

神经疾病发病机制研究

DOI: 10.11699/cyxb20130617

脑出血患者血浆去甲肾上腺素、乙酰胆碱
与自主神经功能障碍的相关性研究鲁远君¹, 贺传沙¹, 文治成¹, 费容¹, 潘乙年²

(1. 重庆市长寿区人民医院神经内科, 长寿 401220; 2. 第三军医大学基础部中心实验室, 重庆 400038)

【摘要】目的:研究脑出血患者急性期血浆去甲肾上腺素(norepineprine, NE)、乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)的水平与自主神经功能障碍的相关性。**方法:**分析 45 例不同部位初发脑出血患者和 38 例健康人, 分别在入院后第 2、10 天清晨抽取患者空腹静脉血 3 ml 于预冷的抗凝管中, 4℃低温离心, 取上清液置-70℃以下低温保存。分别采用液质联用法、酶联免疫吸附法测定脑出血组及对照组血浆 NE 及 Ach 水平; 记录患者自主神经功能障碍的临床表现; 应用自主神经症状量表(autonomic symptom profile, ASP)对脑出血组及对照组进行评估; 采用美国国立卫生研究院卒中量表(national institutes of health stroke scale, NIHSS)对患者神经功能缺损程度进行评分。**结果:**脑出血组第 2、10 天血浆 NE 水平[(1.71±0.25)、(1.53±0.26) ng/ml]明显高于对照组(0.54±0.13) ng/ml, 差异有统计学意义($P=0.006$ 、 $P=0.003$), 而血浆 Ach 水平[(76.88±12.38)、(71.75±12.73) ng/L]明显低于对照组(105.61±14.27) ng/L, 差异有统计学意义($P=0.005$ 、 $P=0.008$), 脑出血组血浆 NE、Ach 水平第 2、10 天比较, 差异无统计学意义($P=0.054$ 、 $P=0.342$); 脑出血组 ASP 评分明显高于对照组, 差异有统计学意义($P=0.002$ 、 $P=0.010$), 脑出血组 ASP 评分与血浆 NE、Ach 水平存在统计学相关性($r=0.770$, $P=0.042$; $r=-0.868$, $P=0.011$)。脑出血组第 10 天 NIHSS 评分明显低于第 2 天, 差异有统计学意义($t=5.91$, $P=0.008$)。**结论:**脑出血患者急性期血浆 NE 水平明显升高而血浆 Ach 水平明显降低, 血浆 NE 及 Ach 水平的变化可能与自主神经功能障碍有关联。

【关键词】脑出血; 液质联用法; 去甲肾上腺素; 乙酰胆碱; 自主神经功能障碍**【中国图书分类法分类号】**R743.3**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2012-02-20Correlation between autonomic neurological dysfunction and levels of plasma
norepineprine and acetylcholine in patients with cerebral hemorrhage
at acute phaseLU Yuanjun¹, HE Chuansha¹, WEN Zhicheng¹, FEI Rong¹, PAN Yinian²

(1. Department of Neurology, People's Hospital of Changshou Distirct;

2. Central Laboratory, College of Basic Medical Science, the Third Military Medical University)

【Abstract】Objective: To study the correlation between autonomic neurological dysfunction and levels of plasma norepineprine(NE)

作者介绍: 鲁远君, Email: lujun_0321@163.com,

研究方向: 脑血管疾病。

基金项目: 重庆市卫生局科研资助项目(编号: 2008-2-382)。

[17] Park S K, Chun H J, Kim D W, et al. Acute physiology and chronic health evaluation II and simplified acute physiology score II in predicting hospital mortality of neurosurgical intensive care unit patients [J]. J Korean Med Sci, 2009, 24(3): 420-426.

[18] 刘源, 陆士奇. 蛛网膜下腔出血早期应激性高血糖及超敏 C 反应蛋白的相关性研究[J]. 中国急救医学, 2011, 31(4): 352-354.

Liu Y, Lu S Q. Relationship between blood glucose and high sensitivity C-reactive protein in aneurysmal subarachnoid hemorrhage patients at the early stage[J]. Chin J Crit Care Med, 2011, 31(4): 352-354.

[19] 霍钢, 唐文渊, 李九州. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血后慢性脑积

水[J]. 重庆医科大学学报, 2005, 30(6): 890-891.

Huo G, Tang W Y, Li J Z. Chronic hydrocephalus following aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. Journal of Chongqing Medical University, 2005, 30(6): 890-891.

[20] 宋锦宁, 刘守勋, 鲍刚, 等. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血后脑积水的临床特点及诊治术[J]. 中国现代医学杂志, 2007, 17(7): 841-844.

Song J N, Liu S X, Bao G, et al. Clinical character and diagnosis treatment of hydrocephalus after aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. China Journal of Medicine, 2007, 17(7): 841-844.

(责任编辑: 冉明会)

and acetylcholine(Ach) in patients with cerebral hemorrhage at acute phase. **Methods:** Totally 45 patients with initial cerebral hemorrhage in different sites and 38 healthy man were enrolled. Fasting 3 ml venous blood was taken and put in the anticoagulant tube pre-cooled at the 2 nd and 10 th d after admission. Centrifuged at 4 °C, the supernatant was set below -70 °C. Plasma NE levels of cerebral hemorrhage group and control group were detected by liquid chromatography-mass spectrometry and Ach levels by ELISA. Symptoms of autonomic neurological dysfunction were recorded. Autonomic symptom profile(ASP) was used to evaluate hemorrhage group and control group. Degrees of neurologic impairment were evaluated by national institutes of health stroke scale(NIHSS). **Results:** Levels of plasma NE were significantly higher in cerebral hemorrhage group[(1.71 ± 0.25) ng/ml and (1.53 ± 0.26) ng/ml] than in control group[(0.54 ± 0.13) ng/ml] at the 2 nd and 10 th d after admission($P=0.006$, $P=0.003$), whereas, levels of plasma Ach [(76.88 ± 12.38) ng/L and (71.75 ± 12.73) ng/L] were significantly decreased in cerebral hemorrhage group than in control group [(105.61 ± 14.27) ng/L] with statistical differences($P=0.005$, $P=0.008$). There was no significant difference in levels of plasma NE and Ach between at the 2nd d and the 10 th d($P=0.054$, $P=0.342$). ASP scores were significantly increased in hemorrhage group than in control group at the 2nd d and the 10 th d($P=0.002$, $P=0.01$). Statistical correlations between ASP scores and levels of plasma NE and Ach were existed($r=0.770$, $P=0.042$; $r=-0.868$, $P=0.011$). NIHSS scores were significantly lower at the 10 th d than at the 2nd d ($P=0.008$, $t=5.91$). **Conclusions:** Levels of plasma NE are significantly increased and plasma Ach are obviously decreased in patients with cerebral hemorrhage at acute phase. Changes in levels of plasma NE and Ach are related with autonomic neurological dysfunction. **[Key words]** cerebral hemorrhage; liquid chromatography-mass spectrometry; norepinephrine; acetylcholine; autonomic neurological dysfunction

脑卒中患者的运动、感觉功能障碍通常为临床所重视,但其自主神经功能障碍常被忽视,在各种脑血管疾病患者中,自主神经功能障碍是普遍存在的。在脑卒中急性期,交感神经兴奋时,引起所支配器官弥漫性功能紧张增高,表现为心率增快、血压增高、呼吸加快、血糖升高及胃肠道蠕动分泌功能抑制。本文就脑出血患者急性期血浆去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)、乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)的表达及患者自主神经障碍的临床表现进行研究,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

1.1.1 分组情况

1.1.1.1 脑出血组 患者均为我院 2009 年 1 月-2010 年 1 月的住院病人,符合标准的脑出血病人 45 例,其中男 23 例,女 22 例,年龄 43~72 岁,平均年龄(61.24 ± 9.71)岁。同意并签署知情同意书纳入研究范围,满足以下条件:①发病 3 d 内入院,首次患脑出血;头颅 CT 证实病灶位于大脑半球,并与临床症状定位一致,不伴脑干、小脑出血;②无自主神经功能激活的其它共存疾病,如冠心病、糖尿病、心力衰竭、肝、肾功能不全、慢性阻塞性肺部疾病及心律失常;③检测前情绪稳定,未接受影响自主神经活性的药物,如激素、拟肾上腺素类药、 β -受体阻滞剂等;④无其他神经系统疾病,如多发性神经病、体位性低血压等疾病;⑤检测时无感染性疾病:肺炎,尿路感染等。

1.1.1.2 健康对照组 38 例,其中男 20 例,女 18 例,年龄

45~77 岁,平均年龄(63.28 ± 10.27)岁,来自我院同期体检中心的健康人,符合 1.1.1.1 中条件②~⑤。

1.1.2 主要仪器 Agilent 6410 Triple Quad LC/MS; 旋涡混合器(原上海医科大学仪器厂);电子天平(北京赛多利斯有限公司);高速离心机(Sigma 公司);-86 °C超低温冰箱 DW-86L386(海尔集团);人 Ach ELISA 试剂盒(RB 公司)。

1.2 方法

1.2.1 血样采集 脑出血患者入院后第 2、10 天清晨 7:00-7:30 空腹安静状态下采集静脉血 3 ml 于预冷的抗凝管中,4 °C低温离心(1 500 r/min, 15 min),取上清液置-70 °C以下低温保存。

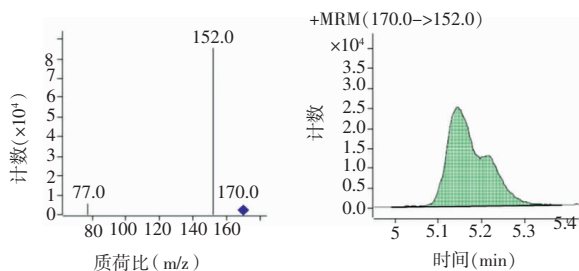
1.2.2 患者自主神经功能障碍临床表现 多汗、患侧肢体温度、血糖升高、气促、尿失禁、睡眠障碍、心律失常、便秘、吞咽困难。

1.2.3 自主神经症状评分 采用 Suarez 等^[1]和 Low 等^[2]提供的自主神经症状量表(autonomic symptom profile, ASP)^[1-2],由受检者填涂量表,无法完成时由试验实施者提问并填写,试验实施者统计评分,≤22.0 分为正常,>22.0 分为异常。分值越高表明自主神经功能障碍越重,每一条分值为 0 分(没有症状)~3 分(经常发生该症状)。

1.2.4 患者神经功能缺损评分 采用美国国立卫生研究院卒中量表(national institute of health stroke scale, NIHSS)对患者神经功能缺损程度进行评分。

1.2.5 血浆 NE 水平测定 采用液相色谱-质谱联用法测定脑出血组及对照组血浆 NE 水平,色谱及质谱条件如下(图 1)。色谱条件:ZORBAX SB-Aq 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μ m)为色谱柱;流动相 A 为 0.08%甲酸,B 为乙腈,从 0~8 min,A 相保持 95%,B 相保持 5%;8~9 min,B 相从 5%逐渐升至 70%;9~14 min,B 相保持 70%不变;14~15 min,B 相从 70%

逐渐降至 5%;15~23 min,A 相保持 95%,B 相保持 5%;流速 0.5 ml/min;柱温 30 ℃。



NE 对应的碎片离子为 170.0~152.0、170.0~77.0 两对子离子,而定量离子选择的是 170.0~152.0;MRM:多反应监测色谱图

图 1 血浆 NE 水平质谱及色谱图

Fig.1 Mass spectrum and chromatogram of NE

质谱条件:采用电喷雾离子源,正离子模式,干燥气流速 12 L/min,干燥气温度 280 ℃,雾化气压力 45 psi,毛细管电压 4 000 V,扫描模式采用多离子反应监测。

1.2.6 血浆 Ach 水平测定 采用 ELISA 测定脑出血组及对照组血浆 Ach 水平,绘制标准曲线如下(以标准物浓度为横坐标,吸光度(absorbance,A)值为纵坐标(图 2),根据样品的 A 值用标准曲线的直线回归方程式计算样品浓度,再乘以稀释倍数,即为样品的实际浓度。

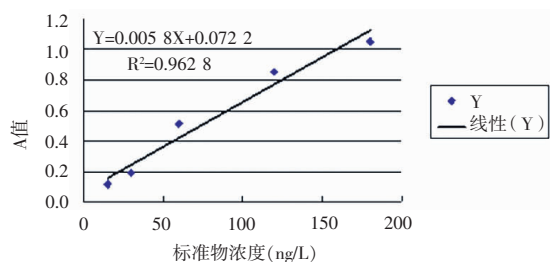


图 2 血浆 Ach 标准曲线

Fig.2 Standard curve of plasma Ach level

1.3 统计学处理

各实验组数据均采用 SPSS 11.5 统计软件包处理。数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。两组独立样本均数比较采用 t 检验,脑出血组第 2、10 天样本均数比较采用配对 t 检验;两组样本均数比较采用方差分析,两两比较采用 $LSD-t$ 检验;相关性分析正态分布资料采用 Pearson 相关性检验。检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧)。

2 结果

脑出血患者急性期自主神经功能障碍的临床表现及其发生率见表 1。脑出血组第 2、10 天 ASP 评分[(26.71 $\pm$ 5.02)分、(24.43 $\pm$ 3.64)分]明显高于对照组(14.71 $\pm$ 4.35)分,差异有统计学意义($P=0.002$ 、 $P=0.010$);脑出血组 ASP 评分与血浆 Ach、NE 水平相互间存在统计学相关性,见表 2。脑出血组入院后第 10 天 NIHSS 评分(14.19 $\pm$ 9.18)分明显低于第 2 天

(18.19 $\pm$ 10.05)分,差异有统计学意义($t=5.91$, $P=0.008$)。脑出血组入院后第 2、10 天血浆 NE 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P=0.006$ 、 $P=0.003$);脑出血组入院后第 2、10 天血浆 Ach 水平明显低于对照组,差异有统计学意义($P=0.005$ 、 $P=0.008$);脑出血组血浆 NE、Ach 水平,第 2、10 天分别比较,差异无统计学意义($P=0.054$ 、 $P=0.342$)。见表 3。

表 1 脑出血患者急性期自主神经功能障碍的临床表现

Tab.1 Clinical manifestations of autonomic neurological dysfunction in patients with cerebral hemorrhage at acute phrase

临床表现	发生率(%)
多汗	16.67
患侧肢体温度下降	4.76
血糖升高	23.81
气促	2.38
尿失禁	7.14
睡眠障碍	26.19
心律失常	4.76
便秘	47.62
吞咽困难	21.43

表 2 脑出血组 ASP 与血浆 Ach、NE 水平的相关性分析

Tab.2 Correlation between ASP and plasma NE and Ach in cerebral hemorrhage group

	入院时间	r 值	P 值
Ach 与 ASP	第 2 天	-0.868	0.011
	第 10 天	-0.827	0.022
NE 与 ASP	第 2 天	0.770	0.042
	第 10 天	0.780	0.038

表 3 脑出血组及对照组血浆 NE、Ach 水平比较

Tab.3 Levels in plasma NE and Ach between cerebral hemorrhage group and control group

	入院后第 2 天	入院后第 10 天	对照组
NE(ng/ml)	1.71 $\pm$ 0.25 ^a	1.53 $\pm$ 0.26 ^b	0.54 $\pm$ 0.13 ^c
Ach(ng/L)	76.88 $\pm$ 12.38 ^d	71.75 $\pm$ 12.73 ^e	105.61 $\pm$ 14.27 ^f

NE:a 与 c 比较、b 与 c 比较, $P=0.006$ 、 $P=0.003$;a 与 b 比较, $P=0.054$;
Ach:d 与 f 比较、e 与 f 比较, $P=0.005$ 、 $P=0.008$;d 与 e 比较, $P=0.342$

3 讨论

自主神经系统有两个基本组成部分:交感神经和副交感神经系统,交感神经节后纤维释放的神经递质是 NE,而副交感神经节后纤维释放的神经递质是 Ach。Labuz-Roszak 和 Pierzchala^[9]研究证实脑卒中后患者存在交感、副交感神经系统功能紊乱,这些归因于中枢自主神经网络的损伤,最常见的临床问题包括心率、血压调节异常,反射性心血管自主神经功能紊乱,非对称性的瘫痪侧肢体发凉、出

汗,反射性催汗、血管舒缩调节系统变化,膀胱、肠道功能紊乱和性无能^[4]。本研究对脑出血患者急性期自主神经功能障碍的临床表现及发生率作了分析,其中多汗、吞咽困难、睡眠障碍及便秘的发生率均较高。卒中患者自主神经功能紊乱使他们的健康状况恶化,并能诱导威胁生命的并发症^[3]。

典型脑出血患者交感神经系统活性增强,副交感神经系统活性减弱导致短暂性高血压,本研究表明:脑出血患者急性期血浆 NE 水平比对照组明显升高,提示交感神经活性增强。Marthol 等^[5]研究致死性脑出血或卒中患者发现:患者在脑死亡前数小时内表现出交感神经过度兴奋,这可能导致终末器官功能衰竭,同时儿茶酚胺可引起组织损伤。Siu 等^[6]报道 1 例急性右侧基底节区出血患者,住院期间连续 3 d 出现呼吸急促、出汗、高血压、高热和心动过速,这位患者被诊断为交感风暴,源于比较少见的原因:扭结的气囊导管。

卒中患者自主神经功能失调与较高的猝死发生率有关^[7]。心血管自主神经功能在发病后不久即被损害,在老年卒中幸存者中,受损的自主神经功能可能增加全因死亡率和心血管疾病死亡率的风险^[8]。自主神经功能障碍包括交感神经活性增加和压力反射减弱,本研究表明:脑出血患者急性期血浆 Ach 水平较对照组明显降低,表明副交感神经活性减弱,目前有关压力反射受损与颈动脉粥样硬化的关系,尚存在争议,Nasr 等^[9]研究认为:双侧颈动脉粥样硬化与压力反射敏感性受损和自主神经平衡的改变相关,而 Sykora 等^[10]研究证实急性脑卒中患者压力反射受损与颈动脉粥样硬化无关,而与卒中累及岛叶相关,而且两侧岛叶似乎都参与处理压力感受器信息,其中左侧岛叶占主导地位,目前本研究尚未涉及自主神经功能障碍与岛叶的相关性研究,而且对脑出血患者恢复期血浆 NE、Ach 水平也未作观察、研究。

本研究表明:经过 10 d 治疗患者临床症状改善,NIHSS 评分降低,而 NE、Ach 水平并没有明显改变,这可能与临床症状变化快于血浆 NE、Ach 变化有关。应用 ASP 对脑出血组及对照组进行自主神经功能评估,脑出血组 ASP 评分明显高于对照组,脑出血组 ASP 与血浆 Ach、NE 水平相互间存在统计学相关性,表明脑出血患者自主神经功能障碍与血浆 NE、Ach 有关联。而且第 2 天与第 10 天 ASP 评分无明显差异,这与脑出血组第 2 天与第 10 天的血浆

NE、Ach 无差异是一致的。本研究只观察了脑出血后 2~10 d,以后需要延长随访周期(2~4 周),更加动态观察急性期后相关递质和自主神经功能的关系。Micieli 和 Gavallini^[11]提出假说:自主神经功能障碍与脑卒中相互联系,并证实这两者之间可能的联系,提出了完全不同的诊断和治疗方法。Sykora 等^[12]建议对急性缺血性和出血性卒中患者,改变自主神经功能可能有重要的治疗意义。自主神经功能障碍是脑血管病患者经常提及的问题,重视自主神经功能障碍,尤其是心血管自主神经功能障碍,并根据其发病机制进行对因和对症治疗,最大程度缓解患者临床症状。

参 考 文 献

- [1] Suarez G A, Opfer-Gehrking T L, Offord K P, et al. The autonomic symptom profile: a new instrument to assess autonomic symptoms[J]. *Neurology*, 1999, 52(3): 523-528.
- [2] Low P A, Benrud-Larson L M, Sletten D M, et al. Autonomic symptoms and diabetic neuropathy: a population-based study[J]. *Diabetes care*, 2004, 27(12): 2942-2947.
- [3] Labuz-Roszak B, Pierzchala K. Stroke induces disturbances of autonomic system function[J]. *Neurol Neurochir Pol*, 2007, 41(6): 495-503.
- [4] Korpelainen J T, Sotaniemi K A, Myllylä V V. Autonomic nervous system disorders in stroke[J]. *Clin Auton Res*, 1999, 9(6): 325-333.
- [5] Marthol H, Intravooth T, Bardutzky J, et al. Sympathetic cardiovascular hyperactivity precedes brain death[J]. *Clin Auton Res*, 2010, 20(6): 363-369.
- [6] Siu G, Marino M, Desai A, et al. Sympathetic storming in a patient with intracranial basal ganglia hemorrhage[J]. *Am J Phys Med Rehabil*, 2011, 90(3): 243-246.
- [7] Tokgözoğlu S L, Batur M K, Topuoğlu M A, et al. Effects of stroke localization on cardiac autonomic balance and sudden death[J]. *Stroke*, 1999, 30(7): 1307-1311.
- [8] McLaren A, Kerr S, Allan L, et al. Autonomic function is impaired in elderly stroke survivors[J]. *Stroke*, 2005, 36(5): 1026-1030.
- [9] Nasr N, Pavy-Le Traon A, Larrue V. Baroreflex sensitivity is impaired in bilateral carotid atherosclerosis[J]. *Stroke*, 2005, 36(9): 1891-1895.
- [10] Sykora M, Diedler J, Rupp A, et al. Impaired baroreceptor reflex sensitivity in acute stroke is associated with insular involvement, but not with carotid atherosclerosis[J]. *Stroke*, 2009, 40(3): 737-742.
- [11] Micieli G, Cavallini A. The autonomic nervous system and ischemic stroke: a reciprocal interdependence[J]. *Clin Auton Res*, 2008, 18(6): 308-317.
- [12] Sykora M, Diedler J, Turcani P, et al. Baroreflex: a new therapeutic target in human stroke[J]. *Stroke*, 2009, 40(12): e678-682.

(责任编辑:冉明会)