文章编号:1000-5404(2005)18-1841-03

论著

严重烫伤早期兔血脑屏障病理学观察

胡 俊[1],丁仕义[1],肖桃元[2],廖顺明[3],张恩全[1],黎海涛[1] (第三军医大学:[1]西南医院放射科,[2]高原军事医学系中心实验室,重庆 400038;[3]解放军第5医院放射科,银川 740005)

提 要:目的 探讨严重烫伤兔(50% Ⅲ度烫伤)早期,血脑屏障(blood-brain barrier,BBB)的病理学变化。**方法** 雄性大白兔10只,均制成50% Ⅲ度烫伤模型,随机分为烫伤前、烫伤后1、2、3、4 h 5个时相点组,每个时相点组分别取2只兔,取脑组织进行大体、光镜与电镜观察。**结果** 烫伤后2 h,内皮细胞肿胀,BBB开放。随着病变时间的延长,内皮细胞紧密连接开始模糊,BBB进一步开放。**结论** 随病变时间的延长,内皮细胞的损伤逐渐加重,BBB的开放逐渐增大,最终导致脑水肿的形成。

关键词: 烫伤;血脑屏障;血管内皮细胞
中图法分类号: R644;R741.02;R742.7 **文献标识码:** A

Pathologic changes of blood-brain barrier in the early stage of severely scalded rabbit

HU Jun[1], DING Shi-yi[1], XIAO Tao-yuan[2], LIAO Shun-ming[3], ZHANG En-quan[1], LI Hai-tao[1] ([1]Department of Radiology, Southwest Hospital, [2]Central Laboratory, College of High Altitude Military Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, [3]Department of Radiology, No. 5 Hospital of PLA, Yinchuan 740005, China)

Abstract: Objective To explore the pathologic changes of the opening blood-brain barrier (BBB) in the early stages of 50% TBSA scalded rabbits. Methods Ten male rabbits inflicted with 50% TBSA of Ⅲ degree were randomized into five groups: control, postburn 1 h, 2 h, 3 h, 4 h. Brain tissues were isolated at different phases and observed in gross, by microscope and transmission electron microscope. Results Endothelial cells swelled and BBB began to open in 2 h after scald. The tight junction of endothelial cells became vague and the opening of BBB increased as lesion time prolonged. Conclusion As the lesion time prolonged, the injury of endothelial cells became more serious and the opening of BBB progressed, which resulted in the formation of brain edema.

Key words: burn; blood-brain barrier; vascular endothelial cell

脑水肿作为严重烧/烫伤后主要内脏并发症之一,伤情重,发展快,在烧/烫伤的内脏并发症防治中占有重要地位。严重烫伤早期,血脑屏障(blood brain barrier, BBB)损害,通透性增加,持续发展将最终导致脑水肿的发生[1,2]。早期诊断严重烫伤后BBB的损伤,可以采取针对性治疗措施,减轻和避免加重BBB的损伤,减少脑水肿发生率。在实验研究中,我们建立了兔50%总烧伤面积(total burn surface area, TBSA)Ⅲ度烫伤模型,观察严重烫伤早期兔脑的大体、光镜及透射电镜(transmission electron microscope, TEM)的病理学改变,了解烫伤后BBB通透性的动态变化。

1 材料与方法

1.1 材料

雄性新西兰大白兔10只,体质量(3±0.5) kg,按随机分段法分为烫伤前、烫伤后1、2、3、4 h 5个时相点组,每个时相点分别取2只兔,取脑组织进行大体、光镜及电镜观察。

1.2 严重烫伤模型的制备

采用我院全军烧伤研究所建立的致伤方法[3]。实验前于室温下将兔在动物饲养室混合饲料单笼饲养1周,并禁食12 h,自由进水。首先计算兔总体表面积,计算公式为:S(总体表面积)=10×$W^{2/3}$,W为兔的体质量。用1%戊巴比妥钠(30 mg/kg)经耳缘静脉注射作全身麻醉,剪去相当于总体表面积50%大小的颈部、背部、肋腹侧部长毛,用8%硫化钠温溶液浸湿脱毛,欲致伤皮肤浸入92~94 ℃水中30 s,以建立50% TB-

基金项目:重庆市科委应用基础研究资助项目(2003)
Supported by the Research Project Foundation for Basic Research and Application of Chongqing (2003)
作者简介:胡 俊(1978-),男,湖北省襄樊市人,博士研究生,医师,主要从事神经系统疾病方面的研究。电话:(023)68754424
通讯作者:黎海涛,电话:(023)65461968,E-mail: haitaoli53@hotmail.com
收稿日期:2004-11-29;修回日期:2005-04-30

SA Ⅲ度烫伤模型(经病理组织学证实)。伤后不作任何处理。

1.3 大体观察

各时相点放血活杀兔,开颅取脑,观察脑组织表面组织形态、色泽、血管分布及走行情况。

1.4 光镜标本的制备

各时相点放血活杀兔,开颅取脑,将脑组织置入10%甲醛溶液中固定1周,取5 mm^3脑组织,经乙醇梯度脱水,石蜡包埋,切片,常规HE染色。

1.5 电镜标本的制备

在各时相点于深麻醉状态下,取1 mm×1 mm×1 mm大小脑组织数块,浸泡入2 ml的3%戊二醛内,4 ℃冰箱内固定6 h,常规丙酮逐级脱水、包埋、切片、染色。

2 结果

2.1 大体观察

对照组及烫伤后1、2 h,兔脑组织形态未见异常改变,脑组织表面色泽清亮,脑沟、脑回清晰。兔脑表面血管走向自如,粗细均匀。烫伤后3 h,兔脑表面血管轻度扩张、充血,走行尚自如。烫伤后4 h,脑组织表面色泽暗红,脑膜张力增高,与脑组织不易分离,脑回增宽,脑沟变浅。兔脑表面毛细血管扩张、迂曲、充血。

2.2 光镜观察

对照组及烫伤后1 h,脑内血管均未见明显异常,管腔规则,基膜完整,内皮细胞未见肿胀。烫伤后2 h,毛细血管轻度扩张,管腔内充满红血球等内容物,周围间隙轻度增宽,神经细胞、胶质细胞、血管内皮细胞尚未见明显改变。烫伤后3 h,毛细血管进一步扩张,毛细血管和神经细胞周围间隙增宽(图1),少数神经细胞及少突胶质细胞出现肿胀,偶见神经细胞尼氏体溶解,胞核固缩。烫伤后4 h,血管管腔因周围渗出液压迫,内腔稍变窄,神经细胞和胶质细胞周围间隙进一步增宽,神经细胞出现空泡状改变,神经细胞及少突胶质细胞肿胀加重,部分神经元有胞浆固缩、红染,核呈三角型等缺血、缺氧改变,小脑浦肯野氏细胞突起减少,脑白质疏松。

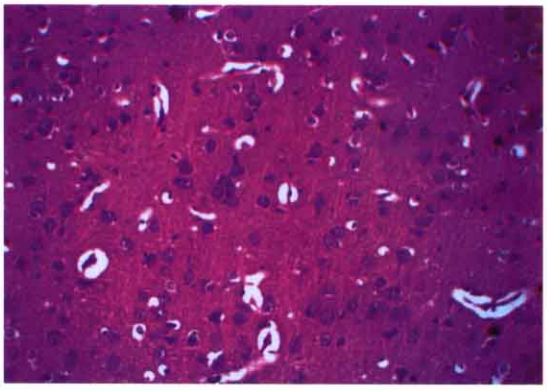


图1 烫伤后3 h,毛细血管周隙增宽 (HE×400)

Fig 1 Surrounding space of brain capillaries got widen at 3 h after scald (HE×400)

2.3 电镜观察

对照组及烫伤后1 h,脑内毛细血管腔保持完整结构,血管内皮细胞及神经细胞形态正常,胞浆内细胞器如线粒体、内质网、溶酶体等清晰可见,胞内吞饮小泡很少。内皮细胞之间见完整的紧密连接结构,内皮细胞之外有厚层基膜与内皮细胞和胶质膜紧密相连,其间毛细血管周围间隙少见。烫伤后2 h,可见脑血管周围水肿,血管内皮细胞紧密连接尚完整,部分基膜和胶质细胞足突稍肿胀,内皮细胞和胶质细胞周围水肿,其内线粒体稍肿胀,少数嵴发生空泡变(图2)。烫伤后3 h,可见脑血管周围水肿加重,神经细胞也出现水肿,血管内皮细胞紧密连接增宽、稍模糊,内皮细胞和神经细胞内线粒体肿胀更加明显,较多嵴发生空泡变、断裂(图3),内皮细胞吞饮小泡增多。烫伤后4 h,脑组织各部位血管周围水肿进一步加重,甚至血管周围出现液化灶,血管内皮细胞紧密连接模糊,甚至消失,细胞肿胀更加明显。

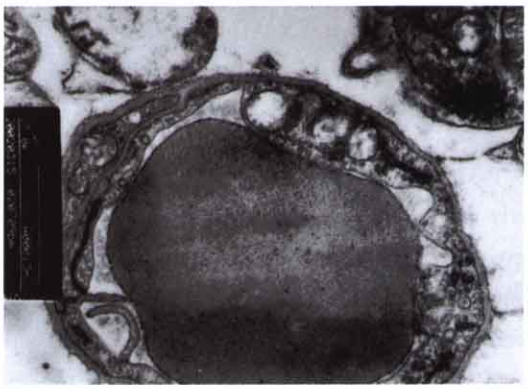


图2 烫伤后2 h,血管周围水肿,内皮细胞内线粒体稍肿胀 (TEM×17 000,标尺=1 μm)

Fig 2 Peripheral edema of endothelial cells and swollen mitochondria at 2 h after scald (TEM×17 000,BAR=1 μm)

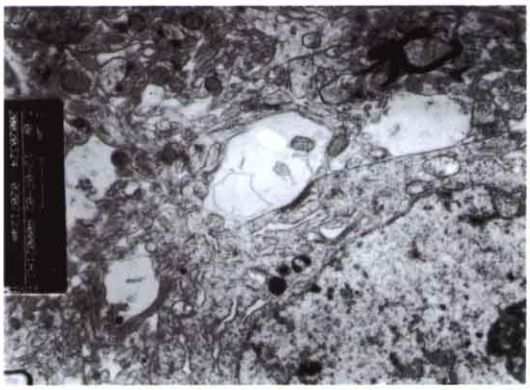


图3 烫伤后3 h,神经细胞内线粒体肿胀,嵴发生断裂 (TEM×7 000,标尺=1 μm)

Fig 3 Swollen mitochondria and broken cristae in neurocytes at 3 h after scald (TEM×7 000,BAR=1 μm)

3　讨论

严重烧/烫伤不但毁坏受伤组织，还会立即出现血液灌流不足和失控性炎症反应，导致微循环障碍，引起缺血缺氧，造成多脏器损害、功能衰竭。严重烧/烫伤后脑水肿作为烧/烫伤的一种主要内脏并发症，不同于单纯的脑部创伤或缺氧引起的脑损伤，它是机体全身内皮细胞损害的局部表现。

BBB 由中枢神经系统血管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，是机体维持中枢神经系统内环境稳定的结构基础[4]。BBB 功能的正常靠其结构的完整来维持，其中毛细血管内皮细胞紧密连接对于维持 BBB 的完整性起着重要作用。烧伤后血管内液体减少导致组织灌流不足，细胞缺氧、水肿、能量代谢障碍，血管内皮细胞屏障功能受损[5]，大分子物质如白蛋白等进入周围脑组织，进一步加重脑组织的损伤，最终导致脑水肿的发生[6]。研究证实 50% Ⅲ度烧/烫伤后 6 h，动物脑内出现早期脑水肿的组织学改变：毛细血管内皮及星形细胞肿胀，血管内皮细胞、神经细胞及轴突不同程度的缺血坏死[7~9]。

兔 50% Ⅲ度烫伤后 4 ~ 6 h，我们对兔脑行 CT 扫描，出现不同程度的脑实质强化，提示 BBB 屏障功能受损，使正常情况下不能通过的造影剂进入脑实质。而此时 MRI 平扫上 T_2WI 信号强度未发生改变，说明脑含水量未发生明显增加，严重烧/烫伤后早期脑水肿尚未形成[10]。为了了解严重烧/烫伤早期 BBB 变化情况，我们对 50% Ⅲ度烫伤前、后(4 h 以内)兔脑组织进行大体、光镜与电镜观察。

光镜结果表明：兔烫伤后 2 h，BBB 就出现开放，但程度较轻，仅表现为毛细血管周围间隙轻度增宽；烫伤后 3 h，BBB 开放程度加重，血管周围间隙增宽，神经细胞及少突胶质细胞轻度肿胀；烫伤后 4 h，神经细胞可出现空泡状改变，部分血管紧密连接增宽、模糊。电镜结果表明：烫伤后 2 h，对 BBB 功能起主要作用的血管内皮细胞紧密连接尚完整，主要为部分毛细血管周围水肿，部分基膜和胶质细胞足突稍肿胀，毛细血管通透性稍增加；烫伤后 3 h，脑组织各部位血管内皮细胞紧密连接开始增宽、稍模糊，BBB 通透性进一步增加；烫伤后 4 h，内皮细胞肿胀更加明显，血管内皮细胞紧密连接模糊、甚至消失。表明严重烫伤后，由于缺血缺氧、细胞介质、内毒素、电解质紊乱、酸中毒以及失控性炎症等多种因素共同作用引起的微循环障碍，BBB 功能破坏、通透性增加。随着伤后时间的延长，血管内皮细胞的损伤逐渐加重，导致烫伤后 BBB 的渐进性开放，BBB 通透性不断增加。

光镜、电镜可以直接、准确地反映 BBB 结构的组织学改变，是 BBB 开放的最重要的证据。因此，兔 50% TBSA Ⅲ度烫伤后 BBB 最早开放时间是烫伤后 2 h，随病变时间的延长，血管内皮细胞损伤逐渐加重，最终引起脑水肿的形成。表明在严重烫伤早期，BBB 的破坏先于脑水肿的发生，BBB 的功能变化是创伤性脑水肿形成的形态学基础。临床如能早期诊断 BBB 开放，及时正确治疗，即可减少脑水肿发生率，提高治愈率[11,12]。

参考文献：

[1] Beaumont A, Marmarou A, Hayasaki K, *et al*. The permissive nature of blood brain barrier (BBB) opening in edema formation following traumatic brain injury[J]. Acta Neurochir Suppl, 2000, 76: 125 - 129.

[2] 胡　俊，丁仕义，黎海涛. 血脑屏障开放的检测方法[J]. 重庆医学，2003，32(12)：1744 - 1746.

[3] 黎　鳌，杨宗城，肖光夏，等. 实验烧伤外科学[M]. 重庆：重庆大学出版社，1997. 171 - 172.

[4] Tonra J R, Reiseter B S, Kolbeck R, *et al*. Comparison of the timing of acute blood-brain barrier breakdown to rabbit immunoglobulin G in the cerebellum and spinal cord of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. J Comp Neurol, 2001, 430(1): 131 - 144.

[5] 杨宗城. 烧伤后血管内皮细胞损伤及其在早期脏器损害中的作用[J]. 中华烧伤杂志，2001，17(3)：133 - 135.

[6] Pleines U E, Stover J F, Kossmann T, *et al*. Soluble ICAM-1 in CSF coincides with the extent of cerebral damage in patients with severe traumatic brain injury[J]. J Neurotrauma, 1998, 15(6): 399 - 409.

[7] 黎海涛，应大君，孙建森，等. 犬严重烧伤早期脑水肿 MRI 与病理对照观察的实验研究[J]. 第三军医大学学报，2000，22(9)：844 - 848.

[8] Merchut M P, Richie B. Transient visuospatial disorder from angiographic contrast[J]. Arch Neurol, 2002, 59(5): 851 - 854.

[9] 黎海涛，应大君，丁仕义，等. 犬严重烧伤早期脑水肿 MRI 与 SPECT 对比观察的实验研究[J]. 中国医学影像学杂志，2002，10(1)：46 - 49.

[10] 胡　俊，黎海涛，丁仕义，等. 兔严重烫伤早期脑螺旋 CT 与 MRI 动态观察[J]. 第三军医大学学报，2004，26(21)：1920 - 1923.

[11] Parizel P M, Makkat S. Intracranial hemorrhage principles of CT and MRI interpretation[J]. Eur Radiol, 2001, 11(9): 1770 - 1783.

[12] Mayer T E, Schulte Altedorneburg G, Droste D W, *et al*. Serial CT and MRI of ischaemic cerebral infarcts: frequency and clinical impact of haemorrhagic transformation[J]. Neuroradiology, 2000, 42(4): 233 - 239.

(编辑　陈聪连)