DOI:10.16016/j.1000-5404.1992.01.009

脊髓腹侧压伤后前角神经元SDH、ACP活性变化

李 芳 刘连生 陈恒胜 刘英炳 (第三军医大学 野战外科研究所) 630042

提 要 采用定性定量组化技术，观测15只家兔腰髓腹侧重度压伤（50g压迫1 min）后前角神经元SDH、ACP活性变化。在伤后即刻和2h，SDH组化染色变浅，平均吸光值由0.34分别下降至0.33和0.31；ACP组化染色加深，平均吸光值由0.45分别升高至0.54和0.57；均有显著的统计学意义（$P<0.001$）。结果提示，脊髓重度压伤后前角神经元的线粒体和溶酶体立即受到损害，且进行性加重，从而导致脊髓继发性病理改变。

关键词 脊髓损伤；琥珀酸脱氢酶类；酸性磷酸酶类；诱发电位

琥珀酸脱氢酶（Succinic Dehydrogenase, SDH）是线粒体标志酶，对缺血缺氧和创伤的反应颇为敏感[1]；酸性磷酸酶（Acid Phosphatase, ACP）是溶酶体标志酶，与细胞退变及自溶过程密切相关[2]。文献报道狗脊髓损伤（Spinal Cord Injury, SCI）后0.5～24h灰质ACP活性持续下降，白质ACP活性升高[3]；猫SCI后24～48h，轴突周间隙有ACP阳性物质积聚[4]；但猴SCI急性期并未见到溶酶体变化[5]。目前对脊髓腹侧压伤后SDH、ACP活性变化的研究尚未见文献报道。

1 材料和方法

1.1 动物分组与损伤模型

健康家兔15只，体重2.3～2.9kg，雌雄不拘，随机均分为3组：伤前（正常）、伤后即刻和伤后2h。用1.5%戊巴比妥钠20～30mg/kg麻醉，在L_1椎板左侧打一3mm×3mm的小孔，暴露硬脊膜；将自制的压迫钩轻轻置于L_1脊髓腹侧，用50g重量持续压迫1min，导致重度SCI。

1.2 运动诱发电位(Motor Evoked Potential, MEP)检测

刺激电极置于颅顶部运动皮层区，参数为200μs、4Hz、80～120V，参考电极置于头部皮下。记录电极置于L_4椎板，地线极置于椎旁皮下。引出信号经前置放大（200×1000，1KHz～0.01s）后电子计算机叠加300次，并打印结果。

1.3 SDH与ACP测定

1.3.1 取材与制片：处死动物，迅速取出L_1脊髓，于-40℃冷冻后进行恒冷切片，厚度为10μm。每个组织块切取40张切片，随机分为两组，分别用于SDH和ACP组化染色；余下的组织块置于10%福尔马林中固定24h，进行常规HE染色、病理观察。

1.3.2 组化染色：按常规Pearson法显示SDH，Gomori法显示ACP[6]。

1.3.3 定量测定：采用Leitz-MPV-Ⅰ型显微分光光度计测定，扫描光栏0.05，电压950V，电流7A，波长SDH635nm、ACP460nm，测量阈值上限15、下限5。

1.4 统计分析

采用单因素方差分析和t检验，各数据以平均值±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。

2 结 果

2.1 MEP变化与SCI程度

各动物伤前均能记录到由4个波（P_1、N_1、P_2、N_2）组成的MEP（图1）。SCI后，MEP立即消失，且在伤后2h无恢复迹象。

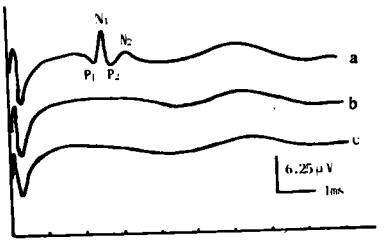


图1 脊髓腹侧压伤前后NEP变化
a：伤前； b：伤后即刻； c：伤后2h

2.2 SDH变化

2.2.1 定性变化：灰质着色，白质不着色。正常神经元SDH反应产物为深蓝色小颗粒，分布于胞质中，胞核清晰显阴性反应。伤后即刻着色变浅，颗

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

粒减少，大部分细胞呈均质化着色，胞核消失（图2）。伤后2h所有神经元轮廓不清，胞核消失，胞质均匀呈淡蓝色。

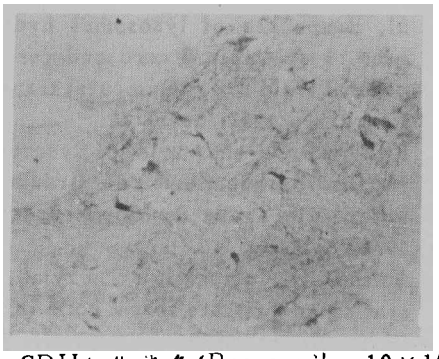


图2 SDH组化染色(Pearson法，10×10)
伤后即刻灰质着色变浅，颗粒减少，胞核模糊，白质不着色。

2.2.2 定量变化：SCI后SDH平均吸光值进行性降低，具有非常显著的统计学意义（表1）。

表1 兔脊髓腹侧压伤后SDH定量变化

组别		细胞数	平均吸光值
伤前		585	0.34±0.06
伤后	即刻	523	0.33±0.07*
	2h	440	0.31±0.06*△

注：* 为伤前与伤后比较，$P<0.001$；
△ 为伤后即刻与2h比较，$P<0.001$

2.3 ACP变化

2.3.1 定性变化：将ACP染色分为0～V级[7]。正常神经元为Ⅰ～Ⅱ级。伤后即刻，胞质酶颗粒密集，胞核模糊，胞膜清晰（Ⅱ～Ⅳ级）。伤后2h，整个神经元呈棕黑色，酶颗粒溢出膜外，胞核消失（Ⅴ级，图3）。

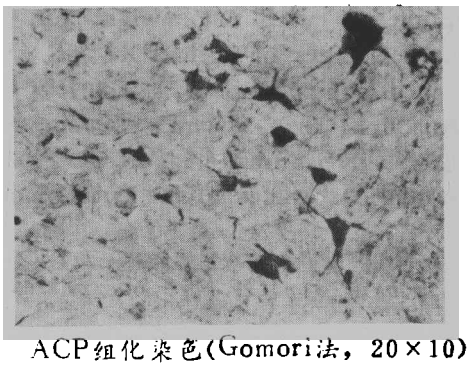


图3 ACP组化染色(Gomori法，20×10)
伤后2h神经元呈棕黑色，酶颗粒溢出胞膜，胞核消失

2.3.2 定量变化：SCI后ACP平均吸光值进行性升高，具有非常显著的统计学意义（表2）

表2 兔脊髓腹侧压伤后ACP定量变化

组别		细胞数	平均吸光值
伤前		564	0.45±0.09
伤后	即刻	490	0.54±0.11*
	2h	520	0.57±0.12*△

注：* 为伤前与伤后比较，$P<0.001$；
△ 为伤后即刻与2h比较，$P<0.001$

2.4 病理变化

伤后即刻，脊髓水肿，中央灰质点灶状出血，神经细胞核消失。伤后2h，脊髓广泛出血由中央灰质扩展到白质，神经细胞溶解，白质溃变，髓鞘变性脱落（图4）。



图4 HE染色（2×10）
伤后2h，脊髓出血坏死，中央管变形，灰白质界线不清，白质溃变

3 讨 论

SDH为线粒体三羧酸循环中的关键酶，参与呼吸氧化过程，供给细胞活动能量。脊髓腹侧重度压伤后即刻，前角神经元就出现SDH反应产物减少、活性降低，且伤后2h继续下降，表明SDH对损伤的反应颇敏感；这与MEP在伤后即刻消失、2h毫无恢复的结果一致。SDH活性下降，可造成细胞内环境的系列变化，进而导致脊髓的一系列病理变化[8]。

ACP主要存在于溶酶体内。文献报道SCI后白质ACP活性升高[3][4]，但灰质ACP

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

活性变化的结果不一致。本实验观察到，SCI后即刻前角神经元ACP活性显著升高，且呈进行性升高趋势，提示SCI后即刻便有代谢紊乱、酶活性改变；病理观察也提示伤后2 h便有明显病理损害。

SCI后SDH活性进行性下降、ACP活性进行性升高的负相关变化，表明SCI后神经元的线粒体受损，能量代谢障碍，溶酶体酶释放、细胞自溶过程增强，从而在亚细胞和分子水平进一步证明了SCI后的进行性继发病理改变。在SCI救治中，采取稳定单位膜、保护线粒体、抑制水解酶等措施，将是有益的。

参 考 文 献

1. 刘爱莲 张国义 孙 琦，等。急性心肌缺血不同时间后再灌流对琥珀酸脱氢酶活性的影响。哈尔滨医科大学学报 1987；6：10
2. 李乾五 曹站孙 金 辉，等。不锈钢宫内节育环对子宫内膜影响的组织化学观察。解剖学杂志 1987；10(2)：98
3. Clendenon NR, Allen N, Ito T, et al. Responses of lysosomal hydrolases of dog spinal cord and cerebrospinal fluid to experimental trauma. Neurology 1987; 28(1):78
4. Kakeri S. On the role of lysosomes in the pathogenesis of traumatic paraplegia. Trans Am Soc Neurochem 1974; 5:139
5. Yashon D. Intracellular enzyme liberation in primate spinal cord injury. Surg Neurol 1975; 4:43
6. 冯菊生，主编。组织切片技术。北京：高等教育出版社，1987：277，315
7. 张颖 贲长恩，俞慧珠，等。实验性溶血性贫血对大鼠脾脏影响的组织学研究。解剖学报 1984：15(1)：107
8. Yung W. The post-injury responses in trauma and ischemia: Secondary injury or protective mechanism. Central Nervous System Trauma 1987, 1:27

(收稿：1991-04-20；修回：1991-12-05)

Changes of SDH and ACP activities in spinal motoneurons after ventral cord compression in rabbits

Li Fang, Liu Liansheng, Chen Hengsheng, et al (Research Institute of Field Surgery, Third Military Medical College, Chongqing, 630042)

Abstract The changes of the activities of succinic dehydrogenase (SDH) and acid phosphatase (ACP) in spinal motoneurons after ventral cord compression were observed with microphotometry in 15 rabbits. The first lumbar segment of the spinal cord was compressed epidurally with 50g weight for one minute. It was found that statistically significant changes of both SDH and ACP took place immediately and 2 hours after cord compression ($P<0.001$); the mean absorbance value of SDH decreased from 0.34 to 0.33 and 0.31, and that of ACP increased from 0.45 to 0.54 and 0.57. The findings suggest that there was progressive damages to the mitochondria and lysosomes of the spinal motoneurons after ventral compression.

Key words spinal cord injury; succinate dehydrogenase; acid phosphatase; evoked potentials

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net