DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.09.028
第24卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 9
1062 2002年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)09-1062-02

沙土鼠脑缺血时微血管一氧化氮的释放规律及机制

刘 磊[1],赵士福[2],林春梅[3],汤正才[1] ([1]解放军324医院神经内科,重庆 400020;第三军医大学附属新桥医院:[2]神经内科;[3]全军心血管内科中心;重庆 400037)

提 要:目的 测量脑缺血时沙土鼠软脑膜细动脉中一氧化氮(NO)含量的变化及胆碱能受体阻断后的效应。方法 采用电化学方法。结果 脑缺血时,细动脉内的NO合成增加,呈周期间断性释放,周期间隔为5~8 min,持续时间3~5 min。软脑膜表面滴入阿托品后,NO呈周期间断性释放现象消失,所测得的NO仍明显增加。结论 脑缺血时,乙酰胆碱分泌可能增加,参与调控脑微血管中NO的释放。

关键词:脑缺血;一氧化氮;微血管;乙酰胆碱
中图法分类号:R331.35;R743.31;R914.3 文献标识码:A

Mechanism and rule of nitric oxide release from cerebral microvessel in gerbils with cerebral ischemia

LIU Lei, ZHAO Shi-fu, LIN Chun-mei, TANG Zheng-cai (Department of Neurology, No. 324 Hospital of People Liberation Army of China, Chongqing 400020, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of NO as well as the effect of blocked choline receptor in pia mater microarteries in gerbils with cerebral ischemia. Methods A total of 16 gerbils were inflicted with bilateral common carotid arteries and divided into ischemic group and ischemia+atropine, the other 8 animals served as control. The charges of NO were measured with electrical chemistry. Results During cerebral ischemia, the NO was increased in pia mater microartery and released periodically for 3~5 min in an interval of 5~8 min and continued. When atropine (0.1mmol/L) was dropped onto the surface of gerbil's brain, the periodical release of NO disappeared, but the NO was still higher in pia mater microarteries than basic content. Conclusion The NO release from cerebral microvessel may be partly regulated by acetycholine during cerebral ischemia.

Key words: cerebral ischemia; nitric oxide; microvessels; acetylcholine

已有研究表明,脑缺血时一氧化氮(Nitric oxide, NO)合成增加,参与脑缺血时脑血管扩张反应,但其释放规律尚有待研究,故此本实验采用NO敏感电极直接测量脑缺血时软脑膜细动脉中NO含量的变化及胆碱能受体阻断后的效应,以明确支配脑血管神经中胆碱能神经元是否通过释放乙酰胆碱递质参与调控脑血管内皮细胞内NO的合成。

1 材料与方法

成年沙土鼠24只,雌雄不拘,随机分成对照组、脑缺血组、脑缺血+阿托品组,每组8只。25%氨基甲酸乙酯(1.25 g/kg, ip)麻醉。采用改进的开放式颅窗[1]。结扎双侧颈总动脉,制备全脑缺血模型[2]。微血管中NO的检测采用电化学方法[3]:将一根直径10 μm的碳纤电极(AMOCO Performance Products Inc. Geneva, Switzerland)插入一个毛细玻璃管中,其尖端露出管外100 μm,蜂蜡密封,填入碳粉,末端用环氧树脂封闭,而后将其尖端镀入含卟啉环的多聚碳膜电阻,再以联苯二胺修饰15 min备用,立体定位下,将该电极置于沙土鼠软脑膜细动脉中,指示电极和参比电极置于动物腹部皮下,依据NO的氧化还原电位,用循环伏安仪测量实验时细动脉中NO含量的变化及软脑膜表面滴入乙酰胆碱受体阻滞剂阿托品(0.1 mmol/L)的效应。所得数据采用 t 检验。

2 结果

循环电流扫描显示(工作电流 1×10^{-8} A,增益200 PA/cm,钳制电压1.0V),沙土鼠软脑膜细动脉中NO含量为(28±20) PA,其出峰时间在0.62~0.92 V之间。脑缺血2 min始,NO合成呈指数递增,缺血10~40 min,NO增至最大值,而后逐渐下降,于缺血100 min左右降至基础值以下。恒电流记录显示,缺血初期(40 min),细动脉中NO呈周期间断性释放,周期间隔为5~8 min,持续时间3~5 min,缺血40 min后,周期间断性释放现象突然消失,NO跌至150 PA左右,而后缓慢下降。软脑膜表面滴入阿托品(0.1 mmol/L),NO周期间断性释放现象消失,NO随时间呈指数递增递减,见图1,表1。

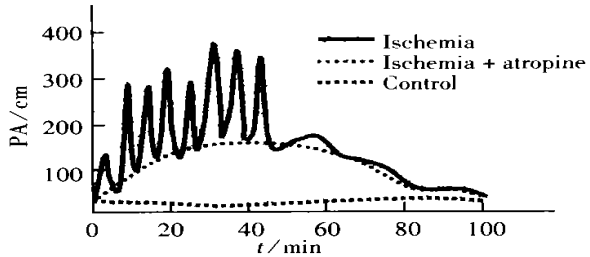


图1 脑缺血时沙土鼠软脑膜细动脉中NO的释放规律

Fig 1 Rule of cerebral microartery nitric oxide release in gerbils with cerebral ischemia

作者简介:刘 磊(1965—),男,安徽省肥东县人,博士,副主任医师,主要从事脑血管病研究,发表论文17篇。电话:(023)67729494

收稿日期:2001-10-09;修回日期:2001-12-05

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

表 1　脑缺血时沙土鼠软脑膜细动脉中 NO 的变化(PA, $n=8$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Changes of NO in cerebral microarteries in gerbils with cerebral ischemia(PA, $n=8$, $\bar{x}\pm s$)

PA	Control	Ischemia	Ischemia+atropine (0.1 mmol/L)
10 min	28±21	253±76 *	81±26 *☆
30 min	31±19	302±88 *	150±23 *☆◆
60 min	25±17	165±83 *◆	143±18 *◆
90 min	27±23	36±35 ◆*	42±37 ◆*

*: $P<0.01$ *vs* Control; ☆: $P<0.01$ *vs* Ischemia; ◆: $P<0.01$ *vs* 10 min; *: $P<0.01$ *vs* 60 min

3　讨论

脑缺血时, NO^{2-} 的含量在脑缺血 5 min 开始升高, 可持续 15 min 左右, 至缺血 30～60 min 开始下降[4]。这与我们应用 NO 敏感电极直接检测到的结果基本一致。国外也有文献支持我们的实验结果[5,6]。多数学者认为, 缺血缺氧时, 由于酸性产物堆积、氧自由基大量释放可致使血管内皮细胞外 Ca^{2+} 内流和内 Ca^{2+} 释放, 激活内皮细胞结构型一氧化氮合酶, 促使 NO 分泌增加[7]。业已证明, 脑血管有副交感胆碱能神经纤维支配, 在局部发挥调节脑血流的作用。免疫组化研究证实, 在许多脑区含有胆碱乙酰转移酶的神经纤维末梢与脑血管紧密相连, 电刺激无名质区能引起皮层血流和脑氧代谢的增加, 可以调节血管运动反应, 而对脑血流的自动调节无影响。但对全脑缺血条件下, 支配脑血管胆碱能神经元的乙酰胆碱递质分泌是否增加, 以及它是否存在类似于交感节前神经元的紧张性放电活动, 尚不十分清楚。我们的研究结果显示, 缺血初期, 沙土鼠软脑膜细动脉中 NO 呈周期间断性释放, 软脑膜表面滴入阿托品后, NO 周期间断性释放现象消失, 因而, 我们有理由推测, 缺血初期, 支配脑血管的胆碱能神经元活性可能增加, 致使乙酰胆碱递质分泌增加, 激活胆碱能受体, 细胞外 Ca^{2+} 内流, 激活内皮细胞结构型一氧化氮合酶, 致使 NO 合成增加。除此之外, 我们观察到, 即使完全阻断胆碱能受体, 缺血时, NO 分泌仍较基础值明显增加, 这可能与缺氧或/和缺氧后酸性产物堆集, 内皮细胞结构型一氧化氮合酶活性增加有关[8]。

参考文献:

[1] 翟启辉, 段重高. 活体动物脑微循环实验研究方法[J]. 微循环学杂志, 1992, 2(1): 26.

[2] Kahn K. The natural course of experimental cerebral infarction in the gerbil [J]. Neurology, 1972, 22(3): 510.

[3] Marcel R T, Matthias B, Nick A B, *et al*. Effect of age on kinetics of nitric oxide release in rat aorta and pulmonary artery[J]. J Clin Invest, 1996, 98(11): 899.

[4] 张　洪, 慕容慎行, 刘友尧, 等. 大鼠脑缺血早期阶段不同脑区 NO 和 cGMP 的变化[J]. 福建医科大学学报, 1998, 32(3): 252.

[5] Whorton A R, Simonds D B, Piantadosi C A. Regulation of nitric oxide synthesis by oxygen in vascular endothelial cells[J]. Am J Physiol, 1997, 272(6 Pt 1): 1 161.

[6] Stauton M, Drexler C, Dulitz M G, *et al*. Effects of hypoxia-reoxygenation on microvascular endothelial function in the rat hippocampal slice[J]. Anesthesiology, 1999, 91(5): 1 462.

[7] 刘　磊, 刘景昌. 一氧化氮介导的氧对血管平滑肌细胞舒缩功能的调控[J]. 海军军事医学, 1999, 20(2): 45.

[8] 邝　勇. 一氧化氮与脑循环[J]. 国外医学. 创伤与外科基本问题分册, 1995, 16(3): 133.

(编辑　冷怀明)

(上接 1058 页)

于 TRH 组($P<0.01$)。伤前动脉血 HCO_3^- 为(24.43±2.4) mmol/L, 伤后明显下降, 伤后 2 h 为(19.5±2.74) mmol/L($P<0.01$); 一次性补液后, TRH 组 HCO_3^- 继续下降, 伤后 3 h 达最低值(17.15±2.79) mmol/L($P<0.01$), 随后缓慢回升; 而 HAD 组和 HTC 组在一次性补液后 HCO_3^- 迅速回升, 伤后 3 h 分别达峰值(27.53±2.51) mmol/L、(25.83±5.66) mmol/L, 且均显著高于 TRH 组($P<0.01$), 随后逐渐回落。

3　讨论

本实验采用 TRH 盐液进行早期复苏, 给液量少, 能有效改善心功能(另文报导), 明显加快呼吸频率。其机制可能为 TRH 增敏肾上腺素能 β_1 受体和多巴胺(DA)受体[1], 提高休克组织中的环一磷酸腺苷水平[1], 减轻自由基介导的脂质过氧化损伤, 改善线粒体氧化磷酸化功能; 但由于 TRH 未能从根本上解决休克的低血容量、低灌流等问题, 同时又增强细胞氧代谢功能、使呼吸明显加快, 可能加重代谢性酸中毒和导致呼吸性碱中毒, 对机体酸碱平衡的调节不够理想。

运用 HAD 复苏, 能快速扩充血容量, 有效地纠正代谢性酸中毒和呼吸性碱中毒, 并防止了高氯血症的危险。其机制主要与 HAD 迅速扩充血容量、醋酸钠对酸的缓冲作用和扩张微动脉增强心肌收缩力[2], 增加心排出量, 从而最终达到了升高血压、改善组织灌注量和代谢性酸中毒等作用有关。

本实验拟通过 TRH、醋酸钠和维生素 C 等的配伍, 以达到取长补短的效果。本研究中, 在运用 HTC 复苏后, 也达到了迅速扩充血容量、纠正代谢性酸中毒和呼吸性碱中毒、防止了高氯血症, 在维持酸碱平衡方面明显优于单独使用 TRH 进行治疗者。但在对呼吸频率、血压的作用方面未能达到预想效果。

关键词: 复合伤; 促甲状腺素释放激素; 高渗盐液; 复苏
中图法分类号: R642; R644　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 熊任平, 周元国, 汪志文. 促甲状腺素释放激素对失血致低血容量性休克大鼠心肺功能的影响[J]. 中国危重病急救医学, 1999, 11(7): 400－403.

[2] Doucet J J, Hall R I. Limited resuscitation with hypertonic saline, hypertonic sodium acetate, and lactated Ringer's solutions in a model of uncontrolled hemorrhage from a vascular injury[J]. J Trauma, 1999, 47(5): 956－963.

(编辑　陈聪连)

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