DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.17.011
第26卷第17期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 17
1536 2004年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2004

论著

文章编号:1000-5404(2004)17-1536-03

大鼠脑出血后继发性脑损害过程中血肿周边神经肽Y含量的变化

许志强,蒋晓江,王景周,陈曼娥 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所神经内科,重庆 400042)

提 要:目的 观察脑出血急性期血肿周边脑组织神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)含量的动态变化,探讨NPY在脑出血后继发性脑损害中的作用。方法 Wistar大鼠70只,采用抽签法分为手术组及假手术对照组,每组各35只,每组按出血前,出血后30 min、6、12、24、48、72 h分为7组,每小组5只。采用胶原酶和肝素联合注入尾状核的方法建立大鼠脑出血模型,分别于上述各个时相点测定血肿周边NPY的含量、脑含水量。结果 脑出血后6 h血肿周边脑组织NPY的含量开始升高,并于24 h达峰值,48 h开始回落,但至72 h NPY的含量仍显著高于出血前($P<0.01$)。与此同时,血肿周边脑组织含水量也同步升高。结论 脑出血过程中,血肿周边脑组织NPY活性增强可能是血肿周边脑水肿和继发性脑损害的重要因素之一。

关键词:脑出血;神经肽Y;血肿周边;脑水肿
中图法分类号:R741.02;R742;R743.34 文献标识码:A

Changes of neuropeptide Y activities in perihematoma tissue during secondary brain damage in rats with intracerebral hemorrhage

XU Zhi-qiang, JIANG Xiao-jiang, WANG Jing-zhou, CHEN Man-e (Department of Neurology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To observe the dynamic changes of neuropeptide Y (NPY) in perihematoma during acute experimental intracerebral hemorrhage (ICH) and to investigate the roles of NPY in secondary brain damage. Methods A total of 70 Wistar rats were randomized into two groups: control group ($n=35$) and ICH group ($n=35$). Each group was subdivided into 7 groups at preoperative and postoperative 0.5, 6, 12, 24, 48, and 72 h ($n=5$ in each group), respectively. The ICH model was established by injecting collagenase and heparin into the rat caudate nucleus. The changes of NPY and cerebral water contents in perihematoma were observed at preoperative and postoperative 0.5, 6, 12, 24, 48, and 72 h, respectively. NPY contents were determined by radio-immunoassay and cerebral water contents by dry/wet weighing method. Results NPY activity and cerebral water content in perihematoma increased synchronously at 6 h, and peaked at 24 h, and then began to reduce at 48 h, and were still higher at 72 h after ICH than those before hemorrhage ($P<0.01$). Conclusion NPY may play an important role in the pathogenesis of secondary brain damage during cerebral hemorrhage.

Key words: cerebral hemorrhage; neuropeptide Y; perihematoma; cerebral edema

脑出血病死率、致残率均较高。研究表明,脑组织的继发性损害是影响患者预后的主要原因之一,也是新近研究的热点,但有关脑出血脑组织继发性损害的病理生理机制尚未完全阐明[1]。本实验动态观测了脑出血过程中血肿周边神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)活性和脑含水量的变化,并探讨NPY在脑出血血肿周边继发性损害中的作用。

基金项目:重庆市卫生局资助重点项目(00-1007)
Supported by the Foundation for the Key Scientific Research Project of Bureau of Public Health of Chongqing (00-1007)

作者简介:许志强(1970-),男,福建省泉州市人,硕士研究生,主治医师,讲师,主要从事脑-内脏联合征方面的研究。电话:(023)68757863, E-mail:xzq70@hotmail.com

收稿日期:2003-10-16;修回日期:2004-06-14

1 资料与方法

1.1 实验动物

实验动物选用健康Wistar大鼠70只,雌雄不拘,体质量250~300 g,实验动物采用抽签法分为脑出血组和假手术对照组,每组35只,2组动物再抽签法分为术前、术后0.5、6、12、24、48、72 h 7个时相点,每个时相点5只动物,各组间鼠龄、性别、体质量无统计学差异。动物由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供。胶原酶(Ⅶ-S型)由美国Sigma公司提供,NPY放免药盒由解放军总院东亚免疫技术研究所提供。

1.2 大鼠脑出血动物模型的复制

按文献[2]介绍的方法即选用胶原酶加肝素联合注射复制脑出血动物模型。大鼠用0.3%戊巴比妥钠30 mg/kg腹腔注射麻醉后,俯卧位固定于脑立体定位仪上。取头皮正中切口,骨膜剥离器剥离骨膜,暴露前囟及冠状缝,选择注射点为右侧尾

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

状核(AP1/RAT3/DV5, 按照 Paxinos 和 Watson 的方法), 牙科钻钻孔, 注射胶原酶＋肝素, 剂量选用含胶原酶(1 U/μl)和肝素(7 U/μl)的生理盐水 1 μl。对照组改注射等量生理盐水。注药后留针 5 min, 退针缝合头皮, 术后观察神经症状及体征, 根据不同时相点处死动物。模型成功的评分判断, 根据 Zea-Longa 等[3]的评定方法分为 5 级。0 级: 正常活动, 无神经功能缺损伤; 1 级: 将大鼠尾巴提起, 瘫痪侧前肢不能充分伸展; 2 级: 大鼠有向瘫痪侧侧旋的行为; 3 级: 向瘫痪侧倾倒; 4 级: 无自发行走, 有意识障碍。

1.3　脑组织含水量的测定

大鼠处死后断头取脑, 从每只大鼠右基底节区分离出血肿周边脑组织(对照组为右基底节区), 大小约 1 mm×1 mm×1 mm, 每块组织称取湿质量(wet weight, WW)后, 在 100 ℃干燥冰箱中烘干 24 h, 称取干质量(dry weight, DW), 脑含水量为: (WW-DW)/WW×100%。

1.4　放射免疫法测定脑组织 NPY 的含量

大鼠处死后断头取脑, 在沸生理盐水中煮 5 min, 以灭活酶, 保持肽的稳定性。分离出血肿周边脑组织(对照组为右基底节区)并称重, 用 0.05 mol/L (pH 8.6)巴比妥 HCl 缓冲液(内含 1 g/L BSA, NaN_3 1 g/L, 0.1 Triton X-100)制成 1∶10 匀浆。4 000 r/min 离心 10 min 后取上清液待测。NPY 的放射免疫测定程序严格按放免药盒说明书进行: 取出样品 200 μl, 加入正常血清 100 μl, 摇匀后 4 ℃放置 48 h。加入 ^{125}I NPY 100 μl, 摇匀后 4 ℃放置 24 h。加入 PR 试剂 500 μl, 摇匀, 室温放置 20 min。4 ℃ 3 500 r/min 离心 25 min, 立即吸弃上清液, 在 γ-自动计数器上进行放射活性闪烁计数, 并根据有关参数, 绘制标准曲线, 算出样品浓度。

1.5　蛋白质定量

采用考马斯亮蓝法。

1.6　统计学处理

各项指标采用 $\bar{x}\pm s$ 表示。所有数据采用 Microsoft Excel 数据统计程序进行双因素方差分析。

2　结果

2.1　血肿大体形态

脑出血组血肿的大小有其一定规律, 大体形态观察显示造型后 30 min 针道有少量渗血, 但无血肿形成; 术后 3～6 h 有小血肿形成, 直径 1～2 mm; 术后 24 h 形成明显的血肿, 直径 3～4 mm, 周围组织肿胀明显; 48 h 后血肿无继续增大的现象。对照组各时相均无血肿形成。

2.2　大鼠脑出血过程中血肿周边 NPY 活性变化

脑出血后 30 min 血肿周边 NPY 活性虽有升高趋势, 但与对照组及术前比较均无显著差异($P>0.05$)。出血后 6 h 开始显著升高($P<0.01$), 24 h 达峰值($P<0.01$), 48～72 h 开始回落, 但仍显著高于出血前($P<0.01$)(表 1)。

2.3　大鼠脑出血过程中脑组织含水量的变化

脑出血后 30 min 血肿周边脑组织含水量与对照组及术前比较均无显著差异($P>0.05$)。出血后 6 h 脑组织含水量开始显著升高($P<0.01$), 24 h 达峰值($P<0.01$), 48 h 开始回落。但至 72 h 仍显著高于出血前($P<0.01$)(表 2)。

表 1　血肿周边 NPY 活性的变化(μg/g, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Changes of NPY activities in perihematoma tissues (μg/g, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	Pre-operation	Post-operation (h)					
			0.5	6	12	24	48	72
Control	5	1.46±0.09	1.44±0.10	1.44±0.18	1.45±0.16	1.48±0.11	1.47±0.20	1.45±0.13
Hemorrhage	5	1.50±0.10	1.55±0.16	2.07±0.10##△△	3.45±0.17##△△	4.37±0.14##△△	3.84±0.15##△△	3.68±0.16##△△

##: $P<0.01$, *vs* pre-operation; △△: $P<0.01$, *vs* control

表 2　脑组织含水量的变化(%, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Changes of water content in cerebral tissues (%, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	Pre-operation	Post-operation (h)					
			0.5	6	12	24	48	72
Control	5	79.87±1.17	80.21±1.11	80.08±1.04	79.92±1.21	79.86±1.16	80.15±1.32	80.33±1.46
Hemorrhage	5	80.14±1.2	80.63±1.05	82.35±1.15##△△	83.05±1.03##△△	83.42±1.37##△△	83.13±1.22##△△	81.26±1.21##△△

##: $P<0.01$, *vs* pre-operation; △△: $P<0.01$, *vs* control

3　讨论

脑出血病死率及致残率均较高的卒中类型, 其原因在于脑出血后脑组织损伤机制不清, 缺乏有效的治疗手段。尽管外科手术有较快的发展, 但相关研究证实外科血肿清除术在神经功能恢复及降低病死率方面与保守治疗无显著性差异[4], 说明血肿压迫不是脑出血后脑损害的惟一因素。近几年来, 脑出血后血肿周围脑组织发生的脑水肿、脑血流代谢及生化改变、细胞死亡等一系列病理生理变化, 日益引起研究者的重视。大鼠实验性脑出血的研究表明, 出血后 4 h 血肿周围及远隔区域均出现明显脑水肿, 并呈渐进性增加于 24 h 达高峰[1]。我们的实验结果表明, 大鼠脑出血不同阶段脑含水量变化有其自身的规律: 造型后 6 h 血肿周边脑含水量和 NPY 活性开始同步升高, 在出血后 24 h 达峰值, 出血后 48 h 脑含水量逐渐呈下降趋势,

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

但至出血后72 h仍有明显水肿。可见,NPY可能是脑出血后脑水肿形成及继发性脑损害的重要因素之一。

NPY是一种含有36个氨基酸的多肽,广泛分布于中枢神经系统和外周多种组织器官中,作用广泛[5]。随着分子生物学的发展,其在神经系统中的作用已广泛受到重视。NPY参与脑出血继发性脑损害的机制尚不完全清楚,可能有:①NPY是目前公认缩血管活性较强的肽类物质之一,NPY的异常升高可使出病灶周边脑组织供应血管和侧枝循环收缩,脑血管阻力增加,病灶区脑灌流量减少而进一步加重脑缺血、缺氧和脑水肿[6],并形成恶性循环;②NPY与Y2受体结合后,激活抑制性蛋白亚型(Gi蛋白),后者与GTP结合,抑制腺苷酸环化酶的活性,使胞内环磷酸腺苷生成减少,导致神经细胞能量代谢障碍,从而加重脑组织的缺血、缺氧;③NPY具有调节下丘脑激素分泌的作用,NPY能够促进CRH的分泌,最终使血浆皮质醇增加,一方面造成钠水潴留及水电解质紊乱,从而加重脑水肿,另一方面皮质醇本身具有神经毒性作用,它可影响葡萄糖转运及谷氨酸的摄取,对神经功能的恢复不利[7]。

脑出血后局部脑组织NPY异常升高机制不甚清楚。林敬明等[8]实验结果显示蛛网膜下腔出血(SAH)后脑组织NPYmRNA水平明显升高,由此推测脑出血后脑组织NPY活性增强的重要因素之一可能是局部神经元合成所致。此外,我们认为脑组织局部NPY活性增强可能还与受损神经元崩解释放以及血浆渗出等因素有关。

参考文献:

[1] Mayer S A, Lignelli A, Fink M E, *et al*. Perilesional blood flow and edema formation in acute intracerebral hemorrhage: a spect study[J]. Stroke, 1998, 29(9): 1791-1798.

[2] 许志强, 陈曼娥, 蒋晓江. 脑出血大鼠心脏的应变效应[J]. 中国急救医学, 2001, 21(6): 321-322.

[3] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, *et al*. Reversible middle cerebral artery occulusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.

[4] Yu Y L, Kumana C R, Lauder I J, *et al*. Treatment of acute cerebral hemorrhage with intravenous glycerol. A double-blind, placebo-controlled, randomized trial[J]. Stroke, 1992, 23(7): 967-971.

[5] Balasubramaniam A. Clinical potentials of neuropeptide Y family of hormones[J]. Am J Surg, 2002, 183(4): 430-434.

[6] Chen S H, Cheung R T. Intracerebroventricular injection of a neuropeptide Y-Y1 receptor agonist increases while BIBP3226, a Y1 antagonist, reduces the infarct volume following transient middle cerebral artery occlusion in rats[J]. Neuroscience, 2003, 116(1): 119-126.

[7] Fassbender K, Schmidt R, Mossner R, *et al*. Pattern of activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in acute stroke. Relation to acute confusional state, extent of brain damage, and clinical outcome[J]. Stroke, 1994, 25(6): 1105-1108.

[8] 林敬明, 杨卫红, 杨金星, 等. 蛛网膜下腔出血大鼠模型脑组织中神经肽YmRNA表达的变化[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(9): 779-781.

(编辑 汪勤俭)

(上接1535页)

不便的病人提供了方便。门诊大厅入口处,专门设立了便民轮椅服务,由指定专人为老弱病残病人提供免费服务。同时,进行分楼层、分科挂号,对来院就诊的病人进行多向分流,避免了挂号收费拥挤、排长队的现象。在专家门诊实行电话预约服务,方便疑难病症和边远地区的病人,为他们节约了时间和金钱。提供免费开水服务。开设便民门诊,为开药、开检查单的病人提供方便。派专人送血,病人可直接等候取报告单,极大地方便了病人。

2.2 夜间门诊

无论双休日、节假日,门诊都按正常时间开诊。针对病人就诊的需要,我院晚上开设了夜间门诊(西南地区首家),为上班族和白天看病不方便的病人提供及时的服务,使病人看病有合理的时间。

2.3 门诊值班主任

在门诊大厅设立门诊值班主任,为病人提供咨询服务,解决疑难及投诉,对突发事件进行及时解决处理,防止矛盾激化。

2.4 星级服务

在门诊大楼外建有休闲广场,设有音乐喷泉,门诊大厅、走廊、候诊厅等多处摆放鲜花、绿色植物,为就医创造良好的氛围。按照星级宾馆服务方式,24 h有专人保洁,确保了清爽、整洁。

3 门诊就医人性化服务的保证

经过1年多人性化服务改进后,调查满意率达98.5%以上。我们体会到,门诊人性化服务最根本体现在就医质量上,解决病人疾病才是人性化服务的根本保证。了解病人的心理,理解病人的心情,尊重病人的合法权益,对病人给予更多的体贴和关心,人性化情感的服务意识,必将密切医患关系。医院的生存发展,就要为病人提供更好的技术服务,使病人不仅感受医生、护士对他们关怀体贴,而且真正感受到医护人员给他们提供的一流服务。为此,加强医护人员业务知识的学习,提高医疗技术水平和文化修养素质,在就医中赢得病人,真正从医疗技术等全方位体现对病人的人性化服务。

关键词:医院门诊;人性化服务
中图法分类号:R197.32 文献标识码:B

参考文献:

[1] 顾华宁, 母泽林. 现代医院文化新的人性化服务[J]. 解放军医院管理杂志, 2003, 10(6): 589-590.

(编辑 陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net