DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.07.004
第24卷第7期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 7
760 2002年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)07-0760-04

严重烧伤影响大鼠脑内 *c-fos* 表达和 Som-LI 与脑水肿的关系

熊加祥,黎海蒂,龚发云,陆建华 (第三军医大学基础医学部生理学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 探讨严重烧伤后大鼠海马、下丘脑内 *c-fos* 原癌基因的表达和生长抑素样免疫反应(Som-LI)的变化及其与脑水肿的关系。方法 采用30%TBSA Ⅲ度烧伤模型,用免疫组化技术检测烧伤后0.5、1、3、6、12 h的海马、下丘脑内 *c-fos* 样免疫反应(FLI)、Som-LI分布的变化,采用干湿比重测定烧伤后海马、下丘脑的水肿情况。结果 烧伤后海马、下丘脑内FLI、Som-LI明显增加,FLI在1 h点达高峰,Som-LI在3 h点达高峰,随后下降,但均高于正常组($P<0.01$),而烧伤后海马、下丘脑的水肿在6 h点达高峰($P<0.01$)。结论 烧伤后大鼠海马、下丘脑内FLI、Som-LI的分布与各时相点的变化可能与烧伤后脑水肿的发生和发展有关。

关键词:*c-fos*;生长抑素;海马;下丘脑;烧伤;脑水肿
中图法分类号:R392.2;R644;R742.7 文献标识码:A

Effect of severe burn on expressions of *c-fos* and somatostatin in brain and their relationship with brain edema in rats

XIONG Jia-xiang, LI Hai-di, Gong Fa-yun, LU Jian-hua (Department of Physiology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the effect of severe burn on the expressions of *c-fos* and somatostatin in the hippocampus and hypothalamus, and their relationship with brain edema in rats. Methods Rat model of 30% TBSA Ⅲ burns were used in this study. The distributions of *c-fos*-like immunoreactivity (FLI) and somatostatin-like (Som-LI) immunoreactivity in the hippocampus and hypothalamus of rats at 0.5, 1, 3, 6, and 12 h after severe burn were determined by immunohistochemical method. Brain edema was showed as ratio of dry weight to wet weight (D/W). Results The results showed that severe burn increased the level of FLI and Som-LI in the hippocampus and hypothalamus. The peak of FLI was at the 1st hour and that of Som-LI the 3rd. At other points of time their levels were decreased, and significantly different from control ($P<0.01$). Brain edema in the hippocampus and hypothalamus appeared in 6 h. Conclusion The changes of FLI and Som-LI in the hippocampus and hypothalamus show that *c-fos* and somatostatin might take part in the development of brain edema after severe burn.

Key words: *c-fos*; somatostatin; hippocampus; hypothalamus; burn; brain edema

严重烧伤可引起多器官的损害,脑水肿作为烧伤主要内脏并发症之一,在烧伤内脏并发症的防治中占有重要地位。近年来,烧伤后对中枢神经系统病理生理变化的研究日益增多,而对烧伤后脑水肿的变化和发生机制缺乏深入和细致的研究。作者通过免疫组化测定烧伤后海马、下丘脑内 *c-fos* 及生长抑素(Somato-statin, Som)的分布和表达,利用干湿比重法测定烧伤后海马、下丘脑的水肿情况并结合电镜观察,探讨烧伤后脑内 *c-fos* 和Som的表达与脑水肿的发生发展的关系。

1 材料和方法

1.1 动物及分组

Wistar大鼠84只,体重200~250 g,雌雄不拘,随机分为6组(对照组、0.5 h组、1 h组、3 h组、6 h组和12 h组),每组14只(6只用于免疫组化测定烧伤后海马、下丘脑内 *c-fos* 及Som,8只用于测定海马、下丘脑的含水量)。

1.2 试剂和仪器

c-fos 和Som免疫组化试剂盒(北京中山公司),DAB染色试剂盒和PBS(北京中山公司),电子天平(上海天平仪器厂)。

基金项目:全军"九五"指令性课题(96L043)
作者简介:熊加祥(1972-),男,四川省峨眉山市人,硕士,助教,主要从事神经生理方面的研究。电话:(023)68752254
收稿日期:2001-11-23;修回日期:2002-02-20

1.3 动物模型和实验方法

1.3.1 动物模型 烧伤组大鼠用戊巴比妥钠麻醉后,背部剃毛,脱毛剂处理,暴露背部皮肤,经3%凝固汽油燃烧7 s,造成30% TBSA Ⅲ度烧伤。对照组除未进行烧伤处理外,其余步骤相同。

1.3.2 干湿比重 将实验大鼠处死后迅速打开颅腔,从大脑组织中分离出双侧海马和下丘脑,置于已称重的玻片上,再用电子天平称重后置于80 ℃烤箱36 h再称组织干重。计算出干、湿重,利用组织干湿重比值,观察脑组织含水量,以检测脑水肿的变化。

1.3.3 免疫组化染色 大鼠烧伤后0.5、1、3、6、12 h,分批将其麻醉后,进行常规组织灌流,固定,取出大脑,行冠状连续切片(35 μm),然后进行ABC法免疫组化染色:切片在1∶500的 *c-fos*(或Som)抗血清中孵育48 h(4 ℃),再依次进入生物素化样抗兔血清(1∶200, Vecter)及ABC液(1∶200, Vecter),于室温下孵育2 h,PBS漂洗后DAB-H_2O_2显色。非特异对照和阴性对照分别采用正常兔血清和0.01 mol/L的PBS代替一抗,其它步骤相同。结果表明对照切片看不到免疫反应阳性细胞。

1.3.4 电镜观察 取烧伤后常规固定的海马和下丘脑组织1 mm×1 mm×1 mm 2.5%戊二醛固定6 h,丙酮逐级脱水,包埋,切片,染色,透视电镜观察。

1.3.5 统计学处理 将每一动物同一部位的脑组织切片随机抽取4张,作阳性细胞计数,取均数作为该动物的FLI和Som-LI阳性细胞数。实验数据 $\bar{x}\pm s$ 表示,均用SPSS软件包进行统计分析,进行 t 检验。

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

2　结果

2.1　烧伤后海马和下丘脑组织干湿比重变化

烧伤后海马和下丘脑组织在 3、6、12 h 含水量相比对照组增加(相对干湿重比值下降), 尤其在 6 h 点有非常显著性差异($P<0.01$), 见表 1。

表 1　大鼠严重烧伤后海马、下丘脑干湿重比值($\bar{x}\pm s$, %)

Tab 1　Ratio of D/W in the hippocampus and hypothalamus of rats after severe burn($\bar{x}\pm s$, %)

Control(8)	0.5 h(8)	1 h(8)	3 h(8)	6 h(8)	12 h(8)
25.5±7.4	25.3±8.4	24.9±6.9	24.5±7.1	22.8±6.2 *	24.3±6.8
20.7±7.8	19.8±7.5	18.5±6.8	18.2±7.2	15.4±5.8 *	17.5±6.9

*: $P<0.01$ *vs* Control

2.2　烧伤后海马和下丘脑组织的 FLI 的表达和分布

光镜下可见各时相点的海马 CA1 区、CA2 区、CA3 区均有 FLI 的表达, 在 CA1 区最为明显, 在下丘脑室旁核、弓状核、腹内侧核均有强烈表达。FLI 的表达在 1 h 达高峰, 随后下降, 并维持在相对较高的水平。在正常对照组上述个区域内仅有零星表达, 见图 1 和表 2。

2.3　烧伤后海马和下丘脑组织 Som-LI 的分布和表达

光镜下可见各时相点的海马 CA1 区、CA2 区、CA3 区均可有 Som-LI 阳性细胞, 同样在 CA1 区最为明显, 而在下丘脑室旁核、视上核有较为密集的 Som-LI 阳性细胞, 弓状核、腹内侧核、室周区及乳头体前核也有疏密不等的 Som-LI 阳性细胞。Som-LI 表达在 3 h 达高峰, 随后下降, 并维持在相对较高的水平。正常对照组上述区域内仅有少量 Som-LI 阳性细胞, 见图 2 和表 3。

表 2　大鼠严重烧伤后 FLI 在海马、下丘脑的表达($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Expression of FLI in the hippocampus and hypothalamus of rats after severe burn($\bar{x}\pm s$)

Group	*n*	FLI in hippocampus		FLI in hypothalamus	
		CA1	CA2	PMV	SON
Control	6	35.5±5.8	25.6±4.6	58.7±4.9	36.8±6.5
0.5 h	6	68.7±16.5 *	43.4±3.8 *	115.3±8.6 *	86.7±7.9 *
1 h	6	235.4±21.4 *#	126.7±12.3 *#	236.5±24.7 *#	168.4±21.6 *#
3 h	6	156.5±32.5 *	87.6±9.4 *	124.7±11.3 *	102.5±12.1 *
6 h	6	156.5±33.7 *	89.6±7.2 *	132.4±13.6 *	93.8±12.3 *
12 h	6	88.4±26.2 *	73.2±4.8 *	98.6±7.5 *	86.3±6.8 *

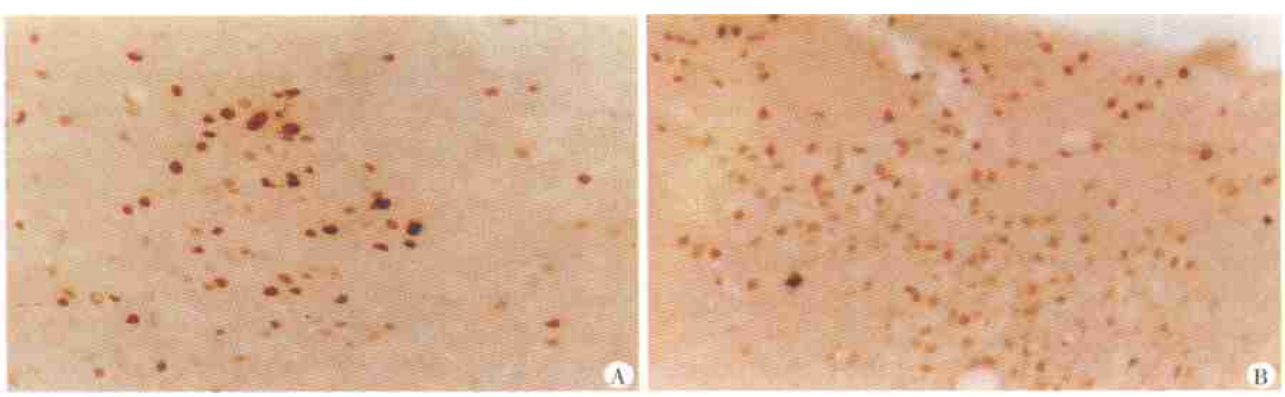
*: $P<0.01$ *vs* Control; #: $P<0.01$ *vs* 0.5、3、6、12 h

表 3　大鼠严重烧伤后海马、下丘脑 Som-LI 的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 3　Changes of Som-LI in the hippocampus and hypothalamus of rats after severe burn($\bar{x}\pm s$)

Group	*n*	Som-LI in hippocampus		Som-LI in hypothalamus	
		CA1	CA2	PVN	ARH
Control	6	13.3±3.5	12.6±3.3	12.4±3.6	14.2±3.8
0.5 h	6	21.6±4.9 *	20.6±4.1 *	24.8±4.3 *	24.4±5.9 *
1 h	6	24.8±5.4 *	21.2±3.6 *	31.5±5.1 *	28.6±6.4 *
3 h	6	78.4±12.5 *#	76.6±10.8 *#	85.7±7.6 *#	88.6±10.3 *#
6 h	6	38.6±5.8 *	30.8±4.7 *	46.3±5.8 *	48.9±6.1 *
12 h	6	43.7±7.3 *	41.8±5.6 *	41.3±6.2 *	46.8±6.4 *

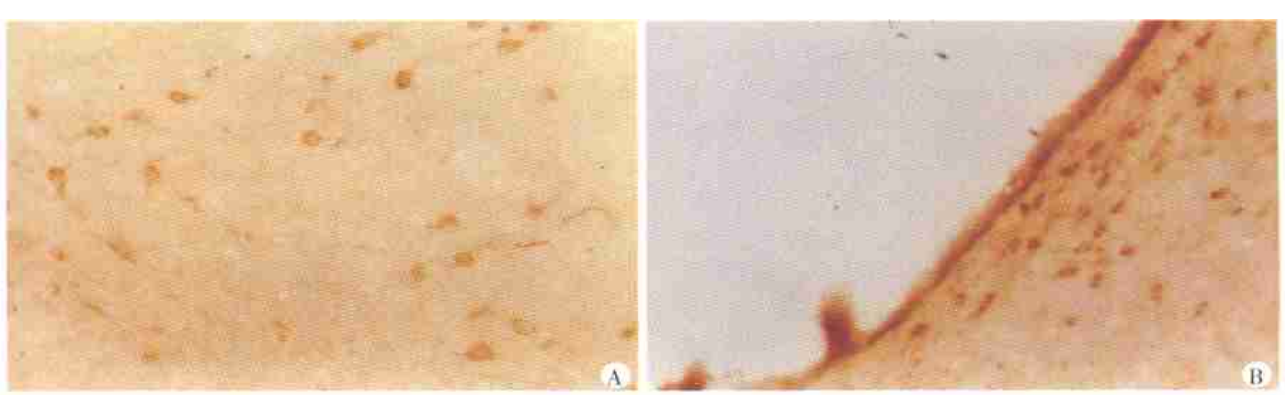
*: $P<0.01$ *vs* Control; #: $P<0.01$ *vs* 0.5、1、6、12 h



A: FLI neurons in the hippocampus 1 h after severe burn; B: FLI neurons in the hypothalamus 1 h after severe burn

图 1　海马、下丘脑 FLI 神经元的免疫组化染色　(ABC× 260)

Fig 1　Immunohistochemical staining of FLI neurons in the hippocampus and hypothalamus　(ABC× 260)



A: Som-LI neurons in the hippocampus 3 h after severe burn; B: Som-LI neurons in the hypothalamus 3 h after severe burn

图 2　海马、下丘脑 Som-LI 神经元的免疫组化染色　(ABC× 260)

Fig 2　Immunohistochemical staining of Som-LI neurons in the hippocampus and hypothalamus　(ABC× 260)

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

2.4 电镜观察

电镜下见神经细胞肿胀，胞膜崩解，突触小泡增多，胞内线粒体肿胀，嵴紊乱，个别突触间隙增宽，髓鞘肿胀、分层，见图 3。

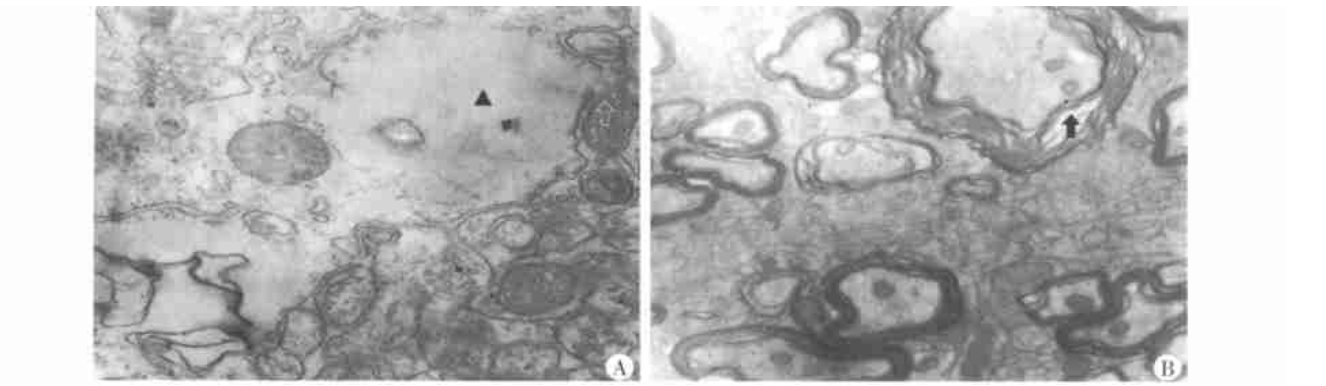


图 3 下丘脑在烧伤后 6 h 出现细胞肿胀，胞膜溶解(▲)，髓鞘分层(⬆)及线粒体肿胀(⇧) (TEM× 4 000)

Fig 3 Ultrastructure of the hypothalamus 6 h after burn showing cell swelling, membrane dissolution(▲), myelin sheath delamination(⬆) and mitochondria swelling(⇧) (TEM× 4 000)

3 讨论

严重烧伤后脑水肿在临床上往往被其它并发症所掩盖，缺乏特异的症状和体征。了解其发生发展，吸收消散的病理变化，以及对其机制的研究日益被人们所重视。现研究已证实，严重烧伤脑水肿兼有血管源性脑水肿和细胞毒性脑水肿，脑含水量及血脑屏障改变呈弥漫性进行性加重。

本实验采用干湿比重检测大脑部分脑区的含水量的变化，观察脑水肿的发生和发展。大鼠严重烧伤后，通过检测海马和下丘脑的含水量，发现在烧伤后 6 h 干湿比重最低，即含水量最高。通过电镜证实脑水肿的存在，兼有细胞毒性脑水肿和血管源性脑水肿。这与黎海涛等[1]报道犬严重烧伤早期脑水肿 MRI 及病理观察一致 。说明烧伤后，大鼠一方面由于缺血缺氧、酸中毒，细胞炎性因子、内毒素、氧自由基的产生可能参与了严重烧伤脑水肿的形成；烧伤作为外源性的伤害刺激，我们推测严重烧伤另一方面可介导脑内癌基因蛋白和神经递质的变化而发挥作用。

Fos 蛋白可作为神经神经元活动的标志物，也是伤害性刺激的“标志物”[2]，用 *fos* 功能图布法可清楚显示其参与神经活动的神经元。单纯中度缺氧可影响下丘脑室旁核、视上核、弓状核的 *c-fos* 表达。当然，在严重烧伤后，由于机体受到伤害性刺激，既应激性伤害作用后，中枢神经系统的 *c-fos* 表达增高，如疼痛应激可影响 *c-fos* 在神经中枢的表达[3]；另外，大脑的缺血缺氧存在，也同样本引起 *c-fos* 的表达，这在 Osamu T 的研究中已得到证实[3]。在本研究中，我们发现大鼠严重烧伤后，海马和下丘脑组织 *c-fos* 表达在 1 h 迅速达到高峰，6 h 后下降，但均明显高于正常，推测与上述原因有关。

生长抑素是下丘脑分泌的-肽类神经激素，广泛分布于神经系统内外，不仅参与腺垂体分泌生长素的控制和调节，并且起着神经递质、神经调质和局部激素的作用。它参与了机体多种生理功能的活动和调节，载体实验早已证实了大鼠下丘脑正中隆起水平生长抑素的释放受各种应激(寒冷[5]、电休克[6]、感染[7]、制动[8])因素的调节。神经递质可作为一种保护性的神经递质，具有抗自由基作用。有报道伤害性刺激可使 Som 合成加速[9]，外源性别 Som 对痛觉有调制作用[10]；另外 Som 可增强糖皮质激素抗炎作用[11]；在高原低氧的条件下，SommRNA 阳性神经元增多[12]。本研究结果显示，大鼠烧伤后 Som-LI 明显增加，在 3 h 最显著，随后下降的同时，6 h 出现脑水肿，提示 Som 早期对脑水肿有一定的保护作用。

本研究针对早期严重烧伤后，在未进行处理的情况下脑水肿的发展变化及伴随的 *c-fos* 和生长抑素在海马和下丘脑的表达情况。针对本实验的结果分析，大鼠烧伤后海马、下丘脑内 *c-fos* 及 Som 的分布和表达结果和脑水肿无平行关系，但我们发现烧伤后，海马、下丘脑内 *c-fos* 及 Som 表达升高，且各自有一高峰点，随后有脑水肿的明显变化，因此，我们说脑内 *c-fos* 和 Som 的表达与脑水肿的发生发展有一定关系，至于更深入的机制还需进一步研究，如抑制 *c-fos* 和 Som 的表达，观测脑水肿变化；或通过治疗反过来观测 *c-fos* 和 Som 的表达。由于本实验对大鼠在伤后未进行治疗处理，因而脑水肿变化相对较早，而机体在 12 h 后很快出现水电解质平衡紊乱及各种毒素累积，导致衰竭死亡，因而未进行更长时间的研究和观察。而对于烧伤 6 h 以后脑含水量的变化不能简单判定脑水肿减轻或消失。

参考文献：

[1] 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

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

照观察的实验研究[J]. 第三军医大学学报, 2000, 22(9): 844—848.
[2] Bullitt E. Expression of *c-fos*—like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat[J]. J Comp Neurol, 1990, 296(4): 517—530.
[3] Palkovits M, Baffi J S, Dvori S. Neuronal organization of stress response. Pain-induced *c-fos* expression in brain stem catecholaminergic cell groups [J]. Ann N Y Acad Sci, 1995, 771: 313—326.
[4] Osanu T, Hidekazu T, Takehiko Y. Induction of *c-fos* and c-Jun gene products and heat shock protein after brief and prolong cerebral ischaemia in gerbils[J]. Strock, 1995, 26(9): 1 639—1 648.
[5] Arancibia S, Estupina C, Pesco J. Responsiveness to depolarization of hypothalamic neurons secreting somatostatin under stress and estrous cycle conditions: involvement of GABAergic and steroidal interactions[J]. J Neurosci Res, 1997, 50(4): 575—584.
[6] Benyassi A, Gavalda A, Armario A, *et al*. Role of Somatostatin in the acute immobilization stress-induced GH decrease in rat [J]. Life Sci, 1993, 52(4): 361—370.
[7] Briard N, Guillaume V, Frachebois C. Endotoxin injection increases growth hormone and somatostatin secretion in sheep[J]. Endocrinology, 1998, 139(6): 2 662—2 669.
[8] Arancibia S, Rage F, Grauges P, *et al*. Rapid modifications of somatostatin neuron activity in the periventricular nucleus after acute stress[J]. Exp Brain Res, 2000, 134(2): 261—267.
[9] 武　强, 李希成, 阮怀珍 等. 促肾上腺皮质激素对慢痛大鼠脊髓生长抑素、*c-fos* 表达及痛反应的影响[J]. 生理学报, 1999, 51(1): 60—64.
[10] Capasso A. Effect of somatostatin and its antagonist on morphine analgesia in mice[J]. Acta Pharm Sin, 1999, 20(12): 1 079—1 082.
[11] Bellocq A, Doublier S, Suberville S. Somatostatin increases glucocorticoid binding and signaling in macrophages by blocking the calpain-specific cleavage of Hsp 90[J]. J Biol Chem, 1999, 274(52): 36 891—36 896.
[12] 阮怀珍, 范晓棠. 氯氨酮和 L-NAME 抑制模拟高原低氧大鼠下丘脑 NOS 和生长抑素 mRNA 的表达[J]. 生理学报, 2000, 52(2): 119—122.

（编辑　陈聪连）

文章编号: 1000-5404(2002)07-0763-01

个案与短篇

长春瑞滨渗漏致静脉炎的预防及处理

Prevention and management of phlebitis caused by venous effusion of vinorelbine

黄兴兰　（重庆市中山医院肿瘤科, 重庆 400013）

静脉给药化疗, 由于多种原因, 药物静脉渗漏仍不可避免, 导致局部化学性炎症, 甚至组织溃烂、坏死。因此, 一旦化疗药静脉渗漏应立即采取有效措施, 减轻疼痛, 防止炎症进一步扩展, 造成组织坏死。我科从 2000 年 11 月-2001 年 11 月应用长春瑞滨(Vinorelbine 去甲长春花碱、盖诺)联合顺铂(PDD)方案治疗晚期肺癌 18 例, 其中 2 例发生静脉渗漏, 现报告如下。

1　临床资料

1.1　临床资料

本组 18 例晚期肺癌患者, 男 13 例, 女 5 例, 年龄 40～75 岁。所有病例均经病理学确诊为非小细胞肺癌。治疗用药: 长春瑞滨 25 mg/m^2(体表面积)＋0.9% 生理盐水 50 ml, 缓慢推注(6～10 min), 第 1、8 天使用, 28 d 为 1 周期。

1.2　预防

1.2.1　正确选择穿刺部位, 提高一次穿刺成功率　　首选管径较粗且易固定的前臂浅静脉穿刺, 避免在同一部位反复穿刺, 禁在关节、神经及肌腱部位穿刺。硝酸甘油注射液(5 mg/支)局部涂抹, 产生扩血管作用, 增加局部血流量, 不仅能提高静脉穿刺的成功率, 还能有效避免或减小静脉炎的发生。

1.2.2　提倡使用静脉留置针　　留置针避免了针刃对血管造成的机械性、切割性损伤, 易固定, 减少反复静脉穿刺次数。使浅静脉的损坏减轻, 从而减少局部渗漏和静脉炎的发生[2]。

1.2.3　静注长春瑞滨, 需按以下步骤　　①先行生理盐水滴注, 证实通道畅通后; ②用地塞米松 5 mg 及利多卡因 12.5 mg 静注; ③静注长春瑞滨; ④重复②使用; ⑤生理盐水 250 ml 快速滴, 冰敷, 采取这一预防措施, 降低了静脉炎及渗漏的发生。

1.2.4　静注长春瑞滨时, 一定要缓慢推注(6～10 min), 准确无误地把药物注入血管内, 密切观察注射局部有无肿胀, 防止药物外渗, 造成血管和周围组织的坏死。

1.2.5　严格无菌操作, 继续观察输液后局部情况。

1.3　处理

输液外渗一旦发生, 应立即停药, 渗漏处即刻用注射器负压强力抽吸, 用 1%普鲁卡因 4 ml＋地塞米松 5 mg 局部封闭, 并给予冰敷(间断冰敷 12～24 h)。出现外渗后若需重新穿刺时, 24 h 内不宜在穿刺点下方再穿刺, 以防外渗, 用生理盐水冲洗管道, 更换针头, 以免吸附在针头上的药物穿刺时带入皮下致静脉炎。发生静脉渗漏出现红、肿、痛时, 可用硫酸镁湿敷, 喜疗妥软膏涂擦, 出现水泡、溃疡时用溃疡贴换药。

2　结果

本组 18 例晚期肺癌患者应用长春瑞滨联合顺铂治疗方案治疗, 采用上述预防及处理措施, 静脉给药效果良好, 两例发生静脉渗漏经处理均得好转。

2.1　典型病例

2.1.1　例 1, 女, 45 岁, 肺癌, 第 1 次化疗时, 在用长春瑞滨前后未推注地塞米松和利多卡因, 药液推完后, 沿静脉走向发红, 考虑为药物对血管壁之刺激所引起, 次日用硫酸镁湿敷, 喜疗妥软膏涂擦, 逐渐好转。

2.1.2　例 2, 男, 70 岁, 晚期肺癌, 化疗方案同上, 行第二个疗程, 在左手前臂内侧静脉处推注长春瑞滨时, 病人述痛, 空针回

（下转 766 页）

作者简介: 黄兴兰(1963—), 女, 重庆市人, 主管护师, 主要从事肿瘤专科护理方面研究。电话: (023)63527121—2200
收稿日期: 2002-04-02; 修回日期: 2002-04-15

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