· 论 著 ·

慢性酗酒大鼠血清神经元特异性烯醇化酶的表达与脑损伤关系的研究*

汪家文¹, 刘应时¹, 于晓军^{2△}, 刘芳¹, 刘艳伟¹, 陈小艳¹

(1. 佛山科学技术学院医学院基础部, 广东佛山 528000; 2. 汕头大学医学院法医教研室, 广东汕头 515041)

摘要:目的 探讨慢性酗酒大鼠脑组织神经元特异性烯醇化酶(NSE)的表达及与脑损伤的关系。方法 采用放射免疫分析法测定高浓度灌酒组、中浓度灌酒组及灌水对照组大鼠血清 NSE 水平, 分析各组大鼠血清 NSE 水平与大鼠脑损伤的关系。结果 高、中浓度灌酒组大鼠血清 NSE 水平均显著高于灌水对照组($P < 0.01$); 高浓度灌酒组血清 NSE 水平高于中浓度灌酒组($P < 0.05$); 随着灌酒时间延长, 高、中浓度灌酒组血清 NSE 值均明显增加($P < 0.05$), 灌水对照组变化不明显($P > 0.05$)。脑组织形态学观察, 大鼠血清 NSE 水平升高程度与脑组织损伤程度之间存在剂量效应关系。结论 慢性灌酒可使大鼠血清 NSE 水平升高, 随浓度增高和染毒时间延长增高更明显, 血清 NSE 水平与脑组织损伤程度之间存在剂量效应关系, 提示 NSE 表达水平可作为慢性酒精中毒脑损伤的敏感指标。

关键词:酒精中毒; 磷酸丙酮酸水合酶; 脑损伤

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.14.003

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)14-1356-02

Study on expression of serum NSE in chronic alcoholism rats and its relationship with brain injury*

Wang Jiawen¹, Liu Yingshi¹, Yu Xiaojun², Liu Fang¹, Liu Yanwei¹, Chen Xiaoyan¹

(1. Department of Basic Courses, Medical College, Foshan College of Science and Technology, Foshan Guangdong 528000, China; 2. Department of Forensic Medicine, Medical College Shantou, University, Shantou, Guangdong 515041, China)

Abstract: Objective To explore the expression of serum NSE of chronic alcoholism rats and its relationship with brain injury.

Methods The concentration of serum NSE of high concentration alcoholism rats group, middle concentration alcoholism rats group and drinking water group rats were measured with RIA, and the relationship between brain injury with them in different groups were analysed. **Results** The concentration of serum NSE in the high and middle concentration alcoholism rats groups were significantly higher than that in the drink water group ($P < 0.01$), at the same time, which was higher in the high concentration alcoholism rats group than that in the middle concentration group. The concentration of serum NSE became higher in the high and middle concentration alcoholism rats groups when they drunk longer time ($P < 0.05$), which had no obvious changes in drinking water group ($P > 0.05$). The degree of brain injury was the same as the concentration of serum NSE, which was observed from structure of brain tissue. **Conclusion** The concentration of serum NSE became higher as the rats were drunk chronically, and which became more clear as the concentration of wine was higher or the rats were drunk longer time. The concentration of serum NSE was the same as the degree of brain injury, from whose change we can estimate the degree of brain injury flexibly.

Key words: alcoholism; phosphopyruvate hydratase; brain injuries

已证实, 酒精中毒引发脑血管病变和脑组织损伤。有关酒精中毒引起脑血管及脑组织损伤的机制, 与高脂血症、高血压、血氧和血凝状态以及脑组织有氧化代谢和神经元损伤因子等因素有关, 但确切机制仍不明确。对于酒精中毒如何引起脑血管病变、神经元损伤尚无定论^[1-3]。神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)是一种神经系统特异性蛋白质, 主要存在于神经元细胞质中, 为反映中枢神经系统神经元损伤程度的重要指标, 已广泛应用于颅脑外伤、脑缺血、脑肿瘤等致脑损伤的研究, 而有关其在酒精中毒致脑损伤方面的研究报道甚少^[4]。本研究通过检测不同浓度酒精的灌酒组和灌水对照组大鼠血清 NSE 水平及其脑组织病理学, 探讨其在酒精中毒脑损伤中的意义。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 SD 雄性大鼠 27 只, 体质量 250~300 g 由第一军医大学动物实验中心提供。随机分为高浓度灌酒组(56% V/V)、中浓度灌酒组(38% V/V)及灌水对照组, 每组 9 只, 常规饲养。

1.2 实验方法 高、中浓度灌酒组实验大鼠分别应用北京红

星二锅头白酒 56% V/V、38% V/V, 连续灌胃 3 个月, 每天 18:00 灌胃 2 毫升/次, 灌酒组及灌水组分别于 1、2、3 个月清晨用清洁抗凝试管采集大鼠静脉血, 避免溶血, 静置 5~10 min 后, 离心 10 min (3 000 r/min), 分离血清, -70 °C 冰箱保存待测。

1.2.1 NSE 检测 采用放射免疫分析法, 操作按试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司)说明书进行。

1.2.2 HE 染色及图像处理 取灌酒或灌水组 3 个月大鼠脑组织, 电子秤测量全脑质量, 全脑正中面矢状切, 常规石蜡包埋、切片和 HE 染色, 应用 Olympus BX251 生物显微镜观察脑组织形态、神经元数目。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计分析软件处理数据, 各组数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示, Independent-samples T-test 和单因素方差分析(One-way ANOVA) 均数分析方法, 率用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 组织学观察 灌酒组或灌水组 3 个月后, 高、中浓度灌酒组大鼠脑组织神经元比灌水对照组明显萎缩、数量减少, 神经

纤维轴突和树突萎缩、减少,脑实质小灶状出血,以大脑皮质,特别是额叶最明显。高浓度灌酒组比中浓度组变化明显,灌水对照组脑实质未见出血灶(封 2 图 1~3)。灌酒组全脑质量较灌水对照组明显减小,见表 1。

表 1 3 组大鼠大脑质量($\bar{x} \pm s, g$)

组别	n	大脑质量
灌水对照组	9	1.50 ± 0.11
中浓度灌酒组	9	1.42 ± 0.15*
高浓度灌酒组	9	1.35 ± 0.19*

*: $P < 0.05$, 与灌水对照组比较。

2.2 高、中浓度灌酒组与灌水对照组大鼠血清 NSE 水平比较高、中浓度灌酒组大鼠血清 NSE 值均显著高于单纯灌水区 ($P < 0.01$);高浓度灌酒组血清 NSE 值高于中浓度灌酒组 ($P < 0.05$);随着灌酒时间延长,高、中浓度灌酒组大鼠血清 NSE 值均明显增加 ($P < 0.05$),灌水对照组变化不明显 ($P > 0.05$),见表 2。

表 2 3 组大鼠血清 NSE 水平($\bar{x} \pm s, \mu g/mL$)

组别	n	1 个月	2 个月	3 个月
灌水对照组	9	3.72 ± 1.35	4.66 ± 1.42	4.32 ± 1.49
高浓度灌酒组	9	15.86 ± 4.26*▲	22.24 ± 5.33*▲	27.65 ± 7.21*▲
中浓度灌酒组	9	11.56 ± 2.14*	16.57 ± 3.15*	20.18 ± 3.64*

*: $P < 0.01$, #: $P < 0.05$,与灌水对照组比较;▲: $P < 0.05$,与中浓度灌酒组比较。

3 讨论

酒精中毒可引起胃肠道损害,使酗酒者摄食量减小,营养吸收障碍,导致维生素 B₁ 明显降低、焦磷酸硫胺素减少,酶活性下降,引起体内丙酮酸蓄积、糖代谢障碍,使神经组织的主要能量来源减少,神经组织功能与结构异常。此外,过量摄入酒精可直接使脑神经细胞膜发生变性,酒精代谢产物乙醛可致脑神经元蛋白变性,严重者导致细胞坏死^[3]。

NSE 是神经元胞质中一种可溶性蛋白,特异地存在于神经细胞和神经内分泌细胞。正常情况下,其绝大部分存在于中枢神经系统中,以脑组织浓度最高,血液浓度甚微。当脑组织缺血、中毒或损伤时,可完整性地破坏神经细胞膜,使神经细胞发生崩解,NSE 经脑脊液通过血脑屏障进入血液,造成血液中 NSE 浓度升高。由于 NSE 释放量与神经元死亡数量呈正相关,故其血浓度改变可反映中枢神经系统受损程度^[5]。临床研究已证实,NSE 是一个容易检测、有高度特异性并且稳定性强的脑损伤标志物,已广泛应用于检测脑损伤,但尚未见其在酒精中毒致脑损伤的研究报道^[6-7]。

临床研究表明,慢性酒精中毒者可致脑组织不同程度萎缩、脑室扩大等变化,说明酒精中毒不但引起酗酒者大脑功能上发生损害,而且可引起其形态学上发生改变^[8]。本实验结果表明,酒精中毒致大鼠全脑重量减轻、脑出血等病变,以皮质区额叶最明显,其原因除了酗酒引起脑血管病变、凝血机制障碍等,导致脑出血、脑缺血外,可能与酒精中毒直接诱导神经细胞凋亡、从而使神经细胞数目减少有关^[9-10]。

本研究结果表明,慢性灌酒大鼠,血清 NSE 水平明显升高,灌酒剂量越大、灌酒喂养时间越长,血清 NSE 水平越高,与灌水对照组差异有统计学意义。同时,大鼠血清 NSE 水平升

高程度与大鼠脑萎缩、脑出血等脑损伤程度之间存在一定的剂量效应关系,血清中其升高程度可反映脑损伤程度^[6-7]。其机制可能是长期灌酒,使大鼠脑神经元损伤和损害血脑屏障,变性、坏死的神经细胞内 NSE 等物质进入组织间质、扩散入血^[10-12]。因此,血清 NSE 表达水平的变化可作为慢性酒精中毒脑损伤的诊断指标之一,亦可用于连续性动态检测脑细胞进行性损伤的情况,为酗酒等脑损伤疾病的诊断、预后、临床治疗提供指导性依据^[13-15]。

参考文献:

- [1] 吴伟聪,于晓军,高贵山,等. 急慢性酗酒后脑组织 Ng2、Hif-1 α 表达和 Na⁺,K⁺-ATPase 活性变化与 TSAH 的关系[J]. 中国法医学杂志,2009,24(5):296-300.
- [2] 陆一,高贵山,于晓军,等. 食用酒中毒的脑组织 Ng2、Hif-1 α 和 Na⁺,K⁺-ATPase 活力影响及其死亡机制[J]. 毒理学杂志,2009,23(2):96-99.
- [3] 赵珩,林光柱,于雪凡. 慢性酒精中毒与脑损伤[J]. 中国老年学杂志,2005,25(12):1453-1454.
- [4] 陈志辉. 慢性酒精中毒神经系统损害 35 例临床分析[J]. 浙江中医药大学学报,2009,23(6):843.
- [5] Woertgen C, Rothoerl RD, Brawangki A. Neuron-specific enolase serum levels after controlled cortical impact injury in the rat[J]. J Neurotrauma,2001,18(5):569-573.
- [6] 陈芳,刘振玲. 癫痫患儿血清神经元特异性烯醇化酶的测定及其意义[J]. 广西医学,2005,27(4):495-496.
- [7] 涂彧,王利利,周菊英. 电离辐射对大鼠脑组织中烯醇化酶、S-100 蛋白表达的影响[J]. 辐射研究与辐射工艺学报,2007,25(3):185-188.
- [8] 赵丽,韩威,陈嘉峰. 酒精中毒大鼠脑血管病变及相应脑组织损伤的病理观察[J]. 中风与神经疾病杂志,2005,22(1):51-53.
- [9] Burton MA, Gebrewold A, Zhang A. Role of leukocytes in ethanol-induced microvascular injury in the rat brain in situ: potential role in alcohol brain pathology and stroke[J]. Eur J Pharmacol,2002,448(1):89-94.
- [10] 韦力,杨伯宁,韦献良. 酒精摄入与小鼠海马形态学改变的定量分析[J]. 广西医科大学学报,2004,21(2):189-191.
- [11] 陈兼学,胡克琦,叶应湖,等. 脑死亡患者血清神经元特异性烯醇化酶的变化[J]. 中华实验外科杂志,2003,20(8):693-694.
- [12] 陈琼,黄志,刘岚. 血液中 NSE、D-二聚体在新生儿缺氧性脑病中的临床价值[J]. 第三军医大学学报,2004,26(10):910-912.
- [13] 吴立克,张苗,华齐. 大鼠脑缺血后脑内 MPO、NSE 活性变化[J]. 北京医学,2006,28(11):670-672.
- [14] 刘玉梅,张润玲,石正洪. 脑梗死患者血液中 DNA 损伤的观察[J]. 第四军医大学学报,2004,25(6):535-537.
- [15] 黄志,陈琼. 小儿惊厥血清和脑脊液中 NSE 和 NO/NOS 改变及其临床意义[J]. 第三军医大学学报,2003,25(16):1473-1475.