DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.04.013
第25卷第4期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 4
2003年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2003

文章编号:1000-5404(2003)04-0309-03

论著

坐骨神经火器伤后神经元凋亡与脂质过氧化反应

周 萍,王建民,王贵波,陈志强,张良潮 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所分子生物学中心,重庆 400042)

提 要:目的 了解火器性周围神经损伤后神经元凋亡与脂质过氧化反应的关系。方法 采用火器性坐骨神经损伤模型,通过流式细胞仪检测神经损伤后脊髓细胞凋亡,通过丙二醛(MDA)含量与超氧化物歧化酶(SOD)活性检测脊髓组织的脂质过氧化反应。结果 伤后1、3 d、1、2周的凋亡细胞百分比分别为1.4%、2.7%、7.8%、4.4%;火器性神经损伤后1 d SOD即有明显增高,至2周左右达最高峰。MDA则在伤后2周内呈持续性增高的趋势。结论 火器性坐骨神经伤后的脂质过氧化反应是神经元凋亡的重要原因之一。

关键词:周围神经损伤;细胞凋亡;脂质过氧化反应
中图法分类号:R329.28;R651.3;R826.5 文献标识码:A

Neuronal apoptosis and lipid peroxidation after sciatic nerve injury caused by firearm

ZHOU Ping, WANG Jian-min, WANG Gui-bo, CHEN Zhi-qiang, ZHANG Liang-chao (Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To study the relation between neuronal apoptosis and lipid peroxidation after sciatic nerve injury caused by firearm. Methods In the model of sciatic nerve injury caused by firearm, the apoptosis of the neurons in injured spinal cord were detected by using flow cytometer, and the content of malondialdehyde (MDA) and the activity of superoxide dismufase (SOD) were determined by using biochemical analysis. Results The percent of apoptotic cells on day 1, day 3, week 1 and week 2 after nerve injury were 1.4%, 2.7%, 7.8% and 4.4% respectively. The activity of SOD obviously increased on the first day after nerve injury and the content of MDA also increased during 2 weeks after nerve injury. Conclusion The lipid peroxidation after sciatic never injury caused by firearm is one of the important factors for neuronal apoptosis.

Key words: peripheral nerve injury; apoptosis; lipid peroxidation

周围神经损伤后的神经元凋亡是影响周围神经修复的重要因素之一,其发生机制十分复杂[1]。它与基因调控、神经营养因子、脂质过氧化反应等因素密切相关[2~4]。火器性周围神经损伤后,神经元的凋亡发生早并且更加广泛,其发生机制尚缺乏探讨。本研究采用火器性坐骨神经损伤模型,通过流式细胞仪检测了神经损伤后脊髓细胞凋亡,通过丙二醛(MDA)含量与超氧化物歧化酶(SOD)活性检测了脊髓组织的脂质过氧化反应,并分析了火器性坐骨神经伤后神经元凋亡与脂质过氧化反应的关系。旨在探讨火器性周围神经损伤后脊髓神经元凋亡的发生机制,提高火器性周围神经损伤后神经修复的水平。

1 材料与方法

1.1 动物致伤分组

新西兰大耳白兔35只,随机分为正常对照及伤后1、3 d、1、2、4、12周共7组,每组5只。

1.2 致伤方法

3%戊巴比妥钠(1 ml/kg)耳缘静脉麻醉,仰卧固定于致伤架上,53式7.62 mm滑膛枪发射装药量为0.65 g的0.38 g钢珠致伤,射距6米。靶点为右大腿外侧,坐骨神经体表投影线中点。

1.3 检测指标

1.3.1 流式细胞仪细胞凋亡检测 各组实验结束后,取L_3-L_6腰段脊髓,用0.05%胰酶及0.02% EDTA液消化,收集细胞,磷酸盐缓冲液(PBS)洗两遍,于1 500 r/min离心5 min,弃上清液后,用75%酒精滴注固定细胞,放入4℃冰箱中储存待检。用碘化丙锭(Propidium, PI)进行标本染色10 min后,上机检测。

1.3.2 MDA含量、SOD活性测定 取L_3~L_6腰段脊髓加适量生理盐水制成10%组织浆液,参照试剂盒说明书检测脂质过氧化物的反应产物丙二醛(Malonadialdehyde, MDA)(北京邦定泰克生物公司)以及超氧化物歧化酶(Supevoxide dismufase, SOD)的活性。

1.4 统计分析

所有数据以$\bar{x} \pm s$表示,采用SPSS 8.0统计程序进行方差齐性分析,相关检验及t检验。

2 结果

2.1 致伤参数及伤后处理

钢珠撞击兔肢体的入口速度为(939.8±16.0) m/s、出口速

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目("973"项目)(G1999054206)
作者简介:周 萍(1964-),女,四川省德阳市人,主管实验师,主要从事病理、流式细胞和分子生物学方面研究,发表论文8篇。电话:(023)68757465
收稿日期:2002-08-27;修回日期:2002-12-05

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

度为(676.6±14.0)m/s，传递能量为(80±8.5)J。伤后6 h清创处理，根据失血量经静脉补充相应量的生理盐水。

2.2 实验动物情况

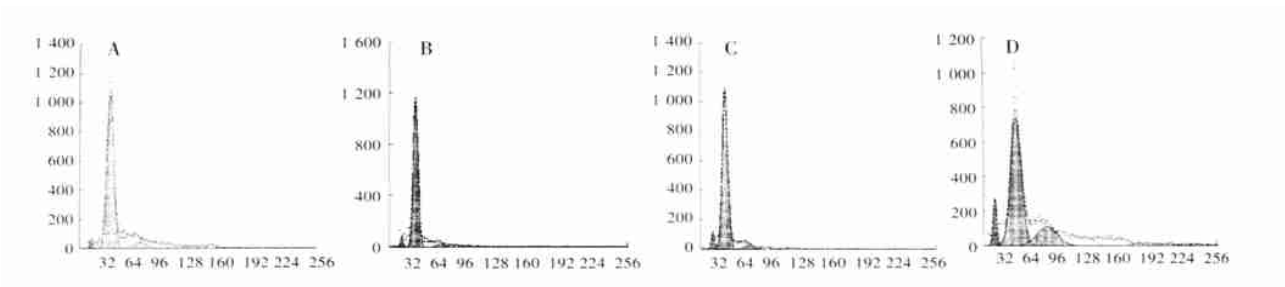
动物致伤后受损坐骨神经均位于伤道内，神经干连续；动物伤后精神饮食差，1～2周时伤道感染严重。予以对症处理。

2.3 细胞凋亡的流式细胞仪检测

对照组标本未见细胞凋亡峰出现。伤后不同时间的各组均出现明显的细胞凋亡峰，伤后1、3 d、1、2周的凋亡细胞百分比分别为1.4%、2.7%、7.8%、4.4%，见图1。

2.4 脊髓组织SOD活性与MDA含量的变化

正常脊髓组织SOD值为(179.8±20.7)U，MDA含量为(12.79±1.61)nmol/ml。火器性神经损伤后1 d，SOD即有明显增高，3 d左右有所下降，至2周左右达最高峰。MDA则在伤后呈持续性增高的趋势，同样在2周左右达高峰。结果见表1。



A: The first day after trauma; B: The third day after trauma; C: The seventh day after trauma; D: The fourteenth day after trauma

图1 火器性周围神经损伤后腰段脊髓细胞凋亡的流式细胞仪检测

Fig 1 The PMT4 analysis of cell apoptosis in lumbar spinal cord in different day after sciatic nerve caused by injury firearm

表1 坐骨神经损伤后腰段脊髓SOD活性和MDA含量的变化($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Tab 1 The change of SOD and MDA in lumbar spinal cord after sciatic nerve injury ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

	SOD activity (U/ml)	MDA content (nmol/ml)
Control	179.80±20.70	12.79±1.61
Time after trauma		
1 d	270.80±15.10*	8.10±1.27*
3 d	207.90±18.90	17.15±2.30*
1 week	226.40±17.20*	18.62±2.29*
2 week	342.60±11.00*	22.19±1.57*
4 week	182.80±24.20	11.04±1.65
12 week	186.50±21.00	13.41±2.06

*: $P<0.01$ *vs* Control

3 讨论

Terenghi[5]认为，周围神经损伤后的成功再生，涉及一系列复杂的病理生理过程，其中最主要的因素包括：①损伤神经元胞体的存活；②近端轴突的芽生与延伸；③再生轴突与相应的末梢靶器官突触联系的重建。在以上的因素中，Terenghi将损伤神经元胞体的存活列为第一点。那么，周围神经损伤后影响神经元胞体存活的主要因素又是什么呢？Bruck等[6]认为，周围神经损伤后神经元变性坏死的主要因素是细胞凋亡(Apoptosis)。关于神经元凋亡的原因，文献[2～4]报道主要有以下几种原因：①神经营养因子的缺乏；②凋亡诱导基因的启动；③脂质过氧化反应；④神经轴突与末梢靶器官突触联系的丢失。

火器性周围神经损伤后，胞体神经死亡的数量多，时间早，以至于神经再生困难。对其主要原因，尚缺乏研究。为此，我们通过流式细胞仪技术及丙二醛的检测，探讨周围神经损伤后神经元凋亡的诱导因素。结果显示，周围神经损伤后，脂质过氧化反应产物明显增多，并且与神经元凋亡的发生有良好的时相关系。

SOD和MDA分别是抗氧化和脂质过氧化反应的代谢产物。本研究中坐骨神经火器伤后1 d SOD反应性与MDA含量显著增加，MDA的含量升高说明脊髓发生了脂质过氧化反应，这期间正是本实验观察到的脊髓神经元凋亡变性发生的时间，因而可以推测脂质过氧化反应参与了坐骨神经伤后脊髓神经元的凋亡和变性。

脂质过氧化导致细胞凋亡的途径有多种[7,8]。脂质过氧化作用不仅把活性氧转化为活性化学剂，而且通过链式和链式支链反应，放大活性氧的作用。氧自由基与蛋白质、DNA和脂质体等反应，直接改变细胞内环境的稳定，使细胞内Ca^{2+}浓度超载，能量缺失，谷胱甘肽、还原型辅酶Ⅱ(NADPH)、蛋白巯基被氧化，从而导致细胞凋亡。氧自由基还可作用于细胞膜，诱发脂质过氧化，从而影响细胞信号传导系统，激发有关的调控基因导致细胞凋亡。

有人认为，当MDA低水平升高时，可导致细胞凋亡，而高水平升高时，氧化应激则导致细胞坏死[9]。本研究中MDA比正常组升高36%～74%，因而脊髓神经元发生了先凋亡，继而变性坏死的变化。而且相关统

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

计结果证实 MDA 含量变化和神经元及胶质细胞凋亡数量改变均呈正相关，故推测脂质过氧化反应可能是坐骨神经火器伤后神经细胞凋亡的发生机制之一。

参考文献：

[1] Lee S K, Wolfe S W. Peripheral nerve injury and repair[J]. J Am Acad Orthop Surg, 2000, 8(4): 243－252.

[2] Martin L J, Liu Z. Injury-induced spinal motor neuron apoptosis is preceded by DNA single-strand breaks and is p53- and Bax-dependent[J]. J Neurobiol, 2002, 50(3): 181－197.

[3] Kerr D A, Nery J P, Traystman R J, *et al*. Survival motor neuron protein modulates neuron-specific apoptosis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(24): 13312－13317.

[4] Martin L J, Kaiser A, Price A C. Motor neuron degeneration after sciatic nerve avulsion in adult rat evolves with oxidative stress and is apoptosis[J]. J Neurobiol, 1999, 40(2): 185－201.

[5] Terenghi G. Peripheral nerve injury and regeneration[J]. Histol Histopathol, 1995, 10(3): 709－718.

[6] Bruck Y, Bruck W, Kretzschmar H A, *et al*. Evidence for neuronal apoptosis in pontosubicular neuron necrosis[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 1996, 22(1): 23－29.

[7] Brzezinska S E, Pietras B. The protective role of some antioxidants and scavengers on the free radicals-induced inhibition of the liver iodothyronine 5′-monodeiodinase activity and thiols content[J]. J Physiol Pharmacol, 1997, 48(3): 451－459.

[8] Ghafourifar P, Schenk U, Klein S D, *et al*. Mitochondrial nitric-oxide synthase stimulation causes cytochrome c release from isolated mitochondria. Evidence for intramitochondrial peroxynitrite formation[J]. J Biol Chem, 1999, 274(44): 31185－31188.

[9] Kim Y H, Kim E Y, Gwag B J, *et al*. Zinc-induced cortical neuronal death with features of apoptosis and necrosis: mediation by free radicals[J]. Neuro science, 1999, 89(1): 175－182.

（编辑　张大春）

文章编号：1000-5404(2003)04-0311-01

个案与短篇

硝苯地平致可逆性窦性心动过速伴性功能障碍 1 例

A report of 1 case of reversal sinus tachycardia complicating sex disorders due to nifedipine

孙　勇，彭永富　（第三军医大学附属西南医院药剂科，重庆 400038）

硝苯地平系钙拮抗药，临床用于高血压的治疗。文献[1]报道面部潮红、心悸、窦性心动过速为其常见不良反应，本文报道用硝苯地平治疗高血压伴糖尿病、高血脂时引起窦性心动过速伴性功能障碍 1 例。患者，男性，57 岁，因糖尿病（Ⅱ型）、高血压、高血脂于 2001 年 11 月 16 日入院，查体一般情况好，心率 78 次/min，体质肥胖（169 cm，90 kg），余未见异常，既往无心动过速及性功能障碍史。给予优降糖片 2.5 mg，口服，3 次/d；二甲双胍片 0.25 g，口服，3 次/d；舒降之片 10 mg，口服，qn；硝苯地平片 10 mg，口服，3 次/d。服药第 2 天，患者感气急、乏力、查心电图示窦性心动过速（心率 110～140 次/min），服药第 4 天，自觉气急症状无改善，并出现阳萎与勃起不能等性功能障碍。分析上述不良反应为硝苯地平所致，故停用硝苯地平，继而改用卡托普利片 25 mg，口服，3 次/d；其它药物继续使用；第 7 天，查心电图示心率 80 次/min，性功能障碍开始缓解，第 8 天，高血糖、高血压、高血脂均降至正常水平，出院后继续维持治疗。第 45 天，查心电图示心率 69 次/min，性功能恢复正常。

讨论

本例服用硝苯地平等 4 种药物，短期内即出现窦性心动过速伴性功能障碍不良反应，在停用硝苯地平改用卡托普利片治疗高血压而其它治疗药物不变的情况下，不良反应渐行消除，故认定窦性心动过速伴性功能障碍系口服硝苯地平片引起，机制不甚明确。该合并不良反应，虽属十分罕见，亦应引起注意。

关键词：硝苯地平；窦性心动过速；性功能障碍
中图法分类号：R541.710.2　　文献标识码：B

参考文献：

[1] 陈新谦，金有豫. 新编药物学[M]. 第 14 版. 北京：人民卫生出版社，1985. 244－245.

[2] 万瑞蓝. 心痛定致性功能障碍 1 例[J]. 江西医学院学报，1995，35(2)：73

（编辑　郭建秀）

作者简介：孙　勇（1944－），男，江苏省涟水县人，副主任药师，主要从事临床药品检验方面的研究，发表论文 10 余篇。电话：(023)68754130

收稿日期：2002-08-12；修回日期：2002-11-02

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