DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.09.007
第25卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 9
760 2003年5月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE May. 2003

论著

文章编号:1000-5404(2003)09-0760-03

次声作用下SD大鼠视网膜内皮素的动态表达

王建洲,曹 燕,惠延年,马吉献,邱 萍 (第四军医大学西京医院眼科,西安 710032)

提 要:目的 探讨内皮素在次声作用大鼠视网膜的动态表达。方法 雄性SD大鼠放入次声舱,经16 Hz、130 dB作用2 h,1次/d,分别于1、7、14、21 d处死动物,取眼球作成病理切片。用免疫组化的方法,以未经次声作用的雄性SD大鼠作为对照,检测不同病理时期内皮素的不同表达部位。结果 次声作用1 d和对照组表现相似,均弱表达在视网膜和脉络膜血管;次声连续作用7、14、21 d后,内皮素阳性表达部位明显变化;7 d主要表达在视网膜的外段,而14 d主要表达在内段,内核层和节细胞层阳性表达加强;21 d视网膜各层表达下降。随着次声作用时间的延长,视网膜组织表现由外段向内段的损害。结论 次声作用于视网膜后,内皮素表达在损伤部位的早期,可能为对损伤的一种修复反应。

关键词:次声;内皮素;视网膜;免疫组化
中图法分类号:R318.03;R322.91;R774 文献标识码:A

The dynamic expression of ET-1 in retina of Sprague-Dawley rats after exposure to infrasound

WANG Jian-zhou, CAO Yan, HUI Yan-nian, MA Ji-xian, QIU Ping (Department of Ophthalmology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China)

Abstract: Objective To explore the dynamic expression of endothelin-1 (ET-1) in retina of Sprague-Dawley rats after exposure to infrasound. Methods Male Sprague-Dawley rats were exposed to infrasound of 16 Hz ~130 dB for 2 h everyday. The rats were sacrificed after exposure for 1, 7, 14 and 21 d respectively. The expression of ET-1 was detected by immunohistochemistry. Results The expression of ET1 in retina changed after exposure for 7, 14 and 21 d. ET-1 was expressed mainly in outer retinal segment (ORS) after 7 d and in inter retinal segment (IRS) after 14 d. With the elongation of the time of exposure to infrasound, the injury in retina gradually extended from ORS to IRS. The expression of ET-1 of retina was up-regulated after exposure to infrasound and changes related to the position of infrasonic injury were found. Conclusion ET-1, as a kind of reaction to infrasonic injury, is of protective effect on the retina.

Key words: infrasound; endothelin; retina; immunohistochemistry

次声是一种广泛存在于周围环境、频率为0.000 1~20 Hz的不可听到的声波,可引起多种生物学效应[1~3]。内皮素(Endothelin, ET)是一种神经修复因子,在视神经损伤中表达增强[4]。但在视网膜次声损伤的作用却未见报道。本研究讨论内皮素在视网膜组织次声损害中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

雄性SD大鼠25只,体质量200~250 g,随机分为5组,每组5只,对照组不进行次声作用,实验组每日放于次声舱中以16 Hz,130 dB作用2 h,分别于1、7、14、21 d处死动物,摘取眼球,用40 g·L^{-1}多聚甲醛固定30 min,4 ℃。经脱水、透明和浸蜡,制成5 mm厚的切片,贴附于用多聚赖氨酸涂片的玻片上。次声压力舱及次声测量系统系本校西京医院与中国科学院声学所及航天工业总公司第41所协作研建。

1.2 方法

①抗体和试剂:ET-1兔抗鼠单克隆抗体、S-ABC试剂盒、DAB试剂盒(均为博士德公司提供)。②免疫组织化学染色:切片浸入7.5 ml/L H_2O_2-PBS,37 ℃,30 min,封闭内源性过氧化物酶;正常羊血清封闭消除非特异性染色;滴加ET-1兔抗鼠单克隆抗体(1∶200),湿盒4 ℃过夜,漂洗5 min×3次;滴加生物素化鼠抗兔IgG(1∶200),湿盒37 ℃孵育30 min;滴加SABC复合物,37 ℃孵育30 min;DAB显色,显微镜下观察,水洗中止反应;苏木精复染,脱水,透明,封固。以未经次声作用的SD大鼠的视网膜作为对照,并设有PBS替代第一抗体的空白对照和正常羊血清替代一抗的替代对照。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39900162)
作者简介:王建洲(1964-),男,河北省定州市人,硕士研究生,医师,主要从事视网膜脱落和眼外伤方面的研究。电话:(029)3375377
收稿日期:2002-12-20;修回日期:2003-02-28

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

2　结果

以未经次声作用的雄性 SD 大鼠的视网膜作为对照, ET-1 主要弱表达在视网膜血管和脉络膜血管内皮, 单层视网膜色素上皮细胞无表达, 核呈圆形。视网膜各层组织致密, 见图 1。次声 1 d 的大鼠视网膜病理切片染色无改变, 但 7 d 视网膜表现为视网膜色素细胞淡染, 核距扩大, 散在椭圆形核。在色素上皮和外核层之间, 出现了一个棕色带, 位置相当于视杆与视锥层的外节, 见图 2。14 d 视网膜色素上皮层可见散在的梭形阳性细胞, 视杆与视锥层的外节棕色带消失代之以空泡; 外核层、外丛状层和内核层见较多的阳染细胞, 内丛状层阳染加重, 并可见少量空泡; 节细胞层阳性染色加强, 并可见大量阳性染色的细胞, 见图 3。到 21 d, 视网膜各层阳性染色变淡或消失, 代之以内丛状层空泡增多, 视网膜色素上皮细胞核梭形改变明显, 但仍有阳性染色; 节细胞层细胞稀少并有空泡; 与对照组相比视网膜各层结构松散, 见图 4。

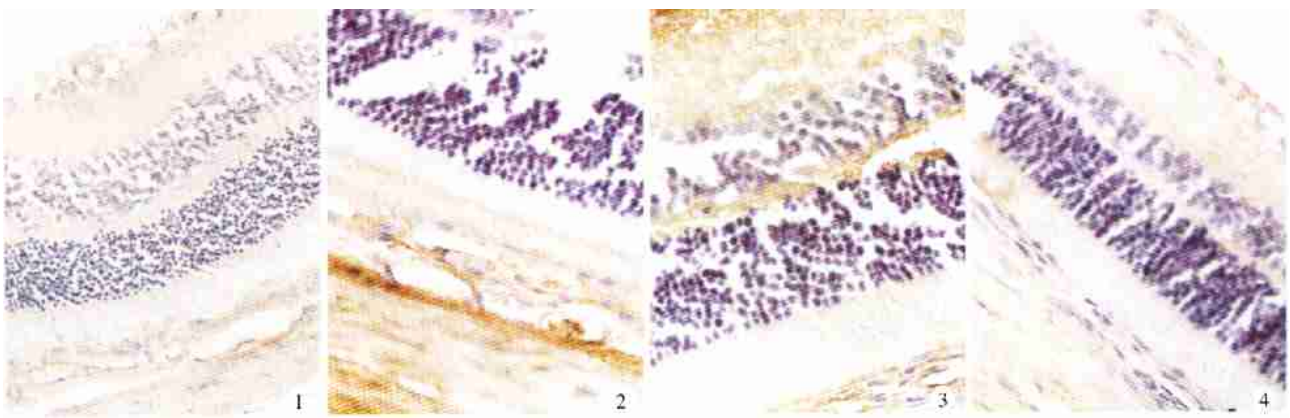


图 1　未经次声作用的 SD 大鼠视网膜　(SABC× 200)

Fig 1　The retina of SD rat without exposure to infrasound　(SABC× 200)

图 2　次声作用 7 d 的 SD 大鼠视网膜　(SABC× 400)

Fig 2　The retina of SD rat exposed to infrasound for 7 d　(SABC× 400)

图 3　次声作用 14 d 的 SD 大鼠视网膜　(SABC× 400)

Fig 3　The retina of SD rat exposed to infrasound for 14 d　(SABC× 400)

图 4　次声作用 21 d 的 SD 大鼠视网膜　(SABC× 400)

Fig 4　The retina of SD rat exposed to infrasound for 21 d　(SABC× 400)

3　讨论

次声主要是以其特殊的生物共振效应造成机体损伤, 次声作用后可引起中枢神经系统功能紊乱和结构损伤, 神经元可出现核形态及神经纤维突起改变, 有神经元死亡及小胶质细胞浸润等。在次声一定强度范围内, 频率越高, 生物效应越明显。声压级大于 120 dB 时反应阳性神经元明显增多, 而且 16 Hz 次声对脑的作用效应大于 8 Hz 次声[5]。邱萍等[6]用 8 Hz、130 dB 次声对 SD 大鼠的视电生理检测发现, ERG-a 波、b 波振幅下降, ΣOPs 的振幅随着次声暴露时间的延长, 振幅下降随之增多。

内皮素由 21 个氨基酸残基组成, 与蛇神经毒素有相类似区域, 因此与神经系统关系密切, ET-1 是其同源异构体之一[7]。内皮素在视网膜主要存在于血管中。在很多眼病, 内皮素分布的浓度随各种眼病和组织损伤而有变化[8,9]。内皮素是一种神经修复因子。Udono 等[10]的视网膜色素上皮细胞体外培养, 在缺氧时, 视网膜色素细胞分泌内皮素。Miyata[11]的体外实验证明 ET-1 通过受体有效地抑制了由肾上腺素诱导的垂体细胞向星状细胞转化; Rogers 等[4]的研究发现, 损伤后兔和鼠中枢的胶质细胞的 ETB(Endothelin B)受体浓度明显增多。作为对神经损伤的反应, ET 受体可调节胶质细胞的增殖和胶质细胞释放神经营养因子, 说明 ET 对神经系统的稳定有促进作用。

从本实验结果可以看出, 在未经次声作用的 SD 大鼠, 内皮素主要弱表达在视网膜血管组织。次声作用后, 内皮素在视网膜各层开始表达, 并随着作用的时间和组织的损害而发生改变。提示内皮素伴随损伤而诱导和分泌, 随着损伤的加重在同一组织中表达下降, 可能与其神经保护作用相关。

参考文献:

[1] Cui F, Ren Y S, Li L, *et al*. Effects of 8 Hz infrasound with different intensity on glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities and madlondialdehyde contents in rats[J]. J Fourth Mil Med Univ, 1999, 20(9): 743－744.

[2] Zhang J B, Jia K Y, Li L, *et al*. Infrasound changes hemorheological performance in rats[J]. J Fourth Mil Med Univ, 2001, 22(5): 465－467.

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

[3] Fei Z, Zhang X, Wang X F, *et al*. The changes and significance of blood-brain barrier permeability after infrasound damage in rats[J]. J Fourth Mil Med Univ, 1999, 20(8): 678—780
[4] Rogers S D, Demaster E, Catton M, *et al*. Expression of endothelin-B receptors by glia *in vivo* is increased after CNS injury in rats, rabbits, and humans[J]. Exp Neurol, 1997, 145(1): 180—195
[5] Fu G Y, Chen J Z, Jia K Y. Changes of glutamate in brain of rats exposed to infrasound[J]. J Fourth Mil Med Univ, 1999, 20(4): 288—290
[6] Qiu P, Guo S Y, Zhang Z M, *et al*. Effect of infrasound on ocular electrophysiology of rats[J]. J Fourth Mil Med Univ, 1999, 20(7): 583—586.
[7] Bhatt A D. Endothelins and anti-endothelins[J]. Curr Pharm Des, 2001, 7(6): 461—474.
[8] Wollensak G, Schaefer H E, Ihling C. An immunohistochemical study of endothelin-1 in the human eye[J]. Curr Eye Res, 1998, 17(5): 541—545.
[9] Deng D, Evans T, Mukherjee K, *et al*. Diabetes-induced vascular dysfunction in the retina: role of endothelins[J]. Diabetologia, 1999, 42(10): 1228—1234.
[10] Udono T, Takahashi K, Nakayama M, *et al*. Induction of adrenomedullin by hypoxia in cultured retinal pigment epithelial cells[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001, 42(5): 1080—1086
[11] Miyata S, Furuya K, Nakai S, *et al*. Morphological plasticity and rearrangement of cytoskeletons in pituicytes cultured from adult rat neurohypophysis[J]. Neurosci Res, 1999, 33(4): 299—306

（编辑 郭建秀）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2003)09-0762-01

心脏瓣膜置换术后 PT INR 测定监测口服抗凝剂的研究

Research of PT INR assay during monitoring oral anticoagulants after cardiac valve replacement

张晓兵[1]，郭 辉[1]，刘泽军[1]，颜 坤[2]（第三军医大学附属西南医院：[1]检验科，[2]胸心外科，重庆 400038）

心脏瓣膜置换术后的患者需要终身服用抗凝剂华法林，以预防血栓栓塞性疾病的发生。华法林使用原则是要在实验室监测下服用。监测指标是血浆凝血酶原时间（Prothrombin time, PT），经验认为，华法林的合适用量应当是病人 PT 为正常对照的1.5～2.5倍。由于实验室使用设备和 PT 试剂质量的不同，使得患者在不同医院测定的结果相差悬殊，给治疗带来极大的混乱。近年来均采用国际标准化比值（Intertional normalized ratio, INR），可避免由于试剂上的差异带来的检测结果的差异[1]。为此，该研究对我院收治的心脏瓣膜置换的患者服用华法林和 PT 监测的情况进行了总结，现报告如下。

1 资料和方法

所有病例均选择于在我院手术并长期随访治疗的风湿性心脏瓣膜病的患者 108 例。均使用机械型瓣膜。男性 37 例，女性 71 例，年龄 19～72 岁，手术后治疗时间 0.5～4 年。所有病例都是经过 4 周左右时间调整，华法林治疗进入维持阶段的患者。服用华法林维持剂量为 0.6～10.0 mg/d。上述患者临床上无血栓栓塞形成的迹象和无出血倾向，为药物剂量使用合适者。

PT 测定使用法国 Stago 公司生产的进口试剂，国际敏感指数（International sensitivity index, ISI）为 1.3。使用仪器为法国 Stago 公司生产的 STA Compact 型，采用凝固法（磁珠法）进行测定。参比血浆由该公司提供。

PT INR 允许范围的确定是据临床情况而定：①抗凝药进入维持服用期；②临床上无栓塞现象；③临床上无出血倾向；④临床上无肝脏功能损害。此时所检测的 PT INR 值，称为 PT INR 允许范围。

统计学处理：不同组别之间的数据采用 t 检验。

2 结果

2.1 不同性别和年龄组患者治疗中 PT INR 值的比较

女性患者 PT INR 允许范围要比男性患者小（$P<0.01$），但不同年龄组间无显著性差异（$P>0.05$），见表 1。

表 1 性别、年龄对 PT INR 允许范围的影响（$\bar{x}\pm s$）

组 别		n	PT INR 允许范围
性别	男性	37	1.96±0.56*
	女性	71	1.81±0.59
年龄	≤35 岁	38	1.94±0.59
	36～54 岁	56	1.92±0.57
	≥55 岁	14	1.83±0.52

*：$P<0.01$ 与女性相比较

2.2 瓣膜置换术后病程与华法林用量及 PT 结果的比较

见表 2。

表 2 病程对华法林用量和 PT 的影响（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	华法林用量(mg/d)	PT INR 允许范围	PT 时间(s)
<1 年	58	3.32±0.98	1.85±0.62	19.68±4.36
～2 年	38	3.53±1.26	1.90±0.58	19.93±4.53
～4 年	12	3.96±2.89	2.04±0.66	20.65±5.64

作者简介：张晓兵（1973—），男，四川省宣汉市人，硕士，医师，主要从事甲基化方面的研究。电话：(023)65460802

收稿日期：2002-04-09；修回日期：2002-12-25

（下转 766 页）

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