维普资讯 http://www.cqvip.com

急性细菌性腹膜炎对豚鼠小肠 Cajal 间质细胞的影响

龚 斌，梅龙村 （重庆市渝北区第二人民医院，重庆 401147）

［摘 要］ **目的** 探讨豚鼠腹膜炎模型中小肠 Cajal 间质细胞网络的变化情况。**方法** 利用腹腔内注射大肠杆菌和 10% $BaSO_4$ 肉汤佐剂的方法建立腹膜炎模型，冰冻切片和全层铺片并结合 KIT 免疫细胞化学染色观察。**结果** 腹膜炎 12～24 h，腹膜炎症状最明显，在切片和铺片上均可见 ICCs 明显减少，其中 IC-MY 减少最显著，48～96 h 后 ICCs 的数量逐渐恢复正常，同时豚鼠的腹膜炎反应也减轻甚至康复。**结论** 小肠壁内 ICCs 在腹膜炎模型中可明显减少，但随着时间延长，ICCs 逐渐恢复正常的细胞网络。

［关键词］ Cajal 间质细胞；KIT 蛋白；小肠；腹膜炎
［中图分类号］ R656.41；R361.2 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1672-5042(2007)01-0019-03

Effects of acute bacterial peritonitis on interstitial cells of Cajal in intestinal wall of the guinea pigs

GONG Bin, MEI Long-cun (the Second People's Hospital of Yubei District, Chongqing 401147, China)

Abstract: Objectives To investigate the changes of interstitial cells of Cajal networks in the guinea pigs model of acute bacterial peritonitis. **Methods** Peritonitis models were carried out by injection of bacterium coli and 10% $BaSO_4$ broth adjuvant, ICCs were observed on the frozen sections and whole-mount preparation with KIT immunohistochemistry. **Results** 12～24 hours after peritonitis, symptoms of peritonitis were observed and ICCs decreased obviously on both frozen sections and whole-mount preparation, especially for IC-MY, while 2～4 days later the number and distribution of ICCs restored to normal. **Conclusion** Acute bacterial peritonitis might lead to temporary loss of ICCs, and it would be soon recovered.

Keywords: interstitial cells of Cajal; KIT protein; intestine; peritonitis

Cajal 间质细胞（interstitial cells of cajal，ICCs）是100多年前 Cajal 应用镀银技术和甲基蓝染色，在豚鼠和家兔小肠内显示的一种特殊的间质细胞。在胃肠道根据其存在部位，一般分为4种亚型：IC-MY 位于环形和纵行平滑肌之间的肌间神经丛周围；IC-IM 位于环行和纵行平滑肌内；IC-DMP 位于靠近粘膜下层部位的环行平滑肌内的深部肌神经丛附近；IC-SM 位于结肠环行平滑肌层的内侧，紧靠粘膜下层的部位。不同亚型间 ICCs 的形态亦存在一定的差异，如 IC-MY 有2个以上的细长突起，胞核椭圆，胞质较少；而 IC-DMP 胞体细长，胞浆丰富[1]。目前已经证明 ICCs 是胃肠道自主节律性运动的起搏细胞和兴奋传导细胞[2]，在调节消化管的运动功能方面具有重要作用[3]。

腹膜炎是临床上常见疾病，可由多种因素引起，并可导致严重的并发症，同时也包括了胃肠道运动障碍，如肠麻痹等。腹膜炎所引起强烈的炎症反应，可能导致慢波波幅和频率降低，但对胃肠道运动的起搏细胞－ICCs 有怎样的作用，目前还尚不完全清楚。本研究采用大肠杆菌液腹腔内注射的方法建立腹膜炎模型，并作 KIT 免疫细胞化学染色，以观察 Cajal 细胞的变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及试剂

45～60 d 龄豚鼠 12 只（第三军医大学实验动物中心提供），雌雄不限。实验动物分为4组：致腹膜炎后 12 h 组、24 h 组、48 h 组和正常对照组，每组3只动物。主要试剂：KIT 单克隆抗体（1:100）购自 eBIOSCIENCE 公司，HRP 标记的兔抗大鼠 IgG 抗体（1:100）购自 DAKO 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 腹膜炎动物模型建立 实验前禁食 12 h，不禁水，大肠杆菌液（3×10^8）每 100 g 体重 1 ml，结合 10% $BaSO_4$ 牛肉汤作佐剂每只 1 ml，无菌状态下，左下腹腹腔注射[4]。

1.2.2 免疫细胞化学染色 在致腹膜炎后 12 h、24 h、48 h 取相应部位小肠，经生理盐水冲洗后，OCT 包埋，冰冻切片，片厚 7～10 μm，风干，100% 丙酮固定 30 min（25 ℃）。染色方法为间接酶标抗体法[5]。切片经 0.01 mol/L PBS 充分漂洗后，0.03% H_2O_2/甲醇封闭内源性过氧化物酶 20 min（25 ℃），1% BSA 孵育 30 min 后加入第一抗体，KIT 单克隆抗体 4 ℃，48 h，HRP 标记的兔抗大鼠 IgG 抗体 25 ℃，60 min，0.05% Tris-HCl/0.05% DAB/0.01% H_2O_2（pH7.5）显色，镜下观察，适时终止反

［作者简介］ 龚 斌（1963－），女，四川省成都市人，主治医生，主要从事急腹症方面的研究。电话：(023)67617767
［通讯作者］ 梅龙村，电话：(023)60502301，E-mail：thethirdmilitary@sohu.com

［收稿日期］ 2006－10－20 ［修回日期］ 2006－11－25

维普资讯 http://www.cqvip.com

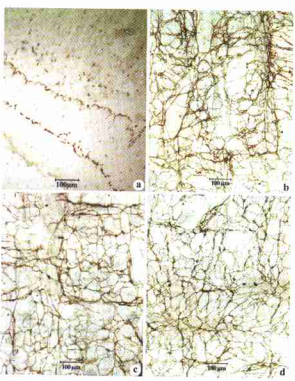
应,终产物为棕褐色,水溶性封片剂封片。对照实验以正常鼠血清代替一抗,或兔血清代替二抗,结果均为阴性。各步骤间用 PBS 漂洗 3 次。取正常对照组豚鼠相应部位小肠进行冰冻切片和全层铺片作为,染色方法同上。

1.3 半定量分析和统计学处理

选取正常和各实验组铺片 15 张,进行 KIT 免疫细胞化学染色,应用 Image-pro Plus5.0 随机计数每平方毫米内的 KIT 阳性细胞面积,结果以平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS11.0 软件对数据进行单因素方差分析。

2 结果

腹膜炎动物模型建立成功,豚鼠出现毛发杂乱、少动、少食等症状,在 12 ~ 24 h 最严重,可出现急性弥漫性化脓性炎症,有 5% 的豚鼠于 24 h 内死亡。KIT 免疫细胞化学染色显示,正常豚鼠空肠的 ICCs 主要分布在肠壁肌间神经丛周围,深肌丛附近及环行平滑肌内,肠壁全层铺片可见 IC-MY 呈网络状分布于肠壁肌间神经丛周围,细胞体呈梭形或卵圆形,核周胞质少,胞浆看色浅,可见 2 ~ 4 个细长的突起,每个突起有 2 ~ 3 级的分支(图 1a,b)。腹膜炎 12 h 和 24 h,切片可见 IC-MY 明显减少,铺片可见距离肌间神经丛越远的 ICCs 减少越明显,细胞网络被破坏(图 1c)。48 h 较 24 h ICCs 有明显增加(图 1d),至 96 h 时基本恢复正常分布。计算每平方毫米内 KIT 阳性面积的变化,结果显示正常小肠 KIT 阳性面积为(0.228 ± 0.121) mm^2,



a:正常小肠切片;b:正常小肠铺片;c:腹膜炎 12 h 小肠铺片;d:腹膜炎 48 h 小肠铺片

图 1 豚鼠小肠切片及铺片 KIT 免疫细胞化学染色

而腹膜炎 12 h、24 h 和 48 h 分别为(0.152 ± 0.057) mm^2、(0.158 ± 0.068) mm^2 和(0.198 ± 0.077) mm^2。统计学分析显示,各实验组与正常组间均有显著性差异($P < 0.05$),见图 2。

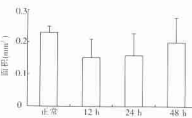


图 2 各组每平方毫米内 KIT 阳性细胞面积

3 讨论

c-kit 为一种原癌基因,位于人染色体 4q11-12,为白色斑点显性基因(dominant white spotting)的等位基因,编码干细胞因子(stem cell factor)的Ⅲ型酪氨酸激酶受体(Kit 受体),该受体分为游离型和膜结合型两种。应用抗 c-kit 蛋白的抗体于胚胎晚期或出生前注射阻断 Kit 受体的功能,ICCs 的正常发育会受到严重的影响。Huizinga 等[2]对自发性 c-kit 基因突变的小鼠研究表明,c-kit 基因丢失的小鼠胃肠道呈扩张性肠麻痹,肌间神经丛周围,c-kit mRNA 表达的阳性细胞明显减少,细胞网络缺如,肌间神经丛附近的电慢波消失[6]。上述研究表明 KIT 蛋白可作为胃肠道 ICCs 的一种特异性标志物,为研究 ICCs 提供了有力的手段。

急性细菌性腹膜炎是一种严重的疾病,可导致脓毒血症、休克等严重的并发症,其中包括了胃肠道运动功能障碍,表现为肠麻痹、肠梗阻等。ICCs 可产生慢波,是胃肠道运动的起搏细胞。急性细菌性腹膜炎引起严重的炎症反应,聚集了大量的炎症细胞并产生较多的炎症介质。这些炎症介质如:IL-2、白三烯、NO 等均对细胞有一定的损伤作用。在本实验中,可见腹膜炎后 ICCs 尤其是肌间神经丛部位明显减少,可能是由于腹腔的炎症介质弥散进入肌间神经丛部位,损伤了 ICCs,从而导致部分 ICCs 消失。随着时间延长,腹膜炎逐渐好转,炎症介质也减少,ICCs 逐渐恢复正常的分布。虽然 ICCs 在成年豚鼠可增殖[7],但 ICCs 的这种变化可能是由于 KIT 表型在损伤因素存在情况下丢失所引起的,而不是 ICCs 增殖引起。

总之,ICCs 作为胃肠道运动的起搏细胞,在炎症介质的影响下,可出现 KIT 表型丢失,但随着炎症的消失,表型可恢复正常,可以推测急性细菌性腹膜炎对 ICCs 的影响是功能性和一过性的。

维普资讯 http://www.cqvip.com

[参考文献]

[1] Komuro T, Tokui K, Zhou DS. Identification of the interstitial cells of Cajal[J]. Histol Histopathol, 1996,11(3):769-786.

[2] Huizinga JD, Thuneberg L, Kluppel M, et al. W/kit gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity[J]. Nature, 1995,373(6512):347-349.

[3] 胡晔东,林 琳,张红杰,等. Cajal间质细胞与一氧化氮在吗啡诱导慢传输运动小鼠结肠中的改变[J]. 中国临床康复, 2005,9(44):134-136.

[4] 王玉琨,高静涛,王乃玉,等. 大白鼠大肠杆菌性腹膜炎模型的建立[J]. 大连医科大学学报, 1996,18(2):81-82.

[5] Komuro T, Zhou DS. Anti-c-kit protein immunoreactive cells corresponding to the interstitial cells of Cajal in the guinea-pig small intestine[J]. J Auton Nerv Syst, 1996,61(2):169-174.

[6] Kito Y, Ward SM, Sanders KM. Pacemaker potentials generated by interstitial cells of Cajal in the murine intestine[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2005,288(3):C710-C720.

[7] Mei F, Yu B, Ma H, et al. Interstitial cells of Cajal could regenerate and restore their normal distribution after disrupted by intestinal transection and anastomosis in the adult guinea pigs[J]. Virchows Arch, 2006,449(3):348-357.

(编辑:余汇洋)

·个案与短篇·

指动脉逆行岛状皮瓣修复指腹缺损的术后护理

刘 影,刘新颖,刘艳冰 (鞍山钢铁集团公司立山医院手术室,辽宁 鞍山 114032)

[关键词] 指腹缺损;指动脉逆行岛状皮瓣修复术;护理
[中图分类号] R248.2 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2007)01-0021-01

我院自2004年5月至2006年7月对22例27个手指指腹缺损患者,进行伤指带固有神经背侧支或(和)指背神经的指动脉逆行岛状皮瓣修复术,取得较满意的效果,现将护理体会报告如下。

1 资料与方法

本组22例共27个手指,男18指,女9指。年龄20~59岁,平均年龄32岁。其中电锯、电刨切割伤16例,挤压撕脱伤6例。示指12例、中指10例、环指5例。缺损部位均为第二指节中段以远指腹缺损,缺损最大3.1 cm×2.8 cm,最小2.5 cm×1.0 cm。行急诊手术18指,择期手术9指。

2 术后护理

2.1 常规护理

病室应严格消毒,限制探视,防止交叉感染。室温应保持在23~25 ℃,每天早晚用紫外线消毒一次。应严禁患者吸烟及探视者在病室内吸烟,因为烟中的尼古丁等物质能引起血管痉挛,还极易损害血管内皮细胞,使血小板粘附聚集形成血栓,导致吻合血管栓塞影响血运。移植皮瓣的血液循环对外界刺激的反映非常敏感,寒冷刺激可使移植血管发生痉挛,并发栓塞导致移植皮瓣坏死。因此,注意保持皮瓣局部的温度,用单层无菌纱布覆盖移植皮瓣,并用40~60 W烤灯持续照射,灯距30~40 cm,一般持续7~10 d。术后一般取平卧位,患肢抬高15 cm。患肢制动,严禁患侧卧位,防止皮瓣受压迫性刺激。特别是夜间患者处于睡眠状态,会不自主地将患指移离灯烤区,甚至压在身下,影响皮瓣愈合。此外,严格按医嘱给予抗凝、抗痉挛、抗感染治疗。用药应及时准确,并注意观察用药后的反映。

2.2 局部观察

局部观察包括颜色、温度、肿胀程度以及毛细血管充盈反应。①颜色:正常皮肤颜色红润与健侧皮肤一致。一般术后每30 min观察一次,24 h后,每2 h观察一次至皮瓣成活为止。要在自然光线下观察皮肤着色,避免灯光因素的干扰,皮瓣的观察窗不要涂碘伏等消毒剂。皮瓣颜色变紫,说明静脉回流障碍,颜色苍白表示动脉供血不足。②温度:正常皮瓣温度在33~35 ℃。若皮温相差逐渐增大,一般24~48 h后皮温相差大于3 ℃者,大多是静脉回流不畅,均应报告医生及时处理。③肿胀程度:术后皮瓣均有轻微肿胀,术后48 h达到高峰,以后逐渐减退。当指间静脉回流受阻时,组织肿胀明显;动脉供血不足时,组织缺氧发绀甚至变黑坏死。④毛细血管充盈反应:正常时指压皮肤,皮肤毛细血管内血液排空,放开后在数秒内恢复充盈。当动脉供血受阻时,回流不明显;静脉回流不畅时,回流早期增快,后期减慢;动静脉同时受阻时,仍有回流现象,但充盈速度缓慢。

2.3 疼痛护理

疼痛刺激可使机体释放5-羟色胺,有强烈的缩血管作用。故术后24 h内疼痛较为强烈,要理解和同情患者,耐心倾听其疼痛主诉,客观评估疼痛程度。可使用术后止疼泵,其使用方法是:将曲吗多300 mg、芬太尼0.3 mg、氟哌利多5 mg加入38 ml 0.9%生理盐水配制,静脉滴注。速度为2.0 ml/h,可持续24 h,达到减轻疼痛的目的,效果显著。

[收稿日期] 2006-10-10 [修回日期] 2007-01-08

(编辑:兰阳军)