

实验研究报道 ·

新生猪缺氧缺血性 脑损伤模型中循环内皮细胞变化

王清江,刘素琴,郭春燕,常永超,朗然,马国瑞

(洛阳医学高等专科学校附属医院,河南 洛阳 471003)

[摘要] 目的 探讨新生猪缺氧缺血性脑损伤模型中循环内皮细胞(CEC)变化和纳络酮对内皮细胞数目的影响。方法 制作新生猪缺氧缺血性脑损伤动物模型,用 Hladovec 法从富含血小板血浆中分离循环内皮细胞。结果 正常对照组和缺氧缺血性脑损伤(HIBD)组循环内皮细胞分别为 $(2.15 \pm 0.81) \times 10^6/L$, $(3.25 \pm 0.71) \times 10^6/L$,差别有显著性意义($P < 0.01$),24 h后,HIBD组、纳络酮组 CEC 数目无明显差别。48 h后纳络酮组 CEC 数目明显低于 HIBD 组,两组间差异有显著性意义($P < 0.01$)。结论 循环内皮细胞数目可显示缺氧缺血性脑损伤的程度,可作为脑损伤的指标之一。纳络酮对脑损伤有保护作用。

[关键词] 循环内皮细胞;脑损伤;新生猪

[中图分类号] R-332 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1008-8830(2001)01-0114-02

循环内皮细胞数量的变化可以反应许多病理变化对血管的损伤,因而受到国内外学者的广泛关注^[1~3]。我们建立了新生猪缺氧缺血性脑损伤动物模型,检测周围血循环内皮细胞(circulating endothelial cell, CEC)变化,报告如下。

1 材料与方法

1.1 对象

健康新生猪 21 只,日龄 3~4 d,体重 1~1.5 kg,雌雄不拘,随机分为 3 组:对照组;新生猪缺氧缺血性脑损伤动物模型组(HIBD);纳络酮组。

1.2 动物模型制作

应用姚裕家法^[4],用 1%利多卡因局部麻醉,分离并结扎左侧颈总动脉,术毕将新生猪放入含 8%氧气和 98%氮气的混合气体的密闭塑料箱内。对照组只分离左颈总动脉并不结扎,放入含正常气体的密封塑料箱内持续 1 h 后取出动物,在 0,1,24,48 h 分别从股静脉采血,每次 3 ml,与 0.5 ml 3.8%枸橼酸钠液充分混合,立即进行分离,采血注射器和试管均硅化。

1.3 纳络酮组

经缺氧缺血性脑损伤的新生猪股静脉注入纳络

酮,每次 0.3 mg/kg。

1.4 CEC 计数

应用 Hladovec 建立的从富含血小板血浆中分离 CEC 的方法^[2]。在光学显微镜下计数全部 9 个大方格中的 CEC 数,同一标本计数 4 次,取其平均值作为 CEC 数。

1.5 统计学处理

所得数据用均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间应用 t 检验和方差分析。

2 结果

如表 1 所示对照组、HIBD 组和纳络酮组在 HIBD 后立即采血检测 CEC 分别为 $(2.15 \pm 0.81) \times 10^6/L$, $(3.25 \pm 0.71) \times 10^6/L$, $(3.14 \pm 0.69) \times 10^6/L$, $P < 0.01$ 。在 24 h CEC 检测纳络酮组与 HIBD 组明显高于对照组,但 HIBD、纳络酮组间无差异($M = 2.29$, $P > 0.05$),在 48 h 血液 CEC 数目 HIBD 组和纳络酮组间有显著差异($M = 0.63$, $P < 0.01$)。

[收稿日期] 2000-03-27; [修回日期] 2000-10-14
[作者简介] 王清江(1959-),男,大学,副教授,副主任医师。

表 1 HIBD、纳络酮与对照组 CEC 变化(n ×10 ⁶ /L)					
$\bar{x} \pm s$					
组别	n	0 小时	2 小时	24 小时	48 小时
对照组	7	2.15 ±0.81	2.68 ±1.45	2.67 ±1.18	1.82 ±0.89
HIBD 组	7	3.25 ±0.71	4.28 ±1.15	5.35 ±1.50	2.94 ±0.26
纳络酮组	7	3.14 ±0.69	4.90 ±1.82	5.24 ±1.52	4.37 ±1.09

3 讨论

1970 年有人在兔血中发现一种不同于常规血细胞的细胞,并命名为循环内皮细胞,并发现 CEC 数量变化可以反映许多病理变化对血管的损伤^[1~3]。理论上讲,内皮细胞的平均寿命大约为 3 个月,每天都有许多内皮细胞衰老脱落,CEC 数目反映了内皮细胞新陈代谢的基础水平。新生猪新陈代谢率高,但结果与人类报道值基本无差别^[2]。

在缺氧缺血时,脑血管自主调节功能破坏,脑小动脉失去对灌注压和二氧化碳浓度的反应能力,形成压力被动性脑血流。脑细胞内有氧代谢障碍,ATP 生成减少,致使细胞膜离子泵功能受损,细胞内 Na⁺、Cl⁻、Ca⁺⁺和 H₂O 增多,造成细胞损伤和死亡。当细胞 Ca⁺⁺浓度过高时,受 Ca⁺⁺调节的酶被激活,可分解膜磷脂,产生大量的花生四烯酸。当血流再灌注时还可产生自由基。这些因素均可损伤脑血管内皮细胞^[5]。故在缺氧缺血刚发生时与对照组比较即有明显升高(*P* < 0.01)。在 24 h 呈上升趋势,在 48 h 时有一定程度下降,提示 CEC 可作为

缺氧缺血性脑损伤的指标之一。同时,对照组在 1, 24 h CEC 也有升高,提示外伤也可导致 CEC 增加。但无显著意义(*P* > 0.05)。结果显示,应用纳络酮后 1,24 h 基本与 HIBD 组相比无显著差异(*P* > 0.05)。但在 48 h 后 CEC 数明显下降(*P* < 0.01)应用纳络酮对缺氧缺血性脑损伤有保护作用。纳络酮的抗损伤作用可能与解除中枢神经系统损伤时所释放的β内啡肽的影响,改善脑细胞内 ATP 代谢状态,稳定细胞膜等作用有关^[6]。

[参 考 文 献]

[1] Rabiet MJ, Plantier JL, Dejanna E. Thrombin - induced endothelial cell dysfunction [J]. Br Med Bull, 1994, 50(4): 936 - 945.

[2] 杨映波,王正国,朱佩芳,等. 循环内皮细胞的基本形态学特性研究 [J]. 中国病理生理学杂志, 1994, 10 (4): 349 - 353.

[3] Wada H, Minamikawa K, Wakita Y, et al. Increased vascular endothelial cell makers in patients with disseminated intravascular coagulation [J]. Am J Hematol, 1993, 44(2): 85 - 88.

[4] 姚裕家,李炜如,李念,等. 地塞米松在新生猪缺氧缺血性脑损伤中的防治作用 [J]. 中华儿科杂志, 1994, 32 (4): 201 - 203.

[5] Deshpande JK, Siesjo BK, Wieloch T. Calcium accumulation and neuronal damage in the rat hippocampus following cerebral ischemia [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1987, 7(1): 89 - 95.

[6] 曹道俊,李树林,张守忠,等. 纳络酮治疗镇静催眠药急性中毒 113 例临床疗效观察 [J]. 中国实用内科杂志, 1995, 15 (11): 670 - 671.

(本文编辑:吉耕中)