

结扎大鼠冠状动脉诱发心肌及背根神经节内 P 物质变化的研究

张建文 郭政

【摘要】目的 观察结扎冠状动脉(冠脉)左前降支大鼠不同时间整体心肌(包括缺血区和非缺血区)及背根神经节(DRG)内 P 物质蛋白及其基因水平的变化,探讨神经源性机制在局部急性心肌缺血诱发整体心肌损伤中的作用及其机制。**方法** 健康成年雄性 SD 大鼠 24 只,采用随机数字表法分为 4 组($n=6$):假手术组(S 组)以及扎闭冠脉(CAO)1、3 和 6 h 组。采用结扎左冠脉前降支的方法制备急性心肌缺血动物模型。各组在规定的时点开胸快速取缺血区和非缺血区(缺血区对侧半球)心肌及 DRG T1~5 制作标本。采用免疫组化和逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)技术观察各组动物缺血区和非缺血区心肌及 DRG 内 P 物质的蛋白和基因水平变化。**结果** ①CAO 后 1、3 和 6 h 点大鼠缺血区和非缺血区心肌 P 物质蛋白及其 mRNA 水平均较 S 组显著升高(P 均 <0.05),CAO 3 h 达峰值(P 均 <0.05);非缺血区 CAO 各组 P 物质蛋白及其 mRNA 水平低于相应组的缺血区心肌(P 均 <0.05)。②CAO 后 1、3 和 6 h 点大鼠 DRG 内 P 物质 mRNA 的表达水平均较 S 组显著升高(P 均 <0.05),在 CAO 3 h 达高峰(P 均 <0.05)。**结论** 结扎冠脉可诱发大鼠整体心肌组织(包括缺血区和非缺血区)P 物质水平的增高,同时 DRG 内 P 物质 mRNA 的表达也显著增加,提示神经源性机制可能参与心肌缺血的病理学过程。

【关键词】 心肌缺血; 心肌; 背根神经节; P 物质; 神经源性机制

Changes in substance P in myocardium and dorsal root ganglion following coronary artery occlusion in rats

ZHANG Jian-wen, GUO Zheng. Department of Anaesthesiology, The Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China

【Abstract】Objective To observe the changes in substance P in myocardium and dorsal root ganglion (DRG) following ligation of the left anterior descending branch of coronary artery. The substance P is commonly considered released mainly from afferent nerve fibers under noxious stimulation and could induce neurogenic inflammation in peripheral tissue. **Methods** Twenty-four adult male Sprague-Dawley rats, weighing 270 - 300 g, were randomly divided into four groups: sham-operated group, coronary artery occlusion (CAO) 1 hour group, CAO 3 hours group and CAO 6 hours group, and 6 animals were in each group. The left anterior descending branch of coronary artery was occluded to establish the acute myocardial ischemia model except in the sham-operated group. The myocardium in ischemic and non-ischemic (the contralateral side of ischemic myocardium) region and DRG were harvested as scheduled and processed for immunohistochemistry and for substance P mRNA semi-quantitative examination using reverse transcription - polymerase chain reaction (RT-PCR) technique. **Results** ① substance P and substance P mRNA levels in myocardium of ischemic areas and myocardium of non-ischemic areas were significantly elevated after CAO compared with sham-operated group (all $P < 0.05$), and they were highest in rats of CAO 3 hours group (all $P < 0.05$). In the myocardium of non-ischemic areas, substance P and substance P mRNA levels were lower than those in myocardium of ischemic areas in CAO groups (all $P < 0.05$). ② substance P mRNA levels in DRG were significantly elevated after CAO compared with sham-operated group (all $P < 0.05$), and were highest in rats of CAO 3 hours group (both $P < 0.05$). **Conclusion** CAO could evoke an increase in substance P in entire myocardium and substance P mRNA expression in DRG in rats, and the results might imply that neurogenic mechanism participates in the pathophysiological changes following myocardial ischemia.

【Key words】 myocardial ischemia; myocardium; dorsal root ganglion; substance P; neurogenic mechanism

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30471656)

作者单位:030001 太原,山西医科大学第二医院麻醉科

通讯作者:郭政,医学博士,教授,主要从事伤害性刺激与器官损伤的研究(Email: ykdgz2004@yahoo.com.cn)

作者简介:张建文(1977-),男(汉族),山西人,医学硕士,医师(Email: zjw030001@126.com)。

急性心肌缺血性疾病是严重影响人类健康的疾患之一。传统观点认为:决定心肌缺血、心肌梗死的预后,主要取决于心肌缺血的严重程度和持续时间、基础心功能状态、冠状动脉(冠脉)病变程度和心肌缺血原因^[1]。但神经源性机制在心肌缺血性损伤中

的作用国内外鲜有报道。本研究中拟运用免疫组化和逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)技术,分别从蛋白和基因水平观察结扎冠脉诱发P物质在心肌(包括缺血区和非缺血区)及背根神经节(DRG)内的变化,探讨神经源性机制在局部急性心肌缺血诱发整体心肌损伤中的作用及其机制。

1 材料与方 法

1.1 实验动物与试剂:270~300 g 健康成年雄性SD大鼠24只,由山西医科大学动物中心提供。P物质抗体、过氧化物酶标记的链霉卵白素(SP)染色试剂盒和3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒均购自北京中山生物技术公司;RNA抽提试剂盒购自德国Qiagen公司;TaqDNA聚合酶、乌成髓细胞性白血病毒(AMV)逆转录酶及PCR标准分子量等购自Promega公司。

1.2 实验分组:实验分为免疫组化和RT-PCR两部分,每部分均采用随机数字表法分为假手术组(S组)及扎闭冠脉(CAO)1、3和6h组($n=6$)。

1.3 心肌缺血大鼠模型制备:用质量分数为25%的乌拉坦1.2 g/kg经腹腔注射麻醉大鼠后固定于实验台,气管切开插管行人工机械通气(呼吸频率75次/min,潮气量8 ml/kg),然后在左侧胸壁第3、4肋间旁开胸骨正中线1 cm处沿肋间开胸,逐层钝性分离暴露心脏,切开心包,以左冠状静脉主干为标志,在左心耳下方2 mm处进针,用6-0号丝线穿过心肌表层肌肉,在肺动脉圆锥旁出,结扎左冠脉前降支(S组不结扎冠脉),并开始计时。结扎后心肌变为暗红色即确认结扎成功,逐层关胸,并行胸腔负压引流。大鼠脱离呼吸机后即刻恢复自主呼吸^[2],每小时经尾静脉补充林格液1 ml,并采用体积分数为0.25%的布比卡因局部皮下浸润麻醉手术切口。

1.4 标本制备:各组动物在预定时间点腹腔注射过量戊巴比妥钠,并经左心室先以100 ml生理盐水灌注,随之以0.1 mol/L磷酸盐缓冲液(PBS)配制的体积分数为4%的多聚甲醛固定液500 ml灌注,然后分别进行如下处理:①开胸,快速取动物心脏置于4%多聚甲醛和质量分数为30%的蔗糖混和液(pH 7.4)中固定3 h(4℃),OCT(optimal cutting temperature solution)包埋剂包埋,恒冷箱切片进行5 μm厚连续冠状冰冻切片,然后行免疫荧光和免疫组化染色,观察CAO各组缺血区、非缺血区心肌以及S组心肌组织P物质的变化及其分布规律。②开胸,快速取CAO各组缺血区、非缺血区心肌(缺血区的对侧半球心肌组织)和S组心肌组织各

100 mg以及DRG T1~5,分置于1.5 ml小离心管(EP管)中,-80℃保存。用RT-PCR法检测P物质mRNA的表达。

1.5 P物质检测:①切片置于4℃、体积分数为0.1%的曲通(Triton)X-100中10 min,PBS洗3×5 min;②切片置于体积分数为0.3%的H₂O₂-甲醇溶液中室温孵育20 min,PBS洗3×5 min;③滴加3%的H₂O₂室温孵育20 min,PBS洗3×5 min;④滴加质量分数为0.1%的胰蛋白酶37℃下孵育10 min,PBS洗3×5 min;⑤滴加正常山羊血清37℃封闭40 min,甩干但不洗;⑥滴加SP抗体,4℃过夜,PBS洗3×5 min;⑦滴加生物素标记的二抗,37℃下孵育30 min,PBS洗3×5 min;⑧滴加过氧化物酶标记的SP,37℃下孵育30 min,PBS洗3×5 min;⑨DAB显色,苏木素复染,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂胶封片。每一组均设立阴性(试剂)对照,对照以PBS代替一抗,其余步骤同上。

1.6 光镜观察及图像分析:用BX51型Olympus显微镜及IDA-2000数码显微图像分析系统对免疫组化染色切片进行图像分析。每组大鼠随机观察缺血区和非缺血区各60个高倍视野,以平均光度和阳性单位作为指标进行半定量分析。

1.7 P物质 mRNA 表达:以β-肌动蛋白(β-actin)为内参照,用半定量RT-PCR方法^[3]测定心肌组织及DRG内P物质mRNA表达。

1.7.1 总RNA的抽提:EP管中待测标本匀浆加入红细胞裂解液300 μl(DRG加100 μl),摇匀,室温静置20 min后12 000×g离心20 s,弃上清;加入细胞裂解液150 μl(DRG加100 μl),垂直摇匀5~10 min,室温静置10 min;加入蛋白质和DNA沉淀液50 μl(DRG加30 μl),垂直摇匀,-20℃静置10 min,4℃下12 000×g离心5 min,取上清置于另一EP管中;加入异丙醇300 μl(DRG加100 μl),摇匀,4℃下12 000×g离心3 min,沉淀RNA,弃上清;加入体积分数为75%的乙醇300 μl(DRG加100 μl)漂洗RNA沉淀,4℃下7 500×g离心5 min,弃上清,干燥RNA沉淀;加入焦碳酸二乙酯(DEPC)水40 μl(DRG加20 μl)重悬RNA,置于-80℃冰箱保存备用。

1.7.2 RT体系:5×RNA PCR缓冲液(Buffer)6 μl,RNA酶抑制剂0.5 μl,dNTP混合物2.5 μl,AMV逆转录酶0.8 μl,随机引物5 μl,灭菌的无核糖核酸酶的双蒸水7.7 μl,0.01 mol/L二硫苏糖醇(DTT)1.5 μl,样本RNA 6 μl。反应条件为:42℃、

50 min, 完成 RT 后, 98 °C、5 min, 4 °C 保存。

1. 7. 3 PCR 反应体系: 10 × RNA PCR Buffer 2.5 μl, dNTP 混合物 1.5 μl, 灭菌的无核糖核酸酶的双蒸水 10.5 μl, Taq DNA 聚合酶 1.0 μl, MgCl₂ 1.5 μl, 上游特异性 PCR 引物(100 pmol) 1.5 μl, 下游特异性 PCR 引物(100 pmol) 1.5 μl, RT 反应产物 5.0 μl。PCR 反应条件: 95 °C、2 min 预变性, 然后 94 °C、50 s, 50 °C、50 s, 72 °C、1 min, 共 35 个循环后, 于 72 °C 终延伸 10 min。

1. 7. 4 引物序列: 上海博亚生物技术有限公司设计合成。P 物质(252 bp)上游引物: 5'-GAGCCCTTT-GAGCATCTTCT-3'; 下游引物: 5'-ACGCCTTCTTTCGTAGTTCTG-3'。β-actin(422 bp), 上游引物: 5'-GAGACCTTCAACACCCAGCC-3'; 下游引物: 5'-TCGGGGCATCGGAACCGCTCA-3'。

1. 7. 5 PCR 产物分析: 取 5 μl PCR 产物, 溴化乙锭(EB)染色, 用质量分数为 1% 的琼脂糖凝胶电泳, GDS-8000 紫外凝胶成像系统扫描并得出条带灰度值, 进行半定量分析。用条带灰度值与 β-actin 灰度值之比表示 P 物质 mRNA 表达量的相对值。

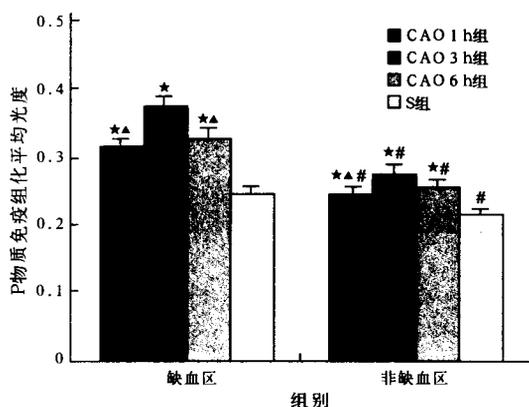
1. 8 统计学处理: 实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。心肌组织部分采用 SAS 8.0 统计软件包行 4 × 2 析因设计的双因素方差分析, 并进行多重比较。DRG 部分采用 SPSS 11.5 统计软件包行单因素方差分析, 并进行多重比较。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫荧光染色: 免疫荧光染色结果显示, CAO 后 P 物质免疫阳性反应见于心内膜、心肌层以及心外膜血管内皮(彩色插页图 1A, 图 1B)。

2.2 免疫组化染色: 免疫组化结果显示, P 物质的阳性免疫反应主要位于心内膜和心肌层。在心肌层的阳性免疫反应主要位于心肌细胞胞浆(彩色插页图 1C); 心外膜血管内皮呈强阳性反应。缺血区心肌纤维排列紊乱, 且可见大量中性粒细胞浸润。

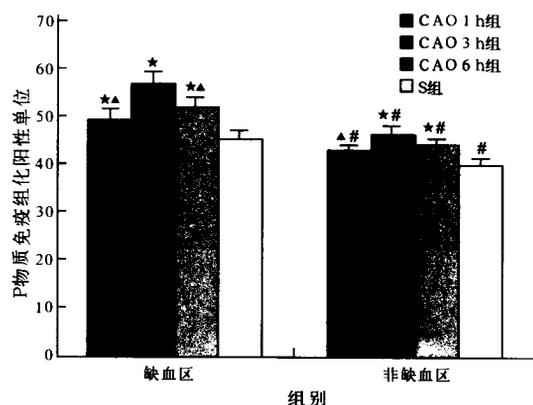
免疫组化反应水平以平均光度和阳性单位为指标进行半定量分析。统计分析结果显示: 时间点和区域因素均对大鼠心肌 P 物质的变化产生影响, 且两者之间存在交互效应。单独效应研究结果表明: 以右心室为定位指示, CAO 后 1、3 和 6 h 点缺血区心肌 P 物质的水平均较 S 组显著升高 (P 均 < 0.05), 在 CAO 3 h 达峰值 (P < 0.05); 非缺血区各组的变化趋势与缺血区相同, 且各组 P 物质水平明显低于相应组缺血区心肌 (P 均 < 0.05, 图 2, 图 3)。



注: 与 S 组比较: *P < 0.05; 与 CAO 3 h 组比较: ▲P < 0.05; 与同组缺血区比较: #P < 0.05

图 2 P 物质免疫组化半定量平均光度分析结果

Figure 2 Results of anti-substance P average light density analysis detected by IH



注: 与 S 组比较: *P < 0.05; 与 CAO 3 h 组比较: ▲P < 0.05; 与同组缺血区比较: #P < 0.05

图 3 P 物质免疫组化半定量阳性单位分析结果

Figure 3 Results of anti-substance P positive unit analyses detected by IH

2.3 心肌组织内 P 物质 mRNA 表达: 统计结果显示, 时间点和区域因素均对大鼠心肌组织内 P 物质 mRNA 的表达产生影响, 且两者之间存在交互效应。单独效应研究结果表明: CAO 各组 P 物质 mRNA 在缺血区心肌表达水平均较 S 组明显增加 (P 均 < 0.05), CAO 3 h 处于高峰 (均 P < 0.05); 非缺血区 CAO 各组的变化趋势与缺血区相同, 且 P 物质 mRNA 的表达均低于相应组缺血区心肌 (P 均 < 0.05, 图 4, 图 5)。

2.4 DRG 内 P 物质 mRNA 的表达: 统计结果显示, CAO 各组 P 物质 mRNA 在 DRG 内的表达均较 S 组显著增加 (P 均 < 0.05), CAO 3 h 处于高峰 (P < 0.05), CAO 6 h 下降 (P < 0.05), 与 CAO 1 h 组比较差异无显著性 (P > 0.05, 图 6, 图 7)。

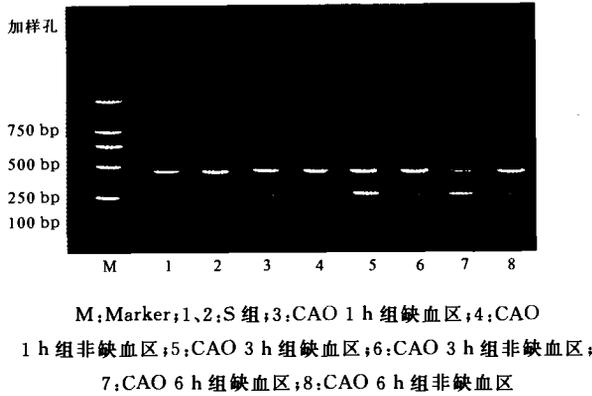
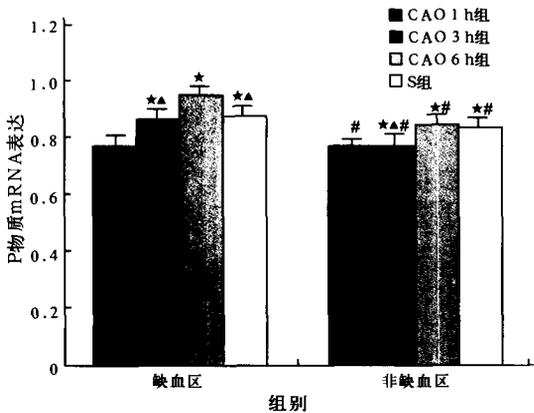
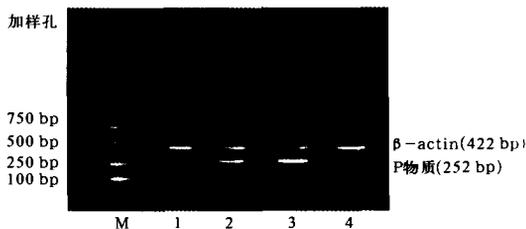


图 4 RT-PCR 法检测心肌组织内 P 物质 mRNA 电泳图
Figure 4 Expression of substance P electropherogram detected by RT-PCR in myocardium



注:与 S 组比较: * $P < 0.05$; 与 CAO 3 h 组比较: $\blacktriangle P < 0.05$;
与 CAO 6 h 组比较: $\circ P < 0.05$; 与同组缺血区比较: $\# P < 0.05$

图 5 RT-PCR 法检测心肌组织内 P 物质 mRNA 表达
Figure 5 Expression of substance P mRNA detected by RT-PCR in myocardium



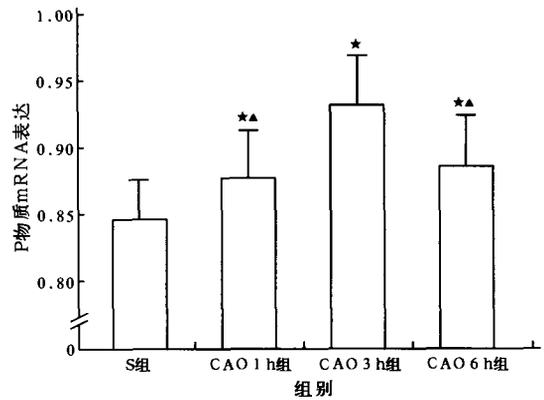
M: Marker; 1: S 组; 2~4: 缺血区 CAO 1、3 和 6 h 组

图 6 RT-PCR 法检测 DRG 内 P 物质 mRNA 电泳图

Figure 6 Expression of substance P electropherogram of mRNA detected by RT-PCR in DRG

3 讨论

P 物质是广泛分布于中枢和外周神经系统的具有众多生物活性的神经肽, 主要在 DRG 内合成, 然后沿着神经元的中枢突和周围突双向输送至末梢储存, 当受到各种刺激(物理、化学、生物)时可逆行释放到局部组织中引起血管通透性增强, 血浆蛋白外渗, 导致神经源性炎症反应。



注:与 S 组比较: * $P < 0.05$; 与 CAO 3 h 组比较: $\blacktriangle P < 0.05$

图 7 RT-PCR 法检测 DRG 内 P 物质 mRNA 表达
Figure 7 Expression of substance P mRNA detected by RT-PCR in DRG

结扎冠脉诱发心肌缺血, 心脏感觉神经纤维末梢受刺激而产生伤害性神经信号, 继而可能引起多种存在于传入神经末梢中的生物学活性物质及促炎介质的释放, 使局部血管扩张、渗出, 通透性增加, 进一步促进局部炎症的发生, 可产生类似“神经源性炎症”的反应, 加重心肌组织的损伤^[4]。本研究中观察到 CAO 后 1、3 和 6 h P 物质水平在缺血区和非缺血区心肌均显著增加, 且随着时间延长有增长趋势, 在 CAO 3 h 达峰值。

P 物质来源于前速激肽原(pre-protachykinin, PPT)A 基因编码, 有 α 、 β 和 γ -PPT 3 种。在周围神经系统, P 物质主要由 α 、 β -PPT mRNA 在初级传入神经元内编码产生后沿着神经元的中枢突和周围突双向输送至末梢储存, 但在大鼠和人体内仅可检测到 β -PPT mRNA。尽管外周组织器官内的 P 物质主要来源于器官内辣椒素敏感神经末梢, 但近年大量实验已证实 P 物质也可由淋巴细胞^[5]、嗜酸粒细胞^[6]、肥大细胞^[7]和单核/巨噬细胞^[8]合成并分泌, 且这类细胞表面还存在着 P 物质特异性受体 NK1R。Lai 等^[9,10]也发现, 单核/巨噬细胞在 mRNA 水平和蛋白质水平均能表达 P 物质基因。本研究中观察到 CAO 后各时间点 P 物质 mRNA 不仅在 DRG 内, 而且在整体心肌组织(包括缺血区和非缺血区)的表达水平均较假手术组显著增加, 且随着时间延长有增长趋势, CAO 3 h 达到高峰。提示心肌缺血所致整体心肌组织 P 物质水平的增高不仅来源于 DRG, 而且也来源于心肌组织内免疫炎症细胞, 但两种来源的 P 物质以何种形式占主导地位, 以及两者是否具有相同的生物学作用等问题, 尚有

待后续研究论证。

炎症反应与心肌损伤间呈正相关^[11]。急性心肌缺血时感觉神经纤维释放到局部心肌组织的 P 物质可促进肥大细胞脱颗粒,释放组胺、激肽、趋化因子及前列腺素等大量炎症介质,可促进单核细胞分泌白细胞介素-1(IL-1)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎症因子^[12],延缓中性粒细胞凋亡^[13],促进中性粒细胞黏附和移行^[14],促进内皮细胞产生黏附分子^[15],进一步加重心肌炎症反应。P 物质还可通过以下几个方面的作用激发瀑布式炎症反应,最终可能使心肌炎症从局部缺血区通过神经机制的介导影响到非缺血区(即整体心肌):①Toyoda 等^[7]证明,肥大细胞自身也能分泌 P 物质,释放出的 P 物质又可促使肥大细胞进一步释放出大量炎症介质,形成正反馈调节,扩大炎症反应;②Hess 等^[16]研究发现,少量 P 物质即可有效触发细胞中核转录因子- κ B(NF- κ B)的激活,继发炎症介质 TNF- α 、IL-1 β 等转录表达增加,TNF- α 、IL-1 β 反过来又可激活 NF- κ B^[17],形成正反馈环,导致组织发生过度炎症反应和损伤;③P 物质可促进肥大细胞分泌 TNF- α 和 TNF- α mRNA 表达^[18],而 TNF- α 是多器官功能衰竭(MOF)时激活细胞级联效应、引起过度炎症反应的主要介质^[19]。

总之,神经肽作为一种神经递质,不仅在神经信息传导中起重要作用,也是炎症反应时激活神经-免疫系统“对话”,诱发机体连锁免疫反应的重要介质。本研究中观察到,急性心肌缺血时整体心肌组织 P 物质在蛋白和基因水平均增高,同时 DRG 内 P 物质 mRNA 表达也明显增高,提示神经源性机制可能参与了心肌缺血的病理学过程。这种反应的意义如何,对心肌组织(包括缺血区和非缺血区心肌)的急性损伤期以及后期的心肌重构影响如何;这种发生于心脏的急性损伤反应是否可能通过神经源性机制对其他脏器产生影响,值得深入研究。这有助于探讨心肌缺血损伤中神经源性机制的作用,有助于深入了解伤害性刺激与器官损伤的关系及 MOF 的机制,亦会对临床上心肌梗死的治疗提供新思路。

参考文献:

- 1 陈在嘉,徐义枢,孔华宇. 临床冠心病学[M]. 北京:人民军医出版社,1994:269-271.
- 2 姜宗来,胡海涛,凌凤东. 大鼠冠状动脉的解剖观察[J]. 西安医学院学报,1982,3:698-704.
- 3 Saric T, Shain S A. Semiquantitative RT-PCR: enhancement of assay accuracy and reproductibility[J]. Biotechniques, 1997, 22: 630-636.
- 4 Longhurst J C, Tjen-A-Looi S C, Fu L W. Cardiac sympathetic

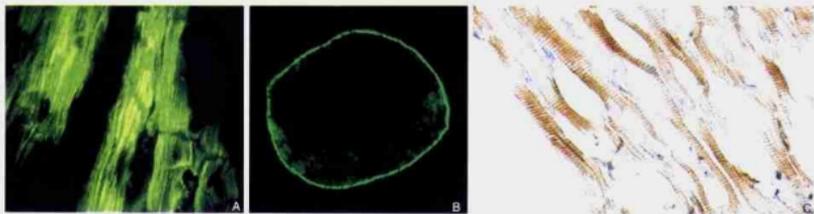
- afferent activation provoked by myocardial ischemia and reperfusion: mechanisms and reflexes[J]. Ann N Y Acad Sci, 2001, 940: 74-95.
- 5 Lai J P, Douglas S D, Ho W Z. Human lymphocytes express substance P and its receptor[J]. J Neuroimmunol, 1998, 86: 80-86.
- 6 Metwali A, Blum A M, Ferraris L, et al. Eosinophils within the healthy or inflamed human intestine produce substance P and vasoactive intestinal peptide[J]. J Neuroimmunol, 1994, 52: 69-78.
- 7 Toyoda M, Makino T, Kagoura M, et al. Immunolocalization of substance P in human skin mast cells[J]. Arch Dermatol Res, 2000, 292: 418-421.
- 8 Ho W Z, Lai J P, Zhu X H, et al. Human monocytes and macrophages express substance P and neurokinin-1 receptor[J]. J Immunol, 1997, 159: 5654-5660.
- 9 Lai J P, Douglas S D, Rappaport E, et al. Identification of a delta isoform of preprotachykinin mRNA in human mononuclear phagocytes and lymphocytes[J]. J Neuroimmunol, 1998, 91: 121-128.
- 10 Lai J P, Douglas S D, Zhao M, et al. Quantification of substance P mRNA in human mononuclear phagocytes and lymphocytes using a mimic-based RT-PCR[J]. J Immunol Methods, 1999, 230: 149-157.
- 11 吴允孚,曾元英,邵素凤,等. 危重病患者心肌损伤与前炎细胞因子释放的关系[J]. 中国危重病急救医学, 2002, 14: 615-617.
- 12 Cuesta M C, Quintero L, Pons H, et al. Substance P and calcitonin gene-related peptide increase IL-1 beta, IL-6 and TNF alpha secretion from human peripheral blood mononuclear cells[J]. Neurochem Int, 2002, 40: 301-306.
- 13 Bockmann S, Seep J, Jonas L, et al. Delay of neutrophil apoptosis by the neuropeptide substance P: involvement of caspase cascade[J]. Peptides, 2001, 22: 661-670.
- 14 Kahler C M, Pischel A, Kaufmann G, et al. Influence of neuropeptides on neutrophil adhesion and transmigration through a lung fibroblast barrier in vitro[J]. Exp Lung Res, 2001, 27: 25-46.
- 15 Lindsey K Q, Caughman S W, Olerud J E, et al. Neural regulation of endothelial cell-mediated inflammation[J]. J Invest Dermatol Symp Proc, 2000, 5: 74-78.
- 16 Hess D C, Howard E, Cheng C, et al. Hypertonic mannitol loading of NF-kappaB transcription factor decoys in human brain microvascular endothelial cells blocks upregulation of ICAM-1[J]. Stroke, 2000, 31: 1179-1186.
- 17 陈燕启,刘德红,杨光田. 葛根素在大鼠全脑缺血/再灌注时对核因子- κ B 表达的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2004, 11: 21-24.
- 18 Cocchiara R, Lampiasi N, Albegiani G, et al. Mast cell production of TNF-alpha induced by substance P evidence for a modulatory role of substance P-antagonists[J]. J Neuroimmunol, 1999, 101: 128-136.
- 19 Kollias G, Douni E, Kassious G, et al. On the role of tumor necrosis factor and receptors in models of multiple organ failure, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and inflammatory bowel disease[J]. Immunol Rev, 1999, 169: 175-194.

(收稿日期:2005-08-20 修回日期:2006-03-23)

(本文编辑:李银平)

结扎大鼠冠状动脉诱发心肌及背根神经节内P物质变化的研究

(正文见201页)



A: 心肌以免疫荧光染色; B: 心外膜血管内皮免疫荧光染色; C: 免疫组化染色

图1 CAO 3 h组心肌组织内P物质的表达 (×400)

Figure 1 Expression of substance P in myocardium 3 hours after CAO (×400)

动脉微栓塞中纤维蛋白成分的组织病理分析

(正文见216页)

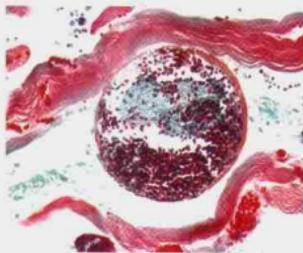


图1 微栓塞形成后30 min动脉微栓塞病理学变化 (Masson, ×400)

Figure 1 Pathological changes of artery microemboli 30 minutes after microemboli formation (Masson, ×400)



图2 正常微血管内t-PA少量表达 (免疫组化, ×400)

Figure 2 Few expression of t-PA in normal microvessel (immunohistochemistry, ×400)

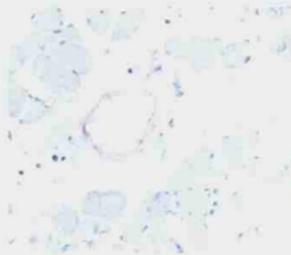


图3 正常微血管内PAI少量表达 (免疫组化, ×400)

Figure 3 Few expression of PAI in normal microvessel (immunohistochemistry, ×400)

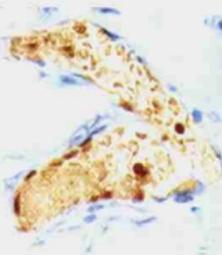


图4 动脉微栓塞60 min微血管t-PA表达 (免疫组化, ×400)

Figure 4 Expression of t-PA in microvessel 60 minutes after artery microemboli formation (immunohistochemistry, ×400)

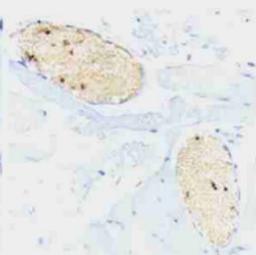


图5 动脉微栓塞90 min微血管PAI表达 (免疫组化, ×400)

Figure 5 Expression of PAI in microvessel 90 minutes after artery microemboli formation (immunohistochemistry, ×400)