DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.08.062
第24卷第8期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 8
2002年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2002

文章编号:1000-5404(2002)09-0997-02

经验交流

神经生长因子对大鼠三叉神经下颌支离断后神经元凋亡的影响

Effects of nerve growth factor on apoptosis of sensory neurons after injury of the mandibular branch of trigeminal nerve

许 波,杨 军 (第三军医大学附属西南医院口腔科,重庆 400038)

三叉神经损伤临床较为常见,本研究通过建立动物模型,探讨外源性NGF对三叉神经下颌支损伤后感觉神经元细胞凋亡及凋亡相关因子Bcl-2及Bax的影响,以期寻求一种更为理想的周围神经缺损的修复方法提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 动物分组及模型建立

健康雄性成年Wistar大鼠120只,体重250~300 g(第三军医大学实验动物中心提供)。分为三大组,每组6只,正常对照组,左侧三叉神经下颌支离断后单纯吻合组,左侧三叉神经下颌支离断后吻合+NGF组(NGF组)。

大鼠经1%戊巴比妥钠(50~60 mg/kg)腹腔注射麻醉后,备皮、消毒,切开左侧下颌下缘皮肤、肌肉,骨膜,掀起颊侧软组织瓣,显露下颌骨,找出下齿槽神经血管束。去除下颌骨下1/3颊侧骨板,显露下齿槽神经血管束。在手术显微镜下,仔细分离下齿槽神经。自颏孔向后约6 mm处切去下齿槽神经6 mm,任其回缩。神经离断后0、3、7 d用14 mm长的硅胶管(内径1.5 mm,外径2.0 mm)桥接,9个0无损伤尼龙线穿过神经断端外膜,两端分别套入管内2 mm并固定于管壁上,对左侧下齿槽神经造成10 mm缺损。同时管内注射NGF(中国军事医学科学院基础医学研究所提供)溶液(1 mg/L)30 μl或等量的生理盐水。术后分别饲养15 d,30 d。各组动物饲养至所需时间后用4%的多聚甲醛灌注取材。

1.2 取材、固定、初步处理及切片

方法参照文献[1],取材于三叉N感觉核区,沿大脑脚盖中部靠外侧(前囟后9.68 mm,中线旁0.68 mm),行冰冻冠状连续切片(10 μm),切片置于-20 ℃冰箱中保存以备用。

1.3 观察方法

1.3.1 原位末端标记法(Terminal deoxycleotidyl-transferase-mediated dUTP-biotin nick end labeling TUNEL)标记凋亡细胞 TUNEL法试剂盒购至博士德公司(MK 1 020),操作参照说明书进行,在×100普通光镜下观察感觉核区内TUNEL阳性细胞形态。

1.3.2 免疫细胞化学法检测凋亡相关因子Bcl-2及Bax 免疫细胞化学法检测试剂盒购至博士德公司(MK 1 102),操作参照说明书进行,在×100倍普通光镜下观察感觉核区内Bcl-2、Bax表达。

1.3.3 图像分析及统计学分析 取各实验组不同时相点感觉核区内阳性细胞数量进行统计,比较各组TUNEL阳性细胞数量以及Bcl-2、Bax表达量的差异。数据采用方差分析。

2 结果

2.1 NGF对凋亡细胞数量的影响

凋亡的神经元细胞经TUNEL法染色胞核呈黄褐色,从而可以在显微镜下观察到着色的凋亡细胞。细胞核中有棕黄色颗粒,胞质不着色者为阳性细胞(凋亡细胞)。软件图像灰度比分析结果显示,与正常对照组相比,单纯吻合组与NGF组的神经元凋亡数都明显增加,但0 d、3 d吻合的NGF组凋亡数明显少于单纯吻合组($P<0.01$),而7 d吻合NGF组细胞凋亡数与单纯吻合组无明显差异($P>0.05$)。

2.2 NGF对Bcl-2及Bax的影响

免疫细胞化学显示,Bcl-2及Bax在正常成年大鼠三叉神经感觉神经元中表达很低,仅见少量免疫反应可疑阳性细胞,细胞着色很淡。与正常对照组相比,单纯吻合组与NGF组的神经元细胞Bcl-2及Bax的表达不同程度地增高,NGF组中Bcl-2的表达明显高于单纯吻合组($P<0.01$)而单纯吻合组中Bax的表达明显高于NGF组($P<0.01$)。

3 讨论

在中枢神经系统发育过程中,神经损伤所导致的神经元变性和坏死可引起轴突再生的失败,这可能与损伤引起的神经元凋亡有关。研究发现神经生长因子(NGF)与神经细胞凋亡的关系十分密切[2],其生物学作用不仅表现在可阻止神经元发育过程中凋亡的发生,同时对调节神经元的连接也有重要的作用。但是关于NGF对三叉神经损伤后感觉神经元细胞的凋亡是否具有抑制作用目前尚未见报道。

本研究发现NGF可以抑制损伤后三叉神经感觉核神经元细胞的凋亡,结果同时显示,7 d吻合加NGF组与单纯吻合组的神经元凋亡数无明显差异,提示神经损伤后尽快恢复神经的连续性及轴浆运输通道是十分必要的。

人们在凋亡的分子生物学研究中还发现,凋亡与胞核内某些基因有关,Bcl-2家族是研究较早的与凋亡有关的基因。B细胞淋巴瘤/白血病-2(B-cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)中有的称为抑凋亡基因,如Bcl-2;有的则称为促凋亡基因,如Bax。这些基因家族成员自身或彼此之间形成二聚体/多聚体。Bcl-2家族的蛋白-蛋白相互作用调节着细胞的存活与凋亡,核心是Bcl-2与Bax的相互作用[3]。有实验表明[4],在节状神经元中Bcl-2的抗凋亡效应完全依赖Bax的存在;而在三叉神经元中

作者简介:许 波(1974-),女,重庆市人,博士研究生,医师,主要从事颌面外科方面的研究。电话:(023)65392537

收稿日期:2001-09-08;修回日期:2002-03-15

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

Bcl-2 的抗凋亡效应并不依赖 Bax 的存在，从而说明 Bcl-2 的抗凋亡效应或是通过抑制其他促凋亡蛋白来发挥或是由 Bcl-2 直接抑制死亡效应蛋白所致。本实验结果表明三叉神经损伤后，局部给予外源性 NGF 可使抗凋亡基因 Bcl-2 和促凋亡基因 Bax 均增加，但 Bcl-2 更加显著，这样 Bcl-2 与 Bax 的相对比例增加，从而抑制凋亡，这与有的学者研究结果一致。

综上所述，本实验结果显示，三叉神经下颌支损伤后，在尽早恢复神经的连续性的同时局部早期予以外源性 NGF，可更加明显地减少神经元的凋亡，有效地促进神经元的结构和功能的恢复。但目前关于 NGF 调节神经细胞凋亡机制尚未完全阐明，还有许多未知调控因素以及相关基因对细胞凋亡的调控机制有待于进一步深入研究。

关键词：神经生长因子；三叉神经下颌支；感觉神经元细胞；凋亡

中图法分类号：R392.3；R651.3　　文献标识码：B

参考文献：

[1] 蔡文琴，王伯弥 主编. 实用免疫细胞化学与核酸分子杂交技术[M]. 成都：四川科学技术出版社，1992.128.

[2] Derby A, Engleman V W, Frierdich G E, *et al*. Nerve growth factor facilitates regeneration across nerve gaps: morphological and behavioral studies in rat sciatic nerve[J]. Exp Neurol, 1993, 119(11): 176—191.

[3] Merry E, Korsmeyer S J. Bcl-2 gene family in the nervous system[J]. Annu Rev Neurosci, 1997, 20(3): 245—257.

[4] Lindenboim L, Yuan J, Stein R. Bcl-xS and Bax induce different apoptotic pathways in PC12 cells[J]. Oncogene, 2000, 19(14): 1 783—1 793.

（编辑　陈聪连）

经验交流

文章编号：1000-5404(2002)08-0998-01

烧伤早期一次大面积切痂手术前后的护理

Perioperative nursing of escharectomy en masse in burn patient

刘永芳　（第三军医大学附属西南医院护理部，重庆 400038）

大面积烧伤的主要死亡原因是全身性感染。细菌的主要来源是创面，尽早去除焦痂，可以减轻机体的中毒反应，减少感染途径，也有利于全身抗力的扶持。早期一次大面积切痂是我所首创的通过清除创面坏死组织以防治烧伤并发症的新方法。我科自 1994 年以来，采取一次大面积切痂手术的方法，治疗病人 35 例，均获得成功。现就早期一次大面积切痂围手术期护理介绍如下。

1　临床资料

1.1　一般情况

病人 35 例，平均年龄（29.4±7.8 岁），在漂浮导管监测下进行手术，一次将 III度及其周围深 II 度创面全部切除，用异（自）体皮全覆盖。平均切痂面积为（46.3±13.9）%，最大切痂面积为 60%，最大手术面积（含切痂和取皮面积）达 71%。于切痂术前、术中和切痂术后定时检查各有关指标。

1.2　血红蛋白、血压

Hb，BP 术中均有显著下降，说明术中失血失液较多，见表 1。

表 1　血红蛋白和血压变化（$\bar{x}\pm s$）

	术前	术中	术毕	24 h
Hb(g/L)	122.12±51.78	58.33±27.79*	83.21±40.68	94.54±13.61
收缩压(kPa)	17.24±3.45	13.36±3.14*	15.45±2.87	
舒张压(kPa)	10.53±1.69	7.79±1.89	9.75±2.22	

*：$P<0.05$ 多因素方差分析

1.3　体温

35 例病人术中均出现体温不升，回病房时，血液温度（用漂浮导管测定）最低者仅 32.8 ℃，最高为 35.3 ℃，经对症处理后第 1 天病人的体温都在 38 ℃左右。

1.4　统计学分析

采用多因素方差分析。

2　术前准备与术后护理

2.1　充分做好术前准备

2.1.1　术前用棉签醮无菌生理盐水后探试脓性分泌物多或痂皮裂隙中的创面，标本立即送检。

2.1.2　术前 2 d 采集标本做肝、肾、心功能的检查，手术前 1 d 采集合血标本，并在标本上注明使用新鲜血液。

2.1.3　术晨在非手术区域建立双静脉通道。

2.2　术后护理

2.2.1　保持 Swan-Ganz 漂浮导管的通畅，每 2 h 用与单位/ml 的肝素液冲洗漂浮导管，穿刺部位每日消毒后用无菌纱布覆盖，接头处每次冲洗后消毒用无菌纱布包扎，翻身前后检查导管衔接处，并妥善固定。

2.2.2　密切观察心率、血压、尿量和中心静脉压的变化，当超出正常值时立即报告医生，根据医嘱调节输液速度。

2.2.3　注意调节室温度，液体需经过恒温加热后进入体内，每小时测体温 1 次直至肛温达到 37 ℃。

2.2.4　用记号笔定时标记渗血的范围，观察出血情况，如继续扩大，说明有活动性出血点，应打开敷料检查。

3　讨论

术前做好创面细菌学调查，选择敏感、有效的抗生素，可减

作者简介：刘永芳（1963—），女，四川省资中县人，主管护师，主要从事烧伤临床护理方面的研究。电话：(023)68754504

收稿日期：2001-08-26；修回日期：2001-11-30

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