

前列地尔对实验性脑出血大鼠血肿周围组织炎性反应的影响

程娟 柯开富

【摘要】 **目的** 观察前列地尔对实验性脑出血模型大鼠血肿周围组织神经元形态的影响。**方法** 采用立体定向技术于右侧基底节注射自体动脉血制备脑出血大鼠模型。前肢伸置和转身运动测验评价大鼠行为学变化,尼氏染色观察不同处理组大鼠血肿周围组织神经元形态变化,间接免疫荧光染色计数血肿周围组织 TNF- α 和 IL-6 表达阳性细胞数目及分布范围。**结果** 脑出血后大鼠行为障碍主要表现为运动感觉损伤和动作不对称,给予前列地尔治疗后其症状与体征明显改善,且于实验第 5、7 和 14 天时行为功能恢复程度接近对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。组织形态学观察可见,脑出血后血肿周围组织有大量炎性细胞浸润、坏死,呈现“挤压区”,其外侧细胞水肿、轮廓不清;经前列地尔治疗后炎性细胞浸润和神经元肿胀不同程度改善,且随着治疗时间的延长脑出血同侧正中裂旁皮质区神经元数目逐渐增加,至治疗结束时接近正常水平 ($P = 0.650$)。脑出血后血肿周围组织神经元高表达 TNF- α 和 IL-6,阳性细胞主要分布于血肿周围组织,血肿远隔部位和健侧几乎不表达;经前列地尔治疗后,二者表达水平呈逐渐降低趋势,并于治疗第 7 ($P = 0.035, 0.023$) 和 14 天 ($P = 0.024, 0.020$) 时接近正常水平。**结论** 前列地尔对脑出血模型大鼠神经功能改善的机制,可能与抑制血肿周围组织炎性反应、减少血肿周围组织继发性神经元损害有关。

【关键词】 前列地尔; 脑出血; 血肿; 肿瘤坏死因子 α ; 白细胞介素 6; 疾病模型,动物

DOI: 10.3969/j.issn.1672-6731.2011.03.017

The effect of alprostadil on perihematomal tissue of experimental intracerebral hemorrhage in rats CHENG Juan*, KE Kaifu. *Grade 2008, Graduated School, Medical School of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu, China

Corresponding author: KE Kaifu (Email: kekaiifu_nt@126.com)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of alprostadil on perihematomal tissue of experimental intracerebral hemorrhage (ICH) in rats. **Methods** The ICH was induced by stereotaxic infusion of autologous arterial blood into the right basal ganglion. Forelimb placing test and corner turn test were used as behavioral tests. The rats were tested at 3, 5, 7 and 14 d after ICH. Nissl staining was performed to observe the neuronal morphological changes in perihematomal tissue. Immunofluorescence staining was used to determine the number and distribution of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) positive cells in perihematomal tissue at 3, 5, 7 and 14 d. **Results** Alprostadil-treated group showed significant improvement in behavioral tests at 5, 7 and 14 d compared with the control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), but there was no significant difference at 3 d ($P = 0.788, 1.000$). Nissl staining showed that after cerebral hemorrhage there were obvious inflammatory infiltration, tissue necrosis presented as a "compressed zone" in the perihematomal tissue, and cells around the zone were swollen and had no apparent profile. After alprostadil treatment inflammatory cell infiltration and swollen neurons were reduced in different degrees. Along with the duration of treatment, neuron gradually increased in cortical area beside the medial fissure ipsilateral to the hemorrhagic side, and achieved approximately to normal level at the end of the therapy ($P = 0.650$). TNF- α and IL-6 positive cells were mainly distributed around the hematoma, while there were few positive cells at the distal and contralateral site. After administration of alprostadil TNF- α positive cells decreased and IL-6 positive cells increased in perihematomal region, and all nearly reached to normal level as the control group at 7 d ($P = 0.035, 0.023$) and 14 d ($P = 0.024, 0.020$).

Conclusion Alprostadil can improve neurological function of cerebral hemorrhagic rats. The mechanisms may be related to the suppression of acute inflammation and relief of

作者单位: 226001 南通大学医学院研究生院 2008 级(程娟); 南通大学附属医院神经内科(柯开富)

通信作者: 柯开富 (Email: kekaiifu_nt@126.com)

secondary neuron injury around hematoma tissue.

【Key words】 Alprostadil; Cerebral hemorrhage; Hematoma; Tumor necrosis factor - alpha; Interleukin-6; Disease models, animal

脑出血是具有高发病率和病死率的脑卒中亚型,其诱导脑损伤的机制包括早期邻近组织机械性破坏和占位效应,以及继发性损伤如脑水肿和炎症反应^[1-2]。如何降低脑出血病残率、提高治愈率是当前脑血管病防治的重要研究课题之一。临床前和临床研究证据表明,炎症反应可以促进脑出血后继发性脑损伤的进展^[1,3],炎性细胞具有促进出血后脑损伤的作用,如血液来源的白细胞和巨噬细胞、小胶质细胞、星形胶质细胞和肥大细胞。参与炎症反应的分子有前列腺素(PGE)、趋化因子、细胞因子、细胞外蛋白酶及活性氧(ROS)簇^[3-5]。抑制炎症反应能够减轻脑水肿,改善神经功能^[6]。前列腺素E₁(PGE₁)为前列地尔注射液的有效成分,具有较为广泛的生物学效应,例如扩张血管平滑肌、抗血小板聚集、抑制血栓素A₂(TXA₂)形成、抑制炎症反应和保护血管内皮细胞等,能够特异性地作用于缺血局部组织,明显扩张病变后狭窄的血管,改善脑组织缺血缺氧状况^[7]。脑出血后,血肿周围组织发生继发性损害的机制与前列腺素E₁的保护作用具有许多对应点。鉴于此,我们尝试应用前列地尔对实验性脑出血大鼠进行干预治疗,以观察该药物对神经功能的改善作用。

材料与方 法

一、材料

1. 实验动物 健康成年雄性 Sprague-Dawley (SD)大鼠 120 只,体质量 300~350 g,平均(352.40±30.31) g,由南通大学实验动物中心提供。于室温 18~25℃、自然昼夜光照、充足进食水饲养环境下适应 3 d 进入实验。

2. 主要试剂 前列地尔注射液(批号:2041B20090918)由北京泰德制药股份有限公司提供,所含前列腺素E₁浓度为 2 ml/10 μg。免疫试剂中 I 抗工作液(为兔抗鼠 TNF-α 和羊抗鼠 IL-6 多克隆抗体,工作浓度均为 1:100)购自南京巴傲得生物科技有限公司,II 抗工作液[含 Alexa Fluor350 荧光素标记的山羊抗兔 IgG 和异硫氰酸荧光素(FITC)标记的兔抗山羊 IgG II 抗,工作浓度均为 1:100],

分别购自碧云天生物研究所和南京巴傲得生物科技有限公司。

二、实验方法

1. 脑出血模型制备及分组 (1)制备方法:参照文献[8]方法,将大鼠自体尾动脉血注入基底节尾状核以制备脑出血模型。大鼠称体质量后以质量分数为 10%水合氯醛(300 mg/kg)腹腔注射麻醉,固定于脑立体定位仪,按照《大鼠脑立体定位图谱》^[9]进行右侧内囊定位:采用磨牙钻于颅骨中线右侧 3.50 mm、冠状缝前 0.20 mm 钻一直径为 1 mm 小孔,直达硬脑膜。大鼠尾根部腹侧纵行切开 2~3 mm,细致分离并显露尾动脉,微量注射器穿刺并抽取不含抗凝药物动脉血 80 μl,微量注射器针头经牙科钻孔垂直缓慢进入脑内约 5.50 mm,缓慢注射自体血,注射时间以 2 min 为宜,再留针 15~20 min,分 2 次缓慢退出,防止血液流出,医用骨蜡封闭骨孔,观察无出血后缝合头皮、加压包扎尾部切口。大鼠清醒后饮食同术前。(2)模型判断:手术过程中无明显针道反流,大鼠清醒后行为学测验表现为不同程度行为障碍,抽样脑组织标本可见基底节凝固态血肿形成,即为模型制备成功。本研究模型制备成功率约为 84.51%(120/142)。(3)实验分组:采用随机数字表法,按照动物体质量编号并随机分为前列地尔治疗组(治疗组)和生理盐水对照组(对照组),另选择 60 只大鼠作为假手术组。①治疗组。60 只大鼠,均于模型制备成功后 48 h 腹腔注射前列地尔,剂量为 2.50 μg/(kg·d),连续治疗 5 d。②对照组。60 只大鼠,均于模型制备成功后 48 h 腹腔注射生理盐水 2.50 ml/(kg·d),连续注射 5 d。③假手术组。60 只大鼠,手术操作步骤和实验条件与前两组完全相同,但仅进针而不注射自体血或生理盐水。每组大鼠均于实验后第 3、5、7 和 14 天分别观察行为学、组织形态学和炎症因子表达变化。

2. 行为学测验 (1)前肢伸置测验 (forelimb placing test)^[10]:大鼠躯干悬空,前肢自由活动,左侧前肢靠近实验台,尽量使之放松并消除抵抗。测验时,大鼠出现任何挣扎、肢体极度伸展或肢体向实验者手抓持表现均不计分。正常情况下,大鼠在触

须快速擦过后,表现为反射性伸出同侧前肢,迅速伸向邻近桌面,以获得抓持,计 1 分。每只大鼠前肢共测验 10 次,每次间隔时间至少 30 s,记录正常反应次数,然后计算百分数。(2)转身运动测验(corner turn test)^[10]:在大鼠前方置两块宽木板作为障碍物,夹角约为 30°,大鼠进入后遇夹角则转身退出。正常情况下,大鼠向左或向右转身的机会相同,记录其退出时向左或向右转身的次数。排除大鼠向腹侧蜷缩或水平运动,每只大鼠重复 10 次,每次间隔时间至少 30 s,记录大鼠向右侧转身次数,然后计算百分数。记录各组大鼠于实验第 3、5、7 和 14 天时的行为学评分,每一测量时间点 10 只大鼠,测验期间自由进食、饮水。

3. 脑组织切片制备 不同处理组大鼠分别于实验第 3、5、7 和 14 天神经功能评分结束后即刻以质量分数为 10%水合氯醛(0.4 ml/100 g)腹腔注射麻醉,经左心室向升主动脉快速灌注生理盐水 250 ml 和 4%甲醛溶液,迅速断头取全脑,经 4%水合氯醛溶液后固定,以含 20%和 30%蔗糖的磷酸盐缓冲液梯度固定,-20℃、Leica-CM1900 型冰冻切片机制冠状切片,切取范围距注射针孔前后各约 2 mm,切片层厚分别为 30 μm 或 10 μm,每间隔 10 张脑组织切片选择 1 张,贴于正电荷防脱载玻片上,晾干,进行尼氏染色和间接免疫荧光染色。

4. 尼氏染色观察血肿周围组织神经元形态 选择层厚为 30 μm 的脑组织切片,置 100%氯仿溶液中 5 min,载玻片于 100%丙酮溶液中继续保留 15 min,100%、95%和 70%乙醇溶液各 1 min,脱水 3 次,焦油紫染色 30 min,蒸馏水冲洗后 70%、95%和 100%乙醇溶液脱水、脱色各 1 min,然后转置 100%氯仿反应 5 min,分化剂处理 2~3 min,脱水封闭,二甲苯反应 60 s 后封固、晾干。于 Leica DMLB 型显微镜(×200 或 ×100)下观察血肿周围组织和远隔部位皮质区神经元形态变化。

5. 间接免疫荧光染色检测血肿周围组织 TNF-α 和 IL-6 表达 选择层厚为 10 μm 的脑组织切片,磷酸盐缓冲液冲洗 3 min(×3 次),羊血清封闭 2 h,滴加 50 μl 经 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液稀释的兔抗鼠 TNF-α(1:100)和羊抗鼠 IL-6(1:100)多克隆抗体,4℃过夜,磷酸盐缓冲液冲洗 3 min(×3 次),滴加含 Alexa Fluor350 荧光素标记的山羊抗兔和 FITC 标记的兔抗山羊 IgG II 抗,室温孵育 2 h,磷酸盐缓冲液冲洗 3 min(×3 次),甘油封固,即刻拍摄荧光片。每组

(6 只大鼠)选择 4 张脑组织切片,光学显微镜下观察阳性细胞分布情况。随机选择血肿周围 4 个互不重叠视野,计数每一视野 TNF-α 和 IL-6 阳性细胞数目,取其平均值即为不同测量时间点 TNF-α 或 IL-6 激发绿色荧光阳性细胞数目。

三、统计分析方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据计算和分析。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多个样本均数的比较采用单因素方差分析,两两比较行 *q* 检验。统计推断的检验水准均为 0.05。

结 果

一、行为学观察

脑出血模型大鼠麻醉清醒后均出现不同程度行为障碍,主要表现为运动感觉损伤和动作不对称。前肢伸置测验显示,脑出血模型大鼠左侧前肢在同侧触须刺激后不能伸展其肢体或伸出前爪抓持桌缘,部分表现为正常行为反应次数显著减少,或刺激左侧触须后出现右侧前肢伸向桌面。转身运动测验中,脑出血模型大鼠表现为进入夹角死胡同后开始上下左右转身摸索,最后转身退出,而且向右侧摸索的动作较左侧增加,向右侧转身次数亦明显增加。

1. 前肢伸置测验 与对照组比较,假手术组大鼠各测量时间点(第 0、3、5、7 和 14 天)前肢伸置测验成绩良好,且组间差异有统计学意义(均 $P = 0.000$);前列地尔治疗组大鼠除实验即刻($P = 1.000$)和第 3 天($P = 0.788$)外,其余各测量时间点测验成绩均优于对照组($P < 0.01$,表 1)。

2. 转身运动测验 与对照组比较,假手术组大鼠各测量时间点转身运动测验成绩良好,且组间差异有统计学意义(均 $P = 0.000$);前列地尔治疗组大鼠除实验即刻和第 3 天(均 $P = 1.000$)外,其余各测量时间点(第 5、7 和 14 天)转身运动测验成绩均优于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,表 2)。

二、血肿周围组织神经元形态观察

尼氏染色显示,假手术组大鼠针头注射部位无损伤血管造成的血肿。而脑出血模型大鼠血肿周围组织可见大量炎性细胞浸润,细胞排列紊乱,极向不清;但血肿远隔部位结构层次清晰,细胞形态比较规则,胞质内尼氏小体丰富,细胞排列整齐。对照组大鼠于实验第 3 天,血肿周围出现“挤压区”,且神经元密集,散在炎性细胞浸润,小胶质细胞增

表 1 不同处理组大鼠各测量时间点前肢伸置测验成绩的比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	样本例数	0 d	3 d	5 d	7 d	14 d	F 值	P 值
假手术组	10	89.00 ± 7.38	95.00 ± 5.27	97.00 ± 4.83	98.00 ± 4.22	99.00 ± 3.16	5.925	0.001
对照组	10	9.00 ± 5.67	18.00 ± 6.32	22.00 ± 4.22	41.00 ± 7.38	80.00 ± 4.71	239.250	0.000
治疗组	10	10.00 ± 6.67	23.00 ± 4.83	36.00 ± 5.16	63.00 ± 6.75	91.00 ± 5.68	142.194	0.000
F 值		482.110	611.232	703.919	210.481	288.540		
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		

表 2 不同处理组大鼠各测量时间点转身运动测验成绩的比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	样本例数	0 d	3 d	5 d	7 d	14 d	F 值	P 值
假手术组	10	55.00 ± 5.27	52.00 ± 7.89	51.00 ± 5.68	52.00 ± 4.22	50.00 ± 4.71	1.079	0.378
对照组	10	94.00 ± 6.99	95.00 ± 5.27	90.00 ± 4.71	86.00 ± 5.16	70.00 ± 9.43	24.016	0.000
治疗组	10	92.00 ± 6.33	93.00 ± 6.75	80.00 ± 6.67	70.00 ± 6.67	53.00 ± 4.83	70.357	0.000
F 值		124.029	130.352	124.483	97.650	25.959		
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		

生,但细胞无明显肿胀,较外侧区域疏松,神经元呈现不同程度的肿胀;第5天时,脑血肿周围细胞肿胀逐渐减轻;至第7天,血肿周围可见少量坏死细胞碎片;第14天时,血肿周围小胶质细胞增生明显,血肿体积缩小。前列地尔治疗组炎性细胞浸润和神经元肿胀有不同程度改善(图1),实验第3天时出血同侧正中裂旁皮质区神经元数目减少($P = 0.000$),随着时间的推移细胞数目逐渐增加($P = 0.020$);至第7天($P = 0.280$)和14天($P = 0.650$)时接近假手术组水平,组间差异无统计学意义(图2,表3)。

三、血肿周围组织 TNF- α 和 IL-6 表达检测

1. TNF- α 表达变化 免疫荧光染色显示,阳性细胞集中分布于血肿周围组织,而远隔部位和健侧几无阳性细胞分布。TNF- α 表达阳性细胞胞质呈深染,胞核不着色或轻微着色(图3);大多数细胞形态似神经元或浸润的白细胞,分布于血肿周围组织,而血肿远隔部位和健侧几乎不表达 TNF- α 。前列地尔治疗组大鼠右侧内囊 TNF- α 阳性细胞表达水平呈逐渐降低趋势(图4),并且于实验第7天($P = 0.035$)和14天($P = 0.024$)时与对照组之间的差异达到统计学意义(均 $P < 0.05$,表4)。

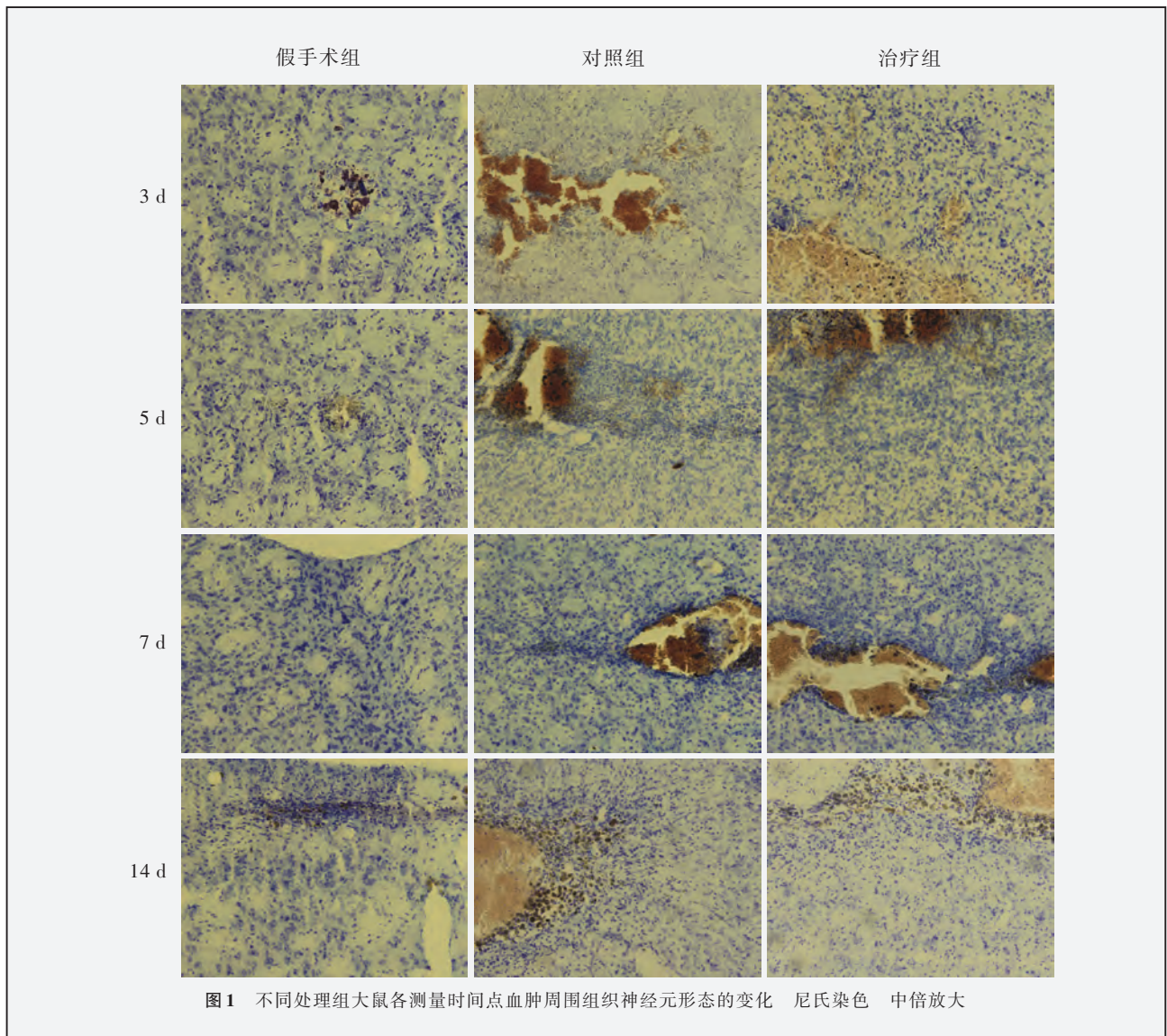
2. IL-6 表达检测 免疫荧光染色显示,IL-6 表达阳性细胞近似三角形,胞体和胞核较大,三角形尖端有长的突起伸出;部分胞体外观欠光滑、胞质浓缩,甚至突起断裂或扭曲(图5)。假手术组大鼠脑组织中几无 IL-6 表达阳性细胞。脑出血后,IL-6 阳性细胞表达部位与 TNF- α 分布范围一致,主要位

于血肿周围组织,而血肿远隔部位和健侧几乎不表达。前列地尔治疗组大鼠于实验第3天阳性细胞数目达峰值水平,之后逐渐减少(图6),并于治疗第7天($P = 0.023$)和14天($P = 0.020$)时与对照组之间的差异达到统计学意义(均 $P < 0.05$,表5)。

讨 论

脑出血早期出现的神经功能缺损是影响预后的主要因素。前肢伸置测验是大鼠前肢对触觉和本体感受性刺激作出的行为反应;而转身运动测验则反映了大鼠在遇到障碍物转身过程中自发运用触觉辨别、肢体空间探索、体位平衡和前后肢运用等多种动作的对称与协调性^[10]。这些局部感觉运动的整合与动作的协调,与大鼠前脑皮质或纹状体功能有关^[11]。采用上述两项测验对大鼠行为学变化进行联合评价,可提高测验的敏感性。本研究结果显示,经前列地尔治疗后的脑出血大鼠神经功能恢复程度显著优于对照组($P < 0.05$)。

小胶质细胞激活参与了脑出血急性期的炎症反应过程^[12],其致病途径主要包括:直接细胞毒性作用和释放如 TNF- α 、白细胞介素等细胞因子和细胞毒性物质。但在血肿开始吸收时,小胶质细胞的激活可通过吞噬作用和释放神经营养因子而参与血肿的吸收与脑组织修复^[13-14]。本研究尼氏染色结果显示,脑出血后神经元损伤主要集中于血肿周围组织,而对血肿远隔部位神经元的损伤程度极小;血肿周围组织损伤是脑出血后继发性神经元损伤



的主要原因之一,对照组与前列地尔治疗组大鼠各测量时间点出血同侧正中裂旁皮质区神经元数目无明显差异($P > 0.05$)。表明:前列地尔对脑组织的保护作用主要作用于血肿周围组织。

肿瘤坏死因子分为 α 和 β 两种亚型,其产生主要通过启动和分泌两个阶段完成,人体内的肿瘤坏死因子主要是多种巨噬细胞激活后分泌的TNF- α ,在中枢神经系统中,星形胶质细胞、血管内皮细胞、小胶质细胞和神经元均可产生TNF- α ^[7]。在脑组织损伤的免疫应答过程中,TNF- α 为触发因子,损伤后星形胶质细胞、血管内皮细胞和小胶质细胞首先表达TNF- α ,而后再刺激相同细胞表达IL-6等炎性因子,共同参与炎性反应和免疫应答^[15]。在本研究中,假手术组大鼠脑组织几乎不表达TNF- α ,而脑出血大鼠在所有测量时间点血肿周围组织均表达TNF- α ,

而血肿远隔部位和健侧几乎不表达。TNF- α 着色部位位于胞质,于脑出血后第3天表达水平达峰值,此与本研究实验第3天大鼠行为学的观察结果相吻合。进一步表明,TNF- α 在脑出血的病理生理过程中占重要地位,经前列地尔治疗后,大鼠血肿周围组织TNF- α 表达即受到明显抑制。IL-6主要由单核细胞、淋巴细胞和内皮细胞产生,中枢神经系统中的星形胶质细胞、小胶质细胞和神经元也可产生。炎性因子——TNF- α 和IL-1具有刺激IL-6活化之作用,但目前对脑损伤后IL-6的作用报道不一^[16-18]。本研究结果显示,脑出血后IL-6与TNF- α 的分布一致,同样集中于血肿周围组织,损伤远隔部位和健侧脑组织不表达。相对于对照组而言,前列地尔治疗组大鼠血肿周围组织IL-6表达阳性细胞在脑出血第3天时显著增多,之后逐渐减少,可能与其所产

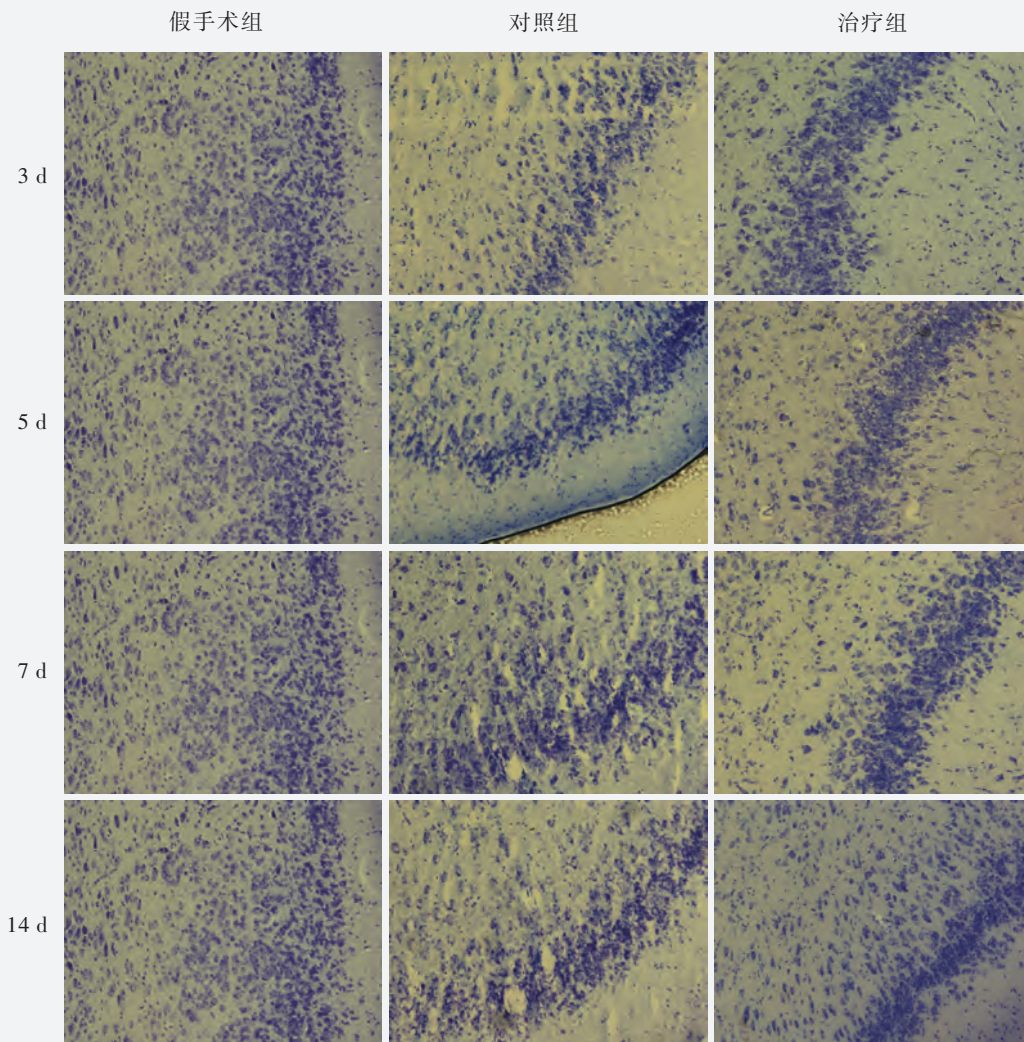


图2 不同处理组大鼠各测量时间点血肿同侧皮质区神经元形态的变化 尼氏染色 中倍放大

表3 不同处理组大鼠各测量时间点血肿同侧皮质神经元数目的比较($\bar{x} \pm s$, 细胞数)

组别	样本例数	3 d	5 d	7 d	14 d	F 值	P 值
假手术组	6	131.33 ± 8.43	131.33 ± 8.43	131.33 ± 8.43	131.33 ± 8.43	—	—
对照组	6	91.50 ± 11.50	99.83 ± 11.32	107.00 ± 13.16	117.33 ± 12.52	68.953	0.000
治疗组	6	91.33 ± 9.16	102.67 ± 11.79	115.17 ± 11.91	119.17 ± 11.94	33.748	0.000
F 值		151.413	75.816	27.824	5.590		
P 值		0.000	0.000	0.000	0.015		

生的如下保护作用有关^[19-20]:(1)刺激星形胶质细胞合成神经生长因子(NGF)和神经营养因子,且自身也具有神经生长因子样作用,诱导神经元分化生长,促进神经损伤的修复。(2)对抗兴奋性氨基酸(EAA)的神经毒性作用。(3)抑制TNF- α 和IL-1 β 的合成,促进IL-1受体阻断剂和可溶性肿瘤坏死因子I型受体的产生,从而拮抗IL-1和TNF- α 所导致的

炎性损伤。(4)通过与边缘系统、下丘脑-垂体-肾上腺轴的相互作用,增加促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)的释放,提高促肾上腺皮质激素(ACTH)和皮质醇水平,从而抑制炎症反应。而在脑出血第5、7和14天时,与对照组比较,前列地尔治疗组大鼠血肿周围组织IL-6表达阳性细胞数目减少,提示此时高表达的IL-6加重了对照组大鼠的脑损伤。其发

表 4 不同处理组大鼠血肿周围组织 TNF- α 表达阳性细胞数目的比较 ($\bar{x} \pm s$, 细胞数)

组别	样本例数	3 d	5 d	7 d	14 d	F 值	P 值
假手术组	6	76.50 \pm 9.09	63.00 \pm 13.30	63.17 \pm 12.58	52.17 \pm 9.87	4.623	0.013
对照组	6	147.00 \pm 15.53	144.83 \pm 11.51	120.67 \pm 9.56	106.50 \pm 7.01	17.858	0.000
治疗组	6	142.50 \pm 7.50	133.00 \pm 15.11	108.50 \pm 16.06	81.83 \pm 7.25	29.760	0.000
F 值		73.749	65.475	32.566	66.934		
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000		

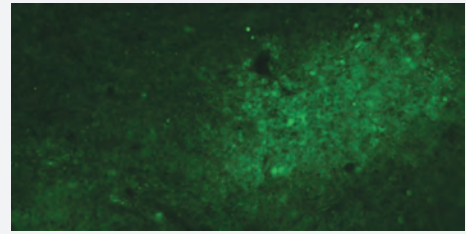


图 3 光学显微镜观察显示,血肿周围组织神经元 TNF- α 表达阳性 间接免疫荧光染色 中倍放大

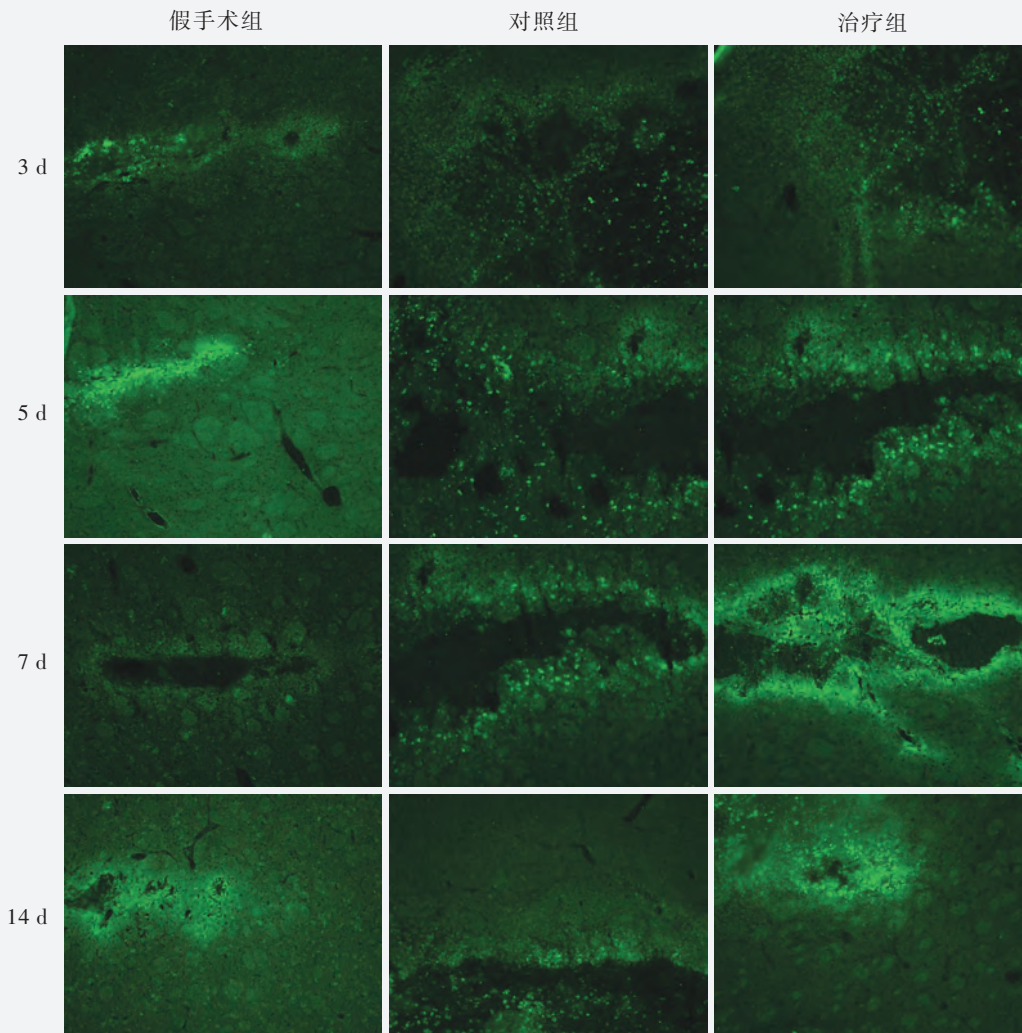


图 4 不同处理组大鼠各测量时间点血肿周围组织神经元 TNF- α 表达阳性细胞数目的变化 间接免疫荧光染色 低倍放大

生机制可能为:出血性损伤激活中性粒细胞、血管内皮细胞,同时诱导细胞间黏附分子(ICAM)的表达,促进炎性细胞从血管向神经组织移行,使中性粒细胞释放大量活性氧和弹性蛋白酶,进而对血管内皮细胞和神经元造成直接损伤,加重脑水肿和神

经元坏死、凋亡^[21]。前列地尔对血肿周围组织炎性因子——TNF- α 和 IL-6 表达的影响主要源自其对血肿周围组织炎性反应的抑制作用,从而促进血肿周围组织的修复。

前列地尔异名前列腺素 E₁,属于天然前列腺素

表 5 不同处理组大鼠血肿周围组织 IL-6 表达阳性细胞数目的比较($\bar{x} \pm s$, 细胞数)

组别	样本例数	3 d	5 d	7 d	14 d	F 值	P 值
假手术组	6	88.17 ± 8.98	78.83 ± 8.82	75.83 ± 6.21	56.50 ± 9.40	14.892	0.000
对照组	6	142.17 ± 11.55	137.17 ± 11.87	116.83 ± 12.97	116.83 ± 12.97	12.333	0.000
治疗组	6	147.33 ± 13.62	125.50 ± 10.19	100.50 ± 7.18	83.83 ± 8.47	45.276	0.000
F 值		48.398	53.156	29.697	34.635		
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000		

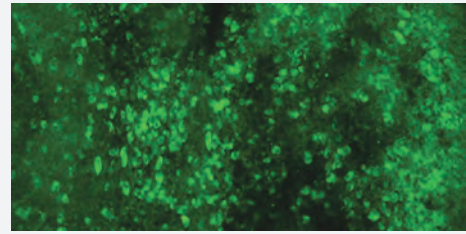


图 5 光学显微镜观察显示,血肿周围组织神经元 IL-6 表达阳性 间接免疫荧光染色 中倍放大

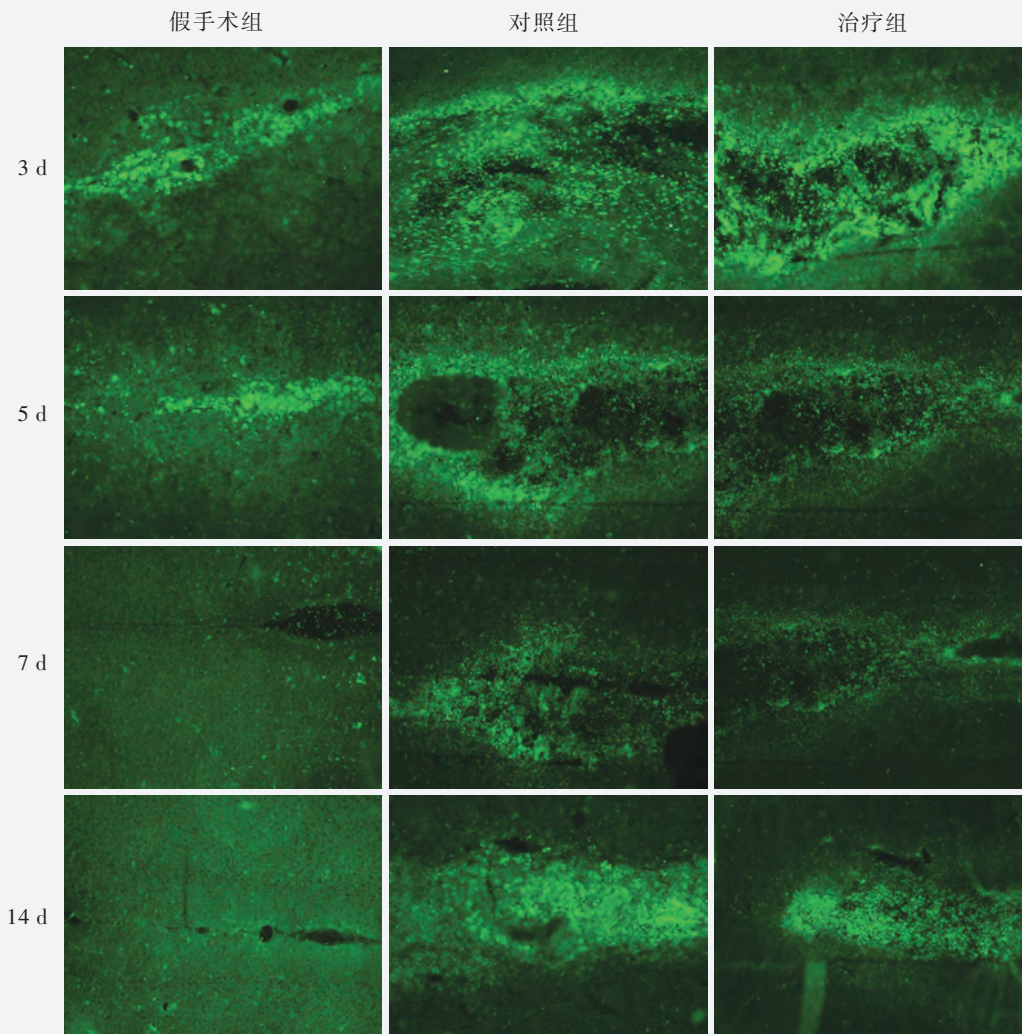


图 6 不同处理组大鼠各测量时间点血肿周围组织神经元 IL-6 表达阳性细胞数目的变化 间接免疫荧光染色 低倍放大

类物质。前列腺素 E₁ 是由血管内皮组织产生的有效血管舒张药,能够通过刺激腺苷酸环化酶系统直接松弛血管平滑肌,具有强烈的扩张血管、改善血液循环、抑制血小板聚集、抑制血栓素 A₂ 形成和炎症反应,以及改善红细胞变形性和保护血管内皮细

胞等多种生理作用^[7,22]。动物实验结果表明,前列腺素 E₁ 能够抑制中性粒细胞聚集、活化,且可以抑制脂多糖(LPS)诱导的 TNF- α 和一氧化氮释放^[23]。Nakazawa 等^[24] 研究也证实,前列腺素 E₁ 可降低 IL-6 的产生,并能增加动脉血氧分压/吸入氧浓度(PaO₂/

(FiO₂) 比值。

本研究结果提示:前列腺素 E₁ 主要通过增加血肿周围组织血流量、改善血液循环、减轻炎症反应,以改善血肿周围组织代谢从而起到神经保护作用。由于本实验仅是有限的探索,尚待扩大样本量并进行深入的研究。

参 考 文 献

- [1] Wang J. Preclinical and clinical research on inflammation after intracerebral hemorrhage. *Prog Neurobiol*, 2010, 92:463-477.
- [2] Qureshi AI, Mendelow AD, Hanley DF. Intracerebral haemorrhage. *Lancet*, 2009, 373:1632-1644.
- [3] Wang J, Doré S. Inflammation after intracerebral hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27:894-908.
- [4] Xue M, Yong VW. Matrix metalloproteinases in intracerebral hemorrhage. *Neurol Res*, 2008, 30:775-782.
- [5] Xi G, Keep RF, Hoff JT. Mechanisms of brain injury after intracerebral haemorrhage. *Lancet Neurol*, 2006, 5:53-63.
- [6] Peeling J, Yan HJ, Corbett D, et al. Effect of FK-506 on inflammation and behavioral outcome following intracerebral hemorrhage in rat. *Exp Neurol*, 2001, 167:341-347.
- [7] Taogoshi T, Nomura A, Murakami T, et al. Transport of prostaglandin E₁ across the blood-brain barrier in rats. *J Pharm Pharmacol*, 2005, 57:61-66.
- [8] MacLellan CL, Gyawali S, Colbourne F. Skilled reaching impairments follow intrastriatal hemorrhagic stroke in rats. *Behav Brain Res*, 2006, 175:82-89.
- [9] 包新民, 舒斯云. 大鼠脑立体定位图谱. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 28-46.
- [10] Hua Y, Schallert T, Keep RF, et al. Behavioral tests after intracerebral hemorrhage in the rat. *Stroke*, 2002, 33:2478-2484.
- [11] Tillerson JL, Cohen AD, Philhower J, et al. Forced limb-use effects on the behavioral and neurochemical effects of 6-hydroxydopamine. *J Neurosci*, 2001, 21:4427-4435.
- [12] Ohta A, Sitkovsky M. Role of G-protein-coupled adenosine receptors in downregulation of inflammation and protection from tissue damage. *Nature*, 2001, 414:916-920.
- [13] Boje KM, Arora PK. Microglial-produced nitric oxide and reactive nitrogen oxides mediate neuronal cell death. *Brain Res*, 1992, 587:250-256.
- [14] Giulian D, Vaca K. Inflammatory glia mediate delayed neuronal damage after ischemia in the cerebral nervous system. *Stroke*, 1993, 24:184-190.
- [15] Castillo J, Dávalos A, Alvarez-Sabín J, et al. Molecular signatures of brain injury after intracerebral hemorrhage. *Neurology*, 2002, 58:624-629.
- [16] 任美书, 王玉顺, 张明义, 等. 老年急性缺血性脑卒中患者血清白细胞介素-6 和肿瘤坏死因子- α 的观察. *中国现代神经疾病杂志*, 2007, 7:471-472.
- [17] 张明义, 韩俊英, 张蕴, 等. 血清肿瘤坏死因子- α 对急性缺血性脑卒中患者预后的影响. *中国现代神经疾病杂志*, 2007, 7: 268-271.
- [18] 康爱英, 武跃明, 王国庆, 等. 脑梗死患者血清超敏 C 反应蛋白和白细胞介素-6 变化分析. *中国现代神经疾病杂志*, 2005, 5: 354-355.
- [19] Sterneck E, Kaplan DR, Johnson RF. Interleukin-6 induces expression of peripherin and cooperates with Trk receptor signaling to promote neuronal differentiation in PC12 cells. *J Neurochem*, 1996, 67:1365-1374.
- [20] Yamada M, Hatanaka H. Interleukin-6 protects cultured rat hippocampal neurons against glutamate-induced cell death. *Brain Res*, 1994, 643(1/2):173-180.
- [21] Spittler A, Razenberger M, Kupper H, et al. Relationship between interleukin-6 plasma concentration in patients with sepsis, monocyte phenotype, monocyte phagocytic properties, and cytokine production. *Clin Infect Dis*, 2000, 31:1338-1420.
- [22] 梁禹, 张彦, 张秀山, 等. 前列腺素 E₁ 脂微球载体制剂对颅内动脉瘤栓塞治疗患者麻醉复苏及预后的影响. *中国现代神经疾病杂志*, 2008, 8:334-338.
- [23] Chuai M, Ogata T, Morino T, et al. Prostaglandin E₁ analog inhibits the microglia function: suppression of lipopolysaccharide-induced nitric oxide and TNF- α release. *J Orthop Res*, 2002, 20:1246-1252.
- [24] Nakazawa K, Narumi Y, Ishikawa S, et al. Effect of prostaglandin E₁ on inflammatory responses and gas exchange in patients undergoing surgery for oesophageal cancer. *Br J Anaesth*, 2004, 93:199-203.

(收稿日期:2011-03-16)

第二届亚洲神经病理学术会议暨第 11 届全国神经病理学术会议通知

受亚洲神经病理学会(Asian Society of Neuropathology)的委托,由亚洲神经病理学会、中华医学会神经病学分会神经病理学组和病理学分会脑神经病理学组联合主办的第二届亚洲神经病理学术会议(Second Congress of Asian Society of Neuropathology),拟定于 2011 年 11 月 3-7 日在北京市隆重召开,并同期举办第 11 届全国神经病理学术会议。

这是一次亚洲地区神经病理学和神经病学领域的盛会,旨在介绍国内外神经病理学基础与神经病学临床研究的最新进展,加强国内外同行专家的交流与合作,为亚洲的神经病理学和神经病学专家和学者提供一个良好的学术和经验交流平台。届时将特邀亚洲及欧美等国家的著名神经病理学和神经病学专家作报告和讲座,并进行大会论文发言、壁报交流等形式多样、内容丰富的学术活动。参会者将授予国家级继续医学教育 I 类学分 6 分。

在此,我们谨代表第二届亚洲神经病理学术会议暨第 11 届全国神经病理学术会议委员会和大会组委会,诚挚地邀请您参加这次盛会,它必将因为您的参与而更加精彩!

联系地址:北京市朝阳区小营路 25 号房地产业大厦 606 室。邮政编码:100101。联系电话:(010)59046396。传真:(010)59046368。Email 地址:scasn@mediwelcome.com。详情请登录会议网址:<http://www.scasn.org.cn>。