

后肢接振对家兔神经生长因子及其受体的影响

张春芝, 张兆强, 林立, 韩莉欣

摘要:

[目的] 研究后肢接振对家兔血清及组织中神经生长因子与受体的影响。

[方法] 将32只新西兰兔随机分为低剂量组、中剂量组、高剂量组3个实验组和1个对照组。3个实验组的接振剂量(4h等能量频率计加权加速度)分别为4.33、8.67、17.34 m/s²进行接振试验,对照组只接触与中剂量组相同的噪声声级。接振试验结束后,用酶联免疫法测定家兔血清及组织中神经生长因子及受体的浓度。

[结果] 与对照组比较,中剂量组、高剂量组血清及组织中神经生长因子的含量均升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),中剂量组、高剂量组组织中神经生长因子受体含量均升高($P < 0.01$)。

[结论] 后肢接振所致家兔血清及组织中神经生长因子与受体浓度的升高,可能与振动性神经损伤的发生有一定联系。

关键词: 振动; 神经生长因子; 神经生长因子受体; 振动性神经功能损伤; 家兔

引用: 张春芝, 张兆强, 林立, 等. 后肢接振对家兔神经生长因子及其受体的影响[J]. 环境与职业医学, 2017, 34(1): 68-70. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.16279

Effects on nerve growth factor and nerve growth factor receptor in rabbits exposed to vibration by hind legs ZHANG Chun-zhi, ZHANG Zhao-qiang, LIN Li, HAN Li-xin (Key Laboratory of Occupational Health and Environmental Medicine, School of Public Health, Jining Medical College, Jining, Shandong 272067, China). Address correspondence to ZHANG Chun-zhi, E-mail: zhanghcunzhi48@163.com · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract:

[Objective] To study the effects on nerve growth factor and nerve growth factor receptor in serum and tissue of rabbits exposed to vibration by hind legs.

[Methods] Thirty-two New Zealand rabbits were randomly divided into three experimental groups (low-dose, middle-dose, and high-dose) and one control group. The experimental groups were tested with vibration intensities of (4-hour energy equivalent frequency-weighted acceleration) 4.33 m/s² (low-dose group), 8.67 m/s² (middle-dose group), and 17.34 m/s² (high-dose group), respectively. The control group was only exposed to noise at the same sound level as the middle-dose group. The concentrations of nerve growth factor and its receptor in serum and tissue were measured by enzyme linked immunosorbent assay after vibration test.

[Results] Compared with the control group, the concentrations of nerve growth factor in serum and tissue increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the concentrations of nerve growth factor receptor in tissue increased significantly in the middle-dose group and the high-dose group ($P < 0.01$).

[Conclusion] Vibration by hind legs could result in concentrations increment of nerve growth factor and nerve growth factor receptor in serum and tissue, which may be related to nervous impairment induced by vibration.

Keywords: vibration; nerve growth factor; nerve growth factor receptor; vibration-induced nervous impairment; rabbit

Citation: ZHANG Chun-zhi, ZHANG Zhao-qiang, LIN Li, et al. Effects on nerve growth factor and nerve growth factor receptor in rabbits exposed to vibration by hind legs[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2017, 34(1): 68-70. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.16279

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[基金项目] 山东省自然科学基金项目(编号: ZR2012CL08)

[作者简介] 张春芝(1962—),男,学士,教授;研究方向:职业性振动危害防治;E-mail: zhanghcunzhi48@163.com

[通信作者] 张春芝, E-mail: zhanghcunzhi48@163.com

[作者单位] 济宁医学院公共卫生学院,职业卫生与环境医学重点实验室,山东 济宁 272067

振动性神经损伤(vibration-induced nervous impairment, VNI)是职业性手臂振动的主要危害之一,其主要表现为周围神经、中枢神经及自主神经的功能异常,但发生机制尚未阐明。近年来国内外的研究指出,轴浆逆向运输的减少乃至中断、髓鞘变薄继而部分破裂、神经末梢断裂、肥大细胞脱颗粒等现象,可能

早期振动性周围神经损伤的机制之一^[1-4]。而多种生化因子如血管内皮物质、脂质过氧化指标、代谢酶等的异常,可能与VNI的发生有一定联系^[5-6]。但这些生化因子均非神经组织所特有的,体内影响这些生化因子的因素也较多,较难解释其与VNI因果关系。神经生长因子(nerve growth factor,NGF)是一种具有促突起生长和神经元营养双重生物学功能的神经细胞生长调节因子,它对中枢及周围神经元的发育、生长、分化、再生和功能特性的表达均具有重要的调控作用。目前有关VNI与NGF关系的研究尚未见报告。本研究对后肢接振家兔进行了NGF及NGF受体的测定,旨在探讨NGF在VNI发生中的作用及意义,为VNI的防治提供一定依据。

1 对象与方法

1.1 对象

新西兰大白兔32只(由新华鲁抗实验动物中心提供),雌雄各半。将新西兰兔随机分为4组:低剂量组、中剂量组、高剂量组和对照组,每组8只,分笼饲养。除暴露因素不同外,整个实验期间,动物的饲养和生活环境完全相同。本研究涉及动物实验,均遵循了单位和国家有关实验动物管理和使用的规定。

1.2 方法

1.2.1 仪器及试剂 D-150-1电动振动台,D-150-1振动控制仪(苏州试验仪器厂,中国),ND2精密声级计(北京精密仪器厂,中国),RC5C高速冷冻离心机(科峻仪器公司,美国),低温冰箱(Forma Scientific,美国),兔NGF酶联免疫分析试剂盒、兔NGF受体酶联免疫分析试剂盒(上海远慕生物制品有限公司,中国)。

1.2.2 家兔接振试验 新西兰兔固定于振动台上,双后肢密切接触于振动台面。振动参数由电动控制台及振动控制仪调控。接振剂量(按4h等能量频率计加权加速度有效值计)分别为低剂量组 4.33 m/s^2 、中剂量组 8.67 m/s^2 、高剂量组 17.34 m/s^2 ,对照组不予接振,但置于中剂量组相同的接振环境中,接触噪声。每组每天接振0.5h,连续45d。现场测试各组接振试验过程中的噪声声级。各组接振试验参数见表1。

1.2.3 标本的制备 接振试验结束后,抽取各组家兔动脉血2mL,取血清;然后处死动物,动物在濒死状态下,在冰盘上取大脑皮层组织和坐骨神经末端所支配的骨二头肌,迅速称重、匀浆、离心,制成10%匀浆液备用。

表1 各组家兔后肢接振试验参数($n=8$)

组别	频率 (Hz)	接振时间 (h/d)	振动加速度 (g)	4h等能量频率 计加权加速度 [*] (m/s^2)	噪声声级 [dB(A)]
对照组	—	—	—	—	77.27
低剂量组	125	0.5	10	4.33	77.15
中剂量组	63	0.5	10	8.67	77.27
高剂量组	63	0.5	20	17.34	81.13

[注]*:4h等能量频率计加权加速度有效值。

1.2.4 NGF及NGF受体含量的测定 采用酶联免疫方法进行。按照试剂盒说明书步骤,经过加样、温育、洗涤、加酶、显色、终止反应等,用722分光光度计进行测定。考马斯亮法测定组织中蛋白的含量,最后计算NGF及其受体的含量。

1.3 统计学分析

用SPSS 13.0,进行成组设计资料单因素方差分析,以 q 检验进行多个均数之间两两比较的检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧)。

2 结果

2.1 家兔一般状况

接振试验开始后,中剂量组、高剂量组出现脱毛增多、倦怠、食量下降、体重降低等表现,低剂量组、对照组无明显异常。无动物死亡。

2.2 各组家兔NGF含量

各组家兔血清及组织中NGF的含量差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组比较,中剂量组、高剂量组血清及组织中NGF的含量均升高($P<0.05$, $P<0.01$)。见表2。

表2 后肢接振后各组家兔血清及组织中NGF含量
(ng/L , $\bar{x}\pm s$)

组别	n	血清	脑组织	骨骼肌组织
对照组	8	45.09 ± 12.24	26.87 ± 10.56	20.29 ± 6.98
低剂量组	8	50.07 ± 13.22	34.73 ± 9.78	26.49 ± 7.61
中剂量组	8	$65.10\pm 21.89^*$	$45.56\pm 11.16^*$	$44.61\pm 10.88^{**}$
高剂量组	8	$71.60\pm 24.91^{**}$	$49.08\pm 16.94^{**}$	$46.09\pm 12.62^{**}$
F		3.48	5.34	10.56
P		0.02	0.00	0.00

[注]与对照组比较,*: $P<0.05$,**: $P<0.01$ 。

2.3 各组家兔NGF受体含量

各组家兔组织中NGF受体的含量差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组比较,中剂量组、高剂量组组织中NGF受体含量均升高($P<0.05$, $P<0.01$)。见表3。

表3 后肢接振后家兔各组组织中NGF受体含量(ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	脑组织	骨骼肌组织
对照组	8	14.06 ± 6.50	6.22 ± 3.20
低剂量组	8	21.33 ± 14.36	9.91 ± 5.06
中剂量组	8	27.68 ± 16.80**	14.35 ± 8.41**
高剂量组	8	31.38 ± 19.20**	18.79 ± 10.25**
F		3.12	4.49
P		0.04	0.00

[注]**: 与对照组比较, $P < 0.01$ 。

3 讨论

VNI的主要危害涉及神经功能的多个方面,如周围神经传导功能障碍、中枢听觉和视觉诱发电位异常、神经行为功能的改变以及自主神经功能紊乱,后者也是导致振动性血管功能损伤的主要原因之一。研究表明,神经组织病理学及体内某些生化因子的改变为VNI发生机制的研究提供了一定依据,但迄今VNI确切的发生机制仍未阐明。

NGF是中枢及周围神经发育、分化、生长、再生乃至修复过程中重要的营养因子,它通过特异的靶细胞表面的NGF受体TrkA及p75介导产生生物学效应^[7-8]。本研究结果显示,中、高剂量组家兔在接振试验后,其血清和组织中NGF含量及其组织中受体含量均较对照组增高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。可能的原因就是在高剂量振动作用下,神经系统受到损伤,机体为了减轻或修复这种损伤,从而增加了NGF的合成,而NGF受体密度也增高。低剂量组由于接振剂量较小,神经损伤的程度较轻,因此NGF及其受体的变化与对照组相比差异尚无统计学意义。

本次实验中,我们所取的组织标本是大脑皮层和沿坐骨神经末端分布的骨骼肌,主要用于观察中枢神经和周围神经NGF及其受体的含量的变化。结果显示,在振动作用下中枢神经和周围神经NGF及其受体均受到了影响。这些变化一方面佐证了VNI的发生,另一方面表明它在VNI的修复中可能具有重要作用。以往的人群研究发现,已经出现VNI(主要是周围神经传导功能损伤)的患者,继续从事振动工作且未予治疗,但其周围神经的传导功能在一个较长时间内也并未出现明显恶化,而调离振动工作的患者,其损伤的神经功能在一段时间后可以有一定程度的恢复等,

均表明了NGF作用的存在。本研究结果也提示,对VNI者应用NGF治疗可能成为手臂振动病的有效防治方法之一。此外,NGF尚具有促进新血管形成、使血管扩张增而加大血流量等作用^[9],也利于振动性血管损伤的防治。

振动对NGF及其受体影响的机制,在VNI发生过程中其保护作用的大小,以及对VNI的诊断(如作为VNI的生物标志、用于VNI的识别和预后观察等)治疗作用等,有继续研究的必要。

参考文献

- [1] Yan JG, Matloub HS, Sanger JR, et al. Vibration-induced disruption of retrograde axoplasmic transport in peripheral nerve[J]. Muscle Nerve, 2005, 32(4): 521-526.
- [2] Loffredo MA, Yan JG, Kao D, et al. Persistent reduction of conduction velocity and myelinated axon damage in vibrated rat tail nerves[J]. Muscle Nerve, 2009, 39(6): 770-775.
- [3] Matloub HS, Yan JG, Kolachalam RB, et al. Neuropathological changes in vibration injury: an experimental study[J]. Microsurgery, 2005, 25(1): 71-75.
- [4] Raju SG, Rogness O, Persson M, et al. Vibration from a riveting hammer causes severe nerve damage in the rat tail model[J]. Muscle Nerve, 2011, 44(5): 795-804.
- [5] 林立, 张春之, 隋桂英, 等. 局部振动对家兔外周血中脂质过氧化物的影响[J]. 环境与职业医学, 2004, 21(3): 218-220.
- [6] 马海燕, 张春之, 林立, 等. 后肢接振对家兔脑组织血管内皮活性物质及ATP酶活力的影响[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2007, 25(4): 245-246.
- [7] 彭彤. 神经生长因子生物学效应的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(3): 203-204.
- [8] 沈丽, 王妍. 神经生长因子的研究及应用进展[J]. 微生物学免疫学进展, 2015, 43(6): 48-52.
- [9] Emanuelli C, Salis MB, Pinna A, et al. Nerve growth factor promotes angiogenesis and arteriogenesis in ischemic hindlimbs[J]. Circulation, 2002, 106(17): 2257-2262.

(收稿日期: 2016-03-29; 录用日期: 2016-05-31)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 王晓宇; 校对: 陶黎纳)