

第三届全国少数民族地区
神经病学论文汇编

宁夏医学会 主 办
宁夏医学院附属医院

2005年8月 银川

目 录

- 1、脑梗死急性期 C3、C4、Hs-CRP 改变及其临床意义..... 俸军林等(1)
- 2、红藻氨酸致颞叶癫痫大鼠模型及海马内 semaphorin 基因表达的研究..... 郑金瓯等(3)
- 3、胚胎干细胞移植对帕金森病鼠纹状体多巴胺含量的影响..... 沈岳飞等(4)
- 4、无症状性脑梗死 80 例临床分析..... 周 钦等(4)
- 5、谷氨酸转运体变化的研究..... 黄健敏等(6)
- 6、红藻氨酸诱导癫痫发作大鼠海马星形胶质细胞 C-FOS 基因的表达..... 郑金瓯等(7)
- 7、脑室内注射乙酰胆碱受体抗体 IgG 对大鼠下丘脑—垂体—肾上腺轴的影响..... 郑金瓯等(8)
- 8、胚胎干细胞移植对帕金森病鼠旋转行为的影响..... 沈岳飞等(14)
- 9、微创穿刺颅内血肿清除治疗脑出血(附 25 例报道)..... 梁昌华(15)
- 10、癫痫发病机制探讨..... 薛富英(16)
- 11、脑卒中后抑郁症的临床研究..... 李文华等(18)
- 12、原发性低颅压性头痛的临床研究..... 李文华等(21)
- 13、脑卒中患者并发医院感染分析..... 梁盛华等(22)
- 14、脑卒中后癫痫的临床研究..... 洪 雁等(24)
- 15、微创穿刺清除术在高血压脑出血中的应用..... 周 钦等(26)
- 16、脑脊液置换术治疗结核性脑膜炎..... 刘一尔等(30)
- 17、急性脑卒中后脑心综合征 166 例临床分析..... 李文华(33)
- 18、糖尿病性脑梗死 78 例临床分析..... 李文华(35)
- 19、大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤 P-选择素的表达研究..... 毕桂南等(36)
- 20、环氧化酶-2 抑制剂对大鼠局灶性脑缺血再灌注的作用机制研究..... 毕桂南等(38)
- 21、局灶性脑缺血再灌注后凋亡调控基因表达与 EGb761 干预作用..... 毕桂南等(39)
- 22、无症状性脑梗死 80 例临床分析..... 周 钦(41)
- 23、依达拉奉治疗急性脑梗死临床疗效观察..... 吴锦英(42)
- 24、血栓通对脑缺血再灌注损伤大鼠神经细胞热休克蛋白 70 表达的影响..... 陆 晖等(45)
- 25、红藻氨酸诱导癫痫发作大鼠海马谷氨酸转运体变化的研究..... 黄建敏等(48)
- 26、黄皮酰胺对高血压局灶性脑缺血再灌注大鼠 cl-2 表达和细胞凋亡的影响..... 蒋祝昌等(49)
- 27、缺血性脑卒中继发癫痫的临床特征及发生机制探讨..... 梁秀琳等(50)
- 28、多发性硬化患者骨髓造血干/祖细胞体外集落培养及其意义..... 陆 锐(52)
- 29、重症肌无力的干细胞治疗现状..... 莫雪安(54)
- 30、自体外周血造血干细胞移植治疗多发性硬化的临床研究——1 例研究分析..... 莫雪安(57)
- 31、蛋白 A 免疫吸附治疗神经自身免疫性疾病 6 例报告..... 秦 超(59)
- 32、免疫吸附治疗及其在神经系统自身免疫性疾病的应用..... 秦 超(60)
- 33、青年脑梗死数字减影全脑血管造影 69 例分析..... 秦 超(63)
- 34、血管内支架植入治疗脑血管狭窄 2 例报告..... 秦 超(64)
- 35、与成年癫痫患者生活质量相关的问题..... 吴 原(64)
- 36、人类获得性免疫缺陷病毒感染患者神经系统..... 余 露(67)
- 37、鼻咽癌患者放疗后 P300 与神经心理学..... 曾 丽(70)
- 38、自身免疫性疾病患者端粒酶活性及免疫学意义..... 张德敏(71)
- 39、CD4+T 细胞及其亚群与多发性硬化..... 张 为等(74)

第三届全国少数民族地区神经病学论文汇编目录

- 40、IL-18 及其在重症肌无力中的研究进展.....赵伟金等(76)
- 41、T2*成像核磁共振诊断卒中患者脑微出血的研究.....刘国荣等(79)
- 42、磁共振梯度回波 T₂*成像诊断急性脑出血的意义.....王宝军等(81)
- 43、高压氧治疗脑血管病的临床分析.....贺 燕等(83)
- 44、颅内静脉窦血栓形成误诊为蛛网膜下腔出血 9 例分析.....刘 丹等(85)
- 45、TCD 对一例溶栓后血管再通的监测.....张 军等(86)
- 46、颈内动脉海绵窦瘘的 TCD 改变.....张天佑等(87)
- 47、颈性脑缺血的诊断及治疗总结.....张永慧(88)
- 48、静脉窦血栓形成的 TCD 动态观察.....张京芬等(91)
- 49、脑卒中的早期康复治疗.....田 林等(94)
- 50、听源性发作癫痫易感大鼠免疫功能实验研究.....张 晖等(96)
- 51、原发性脑室出血 30 例报告.....李志东等(99)
- 52、中风后癫痫与脑电图观察.....王亚春(100)
- 53、主动脉弓粥样硬化与缺血性脑卒中的关系.....李月春等(102)
- 54、血管内支架置入术治疗脑动脉狭窄的临床分析.....刘国荣等(105)
- 55、抗血小板、抗凝治疗对缺血性脑卒中患者溶血磷脂酸和磷脂酸的影响临床研究.....李月春等(107)
- 56、良性成人家族遗传性癫痫病一家系 12 例报告.....陈英娜等(111)
- 57、糖尿病急性脑梗死 30 例临床分析.....张春燕等(112)
- 58、结核性脑膜炎引发脊髓空洞症一例报告.....姚 丁等(114)
- 59、面-肩-肱型进行性肌营养不良一家系 10 例报告.....邢 江等(115)
- 60、变异型急性吉兰-巴雷综合征 12 例临床分析.....姚 丁等(116)
- 61、围产期急性脑血管病 45 例分析.....邢 江等(118)
- 62、复方羊角胶囊加尼莫地平治疗蛛网膜下腔出血后头痛.....张晓梅等(119)
- 63、颅内静脉窦血栓形成的临床分析(附 7 例报道).....李秀娥等(120)
- 64、TCD 联合 TCI 检测脑动静脉畸形(AVM)附一例报告.....耿尚勇等(122)
- 65、浅谈脑卒中后肺炎.....萨仁塔娜等(124)
- 66、隐源性脑脓肿的临床分析(附 10 例病例报告).....黄维星等(126)
- 67、wernicke 脑病 12 例临床分析.....刘 丹等(127)
- 68、谷氨酸、一氧化氮和超氧化物歧化酶与脑梗死关系的临床研究.....杨巧莲等(128)
- 69、急性脑梗死患者血清谷氨酸水平动态变化及与神经功能受损程度的关系.....张茂林等(132)
- 70、进舱前咽鼓管检查及处理减少中耳气压伤.....何瑞萍等(135)
- 71、不同范围脑出血患者血清 IL-6 和 TGF- β 1 含量变化的相关研究.....张茂林等(137)
- 72、急性脑梗死患者血清转化生长因子 B1 含量变化及临床意义.....杨巧莲等(141)
- 73、上矢状窦静脉血栓形成误诊为脑出血 1 例报告.....刘竹青等(143)
- 74、天竺醒脑胶囊治疗记忆障碍的临床研究.....张红宇等(144)
- 75、青年人中风 68 例临床分析.....刘 波等(147)
- 76、伴中央-颞部棘波的儿童良性癫痫临床和脑电图分析.....王世霞等(149)
- 77、联合用药治疗高血压疗效观察.....张树雄等(151)
- 78、以头痛为首发症状的脑梗塞 51 例报告.....李志东等(153)
- 79、不典型蛛网膜下腔出血 31 例报道.....李志东等(154)
- 80、腓骨肌萎缩症一例肌电图结果报告.....韩春风等(155)
- 81、短暂性全面性遗忘症临床分析.....黄维星等(156)

- 82、橄榄—脑桥—小脑萎缩 (Menzel) 型一个家系.....郑艳华等 (157)
- 83、误诊为多发性硬化的弓形体脑病一例报告.....周延华等 (159)
- 84、尿激酶静脉溶栓治疗急性脑梗死 20 例疗效观察.....崇 奕等 (160)
- 85、饮酒干预高脂饮食家兔颈动脉粥样斑块内基质金属蛋白酶-2 表达的研究.....刘力峰等 (162)
- 86、HIV 相关性痴呆临床研究.....赵永波等 (162)
- 87、脑梗死后康复训练对成年大鼠海马结构中神经干细胞的影响.....周晓琳等 (163)
- 88、针刺对缺血性脑损伤大鼠的治疗作用及对 GDNF 表达水平
和 MAPKs 信号转导通路的调节.....赵永波等 (164)
- 89、GDNF 基因转染的细胞侧脑室内移植对缺血性脑损伤大鼠的神经保护作用.....赵永波等 (164)
- 90、高血压性脑出血患者血浆内皮素水平及其临床意义.....赵永波等 (165)
- 91、t-PA cDNA 基因在 AGZY83-a 细胞系的稳定表达.....赵永波等 (166)
- 92、低分子肝素治疗急性脑梗死的随机对照研究.....吴云成等 (166)
- 93、Nurr1 基因 shRNA 表达载体的构建及鉴定.....赵永波等 (167)
- 94、Alzheimer 病认知障碍和非认知功能改变的相关性.....王晓平等 (167)
- 95、动脉粥样硬化性脑梗死的亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性研究.....赵永波等 (168)
- 96、大鼠全脑缺血再灌注后 P53M_{RNA} 及蛋白的表达.....赵永波等 (169)
- 97、西比灵对高脂血症大鼠脑梗死影响的研究.....赵永波等 (170)
- 98、动脉粥样硬化性脑梗死患者红细胞免疫功能研究.....赵永波等 (170)
- 99、皮质下失语症产生机制的研究.....赵永波等 (171)
- 100、缺血性脑血管疾病的乙酰唑胺脑负荷试验研究.....赵永波 (173)
- 101、t-PA 基因转染 AGZY83-a 细胞移植入小鼠体内的表达研究.....赵永波等 (174)
- 102、P-糖蛋白对卡马西平和苯妥英钠通过大鼠血脑屏障影响的研究.....赵永波等 (175)
- 103、多药耐药蛋白对大鼠皮层细胞外液卡马西平和苯妥英钠影响的研究.....赵永波等 (176)
- 104、水通道蛋白-4 与脑水肿.....赵永波等 (177)
- 105、皮层微量注射 BDNF 抗体对 MCAO 大鼠缺血损伤的影响.....陈英辉等 (179)
- 106、不同浓度的 A β (25-35) 对原代培养的基底前脑胆碱能神经元
生长存活及 TrkA 表达的影响.....赵永波等 (180)
- 107、卒中后的认知损害.....赵永波 (181)
- 108、水通道蛋白 4 M23 型基因克隆及载体构建.....石向群等 (184)
- 109、多发性硬化患者的康复干预治疗与进展.....杨金升等 (187)
- 110、持续性脑室引流在结核性脑膜炎治疗中的应用.....杨金升等 (191)
- 111、脑静脉窦血栓形成影像特征分析及文献回顾.....谷有全等 (194)
- 112、急性脑卒中时血清心肌酶学及心电图 QT 离散度的变化研究.....周少华 (198)
- 113、青年人脑血管病临床与 CT 分析.....齐进兴等 (201)
- 114、多系统萎缩 10 例的临床、影像学及 2 例肛门括约肌肌电图特点.....李锐铭等 (201)
- 115、BAEP 对一氧化碳中毒继发脑病的预后检测.....齐进兴等 (203)
- 116、多发性硬化事件相关电位的检测及其情感障碍的评价.....许 虹等 (204)
- 117、不同治疗时间脑梗死血小板膜 Fas、Apo2.7、Bcl-2 百分含量对预后的影响.....薛慎伍等 (207)
- 118、微创抽吸配合尿激酶注入引流术治疗基底节区脑出血 104 例对照研究血肿.....邢翠霞 (210)
- 119、自发性硬脑膜外血肿一例报道.....王方友 (213)
- 120、A 型肉毒毒素治疗面肌痉挛.....张庆等 (214)
- 121、POEMS 综合症 1 例报告.....吕 洁等 (216)

122、双侧同时性面神经麻痹 2 例报告	张庆等 (217)
123、降纤酶治疗急性脑梗死 60 例疗效观察	涂小平等 (218)
124、脑电图和磁共振成像对病毒性脑炎早期诊断和预后的评价	范学文等 (220)
125、原发性脑干出血 56 例临床分析	吕 洁等 (222)
126、围产期脑静脉窦血栓形成的早期诊断与治疗	涂小平等 (224)
127、大剂量免疫球蛋白治疗格林巴利综合征 17 例疗效观察	成 江 (226)
128、高胆红素血症新生儿脑干听觉诱发电位研究	孙海峰等 (227)
129、脑电监测评估脑死亡的临床价值	刘南平等 (228)
130、脑血管病血清同型半胱氨酸水平测定及其临床意义	郭 涛等 (230)
131、丙戊酸钠注射剂(德巴金)治疗癫痫持续状态	杜彦辉等 (232)
132、颅内横窦血栓形成误诊一例分析	李勇军等 (232)
133、眩晕与脑血管疾病	孔繁元等 (234)
134、延髓背外侧综合征 56 例分析	李勇军等 (239)
135、载脂蛋白 BEcoRI 基因多态性与中青年人颈动脉粥样硬化的关系	白向东等 (241)
136、奥扎格雷钠治疗急性脑梗死的临床观察	王 静等 (245)
137、卒中重症监护单元中治疗脑卒中能显著减少不良结局和死亡	张淑敏等 (248)
138、急性脑梗死患者血浆肾素、血管紧张素 II 的变化及其临床意义	马璟等 (251)
139、短暂性脑缺血发作与颈动脉粥样硬化的相关性研究	王慧茹等 (254)
140、ACE 基因多态性与中青年缺血性脑卒中关系的讨论	杜彦辉等 (257)
141、自制水垫预防瘫痪病人压疮的效果探讨	彭雪娟 (258)
142、颅内动脉瘤栓堵术的观察与护理	赵学慧 (259)
143、颈动脉狭窄支架植入术的护理配合	赵翠松 (260)
144、脑卒中患者抑郁情绪的相关因素及护理对策	郑俊婷 (262)
145、脑血管病介入治疗的护理	贺 燕等 (263)
146、脑血管疾病致失语病人的护理	侯香梅等 (265)
147、腰大池引流治疗蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛的护理	马丽萍 (267)
148、脑卒中病人的心理康复	贺 燕等 (268)
149、重症疱疹病毒性脑炎的临床护理	张晓燕 (270)
150、脑血管病后长期卧床患者便秘的探讨	赵丽英 (271)
151、如何为昏迷病人彻底清除呼吸道分泌物	张晓燕 (272)
152、脑卒中后肢体康复指导	贺 燕等 (273)
153、颅内动脉瘤栓堵术的观察与护理	赵学慧 (275)
154、健康教育在临床工作中的应用	贺 燕等 (276)
155、急性脑卒中吞咽障碍的早期康复护理	章楚群 (277)
156、118 例脑梗塞病人的心理特点与护理体会	章楚群 (279)
157、甲基强的松龙冲击疗法治疗多发性硬化的观察与护理	杨玉蓉 (280)
158、脑出血病人早期康复护理	董 梅 (282)
159、重症脑卒中鼻饲管与导尿管留置的护理体会	闫 珍 (283)
160、注重脑卒中患者的健康教育	郑俊婷等 (285)
161、脑血管病后遗肢瘫患者的不良心理探讨及护理	雍芬君等 (286)

脑梗死急性期 C3、C4、Hs-CRP 改变及其临床意义

桂林医学院附属医院神经内科 541001

傅军林 曾爱源 刘开祥 吴岚 林剑锋

摘要 目的 观察脑梗死急性期血清补体 C3 (Complement C3)、补体 C4 (Complement C4)、高敏 C-反应蛋白 (Hs-CRP) 改变, 并探讨其临床意义。方法 测定 35 例脑梗死急性期患者血浆 C3、C4、Hs-CRP 水平, 与 32 例对照组对比分析。结果 脑梗死组 C3、C4 均明显低于对照组 ($P<0.01$, $P<0.001$), 而 Hs-CRP 明显高于对照组 ($P<0.001$)。结论 脑梗死急性期血清 Hs-CRP 水平升高而 C3、C4 水平降低, 提示补体系统的激活和消耗在急性脑梗死的病理过程中起一定作用。

关键词: 脑梗死 补体 C3 补体 C4 高敏 C-反应蛋白

Changes and clinical significance of plasma C3, C4, and Hs-CRP in patients with cerebral infarction in acute period

FENG Jun-lin, ZENG Ai-yuan, LIU Kai-xiang, WU Lan, LIN Jian-feng

Department of Neurology, The Affiliated Hospital of Guilin Medical College, 541001, GuangXi, China

【Abstract】 Objective To study the plasma level and its clinical significance of complement C3 (C3), complement C4 (C4) and high sensitive C-reactive protein (Hs-CRP) in patients with cerebral infarction in acute period. Methods To estimate the plasma level of C3, C4 and Hs-CRP in 35 patients with cerebral infarction in acute period, compared with 32 normal controls. Results The concentration of plasma C3 and C4 in cerebral infarction group is significant lower than those of controls ($P<0.01$ or $P<0.001$), while the level of plasma Hs-CRP in cerebral infarction group is much higher than those in controls ($P<0.001$). Conclusion The increase of plasma C3, C4 and the decrease of plasma Hs-CRP in patients with cerebral infarction indicates that the activation and consumption of complement system plays a important role in the pathological mechanism of acute cerebral infarction.

【Key words】 cerebral infarction; complement C3 (C3); complement C4 (C4); high sensitive C-reactive protein (Hs-CRP)

脑梗死是我国中老年人的常见病之一, 严重危害人们的生命与健康。近几年来, 有关免疫、炎症因子在急性脑血管病发病及转归中的作用日益引起人们的重视。国内关于脑梗死急性期血清补体 C3 (complement C3)、补体 C4 (complement C4)、高敏 C-反应蛋白 (Hs-CRP) 改变的资料不多, 并存在一定不一致性^[1,2]。本文通过观察 35 例脑梗死急性期血清 C3、C4、Hs-CRP 改变, 与对照组对比分析, 以探讨其临床意义。

1 实验对象与方法

1.1 实验对象

1.1.1 脑梗死组: 35 例脑梗死均为初次发病, 病程 6 小时~7 天, 其诊断符合 1995 年全国第四届脑血管病学术会议制订的标准^[3], 并经 CT 或 MRI 证实, 男 19 例, 女 16 例, 平均年龄 66.31 ± 9.23 岁。

1.1.2 对照组: 32 例均为已排除血液病、风湿免疫疾病及心脑血管疾病的健康中老年人, 男 17 例,

女 15 例, 平均年龄 69.53 ± 7.31 岁。其性别和年龄构成与脑梗死组对比没有显著性差异($P > 0.05$)。

1.2 方法

全部受检对象均在清晨空腹时静脉采血, 收集血浆置于 -20°C 保存。用免疫透射比浊法测定血清 C3、C4, 采用上海科华生物工程股份有限公司生产的试剂盒; 用免疫透射比浊法测定血清 Hs-CRP, 试剂盒由上海基恩科技有限公司提供。用日产 AEROSSET 2000 全自动生化分析仪进行测定。

1.3 统计学处理 所有数据均使用 SPSS 10.0 统计软件进行处理, 各组数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验。

2 结果

脑梗死组与对照组血清 C3、C4、Hs-CRP 水平 (表 1) 两组资料均符合近似正态分布, t 检验显示脑梗死组 C3、C4 均明显低于对照组 ($P < 0.01$, $P < 0.001$), 而 Hs-CRP 明显升高于对照组 ($P < 0.001$)。

表 1 脑梗死组与对照组血清 C3、C4、Hs-CRP 水平

	<i>n</i>	C3 (g/L)	C4 (g/L)	Hs-CRP (mg/L)
脑梗死组	35	$1.22 \pm 0.33^*$	$0.23 \pm 0.08^{**}$	$7.99 \pm 2.32^{**}$
对照组	32	1.48 ± 0.37	0.35 ± 0.09	2.96 ± 1.87

注: * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$

3 讨论

脑梗死是危害中老年人健康的常见病和多发病, 其病理基础主要的动脉粥样硬化。现有资料表明, 有关免疫、炎症因子在急性脑血管病发病及转归中的起重要作用。国内关于脑梗死急性期血清补体 C3、C4、Hs-CRP 改变的资料不多, 并存在一定不一致性。

补体系统由 18 种以上具有酶活性的血浆蛋白质组成, 包括 C2、C3、C4 等, 通常以非活性状态存在于血浆或其他体液中。在某些病理条件下, 补体系统被激活, 通过一系列级联反应产生多种生物活性物质, 在炎症和免疫反应中起重要作用^[4]。1992 年, Davis 等^[5]研究发现部分脑梗死患者血清 C4 水平降低, 补体成分 (sC5b-9) 水平异常升高, 提示有全身补体系统激活。本组资料显示, 脑梗死急性期血清 C4 水平明显低于对照组, 与前述资料相符。蔡海波等^[1]研究显示, 脑梗死患者血清 C3 水平高于对照组, 而李海军等^[2]研究显示结果相反。本组资料显示, 脑梗死急性期血清 C3 水平明显低于对照组, 与后者结果一致。这些资料表明, 血浆 C3、C4 在脑梗死急性期被激活、消耗, 提示补体参与了脑梗死急性期的病理过程。

CRP 是一种急性时相蛋白, 是高敏感反应炎症、组织损伤的标志物, 但它对象动脉粥样硬化这样的低水平炎症反应不够敏感。Hs-CRP 则提供了一种检测低水平炎症信息的方法。Hs-CRP 主要通过凝血、纤溶、炎症和补体系统发挥作用, 它作为一种补体激活剂在缺血性脑血管病的补体激活过程中起重要作用^[6]。本组资料显示, 脑梗死急性期血清 Hs-CRP 水平升高而 C3、C4 水平降低, 证实了前述病理机制。

综上所述, 脑梗死急性期血清 Hs-CRP 水平升高而 C3、C4 水平降低, 提示补急性脑梗死的病理过程中有补体系统的激活和消耗, Hs-CRP 很可能作为一种补体激活剂在其中发挥作用, 但详细的机制有待进一步研究阐明。

[参与文献]

- [1] 蔡海波, 金友雨. 脑梗死患者血清 C3 水平的变化. 广东医学, 2001, 22(3):231-232
- [2] 李海军, 于盈. 急性脑梗塞病人血清 Ig 与补体 C3 的动态变化及临床意义. 临床医学, 2004, 24(1):2-3
- [3] 中华神经科学会. 各类脑血管病诊断要点. 中华神经科杂志, 1996, 29(6):379-380
- [4] 周新涛, 李绍英. 补体系统与缺血性脑血管病. 国外医学-脑血管病分册, 2000, 8(1):12-15

- [5] Davis WD, Brey RL. Antiphospholipid antibodies and complement activation in patients with cerebral ischemia. Clin Exp Rheumatol. 1992, 10(5):455-460
- [6] Pedersen ED, Waje-Andreassen U, Vedeler CA, *et al.* Systemic complement activation following human acute ischaemic stroke. Clin Exp Immunol. 2004, 137(1):117-122

红藻氨酸致颞叶癫痫大鼠模型及 海马内 semaphorin 基因表达的研究

广西医科大学第一附属医院神经内科

郑金瓯 邓晓清

摘要:【目的】研究红藻氨酸(kainic acid, KA)致痫后大鼠行为、脑电图(electroencephalography, EEG)、海马组织学变化特征以及轴索导向分子(axon guidance molecules)semaphorin3C (Sema3C)/semaphorin3F(Sema3F) mRNA 在 KA 致损伤型颞叶癫痫(mesial temporal lobe epilepsy, MTLE)大鼠海马内的表达,探讨 Sema3C/ Sema3F 在 MTLE 中苔藓纤维发芽和突触重建中的作用。【方法】侧脑室内微量注射 KA 诱导成年大鼠癫痫持续状态(state epilepsy, SE)发作,建立突触重建的 MTLE 模型。观察大鼠慢性期自发性发作;EEG 描记研究 MTLE 模型大鼠电生理改变;用 Neo-Timm 染色以及 Nissl 染色的方法,研究海马苔藓纤维发芽,神经元丢失以及颗粒细胞增生的变化;用原位杂交的方法,研究 Sema3C/Sema3F mRNA 在 MTLE 大鼠海马内表达的改变。【结果】侧脑室内微量注射 KA 后,77.1% 大鼠出现 SE,持续 6-8h 后这一部分大鼠均出现慢性自发发作表现。EEG 在 SE 期表现为棘波节律,慢性痫性发作期表现为单个棘波,尖波,棘慢波,尖慢波等,有时可见阵发的棘波节律。Nissl 染色示 KA 致 SE 后 2w 内,海马神经元丢失以门区及 CA1 区为主,范围局限;2w 后门区,CA1 区神经元丢失明显并扩展至 CA3 区,颗粒细胞开始弥漫扩展,4w 时到达高峰。Neo-Timm 染色示 KA 致 SE 后 1w-2w,苔藓纤维在齿状回(dentate gyrus, DG),CA3 区发芽,4w 时到达高峰。原位杂交结果示 KA 致 SE 后 1d-1w 内, Sema3C mRNA 在 CA1 区表达明显下降, Sema3F mRNA 在 CA1 区以及 CA3 区表达明显下降,均持续至 3w, 4w 时 Sema3C/Sema3F mRNA 表达恢复至正常。【结论】成年大鼠经脑室侧内微量注射 KA 后,出现 SE 表现;经过 1w-2w 行为以及 EEG 正常的静止期后,大鼠出现慢性自发性 EP 发作。EEG 在 SE 期表现为连续发放的棘波节律,慢性期可见阵发棘波节律以及单发棘波,尖波,棘慢波,尖慢波等。Nissl 染色以及 Neo-Timm 染色证实了 DG 门区以及海马内 CA1 区 CA3 区神经元丢失,颗粒细胞增生以及苔藓纤维发芽。表明脑室侧内微量注射 KA 可诱导大鼠出现类似于人类 TLE 表现的 MTLE 模型,KA 及 SE 所致的海马结构损伤及苔藓纤维重建是慢性痫性发作的基础。KA 致 SE 后 1d-1w 内, Sema3C/Sema3F 的 mRNA 的表达在海马的 CA1 区, CA3 区明显下降,持续至 3w, 4w 恢复正常, Sema3C/Sema3F 的 mRNA 的表达与苔藓纤维发芽时间一致,表明在 KA 损伤后,海马神经元能够下调 Sema3C/Sema3F mRNA 的表达,促进 MTLE 大鼠海马苔藓纤维发芽以及突触重建,促进 MTLE 模型中异常海马环路中神经轴突网络的形成,该异常环路引起的兴奋性的产生及传播异常,是 MTLE 的发病机制之一。

关键词 红藻氨酸 颞叶癫痫 海马 轴索导向分子 semaphorin 苔藓纤维发芽

胚胎干细胞移植对帕金森病鼠 纹状体多巴胺含量的影响

广西医科大学第一附属医院神经内科

沈岳飞 莫雪安 马朝桂 龙桂芳

摘要 目的: 观察胚胎干细胞定向移植后对帕金森鼠纹状体多巴胺含量的影响, 证实胚胎干细胞移植治疗的可行性。方法: 建立帕金森模型大鼠以及体外培养胚胎干细胞, 将旋转次数 ≥ 7 次/分钟帕金森模型鼠 21 只随机分成 A、B、C 共 3 组, 每组 7 只, 其中 A、B 组为治疗组, C 为对照组。然后将胚胎干细胞悬液立体定向移植到帕金森模型鼠黑质纹状体区, A 组的细胞数为 2×10^4 , B 组的细胞数为 1×10^5 个, 对照组注射同样体积的 DMEM/F₁₂ 培养液。移植手术后第 8 周, 将同一微透析探针先后插入左右侧纹状体部位。探针的流入管与微量灌流泵相连, 用人工脑脊液以 $1 \mu\text{l}/\text{min}$ 的速度灌流, 待灌流稳定 90min 后, 每 30min 收集一个灌流样品, 用高效液相色谱仪检测双侧纹状体组织中的多巴胺含量。结果: 对照组未手术毁损侧和手术毁损侧纹状体微透析液中的多巴胺含量分别为 $18.65 \pm 2.34\text{ng/ml}$ 和 $5.66 \pm 3.25\text{ng/ml}$, 小剂量治疗组未毁损侧和移植胚胎干细胞侧纹状体微透析液中的多巴胺含量分别为 $17.96 \pm 2.14\text{ng/ml}$ 和 $13.12 \pm 4.35\text{ng/ml}$, 大剂量治疗组未毁损侧和移植胚胎干细胞侧纹状体微透析液中的多巴胺含量分别为 $18.66 \pm 2.69\text{ng/ml}$ 和 $12.64 \pm 3.69\text{ng/ml}$, 两个治疗组移植侧的多巴胺与对照组比较, t 值分别为 3.22 和 2.77, p 值均 < 0.01 , 不同剂量的 2 组之间 $t=0.069$, $p > 0.05$, 差异无显著性差异。结论: 未分化的胚胎干细胞移植进入 6-羟多巴胺制作的偏侧帕金森大鼠纹状体组织后能够引起纹状体多巴胺含量的增多。

无症状性脑梗死 80 例临床分析

钦州市第二人民医院 535000

周 钦

摘要: 通过对 80 例无症状性脑梗死(SBI)的回顾性资料分析, 以了解 SBI 的好发年龄、部位、发病因素, 了解 SBI 的特点, 进一步开展缺血性脑卒中的预防。

关键词: SBI; 发病因素

缺血性脑卒中的发病因素有高血压病、高脂血症、糖尿病、冠心病、TIA、既往有脑卒中病史等; 无症状性脑梗死(SBI)为急性缺血性脑卒中的一个重要因素, 通过对 SBI 的临床资料分析, 以了解其特点, 以利于进一步预防。

1 临床资料

1.1 选择对象 全部病例为 2001-2003 年本院 CT、MRI 室提供的病例, 梗死灶为患者健康体检或因脑动脉粥样硬化症或其它神经科疾病的住院病人, 且追踪病史中无神经系统的症状体征。

1.2 性别、年龄 本组病例 80 例, 其中男性 45 例 (56.25%), 女性 35 例 (43.75%), 年龄 35-82 岁, 平均(60.38±11.2)岁。

1.3 部位 基底节 44 例 (55.00%), 颞叶 15 例 (18.75%), 顶叶 9 例 (11.25%), 额叶 8 例 (10.00%), 枕叶 6 例 (7.50%), 脑干 5 例 (6.25%)。

1.4 分类 腔隙性脑梗死 52 例 (65.00%), 大面积脑梗死 12 例 (15.00%), 余为一般病例。

1.5 数目: 1-2 个 58 例 (72.50%), 3-5 例 22 例 (27.50%), 脑室扩大, 大脑皮质沟回加深等脑萎缩表现 28 例 (35.00%)。

1.6 发病因素 高血压病 68 例 (85.00%), 高血脂症 35 例 (47.50%), 糖尿病 26 例 (32.20%), TIA 24 例 (30.00%), 冠心病 16 例 (20.00%), 其中房颤 12 例 (15.00%), 吸烟 48 例 (60.00%)。

2 讨论

2.1 发病率 无症状性脑梗死(SBI)是指无卒中病史, 无明确神经系统定位体征, 由影像学或尸检发现的梗死灶, 包括两种情况: 一是无卒中史人群中存在的脑梗死灶, 二是卒中患者存在的不能解释其症状体征的梗死灶(非责任灶); 近年来发现 SBI 增多, 国外有人报告发生率为 13%^[1], 我国亦有学者报道老年人 SBI 的发生率为 21.7%^[2], 而在国内的一组(190 例)脑出血尸解病例中发现 SBI 98 例(51.6%)^[3]。

2.3 危险因素 SBI 是缺血性脑卒中的一种类型, 它与症状性脑梗死的危险因素关系密切^[4], 血管病变的危险因素也是 SBI 的危险因素; 以上资料所示, SBI 危险因素依次为高血压病、高脂血症、糖尿病、TIA、冠心病等。高血压在所有危险因素中占首位, 可能是持续的高血压可引起小血管内皮下层纤维样物质节段性沉积, 使动脉结构破坏, 微动脉瘤形成, 少量的红细胞渗出; 在慢性阶段, 即使血压不高或不太高, 血管不发生破裂, 也可以引起小动脉闭塞^[5], 引起梗塞, 而梗塞的部位为静区或位置深面积小, 可不引起症状。而高脂血症中高胆固醇、高甘油三酯伴高密度脂蛋白降低可加重动脉粥样斑块的形成, 而血浆低密度脂蛋白和极低密度脂蛋白的浓度升高, 导致血浆粘稠度增高, 血流缓慢, 血小板聚集, 易引起脑梗死。糖尿病引起脑缺血加重, 血管内膜损伤; TIA 是缺血性脑卒中的先兆; 冠心病血液动力学的改变, 房颤栓子脱落均可引起脑梗死的形成。国外研究认为男性脑卒中主要与烟酒嗜好有关, 而女性则与其他血管疾病的危险因素关系更大。应加强对这些危险因素的管理, 以减少急性脑梗死的发生。

2.3 危害性及干预 SBI 作为急性脑梗死一个重要的因素, 可转化为症状性卒中, 一旦发现, 要进行干预治疗, 以预防脑梗死再发, 否则, 5 年内易再发, 有报告再发率为 42.40%^[6]; SBI 面积扩大可发展为血管性痴呆 (VD), 引起 VD 的机制可能与以下因素有关: (1) 梗死组织的总量及梗死灶的数量; (2) 梗死的部位(顶深部、丘脑、角回、左半球等)。SBI 是一种常见脑血管疾病, 确诊依赖影像学检查, 临床医师对于长期有非特异性症状的患者应提高警惕, 仔细检查, 一旦发现应予以积极干预, 尽可能避免症状性脑卒中及 VD 的发生, 治疗的重点仍是防治危险因素, 对 60 岁以上的患者定期检查, 应该认识到 SBI 和症状性脑梗死的危险因素是基本一致的, 要采取综合性的预防措施, 尤其是各危险因素并存时更应严格控制。比如有效地调控血压, 使其达到 140/80mmHg(1mmHg=0.133 Kpa)的水平; 存在脂代谢紊乱者亦应积极予以调理; 对 1 型和 2 型糖尿病患者均应严格控制血糖, 积极防治糖尿病的并发症; 对房颤患者, 尤其是年龄大于 75 岁者, 在纠正心功能的同时要给予阿司匹林抗凝治疗; 必须彻底戒烟酒, 坚持体育锻炼和纠正不良饮食习惯; 通过以上的综合处理后 SBI 的预后比较理想。总之, SBI 的发病率是相当高的, 积极的治疗对其预后影响较大, 所以在临床工作中对 SBI 应给予足够的重视。

参考资料

1. Choolosh EH et al. Silent stroke in the NINDS. Neurology, 1988, 38: 1674.
2. 盛爱珍, 王新德. 老年人的无症状脑梗塞. 卒中与神经疾病杂志, 1997, 4: 124
3. 王耀山, 徐惠琴. 无症状性脑中 190 例脑出血尸解的临床与病理分析. 临床神经病学杂志, 1993(脑血管

病研究进展专刊),27.

4.王耀山.无症状性脑梗死的研究现状.临床神经病学杂志,2003,16:1

5.周钦.腔隙性脑梗死 80 例临床分析.右江医学,2000; 28 (2):

6.陈斌,孙艳,周金萍.无症状性脑梗死 90 例 5 年随访研究.脑与神经疾病杂志,2003,4 (1): 54.红藻氨酸诱导癫痫发作大鼠海马

谷氨酸转运体变化的研究

广西医科大学第一附属医院神经内科

黄健敏 郑金瓯

摘要 目的: 研究红藻氨酸 (kainic acid, KA) 诱导癫痫发作大鼠海马谷氨酸转运体亚型 GLAST 和 GLT-1 的变化, 探讨 GLAST 和 GLT-1 与癫痫敏感性形成的关系。方法: 制备 KA 诱导癫痫发作大鼠的癫痫模型, 用 RT-PCR 检测癫痫发作 6h、12h、24h、48h 和 7d 大鼠脑海马 GLAST mRNA 及 GLT-1 mRNA 表达, 经凝胶成像及分析系统扫描 RT-PCR 产物, 用内参半定量分析 GLAST mRNA 及 GLT-1 mRNA 的动态变化。结果: 癫痫组 GLAST mRNA 的表达于癫痫发作后 12h、24h 和 48h 显著下降, 7d 恢复至对照组水平; GLT-1 mRNA 的表达于发作后 7d 出现下降趋势。讨论: 谷氨酸转运体 (GluTs) 主要位于神经元和胶质细胞的胞膜上, 能逆浓度梯度从胞外摄取谷氨酸 (Glu) 并转运至胞内, 使细胞外谷氨酸保持在较低的浓度, 维持突触间谷氨酸的正常传递, 保护神经元不受谷氨酸的毒性影响。目前已发现 5 种 GluTs 亚型, GLAST 主要在星形胶质细胞表达, 小胶质细胞少量表达, GLT-1 仅在星形胶质细胞表达, 两者在高亲和 Glu 转运中起主要作用。由于细胞外不存在 Glu 代谢酶系统, Glu 的清除主要依靠 GLAST 和 GLT-1 的摄取。当 Glu 被释放到突触间隙时, 大量的 Glu 被 GLAST 和 GLT-1 转运进入星形胶质细胞中, 在星形胶质细胞中的专一性酶谷氨酰胺(Gln)合成酶的作用下转化成 Gln, 随后 Gln 重新进入突触前神经元进行再循环。因此 GLAST 和 GLT-1 在维持 Glu 的正常循环和保护神经元不受谷氨酸的毒性影响起非常重要作用。本实验结果显示: 海马区 GLAST mRNA 和 GLT-1 mRNA 的表达在红藻氨酸诱导癫痫发作后有下降的总趋势。其结果是 Glu 和 Asp 的摄取减少, 细胞外液中 Glu 和 Asp 浓度增高, 而 Glu 和 Asp 浓度增高会导致神经元持续去极化, 干扰神经元的调节机制, 引起神经元放电频率过高和无限地向邻近神经元扩散, 进一步导致癫痫发作。GLAST 和 GLT-1 在癫痫发作中出现下降趋势的变化, 造成 Glu 能神经系统的兴奋性和敏感性均增加, 从而导致进行性癫痫发作过程中可塑性的形成和海马功能与结构可塑性的重建, 使癫痫更易发作, 最终出现癫痫敏感性增加和病理生理变化的长期存在。此外, Glu 除通过激活 Glu 受体产生兴奋性毒性外, 还可通过抑制细胞膜上 GLAST 和 GLT-1 的功能而产生氧化毒性作用, 该作用以细胞内还原型谷胱甘肽的减少和导致大量活性氧成分产生为主要途径, 从而抑制了 GLAST 和 GLT-1 的功能, 加剧细胞外 Glu 堆积, 产生恶性循环。由此推断, GLAST 和 GLT-1 的变化与癫痫敏感性的形成和维持可能有关。同时本实验结果还发现 GLAST-mRNA 和 GLT-1-mRNA 下降不同步, GLAST-mRNA 先下降, 随后 GLT-1-mRNA 下降, 其所造成的后果是使谷氨酸能系统的兴奋性和敏感性均增加并持续一定的时间, 更易于产生癫痫发作, 这种现象在海马反复出现, 导致了进行性、持久性的海马可塑性形成, 进而引起海马功能和结构可塑性的重建, 使癫痫发作的敏感性增高并持久存在。这机制可能成为红藻氨酸诱导癫痫反复发作的病理生

理基础。结论：癫痫发作后海马区谷氨酸转运体亚型 GLAST mRNA 和 GLT-1 mRNA 表达下降，GLAST 和 GLT-1 转运谷氨酸能力减弱，突触间隙中的谷氨酸增多，使癫痫敏感性升高，提示 GLAST 和 GLT-1 表达下降与癫痫敏感性形成有关。

红藻氨酸诱导癫痫发作大鼠海马 星形胶质细胞 C-FOS 基因的表达

广西医科大学第一附属医院神经内科

郑金瓯 黄建敏

摘要 目的：研究癫痫大鼠海马星形胶质细胞 C-FOS 基因的表达变化，探讨星形胶质细胞 C-FOS 基因的表达与癫痫关系。方法：采用红藻氨酸大鼠癫痫模型，利用 IR 双重染色技术，观察大鼠癫痫发作后海马星形胶质细胞 C-FOS 基因表达的变化。结果：癫痫发作后 1h，海马 CA1 区星形胶质细胞和神经元 C-FOS-IR 开始增强，完全位于胞核内，6h 达高峰，12h C-FOS-IR 阳性神经元基本消失，但还可见大量 C-FOS-IR 阳性的星形胶质细胞，24h C-FOS-IR 阳性的星形胶质细胞恢复至对照组水平。讨论：GFAP 是一种星形胶质细胞中间丝蛋白，也是其细胞骨架蛋白之一，作为星形胶质细胞激活的重要标记。GFAP 的高表达，只能在某种程度上提示星形胶质细胞的蛋白合成和运输等活动处于一种升高的状态，并不能完全、快速地揭示星形胶质细胞内各种基因的表达激活情况。C-FOS 作为一种可快速对外界刺激作出反应的转录调控因子，是一种“应激性传感器”，翻译后修饰通过亮氨酸拉链与同族基因产物 JUN 结合成异源二聚体核蛋白复合物，以高亲和力结合在靶基因的 DNA 相关序列 AP-1(activator-protein-1)结合区，并与其相互作用以调控靶基因的表达。GFAP 含有 AP-1 位点，所以 C-FOS 蛋白可与 GFAP 基因组的 AP-1 位点结合，调节 GFAP 的表达；同时通过先对 TNF- α 、IL-1 等促进星形胶质细胞增生的细胞因子的诱导，间接使 GFAP 表达明显升高，使星形胶质细胞处于激活状态。而激活的星形胶质细胞可产生和释放 TNF- α 、IL-1 等某些神经活性物质作用于周围的神经元，使其兴奋性升高，导致癫痫的复发。本实验揭示癫痫发作后星形胶质细胞 C-FOS 基因呈现一种早期而相对持续表达，进而诱导 GFAP 的表达，显示了癫痫发作后星形胶质细胞在时程上表现出一种早期而相对持续的激活状态。一方面星形胶质细胞的这种功能异常，可使其胞内 Na⁺、K⁺-ATP 酶活性降低，不能及时清除癫痫样放电时神经元周围高浓度的 K⁺，使神经元兴奋的阈值降低，促进了痫性发作时放电的扩展，致使癫痫敏感性不断升高；另一方面这种状态持续较长的时间，在这个时间内，星形胶质细胞 C-FOS 蛋白可诱导与各种炎症和免疫反应有关的物质如 TNF α 、IL-1、iNOS 和 COX-2 等大量表达，也可诱导与癫痫有关的如前脑啡肽一类的物质大量表达，这些物质都可作用于邻近的神经元，影响神经元的兴奋性、存活和突起的生长，这些物质也可作用于周围的包括星形胶质细胞在内的各种胶质细胞，并通过星形胶质细胞之间的缝隙连接使更大量、更远程的星形胶质细胞处于异常激活的状态，进一步影响神经元，神经元的兴奋性可能因此而得到明显提高，在外界的新的刺激下，神经元更易于发生痫样电活动，最终导致癫痫敏感性不断升高和癫痫的复发。结论：红藻氨酸诱导癫痫发作大鼠海马星形胶质细胞 C-FOS 基因表现为一种早期而相对持续的表达，通过 C-FOS/C-JUN 等信息途径促进

和维持 GFAP 表达,表明 C-FOS 的基因表达促进和维持星形胶质细胞持续激活,使癫痫敏感性升高,因而认为与癫痫的复发有关。

脑室内注射乙酰胆碱受体抗体 IgG 对大鼠 下丘脑—垂体—肾上腺轴的影响

广西医科大学第一附属医院神经内科 530021

郑金瓯 梁志坚 莫雪安

摘要 目的:研究乙酰胆碱受体抗体 IgG 对下丘脑—垂体—肾上腺(HPA)轴各层面活动的影响,探讨 MG 及 MG 危象发生机理与 HPA 内分泌轴变化的关系。方法:用硫酸铵沉淀法制备纯度较高 nAChR 抗体 IgG,将 nAChR 抗体 IgG(实验组)或正常人 IgG(对照组)注入大鼠侧脑室,连续三天后;部分大鼠腹腔注射烟碱刺激,然后应用原位杂交、放射免疫和化学发光免疫法研究:(1)对照组和实验组鼠下丘脑、海马和颞叶促肾上腺皮质释放激素(CRH)mRNA 转录水平表达和血浆促肾上腺皮质激素(ACTH)及皮质酮(CORT)浓度的变化。(2)烟碱刺激后对照组和实验组 HPA 及边缘系统的变化。结果:(1)在基础状态, nAChR 抗体抑制下丘脑 CRHmRNA 表达,对海马、颞叶 CRHmRNA 表达无抑制,对血浆 ACTH 及 CORT 水平无影响。(2)烟碱激活下丘脑、海马及颞叶 CRHmRNA 表达,同时增加血浆 ACTH 及 CORT 水平。(3)nAChR 抗体抑制烟碱所诱导的下丘脑、海马及颞叶 CRHmRNA 表达,同时也抑制血浆 ACTH 及 CORT 水平。结论: nAChR 存在颞叶、海马、杏仁核等边缘系统及下丘脑,与 HPA 激活关系密切, nAChR 抗体能与下丘脑及边缘系统的 nAChR 结合,抑制基础状态下丘脑 CRHmRNA 表达,但由于机体对 CRH 调节的复杂性,及机体的一定代偿能力,因而 ACTH 及 CORT 同时无相应的降低。对照组 HPA 对烟碱刺激反应明显强烈,下丘脑及边缘系统 CRHmRNA 表达的阳性细胞及阳性区面积明显增加,同时 ACTH 及 CORT 分泌也明显增多,实验组 HPA 对烟碱的刺激则明显迟钝,证实 nAChR 能通过 nAChR 特异性结合,阻断烟碱诱导下丘脑及边缘系统 CRHmRNA 的表达,抑制 ACTH 及 CORT 分泌,进而抑制 HPA 的激活。这一点在国内外尚未见报道。应激可通过诱发脑内乙酰胆碱(Ach)释放,促进下丘脑及边缘系统 CRHmRNA 大量表达及 ACTH 和 CORT 分泌增加。因而应激反应时 nAChR 与 CRH 对 HPA 的调节起到重要作用。MG 的发病及危象的发生机理尚不清楚, MG 与 nAChR 关系密切, MG 患者脑脊液中存在 AchRab。MG 发病前以及危象发生前常有一些诱因,如感染、创伤、精神压力等,对机体而言是一种应激状况。推测在 MG 患者中,由于 nAChR 与下丘脑及边缘系统 nAChR 结合,在应激情况下明显抑制其 CRHmRNA 表达,导致 ACTH 及 CORT 分泌相对不足,因而不能有效地抑制自体抗体以及一些细胞因子的产生,破坏了免疫系统的自稳,因而导致 MG 或危象的发生,可能是 MG 和 MG 危象的发病机理之一。

关键词: 乙酰胆碱受体抗体;促肾上腺皮质释放激素;促肾上腺皮质激素;皮质酮;烟碱;大鼠

目前重症肌无力(Myasthenia gravis, MG)发病机理仍不清楚。MG 发病前或 MG 发生危象时常有一些诱因^(1, 2),例如感染、过度疲劳、创伤等,这些诱因对机体而言均为一种应激状态。有证据表明 MG 存在中枢神经系统损害^(3, 4, 5),有报道在研究下丘脑—垂体—肾上腺轴(HPA)功能时,把 AchRab 注入大鼠侧脑室后,发现大鼠对声、烟等应激反应及 Nicotinic 等刺激后,促肾上腺皮质激素(ACTH)和皮质酮(CORT)不仅不升高,反而降低,同时表现出类似 MG 症状^(12, 13, 14);一方面表明 AchRab 可

与中枢 nAChR 结合,另一方面提示 AchRab 可导致 HPA 功能异常。在 MG 的发病机理中是否存在 AchRab 抑制 HPA, 导致机体在应激状态下, ACTH 及 CORT 产生不足, 对一些自身抗体产生抑制能力下降, 因而导致 MG 或加重 MG 导致危象。本研究旨在应用原位杂交、放射免疫技术及化学发光免疫法探讨 AchRab 对 HPA 轴各层面的影响, 特别在应用 Nicotinic 刺激时观察 AchRab 对 HPA 轴各层面内分泌激素的合成和分泌的影响, 探讨 MG 及 MG 危象发生与 HPA 内分泌轴变化的关系。

材料及方法

1.2 药品及试剂

AchRab 检测试剂盒 (福建三明市蓝波生物技术研究所)。促肾上腺皮质释放激素 (CRH) 原位杂交检测试剂盒: 包括胃蛋白酶 2ml、预杂交液 2ml、CRH 寡核苷酸探针杂交液 2ml、封闭液 5ml、生物化鼠抗地高辛 5ml、SABC-POD 5ml、生物素化过氧化物酶 5ml。(购自武汉博士德生物工程有限公司, MK1614。)针对人 CRH 靶基因的 mRNA 序列为: (1)5' - CATGC GGCTG CCGTC GCTTG TGTCC GCGGG - 3' ; (2)5' - CCGCGTGTGCTGCAGCAGCTGCTGCTGCC-3' ; (3) 5' -GCAAG CTCACAGCAACAGGAACTC ATGGA-3' ; 大鼠和人的序列仅 66P/90bp 不同, 适用于大鼠组织。

1.4 实验动物与分组

雄性 SD (Sprage-Dawleg) 大鼠 24 只 (广西医科大学实验动物中心提供)。鼠龄 8~12 周、体重 200~250g, 随机分成 2 组, 实验组 (注射 MG 病人 AchRab IgG) 12 只, 对照组 (注射正常人 IgG) 12 只。

2 实验方法与步骤

2.1 大鼠侧脑室注射 IgG

麻醉大鼠置于立体定位仪上 Bregma 点向后 1.2mm, 中线向左旁开 1.2~1.5mm 为穿刺点, 用 9 号牙科钻头钻开颅骨至硬脑膜处, 以微量注射器垂直进针 4.0~4.2mm, 然后以 5ul/min 速度注入已提取的 AchRab IgG40ul。注射完毕, 停针 15min, 待充分弥散后拔针, 缝合头皮, 每天一次, 连续 3 天注射。对照组注入同样量健康人 IgG, 其操作相同。术后每天观察两组大鼠精神状态, 对外界的反应、步态、活动度及协调情况。

2.2 大鼠对 Nicotine 反应的研究

于第三次注射完毕后第 1 天上午 9 时至 11 时, 实验组及对照组各随机选出 6 只大鼠、腹腔内注射 Nicotine (0.65mg/kg)。另 12 只大鼠腹腔注射等量生理盐水。1 小时后大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉后开胸, 左心室穿刺抽血 4ml, 注入盛有 10%EDTA100ul 的试管中, 低温离心 (1000g, 4℃) 15min。将上清分装于塑料试管-70℃保存备测。抽血后, 大鼠立即用含 1/1000DEPC 冰冻生理盐水 100ml 快速灌洗, 接着滴入含 1/1000DEPC4℃4%多聚甲醛 (0.1mol/L 磷酸盐缓冲液, PH7.4) 250ml 灌注, 断头取脑。分别按图谱取下丘脑、海马和颞叶置入 4%多聚甲醛溶液内后固定 2 小时, 石蜡包埋备用。

(1) 下丘脑、海马及颞叶 CRHmRNA 原位杂交及定量图像分析: 蜡块经下丘脑中央部、海马及颞叶最大处行冠状连续切片各 4 张 (片厚 8um), 玻片采用多聚赖氨酸处理。石蜡切片经常规脱蜡至水。新配制 3% H_2O_2 室温处理 15min, 蒸馏水洗涤 2 次。其操作步骤按原位杂交检测试剂盒说明书进行液体, DAB 显色, 适时流水中止。苏木素轻度复染, 充分水洗, 脱水, 二甲苯透明, 封片。阴性对照为预杂交液代替杂交液后同法操作。每只鼠取三张相近部位切片, 每张切片的下丘脑及颞叶每个观察部位随机选取 3 个视野 (200 倍) 进行定量图像分析 (Leica DMR + 550 - 病理图像分析系统), 海马每张切片分析 CA1、CA3、齿状回各 1 个视野, 取均数代表海马的均数。测量视窗为 $68828.3\mu m^2$, 分析指标: 阳性细胞数、阳性面积 (μm^2)。求出每只鼠每个观察部位的平均数。

(2) 大鼠血浆 ACTH 放射免疫测定: 购于法国 CIS 国际生物公司, (批号: 200210)。操作均按药盒说明进行, 所有试剂及样本在测定前置于室温 (25℃左右) 至少 30min, 在室温下把样本加入到 ELSA

试管中, 每份样本均使用双管。

(3) 大鼠血浆 CORT 测定: CORT 采用 ACCESS 全自动微粒子化学发光免疫分析系统进行检测, CORT 配套试剂盒购于美国 Beckman Coulter 有限公司。(批号: 33600)。检测方法, 把 25 μ l 血浆加入相应的样品杯中, 执行定标程序, 仪器自动进行定量测定, 并于 15min 后在机上直接读出和打印测定结果。

结 果

1 行为学观察

经连续注射三次后, 实验组有 9 只大鼠出现较明显行走运动困难、精神状态较差, 对外界反应迟钝, 摄食困难, 体重减轻。对照组大鼠反应与注射前未见差异。

2 实验组及对照组各脑区内 CRHmRNA 的表达以及烟碱对其表达的影响

2.1 对照组与实验组脑内各区 CRHmRNA 表达

在光镜下观察, 两组 CRHmRNA 在下丘脑神经元、海马回锥体细胞层, 齿状回颗粒细胞层及颞叶神经元均有表达。阳性细胞表现为胞浆中出现棕褐色物质, 较少神经元出现在胞核。未加杂交液切片未见任何非异性染色。对照组和实验组中未注射烟碱刺激, 除下丘脑 CRHmRNA 阳性细胞数及阳性区面积实验组明显低于对照组外, 海马及颞叶在二组比较差异无显著意义(表 1 及图 17,19,21,23,25,27)。

表 1 对照组与实验组脑内各区 CRHmRNA 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	下丘脑		海 马		颞 叶	
	阳性细胞数	阳性区面积	阳性细胞数	阳性区面积	阳性细胞数	阳性区面积
对 照 组	240.67 $\pm$ 10.15	1303.83	77.67 $\pm$ 5.13	209.34	150.33 $\pm$ 8.48	540.00
	$\pm$ 77.46		$\pm$ 18.76		$\pm$ 43.05	
实 验 组	223.67 $\pm$ 9.93 [△]	1099.33 $\pm$	82.17 $\pm$ 6.23	192.83	161.00 $\pm$ 8.53	609.83
	125.70 [△]		$\pm$ 22.78		$\pm$ 91.29	

△ 与对照组比较, $p < 0.05$, [△]与对照组比较, $p < 0.01$

2.2 对照组和实验组经烟碱刺激后脑内 CRHmRNA 表达的差异比较

经烟碱刺激后, 对照组脑内各区 CRHmRNA 表达明显高于实验组 $p < 0.001$ 。(表 4, 图 18,20,22,24,26,28), 表明对照组对烟碱刺激反应较实验组更为强烈。

表 2 烟碱对对照组和实验组脑内 CRHmRNA 表达影响的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	下丘脑		海 马		颞 叶	
	阳性细胞数	阳性区面积	阳性细胞数	阳性区面积	阳性细胞数	阳性区面积
对照烟碱组	475.83 $\pm$ 31.60		133.88 $\pm$ 10.06		251.67 $\pm$ 11.54	1047.33
	2808.00 $\pm$ 207.88		484.59 $\pm$ 34.57		$\pm$ 133.90	
实验烟碱组	297.00 $\pm$ 11.05 [△]		80.84 $\pm$ 4.84 [△]	196.67	178.00 $\pm$ 5.51 [△]	576.00 $\pm$
	1251.83 $\pm$ 60.69 [△]		$\pm$ 15.51 [△]		66.55 [△]	

[△]与对照烟碱组比较, $p < 0.001$

3、大鼠血浆 ACTH 浓度变化

对照组和实验组中未注射烟碱的大鼠,血浆 ACTH 浓度分别为 54.143 ± 4.043 ng/L 和 56.243 ± 5.578 ng/L, 比较无显著差异($P > 0.05$)。对照组及实验组中注射烟碱的大鼠, 血浆 ACTH 浓度均有增高, 对照组增高 210.313 ± 16.427 ng/L 四倍 ($P < 0.001$), 实验组 70.412 ± 5.897 ng/L 有所增高 ($P < 0.05$), 其中对照组又比实验组增高明显 ($P < 0.01$), 达三倍。表明实验组对烟碱刺激的反应较为迟钝, ($P < 0.001$)。批内变异系数为 6.1%。

4、大鼠血浆 CORT 浓度变化

对照组和实验组中未注射烟碱的大鼠血浆 CORT 浓度分别为 14.978 ± 1.637 nmol/L 和 16.137 ± 2.496 nmol/L, 差异无显著意义 ($P > 0.05$)。实验组中注射烟碱的大鼠血浆 CORT 浓度 (17.475 ± 3.114 nmol/L) 与上述两组比较亦未见明显增高 ($P > 0.05$)。对照组中注射烟碱的大鼠 CORT 浓度 (28.028 ± 1.475 nmol/L) 比其它三组均明显增高 ($P < 0.01$) 批内变异系数为 9.7%。肾上腺皮质 CORT 分泌与 ACTH 有较明显的平行。

讨论

1 AchRab 对 HPA 的影响

nAChR 在颞叶、海马、杏仁核等边缘系统及下丘脑均有表达, 且在下丘脑室旁核表达更为显著, 免疫组化发现 AchRab 能与下丘脑、室旁核、海马等中枢许多部位的神经元结合, 在下丘脑阳性免疫反应的神经元为 20%^(8, 13)。研究表明边缘系统与 HPA 激活有密切关系, 该系统与下丘脑有着广泛复杂的神经突触联系, 终纹床核、杏仁核介导海马胆碱能系统对 HPA 的激活作用^(19, 20, 21)。Nicotine 通过刺激 nAChR 而激活 HPA 的活性, 促进 ACTH 及 CORT 释放^(14, 22)。因而表明下丘脑及边缘系统 nAChR 在 HPA 的调节中起到重要作用。

实验表明脑室内注射 AchRab 后, 下丘脑神经元 CRHmRNA 表达的阳性细胞数和阳性区面积减少, 边缘系统的 CRHmRNA 表达与对照组无显著差异, 表明 AchRab 可能通过与 nAChR 结合而抑制下丘脑 CRHmRNA 的转录水平, 使下丘脑 CRH 合成减少。但 ACTH 及 CORT 同时无相应的降低。与 Weidenfeld 等⁽¹⁴⁾报道在大鼠脑室内注入 AchRab 后, ACTH 及 CORT 均有不同程度的增高有所不同。虽然下丘脑是 CRH 合成和释放的主要部位, 由于机体对 CRH 调节的复杂性, 皮层、海马等边缘系统也能合成 CRH, 同时下丘脑及其它中枢神经细胞也分泌一些神经肽类激素如精氨酸加压素、血管紧张素 II 等, 也能直接或间接地促进 ACTH 及 CORT 的释放^(23, 24)。体现在某些情况下机体有一定代偿能力。本实验的结果也表明在生理状态情况下, AchRab 只抑制下丘脑 CRHmRNA 表达, 对颞叶及海马等边缘系统的 CRHmRNA 表达无明显影响, 同时 AchRab 对 ACTH 及 CORT 分泌也无抑制作用。

2 AchRab 注入大鼠脑室后 Nicotine 对 HPA 的影响

下丘脑及边缘系统有大量的 nAChR 表达, 与 HPA 激活关系密切^(14, 22)。本实验结果表明, 在对照组大鼠注入烟碱后, 其下丘脑, 海马及颞叶 CRHmRNA 表达阳性细胞数及阳性区面积明显增加, 同时血浆 ACTH 增加三倍, CORT 增加约一倍。提示烟碱通过诱导下丘脑及边缘系统 CRHmRNA 表达, 使 ACTH 及 CORT 释放增加, 表明 CRH 在 CRH-ACTH-CORT 级联效应起主导作用。烟碱为 nAChR 高亲和力的特导性激动剂, 通过激活 nAChR 而激发 HPA 活性, 使 CRH 释放增加, 血浆 ACTH 及 CORT 增多。应用 nAChR 的特异性阻滞拮抗剂美加明或六甲胺可以完全阻滞烟碱对 HPA 激活, 抑制 ACTH、CORT 以及催泌乳素分泌, 同时伴有应激状态下抗焦虑等情绪及生理反应的改善^(14, 32, 33, 34, 35)。表明 nAChR 在调节 HPA 中起到重要的作用。本实验表明烟碱能促进下丘脑及边缘系统 CRHmRNA 广泛表达, 从而增加 CRH 合成, 促进 ACTH 及 CORT 分泌, 因而烟碱激活 HPA 与刺激下丘脑及边缘系统 nAChR 有关。

对照组大鼠注射烟碱后, 与实验组注射烟碱大鼠进行比较 (表 2), 对照组 HPA 对烟碱刺激反应明显强烈。下丘脑及边缘系统 CRHmRNA 表达的阳性细胞及阳性区面积明显增加, 同时 ACTH 及 CORT 分泌也明显增多, 实验组 HPA 对烟碱的刺激则明显迟钝。进一步证明 AchRab 通过与下丘脑和边缘系

统神经元上的 nAChR 结合在较大程度上抑制了烟碱对 HPA 的激活作用。应用抗肌肉 AchRab 可以阻断配体所诱导的神经 nAChR 激活^(11,36)。应用抗肌肉 AchRab 能抑制声和烟碱刺激所诱发的 ACTH 及 CORT 增加,应用 nAChR 特异性拮抗剂美加明也一样能抑制烟碱诱发的 ACTH 及 CORT 增加^(12,14),表明 nAChRab 能特异性地与 nAChR 结合,阻断烟碱所激活的 HPA。本实验证实 AchRab 能通过与 nAChR 特异性结合,阻断烟碱诱导下丘脑及边缘系统 CRHmRNA 的表达,进而抑制 HPA 的激活。这一点在国内外尚未见报道。

研究资料表明应激可诱发脑内乙酰胆碱(Ach)释放,通过 Ach 激活 nAChR 而刺激 HPA, nAChR 特异性拮抗剂美加明明显减少应激所诱导血浆 CORT,同时减轻应激情况下的紧张和焦虑⁽³³⁾。Ach 激活 HPA 同 Nicotine 一样与促进 CRH 释放有关⁽³⁵⁾。脑室内注入 nAChRab 能特异性地抑制声源性应激时 ACTH 和 CORT 分泌,这种应激反应特异性地依赖中枢 Ach 作为递质^(12, 37)。同时大鼠制动、创伤、脑缺血等应激状态下,下丘脑及边缘系统 CRHmRNA 大量表达,ACTH 和 CORT 分泌增加^(25, 27)。因而应激反应时 nAChR 与 CRH 对 HPA 的调节起到重要作用。本实验表明 nAChRab 能阻滞烟碱诱导的下丘脑及边缘系统 CRHmRNA 表达,进而抑制 ACTH 及 CORT 分泌。MG 的发病及危象的发生机理目前尚不清楚,但 MG 与 nAChRab 关系密切,有研究证实 MG 患者脑脊液中存在 AchRab^(6, 7)。MG 发病前以及危象发生前常有一些诱因,如感染、创伤、精神压力等等,对机体而言是一种应激状况。故推测在 MG 患者中,由于 nAChRab 与下丘脑及边缘系统 nAChR 结合,在应激情况下明显抑制其 CRHmRNA 表达,导致 ACTH 及 CORT 分泌相对不足。CORT 作为免疫抑制和抗炎因子,在防止自身免疫反应的产生的过程中起重要作用。由于 CORT 在应激反应时分泌不足,因而不能有效地抑制自体抗体以及一些细胞因子的产生,使自身抗体如 AchRab 等产生过度,破坏了免疫系统的自稳,不能进行有效的免疫调节,因而导致 MG 或危象的发生。这一点可能在 MG 危象发生时起更重要的作用。故本研究认为: AchRab 抑制 HPA 在应激反应中的激活可能与 MG 或危象发生有较密切的关系,特别在 MG 发病早期或危象诱发中可能起着较重要的作用,当然尚需进一步研究证实。

参考文献

- 1、Mantegazza R, Beghi E, Pareyson D, et al. A multicentre follow-up study of 1152 patients with myasthenia gravis in Italy. *J Neural*, 1990,237:339-344
- 2、Thomas CE, Mayer AS, Gungor Y, et al. Myasthenic crisis: clinic feature, mortality, complications, and risk factors for prolonged intubation. *Neurology*. 1997, 48(5):1253-1260
- 3、Tartara A, Mola M, Manni R, et al. EEG findings in 118 cases of myasthenia gravis *Rev Electroencephalogr Neuropsychiol clin*, 1982, 12:275-279
- 4、Jech R, Ruzicka E. Brain stem auditory evoked potential reflect central nervous system involvement in myasthenia gravis. *J Neurol*, 1996, 243:547-557
- 5、Tucker DM, Roeltgen DP, Wann PD et al. Memory dysfunction in myasthenia gravis: evidence for central cholinergic effects. *Neurology*, 1988, 38:1173-1177
- 6、Lefvert AK, Pirskanen R. Acetylcholine receptor antibodies gravis. *Lancet*, 1977, 2:351-352
- 7、Fulpius B, Fantana A, Cuenoud S. Central-nervous-system involvement in experimental autoimmune myasthenia gravis. *Lancet*, 1977, 2:350-351
- 8、李柱一, 鞠躬, 邱晓飞等, 重症肌无力中枢神经损害模型, *中华神经科杂志*, 1997, 30: 218-222
- 9、Han ZY, Le Novere N, Zoli M, et al. Localization of nAChR subunit mRNAs in the brain of Macaca mulatta. *Eur J Neurosci*. 2000, 12: 3664-3674
- 10、Lukas, R. T Interactions of antinicotinic acetylcholine receptor antibodies with rat brain