DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.12.056

蒂浆肌层片覆盖吻合口预防吻合口瘘的发生,临床取得满意疗效[4]。⑥术后加强支持治疗及抗生素的应用,防止腹腔发症的发生。也有人认为肠腔内使用抗生素有利于防止吻合口瘘的发生[5]。⑦术后定时扩肛。扩肛可使肛门括约肌松弛,有利于肠内容物排出,降低肠管压力,帮助吻合口愈合。

结肠吻合口瘘一旦确诊,应采取积极有效的治疗措施尽早治疗,防止更为严重的发症发生,危及病人生命。首先应改善病人全身状况,加强营养支持疗法,提高机体抗感染能力,维持水电解质平衡。因吻合口瘘引起腹腔感染大多为混合感染,故提倡联合使用抗生素,尤其应使用抗厌氧菌药物。积极治疗各种合并疾病,特别是控制好血糖水平。严格禁止使用各种影响病人免疫机能的抗癌药物。

对吻合口瘘引起的弥漫性腹膜炎的处理应根据腹腔感染程度与吻合口瘘部位而定。吻合口瘘一期修补不易成功,可行近端结肠造瘘术使粪便转流或将原吻合口拆开,分别造口,待腹腔感染控制,伤口愈合后择期手术处理。本组6例确诊后,经短暂调整全身状况后,均急症行近端结肠造瘘,术后经全身支持及抗感染治疗,全部患者均未出现严重发症,10~20 d后痊愈出院。3例患者半年后来院行结肠还纳术。

如为局限性腹膜炎,说明瘘口小,盆腹腔脓液较少,仅行腹腔引流或将感染创口敞开引流即可。因这种创口感染脓腔多与腹腔内感染直接相通,如吻合口远端肠管无梗阻,多数病人在全身营养支持疗法下2~4周内愈合。

关键词:结肠癌根治术;吻合口;肠瘘
中图法分类号:R735;R656.9 文献标识码:B

参考文献:

[1] 杨金镛,崔自介.普通外科诊疗术后并发症及处理[M].北京:人民卫生出版社,1998.445.
[2] 迟彦邦,詹新恩.外科常见失误及防治[M].重庆:科学技术文献出版社重庆分社,1990.247.
[3] 刘学军,张新军,靳建强.结肠癌Ⅰ期手术吻合口瘘9例原因分析[J].临床误诊误治,1999,12(1):58.
[4] 孙宝书.结肠一期切除带蒂浆肌层片覆盖吻合口预防肠瘘[J].中华普通外科杂志,2000,15(2):74.
[5] 黄 耀,麦铁江.肠内用药预防肠瘘在结肠一期切除中的应用[J].中国肛肠病杂志,1999,19(6):25.

(编辑 陈聪连)

文章编号:1000-5404(2002)12-1489-02

经验交流

雌激素对2VO-OVX大鼠脑钙结合蛋白阳性神经元的影响

Effects of estrogen on the cerebral CaBP positive neurons in bilateral common carotid artery occluded and ovariectomized rat

王兴华,李露斯,范文辉 (第三军医大学附属西南医院神经内科,重庆 400038)

钙结合蛋白是胞内钙库的关键成分之一。参与钙离子浓度的调节,维持钙稳态。近年研究表明,雌激素具有一定的神经保护作用,但其对慢性脑缺血的神经元作用很少研究。大鼠双侧颈总动脉结扎(2-vessel occlusion, 2VO)模型可使老龄大鼠产生慢性前脑灌注不足,能够较好的模拟血管性痴呆(Vascular dementia, VD)的临床病理过程;卵巢切除(Ovariectomy, OVX)模型是较好的雌激素缺乏动物模型,该模型不仅表现为基底前脑胆碱能系统及海马突触功能降低,而且出现相应的学习记忆功能障碍,在本实验中,将两种模型结合起来,制作成2VO-OVX模型,进行神经组织形态学观察,初步观察苯甲酸雌二醇对钙结合蛋白阳性神经元的影响,为在病理条件下雌激素的神经保护作用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

雌性Wistar大鼠15只,18月龄,体重300~400 g,由大坪野战外科动物中心提供。苯甲酸雌二醇:灭菌油溶液,上海第九制药厂生产。

1.2 实验动物及其处理

术前8~12 h禁食,自由饮水。小容器乙醚棉球罩头麻醉成功后,仰卧固定于手术台上,颈部皮肤剪毛备皮,碘酒酒精消毒,以无菌器械在颈侧部切开皮肤及皮下组织,长度约1.5 cm,暴露颈部肌肉后,在一侧颈前肌肉和侧方肌肉间隙钝性分离该侧颈总动脉,以4号丝线双重结扎,伤口内撒入少许青霉素,间断缝合皮肤,缝合完毕后酒精消毒伤口。乙醚麻醉术中根据情况及时补充、尽早停止,术中注意手法轻柔,避免损伤伴随颈总动脉行走的迷走神经,注意无菌原则,术后青霉素肌注1周。术后送第三军医大学实验动物中心饲养。间隔1周后继续进行另一侧颈总动脉结扎及开腹行OVX。假手术组只暴露术野,不做结扎和切除;对照组给予苯甲酸雌二醇溶媒类似物—煮沸过的麻油。分组及给药:随机分为3组。①S组($n=5$):假手术组+麻油;②O组($n=5$):2VO+OVX+麻油;③E组($n=5$):2VO+OVX+苯甲酸雌二醇。术后当天开始给药,腹腔注射,每周两次,药物剂量为1 mg/kg体重,约为每只大鼠300 μg。所有大鼠于术后饲养2月。

1.3 标本采集

用1%戊巴比妥钠(50 mg/kg体重)腹腔注射,麻醉大鼠,打开胸腔,暴露心脏,左心室插管至升主动脉,用丝线结扎以防止

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39770273)
作者简介:王兴华(1968-),男,河北省卢龙县人,硕士研究生,主治医师,主要从事血管性痴呆方面的研究。电话:(023)65318301-73070
收稿日期:2002-07-08;修回日期:2002-09-25

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

脱落，然后切开右心耳放血。灌注 37 ℃的生理盐水至流出液不见血色为止。然后注入 4℃的 4% 多聚甲醛磷酸缓冲液（pH 7.4）灌注固定，约 300 ml/kg 体重，5～10 ml/min，先快后慢。当机体变硬、尾巴震颤消失时停止灌注。置于 4 ℃冰箱过夜，于次日仔细剥离出完整脑组织。将组织置于 30%～50% 蔗糖多聚甲醛溶液中脱水 1～3 d，待标本块沉入瓶底后取出切片。将沉底的标本取出，在距矢状缝后端前方约 5 mm 处冠状切开标本，以肉眼观察到海马和齿状回的平面为基准，向前脑方向切取厚度约 1 cm 的组织块，置入冰冻切片机内，－20℃速冻，连续冰冻冠状切片，片厚 30 μm，间隔 5 张留取 1 张，妥善贴于已经处理好的载玻片上，风扇吹干，置于－70℃冰箱备用。

1.4 免疫组化染色

采用 SABC 法免疫组化试剂盒，主要实验步骤如下：

冰冻切片用 PBS 泡洗 5 min×3 次；新鲜配制的 3% 过氧化氢溶液；PBS 泡洗 5 min×3 次；正常山羊血清封闭，37℃孵育 60 min，不洗，倾去多余液体；滴加一抗，37℃孵育 60 min；PBS 泡洗 5 min×3 次；滴加二抗，37 ℃孵育 30 min；PBS 泡洗 5 min×3 次；滴加 SABC，37℃孵育 30 min；PBS 泡洗 5 min×3 次；DAB 显色，室温下放置，避光，镜下控制显色时间；蒸馏水洗片，终止显色；系列浓度酒精脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。

设立阴性对照：用抗体稀释液代替一抗。

1.5 图像分析

在 40×10 倍显微镜下，运用体视学方法的测试网格进行细胞计数，以“0.9 mm^2”为单位。每组检测 5 个标本，均检测皮质、海马 CA1 区相近部位的 2 个视野，取其平均值作为测量结果。

1.6 统计学处理方法

采用 Microsoft Excel 处理。所得数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间进行 t 检验。

2 结果

钙结合蛋白广泛表达于神经元细胞浆内，随神经元的存在而分布于各层组织。在 O 组切片可见到皮质钙结合蛋白反应阳性细胞胞体缩小，分布稀疏，边界欠清楚，表达较少，同时伴有散在髓鞘溃变；海马损害更为明显，细胞排列紊乱，很多空泡状改变，神经纤维断裂。E 组皮质表达清楚，也有少量髓鞘溃变，海马保留的神经元亦有较多的表达。各组细胞计数见表 1。

表 1 各组钙结合蛋白反应阳性细胞计数（$n=5$，$\bar{x}\pm s$）

	S 组	O 组	E 组
皮质	136.60±7.82	85.40±6.10 ♯**	100.20±6.06 **
CA1	70.00±6.81	48.40±3.97 ♯**	61.00±5.29 *

♯：$P<0.01$ 与 E 组比较；*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ 与 S 组比较

3 讨论

胞内钙的稳态调控是细胞维持其正常生理功能的基础，在生理状态下细胞外的自由 Ca^{2+} 浓度可比胞内高 5 000～10 000 倍，90%～95% 进入胞浆的 Ca^{2+} 可与胞浆蛋白如钙调素、钙结合蛋白、肌钙蛋白（Parvalbumin）等快速结合而被缓冲。细胞一方面依赖于质膜钙转运系统调节细胞内外钙平衡，另一方面通过胞内钙库缓冲过量的钙离子，这对于 Ca^{2+} 作为胞内第二信使正确传导信息起关键作用[1]。

钙结合蛋白（CaBP）是细胞内具有对钙离子高度选择性结合特殊位点的一种酸性蛋白家族，可以分为两大类：一类属于激发型，如钙调蛋白、肌钙蛋白 C，它们与钙离子结合后发生扭曲变形，暴露某些位点与靶分子结合，进而调节其活性；另一类属缓冲剂型，如 Calbindin-D，存在于胞内，主要参与细胞内钙离子浓度的调节。

研究显示钙结合蛋白与神经细胞的功能维持密切相关。在人类，与记忆过程有关的两个皮层系统属于选择性易损区，一是海马与颞叶的皮层结构，一是基底前脑投射到大脑皮层的胆碱能系统，但易损的原因不甚清楚。近年发现了年龄相关的钙结合蛋白丧失可能是基底前脑胆碱能神经元选择性易损的病因所在[2]。

神经元内钙结合蛋白水平不仅部分反应钙离子的变化，而且与神经元结构和功能的完整性密切相关[3,4]。本实验运用免疫组化方法观察到：皮质和海马 CA1 区的钙结合蛋白反应阳性细胞数 E 组比 O 组分别高出 10.83% 和 18.0%，证明了雌激素对钙结合蛋白的积极作用，不仅间接反应了雌激素对抗兴奋性神经毒、保护神经元存活的作用，还为存活的正常神经元保持较高的兴奋性和敏感性奠定了分子基础。如 Silva 等[5] 发现雌激素可以显著提高钙结合蛋白阳性神经元的一级树突的数目，并能显著促进二级树突的形成和总长度，证明了雌激素发挥作用需要依赖于钙结合蛋白阳性神经元的变化。

雌激素与钙结合蛋白之间有无直接联系，比如雌激素能否通过某种机制，直接促进钙结合蛋白的合成，尚未见到有关报告；本实验的结果显示 E 组的钙结合蛋白阳性神经元比 S 组仍有下降，只是减少的程度低于 O 组而已。雌激素可能更多地通过对抗神经元的损伤因素、保护神经元的结构和功能的完整性，促进钙结合蛋白阳性神经元的功能发挥，间接地体现出二者之间的关系。

关键词：雌激素；血管性痴呆；钙结合蛋白
中图法分类号：R741.02；R977.12 文献标识码：B

参考文献：

[1] 母敬郁，张桂荣，杨翰仪. 兴奋作用下皮层神经细胞 Ca^{2+} 变化机制[J]. 中国老年学杂志，2001，9(21)365－366

[2] Changiz G. Abnormalities of neural circuitry in Alzheimer's disease[J]. Neurology，1998，51(1)：S18

[3] Weaver C E，Park C M，Gibbs T T，*et al*. 17 beta-estradiol protects against NMDA-induced excitotoxicity by direct inhibition of NMDA receptors[J]. Brain Res，1997，761(2)：338－341

[4] Yilmaz H，Erkin E，Mavioglu H. Effects of oestrogen replacement therapy on pattern reversal visual evoked potentials[J]. Eur J Neurol，2000，7(2)：217－221

[5] Silva A，Montague J R，Lopez T F，*et al*. Growth factor effects on survival and development of calbindin immunopositive cultured septal neurons[J]. Brain Res Bull，2000，51(1)：35－42

（编辑 汪勤俭）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net