com

[通讯作者] 梁文妹,电话:(0851)6909118, E-mail: wenmeiliang@126.com

[收稿日期] 2011-03-03 [修回日期] 2011-04-25

1 材料与方法

1.1 建立动物模型

健康成年 SD 大鼠,体重 180 ~ 220 g,贵阳医学院实验动物中心提供,雌雄各半,分笼喂养。按配对原则分为实验性海洛因依赖组(HDG)及盐水对照组(SCG)各 30 只,正常对照组(NCG)6 只。海洛因依赖实验动物按已建立的方法制作:依赖组按体重逐日递增注射海洛因药液(海洛因纯度为 61.48%,由贵州省公安厅提供)。首日剂量为 3 mg/kg,每日 2 次(上午 8 时,下午 3 时)。连续皮下注射 9 d 至成瘾,第 9 天剂量为 27 mg/kg,成瘾后的大鼠每日上午 8 时皮下注射海洛因 1 次,剂量 27 mg/kg,维持至取材。盐水对照组按体重每日注射与海洛因依赖组相同剂量的生理盐水,正常组不予任何处理,按时喂养。

1.2 取材及标本制备

海洛因依赖组和盐水对照组大鼠于模型建立的第 10、17、24、31、38 天处死,每次处死 6 只(雌雄各半),正常对照组 6 只。生理盐水灌洗,取直肠组织,Bouin 液固定,常规石蜡包埋,制成 4 μm 厚的连续切片。

1.3 免疫组织化学 SABC 法

根据免疫组织化学 SABC 法进行免疫组织化学染色,显示

NPY 免疫反应细胞。主要步骤为:切片常规脱蜡至水,10% 甲醛-H_2O_2 10 min,正常山羊血清(1∶50)封闭 30 min,滴加兔 NPY 抗血清(Sigma 公式提供),4 ℃过夜,羊抗兔 IgG、SABC 复合物(1∶100)(武汉博士德生物工程有限公司提供)37 ℃孵育 20 min,DAB-H_2O_2液显色,苏木精复染细胞核,中性树胶封片。方法对照:PBS 缓冲液代替特异性抗血清,余步骤同上。

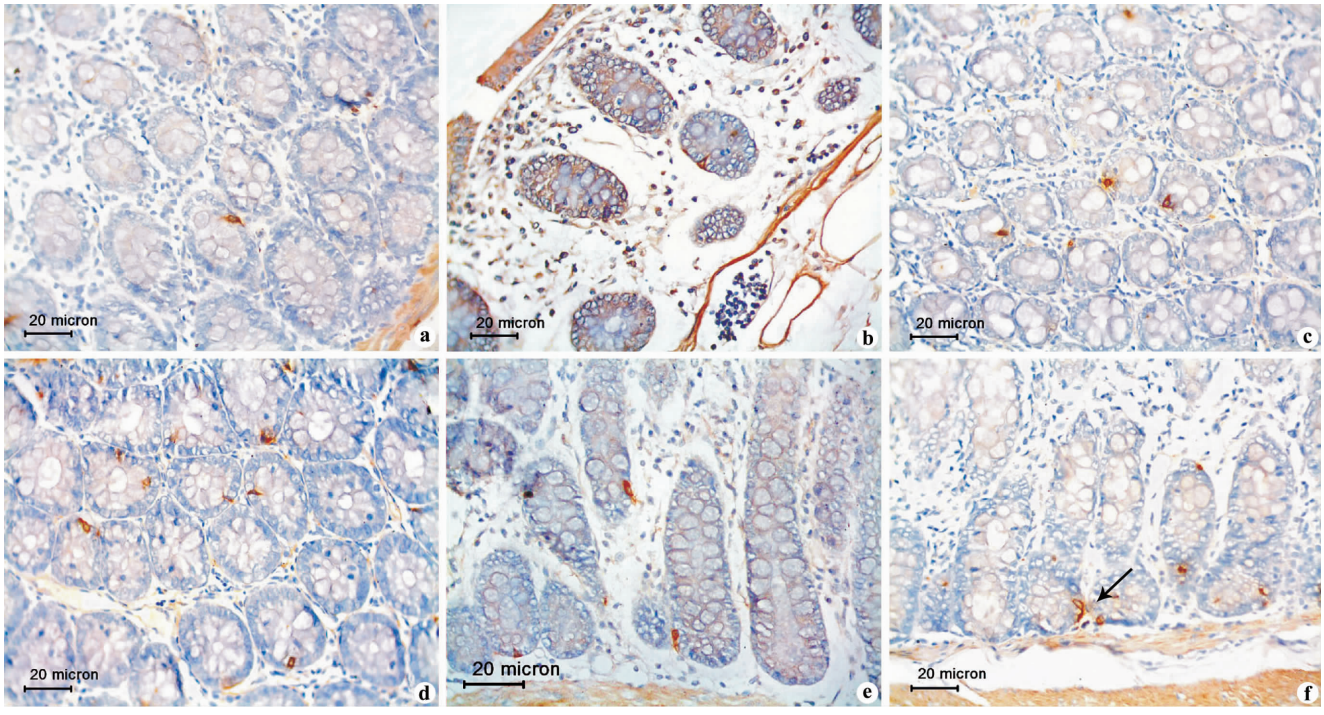
1.4 图像分析

随机选取海洛因依赖组和盐水对照组各时间点大鼠直肠切片 5 张,正常对照组 5 张。在 40 × 物镜下,每张切片随机选取 5 个视野,用 BioMias 图像分析系统检测 NPY 阳性细胞的平均灰度值。所得数据应用 SPSS 11.5 统计软件进行单因素方差分析,组间两两比较用 t 检验。

2 结果

2.1 免疫组织化学观察

直肠 NPY 阳性细胞数量较少,散在分布于上皮内。免疫反应产物位于细胞的基底部,染色较深,呈棕褐色颗粒状。上皮内阳性细胞大小不等,形态多样(图 1a);有闭合型,也有开放型,有的细胞伸出突起与邻近细胞相接触(图 1f)。对照切片未见免疫反应阳性细胞。与正常及盐水对照组比较,海洛因依赖组大鼠直肠 NPY 阳性细胞数量增多,免疫染色增强(图 1c-f),以 17 d 较为明显(图 1d);盐水对照组与正常对照组比较,NPY 阳性细胞的数量、分布及染色强度均无明显差别,盐水对照组各时间点之间也无明显差别。

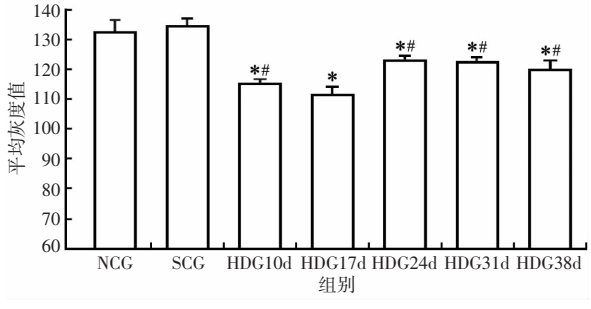


a:正常大鼠直肠 NPY 阳性细胞;b:盐水组第 17 天大鼠直肠 NPY 阳性细胞;c:海洛因依赖组第 10 天大鼠直肠 NPY 阳性细胞;d:海洛因依赖组第 17 天大鼠直肠 NPY 阳性细胞;e:海洛因依赖组第 24 天大鼠直肠 NPY 阳性细胞;f:海洛因依赖组第 38 天大鼠直肠 NPY 阳性细胞,↑所示阳性细胞发出突起与邻近细胞接触。

图 1 大鼠直肠粘膜 NPY 阳性细胞的表达(免疫组织化学 SABC 法 ×400)

2.2 图像分析

各组大鼠直肠 NPY 阳性细胞的平均灰度值见图 2。



*:与 NCG 和 SCG 比较,$P<0.05$;#:与 HDG 10、24、31、38 d 比较,$P<0.05$

图 2 各组大鼠直肠 NPY 阳性细胞的平均灰度值

如图 2 所示,正常及盐水对照组 NPY 阳性细胞的平均灰度值无统计学意义($P>0.05$),盐水组各时间点之间 NPY 阳性细胞的平均灰度值也无明显差别($P>0.05$)。而海洛因依赖组 NPY 阳性细胞的平均灰度值较正常和盐水对照组显著降低($P<0.05$),于 17 d 时达最低($P<0.05$)。

3 讨论

正常机体内有内源性阿片肽作用于阿片受体,通过受体后多种信号传递系统调节体内的正常功能,通过神经内分泌整合机制来保持内环境的稳定。外源性阿片类药物可使内源性阿片肽系统受到抑制,使阿片类药物依赖者体内众多的神经递质功能发生变化。消化系统是海洛因依赖损害较为明显的部位之一。研究

表明,阿片类药物长期应用将导致肠道功能紊乱,其症状包括便秘、腹胀、腹泻,恶心呕吐及胃食管反流增加等[4]。有学者对海洛因中毒性疾病患者血浆神经肽测定结果表明 β-内啡肽、NPY、神经降压素含量较对照组显著升高,经治疗后随着疾病的好转血浆神经肽含量逐渐下降,说明血浆神经肽与急性中毒性疾病的发生及严重程度呈正相关[5]。本课题组前期研究结果也表明海洛因依赖大鼠直肠黏膜 5-羟色胺、生长抑素、P 物质的表达明显增高[6]。本实验用免疫组织化学方法对海洛因依赖大鼠直肠内 NPY 阳性细胞进行研究,结果显示 NPY 在海洛因依赖期间表达增强,与萧丹等的研究结果相符,提示海洛因依赖者体内与消化功能相关的胃肠激素失衡。

NPY 广泛分布在脊椎动物(从鱼类至哺乳类)的神经系统,具有多种生理作用,如控制脑垂体激素的释放,控制心率、记忆、食物和水分的摄取以及调节摄食与能量平衡等[7]。NPY 作为一种调节因子,参与了众多胃肠道疾病(消化不良、炎症性肠病、肠易激综合征等)的发病过程[8]。张慧芹等研究大鼠实验性胃溃疡自愈期间胃粘膜 5-羟色胺和 NPY 的表达变化,表明 NPY 阳性细胞可能直接或间接参与了胃溃疡形成及修复过程中的神经内分泌调节[9]。有关 NPY 与阿片肽的关系,在痛觉的调节机制中,存在于大鼠背角胶状质中的 NPY 有阿片样作用,NPY 和吗啡都可以抑制伤害性初级传入纤维 P 物质的释放[10]。本研究结果显示 NPY 在海洛因依赖大鼠直肠表达的增高,且在海洛因成瘾 2 周(17 d)后出现增高峰值,随后又有所下降,提示 NPY 可能作为一种调节因子参与海洛因成瘾引起的肠道功能紊乱的调节过程。

[参考文献]

[1] 蓝穗新,徐优芬,陈 玉,等. 中毒性疾病血浆神经肽变化研究[J]. 中国急救医学,2004,24(6):398 - 399

[2] 萧 丹,刘梦光,张玉萍,等. 海洛因依赖者消化系统功能紊乱的探讨[J]. 中国医药研究,2004,2(3):1 - 2.

[3] 刘慧丽,黄宇光. 阿片类药物胃肠道不良反应的临床研究进展[J]. 临床麻醉学杂志,2005,21(5):352 - 354.

[4] Vona-Davis LC, McFadden DW. NPY family of hormones: clinical relevance and potential use in gastrointestinal disease[J]. Curr Top Med Chem. 2007,7(17):1710 - 1720.

[5] 刘 志,张新华,汪芳裕,等. 直肠类癌 20 例临床病理分析[J]. 临床与实验病理学杂志,2007,23(4):416 - 419.

[6] 洪 艳,梁文妹,刘 霞. 5-HT、生长抑素及 P 物质在海洛因依赖大鼠直肠的定位和表达[J]. 解剖学报, 2009,40(3):463 - 468.

[7] Morales-Medina JC, Dumont Y, Quirion R. A possible role of neuropeptide Y in depression and stress[J]. Brain Res, 2010,1314:194 - 205.

[8] 朱雪萍,陈卫昌,朱晓黎,等. 脑肠肽、脑肠轴在肠易激综合征模型中作用机制研究[J]. 临床儿科杂志,2008,26(3):236 - 239.

[9] 张慧芹,房 涛,程彦龙,等. 大鼠实验性胃溃疡自愈期间胃黏膜 5-H T 和 NPY 的变化[J]. 河北北方学院学报,2010,27(4):19 - 22.

[10] 李 莉,郭 媛,赵 晏. 神经肽 Y 参与痛觉调制的研究进展[J]. 生命科学,2007,19(5):551 - 556.

(编辑:左艳芳)

·个案与短篇·

护颈枕在预防神经外科头部手术后压疮中的应用

李翠红,彭 静 (第三军医大学西南医院神经外科监护室,重庆 400038)

[关键词] 神经外科;护颈枕;压疮
[中图分类号] R651 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2011)05-0515-01

压疮是长期卧床患者常见的并发症,已成为衡量医院护理质量的一项重要指标[1]。神经外科头部患者术后需卧床休息,头部需制动,临床上常用气垫床翻身来预防压疮的发生,而头部皮肤薄,容易产生压疮,所以对预防头部伤口局部受压效果不佳。我科自 2008 年 12 月至 2010 年 10 月对重症监护室 800 例头部术后患者采用护颈枕在预防头部压疮方面取得较好的效果,无头部压疮发生,现将护理体会报告如下。

1 材料与方法

超市里购买护颈枕,根据床位需要决定购买数量(面料为 85% 锦纶加 15% 氨纶,填充料为安全无毒的塑泡粒子)。将买回的护颈枕用针线将两头缝在一起,连成一个头圈。术前将该头圈洗净晾干后套上布套备用(可用枕套代替),上面铺上一次性无菌治疗巾,患者术毕返回病房时,将头部枕于头圈上。

(下转第 517 页)

[收稿日期] 2011-01-04 [修回日期] 2011-05-13