维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2005)01-0138-03

下肢 Buerger's 病患者腰交感神经节神经元中 DBH 的改变

洪 云,赵 渝,李德卫

(重庆医科大学临床学院血管外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究下肢 Buerger's 病患者腰交感神经节神经元中去甲肾上腺素合成酶——多巴胺-β-羟化酶(dopamine beta hydroxylase,DBH)的表达。方法:采用免疫组织化学 SP 法检测 14 例 Buerger's 病患者和 11 例非 Buerger's 病患者腰交感神经节神经元中 DBH 的表达水平。结果:Buerger's 病患者神经元内 DBH 表达有高于正常人的总体趋势,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结论:DBH 的表达增强可使血管更多的处于痉挛状态,促进了本病的发生发展。

【关键词】Buerger's 病;腰交感神经节;多巴胺-β-羟化酶

【中国图书分类法分类号】R654.4 【文献标识码】A 【收稿日期】2004-06-14

Changed DBH expression of the neurons in lumbar sympathetic ganglia in response to Buerger's disease of lower limb

HONG Yun, et al

(*Department of Vascular Surgery, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To observe the expression of dopamme beta hydroxylase (DBH) in the lumbar sympathetic ganglia neurons of the patients with Buerger's disease of lower limb. *Methods*: The DBH expression of the neurons in lumbar sympathetic ganglia of 14 patients with Buerger's disease were observed by immunohistochemistry staining. 11 patients without it served as the controls. *Results*: The DBH expression of the patients were reinforced that of control group. *Conclusion*: The enhanced expression of DBH may result in vasospasm, accelerating the development of Buerger's disease.

【Key words】Buerger's disease; Lumbar sympathetic ganglia; Dopamine beta hydroxylase

Buerger'S 病,即血栓闭塞性脉管炎(thromboangiitis obliterans,TAO),是一种非粥样硬化性、节段性、闭塞性的血管病变,主要侵犯中小动静脉,后期可累及周围神经,尤以下肢多见,常导致远端组织缺血,引起间歇跛行、静息痛、肢体坏疽等,严重影响患者生活质量。本病发现近 100 年,除公认的吸烟因素外,至今病因病机不明。基于血管痉挛是本病的病理生理学特点之一[1],治疗上提出了肾上腺切除术和交感神经节切除术,以缓解血管痉挛,促进侧枝循环形成。其中交感神经节切除术一直沿用了 80 年,临床报道近期疗效较好[2,3],这也一定程度上证明了 Buerger's 病血管痉挛因素的存在。支配四肢中小血管运动的主要是来自于交感神经节的交感缩血管纤维,神经递质为去甲肾上腺素(noradrenaline,NA),多巴胺。β-羟化酶(dopamine beta hydroxylase,DBH)在 NA 合成中不可或缺。本文运用免疫组织化学方法,观察下肢 Buerger's 病患者腰交感神经节神经元内 DBH 的表达变化,并探讨其临床意义。

作者介绍:洪 云(1979-),男,硕士,主要研究方向:血管外科。

1 材料和方法

1.1 材料

2000 年 6 月至 2002 年 6 月重庆医科大学临床学院血管外科因下肢 Buerger's 病行腰交感神经节切除术标本 14 例。患者均为男性,27~45 岁,平均 35.6 岁。诊断标准:(1)吸烟史,50 岁之前发病;(2)膝关节以远的动脉阻塞、缺血表现;(3)缺乏动脉粥样硬化的危险因素(吸烟除外);(4)动脉造影符合 Buerger's 病征象。另外收集死于急性外伤的中青年男性腰交感神经节标本 11 例,作为对照组。所有标本经 10%中性福尔马林固定,石蜡包埋,5μm 连续切片,备作 H.E.染色。

1.2 免疫组化实验方法

采用链霉素抗生物素蛋白——过氧化物酶(SP)法。多

维普资讯 http://www.cqvip.com

克隆抗体 DBH 购自美国 Santa Cruz 生物技术公司，免疫组化试剂盒及 DAB 试剂盒购自北京中山生物技术公司。主要步骤：(1)37℃ 二甲苯 30min×2 脱蜡后，依次 100%、95%、80%、70% 梯度酒精水化各 3min；(2)3% H_2O_2 室温孵育 10min，消除内源性过氧化物酶活性；(3)抗原微波法热修复：采用 pH=6.0 的 0.01M 枸橼酸钠溶液，维持 95℃ ±，10－12min；(4)正常动物血清封闭，室温 10min；(5)加一抗（DBH 1∶50 稀释）37℃ 湿盒孵育 2h；(6)生物素化二抗，室温 10min；(7)辣根酶标记链酶卵白素工作液，室温 10min；(8)DAB 显色 3－4min；(9)苏木精复染，中性树胶封片。

1.3 结果观察与判断

DBH 染色定位于交感神经节神经元胞浆，阳性表达呈黄色颗粒。染色强度分为：0 级：完全阴性，与背景一致；1 级：弱阳性，淡黄色，高于背景；2 级：阳性，黄色，明显高于背景；3 级：强阳性，棕褐色。观察切片 ×400 视野，以可见细胞核者为有效计数细胞，计算不同细胞染色强度与细胞数的乘积，总和作为每高倍视野下染色分值。每例切片随机计数 10 个视野，最后取其均值。选择视野时注意避开非神经元组织（纤维结缔组织和血管、淋巴管断面）过多的视野。

1.4 数据处理

实验数据以均数 ± 标准差表示，采用成组设计资料小样本均数 t 检验，$P<0.05$ 有统计学意义。



图 1 Buerger's 病患者腰交感神经节神经元 DBH 强阳性多见。（SP 法 ×100）



图 2 正常对照组腰交感神经节神经元 DBH 阳性居多。（SP 法 ×100）

2 结 果

两组中 DBH 均以阳性、强阳性为主。在 Buerger's 病患者腰交感神经节神经元的表达，染色强度以强阳性居多；在正常组中以阳性为多，强阳性次之。比较每高倍视野下染色分值，前者高于后者，两组有显著差异（$P<0.05$）。（见图 1，2）

表 1 DBH 在 Buerger's 病组及正常对照组腰交感神经节神经元中的表达

	n	每高倍视野下 DBH 染色分值
Buerger'S 病患	14	35.31 ± 6.54*
正常对照组	11	28.73 ± 6.44

注：相比于正常对照组染色分值，*$P<0.05$。

3 讨 论

支配下肢血管运动的交感神经节前纤维，主要起于脊髓第 10 胸节至第 2、3 腰节的侧角细胞，终止于相应或下位的交感神经节，节后纤维汇入腰丛和骶丛，随股神经、闭孔神经和坐骨神经分布到股动脉远段以远血管。其神经递质为 NA。神经元自循环中摄取酪氨酸，在酪氨酸羟化酶（TH）作用下生成多巴，再经多巴脱羧酶（DDC）形成多巴胺，然后通过多巴胺－β－羟化酶（DBH）合成去甲肾上腺素（NA）。

Buerger's 病病因不清，曾有学者设想病因是肾上腺——交感系统的过度活跃，并以此提出了肾上腺（髓质）切除术和交感神经节切除术，之后有一些研究者报道 Buerger's 病患者尿中儿茶酚胺代谢物水平增高[4]，加上交感神经节切除后部分患者临床症状的好转，都提示存在着交感张力的增强。但是，Singh[1] 认为该病患者的交感神经活动水平并未增强；Yamamoto[4] 观察到 Buerger'S 病人中肌肉交感神经活动（muscle sympathetic nerve activity，MSA）基础值较正常人低，但对冷刺激的反应较正常人明显增强，并且分析认为 MSA 的降低是机体一种保护性的代偿，以扩张骨骼肌中血管，维持缺血组织血供，并试图以对外界刺激反应的增强来解释 Buerger's 病患者的血管痉挛现象。

在本实验研究中，我们以免疫组化的方法，观察到 Buerger's 病人腰交感神经节神经元内 DBH 表达比正常人高的总体趋势，差异具有统计学意义。此儿茶酚胺合成酶的增加，可导致腰交感神经节后纤

维普资讯 http://www.cqvip.co

维(交感缩血管纤维)内神经递质 NA 合成的增加,使得下肢血管的张力增大,处于一种持续的痉挛状态;或者是对外界刺激反应过激,处于一种易于痉挛的状态——正如 Yamamoto 观察到的 Buerger's 病人对冷刺激的反应较正常人明显增强的现象。血管的长期痉挛,影响滋养血管对血管本身的血供,血管壁因相对缺血而受损害,加上痉挛造成管腔更趋闭塞,促进了各种病因对血管的损伤作用,构成并加速了本病的发生发展,致使管壁肥厚、炎症细胞浸润和血栓形成。这种自主神经对血管的调节障碍也是 Buerger's 病的可能病因之一[5,6]。然而本实验仅观察了 DBH 的表达,它的增强,是继发于神经递质合成减少后的合成酶的上调,还是交感缩血管纤维神经递质 NA 合成增加的原因,尚有待于进一步研究。

交感神经节切除术(sympathectomy,SM)治疗 Buerger's 病历史悠久,对于其疗效评价不一。Van-Damme[2]报道 24 例行 SM 术患者,16 例获得了良好的近期效果。Lau[3]报道 Buerger's 病 SM 治疗组 42 例,87% 患者术后症状缓解,缺血性溃疡于 2.6 ± 1.7m 内愈合,但远期效果不佳。林勇杰[7]统计Ⅰ、Ⅱ期患者临床治愈率达 89.4%,Ⅲ期疗效差。也有人认为 SM 对于 Buerger's 病疗效不确切[8,9]。

血管紧张性的形成是由于交感缩血管神经末梢不断的释放微量的神经递质。从本实验结果 Buerger's 病人腰交感神经节神经元内 DBH 表达的增强,可以推论神经元内 NA 含量的可能增加,支持在外界刺激下血管的易于痉挛和部分患者 SM 的有效性,但是否必定因此造成持续交感神经张力和血管紧张性的增加尚不清楚。Ⅰ、Ⅱ期 Buerger's 病患者血管尚未完全闭塞,有痉挛因素夹杂其中,SM 能去除血管的神经支配,解除痉挛,扩张血管,促进侧枝循环的建立。Ⅲ期患者,因为 Buerger's 病后期将累及整个血管神经束,血管壁交感神经发生退行性变和纤维化,已经失去神经支配,加上管腔完全闭塞,故 SM 无效。

参 考 文 献

[1] Singh K, Sood S. Autonomic functions in Buerger's disease[J]. Indian - J - Physiol - Pharmacol, 2001; 45(4): 470 - 474.

[2] Van Damme H, De - Leval L, Creemers E, et al. Thrombangiitis obliterans(Buerger's disease): still a limb threatening disease[J]. Acta - Chir. Belg, 1997; 97(5): 229 - 363.

[3] Lau H, Cheng SW. Buerget's disease in Hong Kong: a review of 89 cases[J]. Aust - N - Z - J - Surg, 1997; 67(5): 264 - 269.

[4] Yamamoto K, Iwase S, Mano T, et al. Muscle sympathetic outflow in Buerger's disease[J]. J - Auton - Nerv - Syst, 1993; 44(1): 67 - 75.

[5] 兰锡纯,主编. 心脏血管外科学[M]. 北京:人民卫生出版社,1984;392 - 393.

[6] 石美鑫,张延龄,主编. 现代外科学[M]. 上海:复旦大学出版社,2002,1098.

[7] 林勇杰,吕伟明,谭 最. 血栓闭塞性脉管炎外科治疗几种术式疗效评价[J]. 中国实用外科杂志,1998,18(9):533 - 535.

[8] Nakajima N. The change in concept and surgical treatment on Buerger's disease - personal experience and review[J]. Int - J - Cardiol, 1998, 66 Suppl 1: S273 - 280.

[9] Gordon A, Zechmeiste K, Collin J. The role of sympathectomy in current surgical practice[J]. Eur - J - Vasc - Surg, 1994, 8(2): 129 - 137.

(上接第 137 页)

[2] 张秀华,黄宇光,任洪智. 艾司洛尔在嗜铬细胞瘤手术中控制心率的初步观察[J]. 临床麻醉学杂志,1997;13(6):362 - 363.

[3] 顾尔伟,刘学胜,张 野,等. 硝普钠、艾司洛尔用于嗜铬细胞瘤手术病人的血流动力学观察[J]. 中华麻醉学杂志,2004;24(2):152 - 154.

[4] Resmonts JM, et al. Anesthetic management of patients with pheochromocytoma[J]. Birt J Aneth, 1984; 56: 781.

[5] Colson P, et al. Ann Fr Anaesth Reanim 1991; 10: 456.

[6] 王明德,朱新侠. 嗜铬细胞瘤的研究进展[J]. 国外医学麻醉学与复苏分册,1993;14(60):340.