文章编号:1000-5404(2005)18-1833-04

论著

去甲肾上腺素对严重烧伤大鼠脑水肿的影响

王艺明,杨宗城 (第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400038)

提 要:目的 观察去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)对严重烧伤24 h大鼠脑水肿的影响。**方法** 健康Wistar大鼠48只,完全随机分为正常对照组,高、中、低剂量NE组各1组,烧伤组1组,烧伤前腹腔注入高、中、低剂量NE组各1组,共分为8组,每组6只,采用40% TBSA Ⅲ度烫伤大鼠模型,通过组织病理学观察、血脑屏障通透性观察、脑含水量测量方法,观察脑组织水肿情况。**结果** 病理观察显示烧伤和烧伤应激时脑组织水肿明显,血脑屏障通透性增高,较正常对照组,差异明显,尤以烧伤应激时更加严重。**结论** NE诱导了严重烧伤24 h大鼠脑水肿,故认为烧伤后机体的应激反应是促进脑水肿形成的一个重要因素。

关键词:去甲肾上腺素;烧伤;脑水肿;血脑屏障
中图法分类号:R644;R742.706;R977.11 **文献标识码**:A

Effects of norepinephrine on brain edema of rats with severe burn

WANG Yi-ming, YANG Zong-cheng (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Burns, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of norepinephrine on brain edema of rats in 24 h after severe burn. Methods A total of 48 healthy Wistar rats were randomly divided into 8 groups: normal control group, 1, 2, 5 mg/kg norepinephrine, burn group, burn with 1, 2, 5 mg/kg norepinephrine pretreatment groups ($n=6$ in each group). The rats in all burn groups were scalded into 40% TBSA Ⅲ degree burn. Pathological features were observed, and blood brain barrier, brain water (%) were examined in postburn 24 h. Results Pathological evidence of brain edema exhibited in the burn group and burn group with norepinephrine pretreatment, and increased permeability of blood brain barrier and brain water were observed. The burn with norepinephrine pretreatment groups were more significantly severe in comparison with simple burn groups and normal control group. Conclusion Norepinephrine may play an important role in brain edema in postburn 24 h, suggesting that stress of postburn may induce brain edema.

Key words: norepinephrine; burn; brain edema; blood brain barrier

严重烧伤后脑水肿作为烧伤主要内脏并发症之一,病因复杂,目前认为严重烧伤后由于体液的大量丢失导致全身有效循环血量锐减。为保证重要脏器的血液供应,机体进行血液重新分配,血脑屏障因缺血缺氧而破坏,通透性增加,可导致脑水肿的发生。然而烧伤后机体发生严重的应激反应,引起一系列神经—内分泌反应,我所前期研究提示严重烧伤患者血浆儿茶酚氨水平常显著升高,尿中儿茶酚氨排出增加,且浓度上升所持续的时间与烧伤的严重程度成正比。

严重烧伤后儿茶酚氨水平升高与脑水肿形成在时程上和烧伤程度上有一定的关联。本研究通过给大鼠腹腔注入去甲肾上腺素建立烧伤应激大鼠模型,目的在于观察去甲肾上腺素对烧伤大鼠脑水肿的影响,探讨严重烧伤后应激水平与脑水肿程度的关联性,为进一步阐明严重烧伤后脑水肿的发病机制打下基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物及实验分组

健康Wistar大鼠48只(由第三军医大学实验动物中心提供),雌雄不限,体质量250~300 g。将动物完全随机分成8组,分组如下:正常对照组(C组,$n=6$);烫伤组(B组,$n=6$),背部40% TBSA Ⅲ度烫伤处理;去甲肾上腺素组3组,每组6只:分别为腹腔注入1 mg/kg去甲肾上腺素组(N1组),腹腔注入2 mg/kg去甲肾上腺素组(N2组),腹腔注入5 mg/kg去甲肾上腺素组(N3组);烧伤+去甲肾上腺素组3组,每组6只:分别为腹腔注入1 mg/kg去甲肾上腺素+40% TBSA Ⅲ度烫伤组(BN1组),腹腔注入2 mg/kg去甲肾上腺素+40% TBSA Ⅲ度

作者简介:王艺明(1964-),女,江苏省海安市人,博士,副主任医师,主要从事烧伤应激与脑水肿方面的研究,发表论文19篇,现在贵阳医学院附属医院心理科。电话:(0851)6855119-3165

收稿日期:2005-03-10;修回日期:2005-07-18

烫伤组(BN2 组),腹腔注入5 mg/kg 去甲肾上腺素 +40% TBSA Ⅲ度烫伤组(BN3 组)。

1.2 方法

1.2.1 去甲肾上腺素模拟应激动物模型的建立 将大鼠用1%异戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射麻醉后,固定于大鼠固定板上,股动脉插管连接心电监护仪,腹腔分别注入去甲肾上腺素1、2、5 mg/kg 后,观察大鼠心率、血压变化。

1.2.2 烧伤动物模型制作 按本所常规方法,用1%异戊巴比妥钠(30 mg/kg)于大鼠腹腔注射麻醉,按体质量计算40%总体表面积,背部剃毛,将脱毛区置于98 ℃水浴中 18 s,造成40% TBSA Ⅲ度烫伤(病理切片证实)。烫伤后6 h 开始按 parkland's 公式(补液总量 = kg 体质量 × TBSA% ×4)补充复方林格式液,补液速度为伤后第6小时补充总量的1/2,第7~24小时补充总量的另1/2 腹腔注入抗休克。

1.2.3 组织切片制备 实验大鼠经1%异戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射麻醉后,经左心室灌注 0.1 mol/L PBS 约250 ml 冲洗血水,用4%多聚甲醛(PFA)250 ml 内固定至大鼠颈硬、尾翘、全身强直时,断头取出全脑(大脑、小脑和脑干)。将脑组织置 -20 ℃冰箱 10 min 后取出置平皿上,再根据大鼠脑立体定位图谱绘制的取材图纸(前后尺寸)上冠状切取 3 mm 大脑厚片和脑干厚片,置4% PFA 4 ℃冰箱后固定4~8 h,然后梯度蔗糖(15% 12 h、20% 12 h、30% 24 h)脱水,置液氮中5~10 min,取出放 -70 ℃超低温冰箱备用,最后连续冰冻切片,HE 染色,片厚 10 μm,室温晾干后置 -70 ℃冰箱中备用。

1.2.4 组织病理学观察 ①组织切片经 HE 染色,光镜观察大脑皮质及皮质下区域的组织学改变。②透视电镜观察:烧伤应激性大鼠,24 h 后,1%异戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射麻醉后用剪刀将大鼠颅骨剪开,暴露脑组织,快速用小剪刀剪一小片大脑皮层,放在预先滴上戊二醛的载玻片上,最后将脑组织修成 1 mm^3 大小3片脑片放入戊二醛中固定后送第三军医大学中心实验室电镜室,常规电镜制样,观察。

1.2.5 血脑屏障通透性观察 本实验选用的荧光素钠(fluorescein sodium)是一种碳水化合物染料,分子式为 $C_{20}H_{10}O_5Na_2$,分子量(386,FlNa),它可透过菲薄的血管发出黄绿色荧光(波长 520 nm)。应用荧光素钠作为血脑屏障的示踪剂,因为分子量较一般染料小,对于血脑屏障早期或细微的改变显现的非常敏感,故用于对烧伤应激脑组织荧光素钠的测定,观察烧伤和烧伤应激、正常对照组之间脑组织荧光素钠含量是否变化,结果可靠。步骤如下:1%异戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射麻醉,将大鼠固定于固定板上,沿尾静脉注入荧光素钠 1 ml(6 mg/ml),30 min 后,用0.9%生理盐水经心脏主动脉插管持续灌注,冲洗血管内的示踪剂,直至流出清亮液体,血水基本清除后,取右侧半球脑组织,去除额极,取 500 mg 左右脑组织,称取湿重,加入0.5 mol/L pH 10.00 硼酸盐缓冲液 5 ml,匀浆,取1 ml 匀浆脑组织在 4 ℃,3 000 × g 离心 10 min,取上清液 1 ml +0.5 ml 无水乙醇,激烈混匀 15 s,室温放置 15 min(沉淀蛋白),4 ℃,13 000 × g 离心 20 min 后,取上清液进行测定,用激发波长 330 nm 诱发出 485 nm 的放射波长,进入 Fluoro 320 荧光镜(MWG Biotech, Ebersberg Germany),测定荧光的强度,用相对荧光单位(rfu/mg)表示。

$$\text{相对荧光量} = \frac{5 \times \text{测定荧光值}}{\text{脑组织湿重}}$$

1.2.6 脑含水量测量 烧伤应激性大鼠,24 h 后,迅速断头取脑,切除小脑及脑干,沿矢状缝将左右半球切开(将脑室切开,左右半球连接的血管切断),轻轻挤压(将血液、脑脊液尽量挤出),用滤纸吸干血液、脑脊液,双侧半球一起称重(湿重),110 ℃烘烤 24 h 后称干重,用 Elliot 公式计算出脑组织含水量:

$$\text{脑组织含水量}(\%) = \frac{\text{湿重} - \text{干重}}{\text{湿重}} \times 100\%$$

1.3 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 软件进行单因素方差分析(进行方差齐性检验)。

2 结果

2.1 去甲肾上腺素对大鼠心率、血压的影响

当去甲肾上腺素按 1 mg/kg(N1)、2 mg/kg(N2)、5 mg/kg(N3) 3个不同剂量注入大鼠腹腔,心率、血压迅即增加。在N1组,2~3 min 后大鼠心率增加 10~20 次,血压上升 5~10 mmHg,可持续 10~15 min 以上;N2 组,大鼠心率增加 20~30 次,血压上升 20~30 mmHg,可持续 15~20 min;N3 组,大鼠心率增加 40~60 次,血压上升 50~60 mmHg,持续 30~45 min,说明去甲肾上腺素能够诱导大鼠应激反应的产生。

2.2 烧伤应激后 24 h 大鼠脑组织变化

2.2.1 病理变化 光镜观察:正常对照组及腹腔注入 NE 1、3 mg/kg 时,大鼠脑组织无明显改变;腹腔注入 NE 5 mg/kg 时,大脑毛细血管轻度充血、扩张,周围组织间隙轻度增宽。烧伤大鼠大脑毛细血管充血、扩张明显,大脑皮层可见明显水肿带,并且组织间隙出现大小不等的空泡,脑组织疏松、水肿。烧伤前腹腔注入 NE 5 mg/kg 的大鼠,烧伤后 24 h 脑组织除以上表现外,可见脑白质疏松、水肿,出现多量的空泡,核深染、固缩。电镜观察:正常对照组脑组织无明显变化,烧伤后 24 h 神经元肿胀,呈空泡状,胞浆、胞质浓缩、致密,神经细胞胞核不规则,染色质边集。线粒体肿胀、空泡化、嵴断裂、模糊,粗面内质网少,高尔基器丰富(多出现在分泌功能增强时,使神经递质分泌增多);胶质细胞线粒体肿胀、空泡化、嵴断裂,细胞间隙增大,足突肿胀破裂、呈空泡状,胶质细胞基质水肿明显,高尔基器空泡化。毛细血管内皮细胞肿胀,线粒体嵴排列紊乱、断裂;内皮细胞及胶质细胞周围间质疏松、水肿明显。烧伤应激(注入 5 mg/kg NE)后 24 h 大鼠除了有烧伤大鼠的变化外,发现毛细血管内皮细胞核增大,核形不规则,毛细血管周围基底膜密度降低。吞饮泡丰富,毛细血管管腔由于胶质细胞足突肿胀明显而变形,狭窄。

2.2.2 血脑屏障通透性观察 在 C 组、N1、N2 3 组大鼠脑组织的荧光素纳含量相似,无明显差异($P > 0.05$),而在 N3 组,发现大鼠脑组织的荧光素纳含量增加,而 B 组脑组织的荧光素纳含量增加明显,较 C 组有显著差异($P < 0.01$)。在 BN1,脑组织的荧光素纳含量较单纯烧伤组 B 组有所降低,但二者相比差异不明显($P > 0.05$),而随着烧伤前去甲肾上腺素注入剂量的加大 BN2、BN3 组,脑组织的荧光素纳含量增加明显,与 B 组相比差异有显著性($P < 0.01$)。说明高剂量的 NE 能够引起

血脑屏障通透性增高，烧伤大鼠血脑屏障通透性增加，而随着烧伤前去甲肾上腺素注入剂量的加大，血脑屏障通透性增高显著。

2.2.3　脑含水量测量　　研究发现 C、N1、N2 组脑组织含水量相似，无明显差异（$P>0.05$），而 N3 组脑组织的含水量增加到 78.48%，与对照 C 组 77.41% 相比差异明显（$P<0.05$），而烧伤 B 组脑组织的含水量为 79.45% 较对照 C 组增加明显，有显著差异（$P<0.01$）。在烧伤应激 BN1 组，脑组织的含水量较烧伤 B 组有所降低，二者相比有差异（$P<0.05$），而随着去甲肾上腺素剂量的加大 BN2、BN3 组，烧伤后脑组织的含水量增加到 80.25%、81.42%，与烧伤 B 组相比差异有显著性（$P<0.01$）。说明高剂量的 NE 能够引起脑含水量增加，烧伤后大鼠出现脑水肿，而随着烧伤前去甲肾上腺素注入剂量的加大，脑水肿逐渐增加。

3　讨论

脑水肿分为血管源性与细胞毒性脑水肿两大类：血管源性脑水肿、细胞毒性脑水肿。血脑屏障（blood brain barrier，BBB）在中枢神经系统内由血管内皮细胞、内皮细胞之间的紧密连接、基底膜以及毛细血管周围的胶质细胞突起构成。在生理状态下，BBB 严格控制水溶性物质进入脑组织，而仅有脂溶性的物质才能通过 BBB 弥散入脑组织。在病理情况下，由于 BBB 受到破坏，这种调控作用消失，血液的成分，包括电解质和血浆蛋白被血液压力经开放的 BBB“驱入”脑组织。

我所前期研究提示，烧伤后早期死亡的病例中，可见脑组织充血、水肿。故脑水肿在严重烧伤后多脏器功能衰竭的机制研究中非常必要。临床所见烧伤后脑水肿多发生于伤后早期（伤后 24、48 h 内）。黎海涛等[1]通过对严重烧伤早期动物进行 MRI 和病理对照观察，发现烧伤 6 h 即出现脑含水量增加，血脑屏障通透性破坏而出现脑水肿，且随着观察时间的延长，水肿逐渐增加，以伤后 24 h 最严重。Seojima 等[2]认为严重烧伤后大量体液自创面外渗造成低血容量性休克，由此引发的缺血缺氧性损害及失控性炎症反应是严重烧伤后多脏器衰竭的首发因素。但是严重烧伤后，机体立即处于应激状态，引起一系列神经—内分泌反应和代谢反应，我所前期研究提示严重烧伤患者血浆、尿中儿茶酚氨水平常显著升高，且浓度上升所持续的时间与烧伤的严重程度成正比。血浆去甲肾上腺素是反映机体应激反应的重要指标之一。在我们的研究中，烧伤前将去甲肾上腺素注入大鼠腹腔模拟烧伤应激模型，观察烧伤后 24 h 脑组织的一系列变化，通过光镜观察到烧伤大鼠大脑毛细血管充血、扩张明显，大脑皮层可见明显水肿带，并且组织间隙出现大小不等的空泡，脑组织疏松、水肿。烧伤前腹腔注入 NE 5 mg/kg 的大鼠，烧伤后 24 h 脑组织除以上表现外，可见脑白质疏松、水肿，出现多量的空泡，核深染、固缩。电镜超微结构观察到烧伤后 24 h 神经元肿胀，呈空泡状，胞浆、胞质浓缩、致密，神经细胞胞核不规则，染色质边集，线粒体肿胀、空泡化，嵴断裂、模糊，粗面内质网少，高尔基器丰富（多出现在分泌功能增强时，使神经递质分泌增多）；胶质细胞线粒体肿胀、空泡化，线粒体嵴断裂，间隙增大，足突肿胀破裂、呈空泡状，胶质细胞基质水肿明显，高尔基器空泡化，毛细血管内皮细胞肿胀，线粒体嵴排列紊乱、断裂；内皮细胞及胶质细胞周围间质疏松、水肿明显。烧伤应激（注入 5 mg/kg NE）后 24 h 大鼠除了有烧伤大鼠的变化外，发现毛细血管内皮细胞核增大，核形不规则，毛细血管周围基底膜密度降低。吞饮泡丰富，毛细血管管腔由于胶质细胞足突肿胀明显而变形，狭窄。

通过检测血脑屏障通透性、脑水肿情况，对烧伤应激脑组织荧光素钠的测定，发现在烧伤和烧伤应激时荧光素钠含量较正常对照组明显增多，说明烧伤和烧伤应激时血脑屏障破坏明显，并且发现烧伤应激性大鼠脑组织荧光素钠含量较烧伤组增高显著。通过对烧伤应激大鼠脑组织含水量的测定，发现在烧伤和烧伤应激时大鼠脑组织含水量较正常对照组明显增多，而烧伤应激大鼠脑组织含水量增加更为明显，研究结果提示去甲肾上腺素可促进烧伤大鼠脑水肿的形成。研究证实了烧伤应激在脑水肿的形成中起了重要作用。

文献[3,4]提示烧伤病人血浆去甲肾上腺素增加明显，认为去甲肾上腺素提高了严重烧伤病人的细胞反应，提出了严重烧伤病人容易并发多器官衰竭是因为去甲肾上腺素升高的缘故。在动物模型中，烧伤后 1～12 h 血浆去甲肾上腺素不断增加[5]。

应激是机体对有害刺激（应激原）所做出的适应性综合反应，适当的应激反应可提高机体的准备状态[6]。应激反应的程度与应激原的刺激强度呈正相关，刺激原过度强烈、过久的反应则会引起机体内环境明显失衡，机体便处于失代偿状态，导致继发性损害，严重烧伤时，由于生物机体的高度复杂性，机体往往不能做出适度的反应，而出现应激紊乱。导致严重的继发性损害，并发脑水肿，甚至脑疝危及生命，严重烧伤应激使交感—肾上腺髓质系统活性增强血、尿中儿茶酚胺水平显著升高，且浓度上升所持续时间与烧伤严重程度成正比，对我们的研究提供了理论基础。我们的研究提示去甲肾上腺素诱导了严重烧伤大鼠脑水肿，故认为烧伤后机体的应激反应是促进脑水肿形成的一个重要因素。

参考文献：

[1] 黎海涛，应大君，何小川，等. 犬烧伤早期脑水肿时毛细血管密度的体视学研究[J]. 第三军医大学学报，2001，23(2)：179－181.

[2] Soejima K, Schmalstieg F C, Sakurai H, *et al*. Pathophysiological analysis of combined burn and smoke inhalation injuries in sheep [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2001, 280(6): L1233－L1241.

[3] Takahashi H, Tsuda Y, Kobayashi M, *et al*. Increased norepinephrine production associated with burn injuries results in CCL2 production and type 2 T cell generation[J]. Burns, 2004, 30(4): 317－321.

[4] Sedowofia K, Barclay C, Quaba A, *et al*, The systemic stress response to thermal injury in children[J]. Clin Endocrinol (Ofx), 1998, 49(3): 335－341.

[5] Takahashi H, Kobayashi M, Herndon D N, *et al*. Norepinephrine increases the susceptibility of thermally injured mice to sepsis through the inhibition of CC chemokine ligand 3 production[J]. J Allergy Clin Immunol, 2003, 111: 153－155.

[6] 王军平，赵景宏，粟永萍. 糖皮质激素受体调控与创伤应激紊乱关系的研究进展[J]. 中华创伤杂志，2001，17(8)：508－510.

（编辑　刘洪娥）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2005)18-1836-01

剖宫产中子宫肌瘤处理的探讨

Treatment of uterine myoma during cesarean section

魏碧蓉[1]，李玉祥[2]　（莆田学院：[1]医学院妇产科，[2]附属医院妇产科，莆田 351100）

子宫肌瘤是女性生殖器官常见的良性肿瘤，好发于育龄妇女[1]。近年妊娠合并子宫肌瘤有上升趋势。现就我院剖宫产时对子宫肌瘤的处理进行分析。

1　资料与方法

1.1　一般资料

从2001年1月至2004年6月共行剖宫产2 686例，其中36例合并子宫肌瘤，直径≥2 cm。年龄平均(26±1.3)岁；初产妇30例，经产妇6例；孕周平均(39±2)周。剖宫产指征：妊娠合并子宫肌瘤3例，余为其它剖宫产指征，其中2例孕前B超提示，1例产程中发现，18例为孕期B超提示，余为剖宫产术中发现。

1.2　方法

36例均行子宫下段剖宫产，其中1例孕36周因重度妊高征，子宫胎盘卒中行子宫切除术，9例未行肌瘤剔除，26例行肌瘤剔除。肌瘤情况：多发性6例，数目最多4个；肌壁间8例，浆膜下9例，粘膜下3例。

1.3　统计学处理

采用SPSS 10.0软件，计量资料进行t检验，计数资料进行χ^2检验。

2　结果

2.1　两组出血量的比较

血量估计采用纱布称重法，剔除组26例平均出血量(281.32±90.97) ml，未剔除组9例平均出血量(260.31±88.11) ml，两组比较无显著性差异($t=1.89$，$P>0.05$)。术中肌瘤剔除26例仅肌瘤剔除出血量与同期30例妇科肌瘤剔除出血量比较，两组无显著性差异($t=1.96$，$P>0.05$)。为纠正术中出血量估计的误差，将术中肌瘤剔除26例与未剔除9例术前及术后48 h血红蛋白值有无改变做对照。剔除组前后对照平均$\triangle Hb=(-3.32\pm1.50)$ g，未剔除组前后对照平均$\triangle Hb=(-2.91\pm1.78)$ g，无显著性差异($t=2.001$，$P>0.05$)。

2.2　两组阴道出血时间比较

剔除组术后阴道出血平均(32.28±5.16) d。未剔除组术后阴道出血平均(49.31±9.12) d，有显著性差异($t=2.079$，$P<0.05$)。

2.3　术后并发症

剔除组仅1例腹痛，术后病率3.85%，未剔除组术后有3例伴有腹痛，子宫复旧差，压痛明显，术后病率22.22%（$\chi^2=7.28$，$P<0.01$）。

3　讨论

3.1　剖宫产术中对子宫肌瘤的处理

3.1.1　术中肌瘤剔除的可行性　对于要求剖宫产同时行肌瘤剔除者，术前充分准备，纠正贫血，备足血源，术中采取恰当的减少出血的方法，注意剥离，缝合的关键点，剖宫产时可行肌瘤剔除。与单行剖宫产相比出血量增加不多，与文献[2]报道相符，与同期妇科肌瘤剔除相比，出血量无统计学意义。手术难度也未见明显增加。如留下肌瘤不处理可影响子宫缩复，增加盆腔感染的机会[3]。

3.1.2　减少出血的方法　①剥离前在肌瘤周围分点注射催产素10－20 U，口服米索前列醇600 μg；②浆膜下肌瘤先用止

（下转1840页）

作者简介：魏碧蓉(1962－)，女，福建省莆田市人，副教授，主要从事产科方面的研究。电话：(0594)2287866

收稿日期：2005-01-11；修回日期：2005-05-16