

术手段进行综合分析,并联合不同地区、多中心合作,建立我国不同性别、年龄段体检人群胃癌风险的系统评估模式。

参考文献

- 1 黄语嫣,叶新建,高楠,等. 幽门螺杆菌、血清胃蛋白酶原与慢性胃病及胃癌的关系[J]. 江苏医药,2013,39(5):528-530
- 2 马毅,曾滨,杨雷. 海洋石油职工血清胃蛋白酶原含量水平分析[J]. 标记免疫分析与临床,2013,20(1):11-13
- 3 Kim N, Jung HC. The role of serum pepsinogen in the detection of gastric cancer[J]. Gut Liver,2010,4(3):307-319
- 4 黄荣根,王春敏,黄飏,等. 体检人群胃蛋白酶原水平分析及异常结果处理对策[J]. 标记免疫分析与临床,2012,19(2):71-74
- 5 Lomba-Viana R, Dinis-Ribeiro M, Fonseca F, et al. Serum pepsinogen test for early detection of gastric cancer in a European Country[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol,2012,4(1):37-41
- 6 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics,2002[J]. CA Cancer J Clin,2005,55(2):74-108
- 7 李志,于妙,刘卫红,等. 慢性萎缩性胃炎及胃癌患者血清胃蛋白酶原检测的临床价值[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(24):2965-2966

- 8 黄勤,房静远,于成功,等. 慢性胃炎的临床与病理学诊断进展[J]. 胃肠病学,2013,18(2):65-70
- 9 江绍伟,章晓联,高尚民. IL-1B 基因多态性、幽门螺旋杆菌感染和慢性萎缩性胃炎关系的研究[J]. 湖北中医学院学报,2003,8(1):54-55
- 10 Cheng H, Hu F, Zhang L, et al. Prevalence of Helicobacter pylori infection and identification of risk factors in rural and urban Beijing, China[J]. Helicobacter,2009,14(2):128-133
- 11 Shi R, Xu S, Zhang H, et al. Prevalence and risk factors for Helicobacter pylori infection in Chinese populations[J]. Helicobacter,2008,13(2):157-165
- 12 Di Mario F, Cavallaro LG, Moussa AM, et al. Usefulness of serum pepsinogens in Helicobacter pylori chronic gastritis: relationship with inflammation, activity, and density of the bacterium[J]. Dig Dis Sci. 2006,51(10):1791-1795
- 13 朱日进,陈云欢. 福州地区胃蛋白酶原的检测与分析[J]. 检验医学与临床,2012,9(15):1912-1913

(收稿日期:2014-05-02)

(修回日期:2014-05-27)

预防性星状神经节阻滞对慢性应激抑郁大鼠海马神经元凋亡的影响

邓希锦 王威威 李文志

摘要 目的研究星状神经节阻滞对慢性应激抑郁大鼠行为学及凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bax 表达的影响。**方法** SD 雄性大鼠($n=32$)随机分为 4 组,每组 8 只:对照+盐水(CC 组)、对照+星状神经节阻滞(CS 组)、慢性应激+盐水(SC 组)、慢性应激+星状神经节阻滞(SS 组)。采用不可预测的慢性应激致抑郁模型,用布比卡因行星状神经节阻滞干预。所有动物观察 21 天后测量体重变化,行糖水实验。放血处死后,留取脑组织,采用 Western blot 法检测海马组织 Bcl-2、Bax 的表达。**结果** 21 天的慢性应激后,应激组的大鼠体重增长明显低于对照组大鼠($P<0.05$),糖水摄取量也低于对照组($P<0.05$)。应用星状神经节阻滞干预后,上述指标均明显改善($P<0.05$)。在 Western blot 法检测中,应激组大鼠海马中 Bcl-2 的表达明显低于对照组,而经星状神经节阻滞治疗后,大鼠蛋白表达含量有所增加($P<0.05$)。Bax 的表达在应激组中明显升高,但在星状神经节阻滞干预后,蛋白表达水平有所下降($P<0.05$)。**结论** 星状神经节阻滞可改善慢性应激抑郁行为,其机制可能是抑制凋亡蛋白 Bax 的表达,促进抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,减少海马神经元的凋亡。

关键词 慢性应激 星状神经节阻滞 凋亡 Bcl-2 Bax

[中图分类号] R745 [文献标识码] A

Effect of Stellate Ganglion Block on Apoptosis of the Hippocampal Neurons in Depression Rats Induced by Chronic Mild Stress. Deng Xi-jin, Wang Weiwei, Li Wenzhi. Department of Anesthesiology, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Heilongjiang 150086, China

Abstract Objective To investigate whether stellate ganglion block can reverses behavior and the expression of Bcl-2 and Bax in

作者单位:150086 哈尔滨医科大学附属第二医院麻醉科、黑龙江省麻醉与危重病学研究重点实验室

通讯作者:李文志,电子信箱:wenzhi9@126.com

rat model of chronic mild stress. **Methods** After one week habituation, 32 SD rats were randomly divided into 4 groups ($n=8$): control plus daily saline in stellate ganglion group (CC), control plus daily SGB group (CS), chronic mild stress (CMS) model plus daily saline in stellate ganglion group (SC), and CMS model plus daily SGB group (SS). The animals were subjected to a chronic mild stress procedure for a period of three consecutive weeks, and stellate ganglion block was performed. At the end of experiment, the change of weight was recorded, and then rats were subjected to sucrose preference test. The expression of Bcl-2 and Bax was detected by Western blot. **Results** Rats exposed to chronic mild stress gained weight more slowly than controls during the 21 days of observation ($P<0.05$). The rats in SS group gained more weight than the rats in SC group ($P<0.05$). Compared with CC group, sucrose solution consumption in SC group decreased significantly ($P<0.05$). After stellate ganglion block treatment, sucrose solution consumption in SS group were significantly higher than SC group ($P<0.05$). According to Western-blot method, the expression of Bcl-2 in group SC was significantly lower than group CC, but the expression of Bax in group SC was significantly higher than group CC ($P<0.05$). At the end of experiment, stellate ganglion block treatment significantly increased levels of Bcl-2 expression ($P<0.05$), and decreased levels of Bax expression in hippocampus ($P<0.05$). **Conclusion** Stellate ganglion block could play a role of antidepressant by reducing apoptosis of hippocampal neurons.

Key words Chronic mild stress; Stellate ganglion block; Apoptosis; Bcl-2; Bax

抑郁症是一种常见的危害身心健康的情感障碍性精神疾病,其主要症状为心境低落、兴趣丧失、易于疲惫^[1]。随着现代生活节奏加快,工作压力增加,社会竞争日益激烈,抑郁症的患病率正逐年增高。WHO 专家预测,到 2020 年精神性疾病将成为仅次于缺血性心肌病的第二大“杀手”,可见对抑郁症的预防和治疗已刻不容缓。

在中枢神经系统中,海马是与学习、记忆和情绪行为功能密切相关的重要脑区,也是应激易累及损伤的主要靶区^[2]。研究表明,抑郁症患者存在海马神经元体积和密度的降低,这可能与应激导致的海马神经元损伤和凋亡增加有关^[3,4]。因此,慢性应激可引起与海马功能相关的空间学习及记忆能力的明显下降^[5]。星状神经节阻滞疗法已广泛应用于疼痛性及非疼痛性疾病的治疗中,通过调节机体的自主神经系统、内分泌系统及免疫系统,维持机体稳态平衡。它可抑制增强的交感神经活性并调节激活的下丘脑-垂体-肾上腺皮质 (HPA) 轴影响体内激素的表达。但其对抑郁症是否有疗效,国内外尚未有报道。因此,本研究将星状神经节阻滞应用于慢性应激抑郁大鼠的治疗中,观察对抑郁大鼠空间学习和记忆能力的影响并探讨其可能的机制。

对象与方法

1. 对象:雄性清洁级 Sprague-Dawley 大鼠 (体重 220~240g) 购自哈尔滨医科大学实验动物中心。实验开始之前,将大鼠置于实验室 7 天,使之适应环境,可自由进食水。所有操作程序均遵守动物管理条例并获得了哈尔滨医科大学动物饲养及应用委员会批准。

2. 分组:大鼠适应环境之后将其随机分为 4 组:对照+盐水组 (CC 组)、对照+星状神经节阻滞组 (CS 组)、慢性应激+

盐水组 (SC 组) 及慢性应激+星状神经节阻滞组 (SS 组)。每组 8 只大鼠。SC 组及 SS 组于慢性应激环境中饲养 21 天。CS 组及 SS 组大鼠在这 21 天中,每日均进行 SGB 阻滞;CC 组及 SC 组每日进行星状神经节盐水注射。

3. 建立慢性应激模型:每只大鼠均独立饲养,慢性应激模型采用改良 Willner 模型^[6]。具体方法如下:将大鼠置于慢性应激环境中 21 天。刺激因素包括 4℃ 冰水游泳 5min、黑白颠倒 24h、潮湿垫料 24h、45℃ 热环境 5min、倾斜鼠笼 (45°) 8h、闪光照射 12h 等。每日随机选取一项,避免重复单一刺激造成大鼠适应。

4. 星状神经节阻滞:CC 组和 SC 组大鼠每日行星状神经节盐水注射 (0.2ml),CS 组和 SS 组则行星状神经节阻滞治疗 (0.25% 布比卡因 0.2ml)。应用异氟烷麻醉大鼠,待大鼠意识消失后,置于俯卧位,以颈 7 棘突为标志,采用旁正中入路行星状神经节阻滞。待大鼠苏醒后,以眼睑下垂为阻滞成功的标志。

5. 体重测量及糖水实验:适应环境后,测量大鼠体重作为基础值。在第 21 天后,再次测量大鼠体重,行糖水实验,观察各组大鼠的 1% 蔗糖水摄取情况。

6. 采集及 Western blot 法检测 Bcl-2、Bax 的表达:1 天后给予 1% 戊巴比妥钠 (50mg/kg) 腹腔注射。麻醉起效后,将大鼠断头处死,迅速取脑剥离海马组织,置入液氮中。在液氮下研磨组织,加入裂解液后以 12000r/min 速度在 4℃ 下离心 10min,取上清液,测定蛋白浓度。配胶,从上述样品中取出 20μg,用 15% 的分离胶 120V、30min 和浓缩胶 80V、70min 进行电泳。结束后,采用半干转的方法将蛋白转移到 PVDF 膜上,封闭过夜,洗膜,按照说明书加入 Bax、Bcl-2 的一抗和二抗,显色,最后照相,以 Bio-Rad 凝胶成像系统照相、测定条带光密度,计算目标蛋白和 β-actin 蛋白之间光密度比值。

7. 统计学方法:应用 SPSS 13.0 统计分析软件包进行统计分析。数据以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。计量资料根据需

要行单因素方差分析或双因素方差分析(以分组因素及干预措施为独立因子)。若方差不齐,则行非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 体重的变化:实验开始前,各组大鼠体重差别无统计学意义。实验 21 天结束后,各组大鼠体重如图 1 所示,SC 组大鼠体重明显低于 CC 组 ($P < 0.05$),SS 组也明显低于 CS 组 ($P < 0.05$),但经过星状神经节阻滞治疗后,SS 组大鼠体重与 SC 组相比明显增加 ($P < 0.05$)。

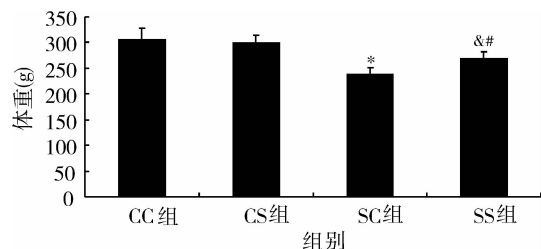


图 1 21 天实验后各组大鼠的体重情况 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

与 CC 组相比, * $P < 0.05$; 与 CS 组相比, & $P < 0.05$; 与 SC 组相比, # $P < 0.05$

2. 糖水实验:如图 2 所示,在 21 天实验后,SC 组和 SS 组大鼠的糖水摄取量分别低于对照 CC 组和 CS 组 ($P < 0.05$),但在星状神经节阻滞治疗后,与 SC 组大鼠相比 SS 组大鼠的糖水摄取量明显增加 ($P < 0.05$)。

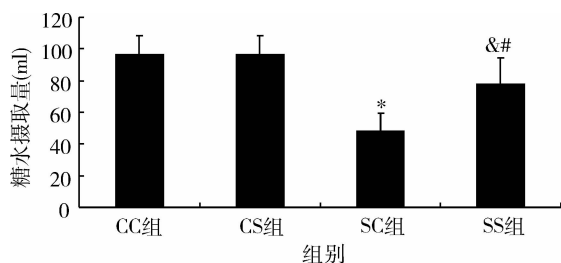


图 2 21 天实验后各组大鼠糖水摄取量的情况 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

与 CC 组相比, * $P < 0.05$; 与 CS 组相比, & $P < 0.05$; 与 SC 组相比, # $P < 0.05$

3. Bcl-2 及 Bax 的表达水平:如图 3、图 4 所示, Bcl-2 在 SC 组和 SS 组的表达水平明显低于对照 CC 组和 CS 组 ($P < 0.05$),但在星状神经节阻滞治疗后,SS 组与 SC 组相比表达水平显著提高 ($P < 0.05$)。而 SC 组和 SS 组中 Bax 的表达水平明显高于对照组 CC 组和 CS 组 ($P < 0.05$),经过星状神经节阻滞治疗后,SS 组与 SC 组相比 Bax 的表达水平有所降低 ($P < 0.05$)。

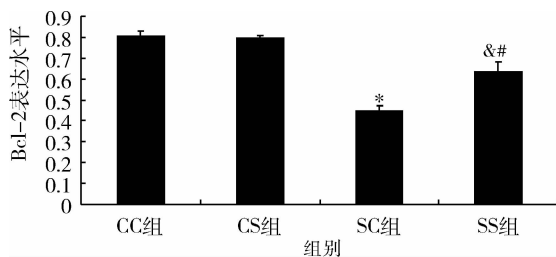


图 3 21 天实验后各组大鼠 Bcl-2 的表达水平 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

与 CC 组相比, * $P < 0.05$; 与 CS 组相比, & $P < 0.05$; 与 SC 组相比, # $P < 0.05$

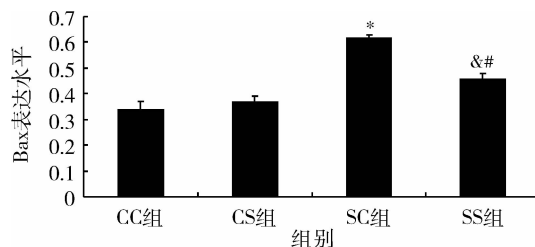


图 4 21 天实验后各组大鼠 Bax 的表达水平 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

与 CC 组相比, * $P < 0.05$; 与 CS 组相比, & $P < 0.05$; 与 SC 组相比, # $P < 0.05$

讨 论

对抑郁症患者的临床研究发现,心理社会因素是最主要的触发因素,所以本实验选取经典的 Willner 慢性应激模型和孤养模型相结合^[6]。将大鼠置于慢性应激环境中 21 天,利用长期不可预见的中等强度的不良刺激,造成孤养动物的抑郁状态。本实验中的糖水试验及体重的变化可反映出大鼠的抑郁状态。经过 21 天慢性应激后,大鼠的糖水摄取量及体重明显减少,这与临床抑郁症患者的表现相符。

SGB 在临床上已广泛应用于疼痛性及非疼痛性疾病的治疗。既往认为 SGB 只能治疗其支配区域内头面颈部、上肢及上胸部的疾病,现在其治疗范围遍布全身^[7-9]。这是因为 SGB 能使机体自主神经系统、内分泌系统、免疫系统等保持恒常性功能,促使机体稳态的恢复。近几年 SGB 的应用范围越来越广泛,对于交感神经活性增强的疾病有着确切的疗效,例如,自主神经功能紊乱。并且 SGB 逐步开始治疗 HPA 轴紊乱引起的疾病,例如更年期的潮热症,褪黑素分泌节律紊乱等^[10,11]。综上所述,发现 SGB 可抑制活性增强的交感神经并调节激活的 HPA 轴,影响体内激素水平的表达,使异常变化的内分泌系统恢复正常。

凋亡是维持体内细胞动态平衡的一种基本现象,

是生物体内清除病变和衰老细胞,保持机体健康和内环境平衡的重要生物过程。Bcl-2 和 Bax 均为细胞凋亡相关基因。Bcl-2 有抑制凋亡的作用,而 Bax 具有促进细胞凋亡的作用,Bcl-2 活性受蛋白 Bax 的调节,而二者之间的平衡的失调也是造成加剧神经细胞凋亡的关键因素之一^[12,13]。既往已有 Yun 等^[14]研究发现,束缚应激大鼠海马神经元可促凋亡基因 Bax 表达上调,抑制凋亡基因 Bcl-2 表达下调。一些研究者也得到了同样的结论^[15,16]。本研究结果表明,在慢性应激导致的抑郁模型中,模型组大鼠海马 Bcl-2 表达较对照组降低,而 Bax 表达较对照组增加,与上述研究结果一致。

在本实验应用 SGB 的干预措施对抑郁大鼠进行治疗。体重的改变、糖水试验均表明 SGB 的干预具有一定疗效。并且,SGB 可使 Bcl-2 的表达水平明显提高,Bax 的表达水平明显下降,二者的表达水平都更接近于基值。此结果显示,SGB 可抑制凋亡蛋白表达,促进抗凋亡蛋白的生成,调控 Bcl-2/Bax 比例,抑制神经细胞凋亡,从而减少外界刺激对脑神经元的损害,起到改善抑郁状态的作用。但究其原因,可能是由于慢性应激使机体处于神经内分泌反应增强的状态,此时,HPA 轴分泌的应激激素糖皮质激素显著增高。当大鼠长期暴露于高浓度的糖皮质激素的环境中,可引起海马细胞萎缩和丢失。在此过程中,有大量的 DNA 分子链发生断裂,表现出明显的凋亡特征^[17]。SGB 可调节激活的 HPA 轴,影响糖皮质激素在体内的表达水平,从而达到抗凋亡的作用。

在本研究中,通过建立大鼠慢性应激抑郁模型,首次将星状神经节阻滞用于抑郁症的治疗,发现 SGB 可抑制凋亡蛋白 Bax 的表达,促进抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,减少海马神经元的凋亡,对抑郁症起到治疗作用。但抑郁症的发病机制十分复杂,本实验只研究了 SGB 对凋亡方面的影响,而对其他机制是否有效还需今后进一步研究与探讨。

参考文献

- Wong ML, Licinio J. Research and treatment approaches to depression[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2001, 2(5): 343-351
- Drevets WC, Price JL, Furey ML. Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression[J]. *Brain Struct Funct*, 2008, 213(1-2): 93-118
- Czeh B, Lucassen PJ. What causes the hippocampal volume decrease in depression? [J]. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 2007, 257(5): 256-260
- Lucassen PJ, Meerlo P. Regulation of adult neurogenesis by stress, sleep disruption, exercise and inflammation: Implications for depression and antidepressive illness [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2010, 20(1): 1-17
- Qiao H, An SC, Ren W. Progressive alterations of hippocampal CA3-CA1 synapses in an animal model of depression[J]. *Behav Brain Res*, 2014, [Epub ahead of print]
- Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation[J]. *Psychopharmacology: Berl*, 1997, 134(4): 319-329
- Salvaggio I, Adducci E, Rinaldi S, *et al.* Facial pain: a possible therapy with stellate ganglion block[J]. *Pain Med*, 2008, 9(7): 958-962
- Schürmann M, Gratl G, Witzgal I, *et al.* Clinical and physiologic evaluation of stellate ganglion blockade for complex regional pain syndrome type I[J]. *Clin J Pain*, 2001, 17(1): 94-100
- Khan MU, Ahmed I. Role of Stellate ganglion block in post CABG sympathetically mediated chest pain[J]. *J Pak Med Assoc*, 2007, 7(9): 470-472
- Eugene G, Jaydeep R, Sarah Sanders, *et al.* Effects of stellate-ganglion block on hot flushes and night awakenings in survivors of breast cancer: a pilot study[J]. *Lancet Oncol*, 2008, 9(6): 523-532
- Kim EM, Yoon KB, Lee JH, *et al.* The effect of oxygen administration on regional cerebral oxygen saturation after stellate ganglion block on the non-blocked side[J]. *Pain Physician*, 2013, 16(2): 117-124
- Mak YT, Chan WY, Lam WP, *et al.* Immunohistological evidences of ginkgo biloba extract altering Bax to Bcl-2 expression ratio in the hippocampus and motor cortex of senescence accelerated mice[J]. *Microsc Res Tech*, 2006, 69(8): 601-605
- Cheung EC, Melanson DL, Cregan SP, *et al.* Apoptosis-inducing factor is a key factor in neuronal cell death propagated by BAX-dependent and BAX-independent mechanisms [J]. *Neuroscience*, 2005, 25(6): 1324-1334
- Yun SJ, Lee DJ, Kim MO, *et al.* Reduction but not cleavage of poly (ADP-ribose) polymerase during stress mediated cell death in the rat hippocampus[J]. *Neuroreport*, 2003, 14(7): 935-939
- Hayley S, Poulter MO, Merali Z, *et al.* The pathogenesis of clinical depression: stressor and cytokine induced alterations of neuroplasticity [J]. *Neuroscience*, 2005, 135(3): 659-678
- Dygalo NN, Kalinina TS, Bulygina VV, *et al.* Increased expression of the anti-apoptotic protein Bcl-xl in the brain is associated with resilience to stress-induced depression-like behavior[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2012, 32(5): 767-776
- Zhang L, Kokkonen G, Roth GS. Identification of neuronal programmed cell death in situ in the striatum of normal adult rat brain and its relationship to neuronal death during aging[J]. *Brain Res*, 1995, 677: 177-179

(收稿日期:2014-08-22)

(修回日期:2014-09-21)