维普资讯 http://www.cqvip.com

局解手术学杂志 2005年第14卷第1期
J Regional Anat & Operative Surg, 2005, Vol.14, No.1

奥美拉唑对家兔肾脏内髓集合管细胞 H^+/K^+ 交换功能的影响

夏前明，李鸿雁，全 燕，肖贞良，李福祥，金成勇 （成都军区总医院呼吸科，四川 成都 610083）

［摘 要］ **目的** 探讨奥美拉唑对家兔肾脏IMCD细胞 H^+/K^+ 交换的影响，以及经洗涤处理是否解除这种影响。**方法** 原代培养家兔肾脏IMCD细胞单层，在100 μmol/L奥美拉唑缓冲液中孵育25 min，洗涤组则在奥美拉唑缓冲液孵育后，用不含奥美拉唑的缓冲液洗涤IMCD细胞；对照组在不含奥美拉唑的缓冲液孵育25 min；CECF/AM荧光探针法测定各组IMCD细胞 H^+/K^+ 交换。**结果** 奥美拉唑组的 H^+/K^+ 交换为(0.016±0.006) dpHi/min($n=8$)；与对照组的(0.053±0.008) dpHi/min($n=8$)相比，相差非常显著($P<0.001$)；洗涤组的 H^+/K^+ 交换为(0.016±0.006) dpHi/min($n=6$)，与对照组($n=6$)的(0.052±0.009)dpHi/min相比，相差非常显著($P<0.001$)。**结论** 100 mol/L的奥美拉唑对家兔IMCD细胞的 H^+/K^+ 交换有显著影响，而且洗涤处理不能解除这种抑制。因而，肺心病合并上消化道出血患者使用奥美拉唑时，应综合考虑其利弊。

［关键词］奥美拉唑；H^+/K^+ 交换；IMCD细胞；肾脏
［中图分类号］R714.253；R974；R334.1 ［文献标识码］A ［文章编号］1672-5042(2005)01-0011-02

Effects of omeprazole on H^+/K^+ exchange of inner medullary collecting duct cells in rabbit kidney

XIA Qian-ming, LI Hong-yan, QUAN Yan, XIAO Zhen-liang, LI Fu-xiang, JIN Cheng-yong (Department of Respiratory Diseases, General Hospital of Chengdu Military Command Area, Chengdu 610083, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of omeprazole on H^+/K^+ exchange of inner medullary collecting duct (IMCD) cells was inhibited by omeprazole and whether the effects could be abolished by washing out. **Methods** Primary cultured IMCD cell monolayers in omeprazole group (OM) was in vitro incubated in the 100 μmol/L omeprazole buffer for 25 min, while those in the control group (CG) in omeprazole-free buffer. IMCD cells in the washing out omeprazole group (WOM) were incubated in 100 mol/L omeprazole buffer for 25 min, and then washed by omeprazole-free buffer. The changes of H^+/K^+ exchange of IMCD cell monolayers in each group were determined by fluorescent probe technique. **Results** H^+/K^+ exchange in OM [(0.016±0.006) dpHi/min, $n=6$] was significantly lower than that in CG [(0.053±0.008) dpHi/min, $n=8$] ($P<0.001$). H^+/K^+ exchange in WOM [(0.016±0.006) dpHi/min, $n=6$] was significantly lower than that in CG [(0.052±0.009) dpHi/min, $n=6$] ($P<0.001$). **Conclusion** H^+/K^+ exchange of primary cultured IMCD cell monolayers in rabbit kidney can be significantly inhibited by 100 μmol/L omeprazole, and the effect could not be abolished by washing out. Therefore, both benefits and side effects should be taken into consideration when omeprazole is administered to patients with upper gastroenteral bleeding as a result of cor pulmonale.

Keywords: omeprazole; H^+/K^+ exchange; IMCD cell; kidney

上消化道出血是肺心病终末期的常见并发症之一，临床上常用奥美拉唑等制酸剂进行预防和治疗。这一治疗措施是否有效，奥美拉唑是否影响体内酸碱平衡和电解质平衡，目前尚不清楚。肾脏内髓集合管(IMCD)是决定尿液pH的"最终调节器"，IMCD的H-K-ATP酶与尿液净酸排泄的关系越来越受到的关注[1-5]。本实验观察奥美拉唑对家兔IMCD细胞 H^+/K^+ 交换功能的影响，以便为临床合理使用奥美拉唑提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

一月龄新西兰大白兔购自第三军医大学实验动物中心，体重350 g~400 g，雌雄不拘。奥美拉唑注射液(ASTRA)，胶原酶、核酶、氯化胆碱、Nigericin、HEPES、DEPC、SDS(Sigma)，DMEM/F12(Gibco)，BCECF/AM(Eugene)。其余试剂均为国产分析纯商品。恒温 CO_2 孵箱(Shell-Lab)，PE50型荧光磷光分光光度仪(PE)。

1.2 方法

1.2.1 IMCD细胞培养模型的制备 按本实验室的方法分离家兔IMCD细胞[6]，然后接种在自制的玻片上，一般在DMEM/F12溶液中培养7 d，待IMCD细胞汇合形成单层即可测定其 H^+/K^+ 交换功能。

1.2.2 药物处理 40 mg奥美拉唑用其专用溶媒稀释为10 ml的贮存液，经适当分装后置-20 ℃冰箱保存。奥美拉唑组(OM)：汇合的IMCD细胞单层在100 mol/L奥美拉唑缓冲液中孵育25 min，测定其 H^+/K^+ 交换；洗涤处理组(WOM)：汇合的IMCD细胞单层在100 μmol/L奥美拉唑缓冲液中孵育25 min，然后用不含奥美拉唑的缓冲液洗涤汇合的IMCD细胞单层，再测定其 H^+/K^+ 交换。

1.2.3 H^+/K^+ 交换功能测定 按本实验室的荧光探针法测定[7]，其基本原理是IMCD细胞经氯化铵酸负荷后，通过细胞外

［作者简介］夏前明(1955-)，男，四川省泸州市人，博士，主任医师，教授，从事呼吸系统疾病的临床和基础研究。电话：(028)86570343

［收稿日期］2004-10-18 ［修回日期］2004-11-02

维普资讯 http://www.cqvip.com

溶液是否提供 K^+，来观察细胞内 H^+ 与细胞外 K^+ 交换，用酸负荷后 dpHi 恢复率(dpHi/min)表示。

1.3 统计学处理

所有实验数据以均数 $\bar{x} \pm s$ 表示，用非配对 t 检验作组间差异显著性检验。

2 结果

2.1 奥美拉唑对 IMCD 细胞 H^+/K^+ - 交换的影响，结果见表 1

表 1 奥美拉唑对 IMCD 细胞 H^+/K^+ 交换的影响($\bar{x} \pm s$)

Group	n	dpHi/min
CG	8	$0.053 \pm 0.008^*$
OM	8	0.016 ± 0.006

*：$P < 0.001$ CG *vs* OM

2.2 洗涤处理对奥美拉唑抑制效应的影响，结果见表 2

表 2 洗涤处理对奥美拉唑抑制效应的影响($\bar{x} \pm s$)

Group	n	dpHi/min
CG	6	$0.052 \pm 0.009^*$
WOM	6	0.016 ± 0.006

*：$P < 0.001$ CG *vs* WOM

3 讨论

奥美拉唑是由苯并咪唑通过亚砜根连接吡啶环组成的化合物，为特异性 H-K-ATP 酶抑制剂。本身为弱碱性，与 H^+ 结合后形成有活性的次磺酰胺，次磺酰胺与 H-K-ATP 酶的第 5、第 6 穿膜区的半胱氨酸形成共价修饰，导致 H-K-ATP 酶失活，阻断细胞的 H^+/K^+ 交换，从而减少胃酸分泌。奥美拉唑常用于治疗消化性溃疡，也用于晚期肺心病、呼吸衰竭出现的上消化道出血，或合并消化性溃疡的肺心病、哮喘等。

IMCD 细胞 H-K-ATP 酶介导 IMCD 的 H^+/K^+ 交换，即在肾小管的最后节段-IMCD 排出 H^+、重吸收 K^+，最终决定机体的净酸排出量。因而，在机体酸碱平衡调节中有重要作用。近年来，有学者观察 H-K-ATP 酶抑制剂对 IMCD 细胞 H^+/K^+ 交换的影响。Kleinman[1] 等的研究表明，对照组的酸负荷后 dpHi 恢复率为(0.046 ± 0.017) dpHi/min，经 100 μmol/L 奥美拉唑溶液处理后，酸负荷后 dpHi 恢复率降至(0.010 ± 0.007) dpHi/min。经另一种 H-K-ATP 酶抑制剂 Sch-28080 10 (M 溶液处理后，酸负荷后 pHi 恢复率也呈类似幅度的降低。本研究将原代培养的家兔肾脏 IMCD 细胞单层在 100 μmol/L 奥美拉唑溶液中孵育 25 min，测定的酸负荷后 dpHi 恢复率为(0.017 ± 0.006) dpHi/min，而对照组为(0.053 ± 0.008) dpHi/min。与 Kleinman 等的结果相似，说明奥美拉唑显著抑制 IMCD 细胞的 H^+/K^+ 交换。奥美拉唑抑制 IMCD 细胞的 H^+/K^+ 交换，可能减少呼吸性酸中毒时肾脏的 H^+ 分泌和 K^+ 重吸收。呼吸性酸中毒酸病人使用奥美拉唑，是否出现相同的效应，尚需要临床进一步观察证实。本研究还比较洗涤处理对奥美拉唑抑制效应的影响，结果表明洗涤处理并不能解除奥美拉唑的抑制效应，提示奥美拉唑的抑制效应可能是不可逆的。说明奥美拉唑有可能影响体内酸碱平衡和电解质稳态。因而，肺心病患者使用奥美拉唑防治上消化道出血时，应综合考虑其利弊。

[参考文献]

[1] Kleinman JG, Tipnis P, Pscheidt R. H(+)-K(+)-ATPase of rat inner medullary collecting duct in primary culture[J]. Am J Physiol,1993,265(5Pt2):F698 - 704.

[2] Codina J, Cardwell J, Gitomer J, et al. Sch-28080 depletes intracellular ATP selectively in mIMCD-3 cells [J]. Am J Physiol Cell Physiol,2000,279(5):C1319 - 1326.

[3] Wall SM,TruongAV, DuBose TD Jr. H(+)-K(+)-ATPase mediates net acid secretion in rat terminal inner medullary collecting duct[J]. Am J Physiol,1996,271(5Pt2):F1037 - 1044.

[4] Silver RB, Soleimani M. H(+)-K(+)-ATPase: regulation and role in pathophysiological states[J]. Am J Physiol, 1999, 276 (6Pt2):F799 - 811.

[5] 夏前明，黄 坚，肖贞良，等. 家兔肾脏内髓集合管细胞的分离与原代培养[J]. 中国应用生理学杂志，2000;10(1):92 - 95.

[6] 夏前明，黄 坚，肖贞良，等. 荧光探针法测定家兔肾脏内髓集合管细胞单层 H^+/K^+ 交换[J]. 中国药理学通报，2001，17(2):230 - 232.

[7] 夏前明，肖贞良，黄 坚，等. 呼吸性酸碱失衡家兔肾脏内髓集合管细胞单层 H^+/K^+ 交换功能及 cH-K-ATP 酶 mRNA 表达的实验研究[J]. 解放军医学杂志，2002，27(3):225 - 227.

(编辑：郭光金)