DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.02.016
第25卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 2
2003年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2003

文章编号:1000-5404(2003)02-0127-04

论著

大鼠应激性胃粘膜损伤与壁细胞泌酸的关系

李玉梅[1],彭贵勇[1],房殿春[1],邹晓平[2],李兆申[2],许国铭[2] ([1]第三军医大学附属西南医院全军消化专科中心,重庆 400038;[2]第二军医大学附属长海医院消化内科,上海 200433)

提 要:目的 探讨应激状态下大鼠胃粘膜损伤与壁细胞泌酸状态的关系。方法 将48只SD大鼠随机分成对照组、水浸束缚应激1、2、4 h组、奥美拉唑组及生理盐水组。检测胃液pH值、胃粘膜损伤指数(UI),光镜观察胃粘膜组织学改变,电镜观察壁细胞超微结构变化。结果 随应激时间延长UI明显增加,而胃液pH值明显降低($P<0.01$),二者之间呈明显负相关($r=-0.9987$, $P<0.01$);奥美拉唑组与应激4 h组和生理盐水组比,UI明显降低($P<0.01$)。电镜示壁细胞在对照组呈静息状态,而应激1 h,2 h,4 h组呈不同激活状态,以4 h最明显,呈泌酸活跃状态。奥美拉唑组壁细胞见分泌小管扩张,有绒毛稀少或密集分布的不同表现。结论 应激状态下大鼠胃粘膜损伤程度与壁细胞泌酸状态密切相关。

关键词:应激;胃粘膜;壁细胞;胃;超微结构;消化性溃疡
中图法分类号:R333.2;R573.102 文献标识码:A

Relationship of gastric mucosal lesion and oxyntic function of parietal cells in rats under stress

LI Yu-mei, PENG Gui-yong, FANG Dian-chun, Zou Xiao-ping, Li Zhao-shen, XU Guo-min (Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To observe the relationship of gastric mucosal lesions and the oxyntic function of parietal cells in rats under stress. Methods Forty-eight male SD rats were randomly divided into 6 groups: control group, 1 h, 2 h, 4 h groups under water restraint stress (WRS), omeprazole treated group and normal saline treated group (NS). The gastric fluid pH value and gastric mucosal ulcer index (UI) were measured. The changes of gastric mucosal lesions were observed with light microscopy, and the ultrastructural changes of parietal cells were observed with transmission electronic microscopy (TEM). Results With the stress time prolonged, the UI increased and the pH value decreased gradually and significantly under WRS compared with control group ($P<0.01$). Moreover, there was a negative relationship between UI and pH value ($r=-0.9987$). The UI of omeprazole treated group decreased significantly compared with stress 4 h group and normal saline treated group ($P<0.01$). Parietal cells were in a resting state in control group, but became active in stress 1, 2, 4 h groups, and especially stress 4 h group in an active secreting state. The dilated intracellular canaliculi lined with numerous or rare microvilli were observed in omeprazole treated group under TEM. Conclusion The results indicate that the degree of gastric mucosal lesion is closely correlated with the oxyntic function of gastric parietal cells in rats under stress.

Key words: stress; gastric mucosa; parietal cell; gastric; ultrastructure; peptic ulcer

应激性溃疡(Stress ulcer, SU)是临床危重疾病和严重心理障碍的常见并发症,其发生是由于胃粘膜保护机制削弱,损伤因素相对增强的结果[1]。胃壁细胞的主要功能是分泌盐酸使胃腔酸化。胃酸是最常见的内源性损伤因子,在SU形成过程中起着不容忽视的作用。本研究主要探讨水浸-束缚应激状态下大鼠胃粘膜急性损伤与壁细胞泌酸状态的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

健康雄性SD大鼠48只,体重180~200 g,上海西普尔-必凯公司提供。随机分成6组:对照组、应激1 h组、应激2 h组、应激4 h组、奥美拉唑组和生理盐水组,每组8只。

1.2 主要材料与试剂

pH/mV型pH计(美国科尔-帕默公司)、日立-800型透射电

基金项目:全军"十五"医药科研基金资助项目(01Z059)
作者简介:李玉梅(1960-),女,浙江省嘉兴市人,硕士,主治医师,主要从事消化系疾病的临床和科研方面的研究,发表论文8篇,现在武警浙江省总队医院消化科工作,嘉兴 314000。电话:(0573)2082851
收稿日期:2002-08-02;修回日期:2002-11-04

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

镜(日本)。奥美拉唑粉针剂,瑞典阿斯特拉公司生产。

1.3 模型制作

大鼠禁食24 h、禁水1 h后,在轻度乙醚麻醉下,将四肢及头部束缚于鼠板上,待清醒后将鼠板垂直浸入(19±1)℃水浴中,水面平胸骨剑突。持续时间:应激1 h组为1 h,应激2 h组为2 h,应激4 h组、奥美拉唑组和生理盐水组均为4 h。其中奥美拉唑组和生理盐水组,于应激前30 min,腹腔内分别注射奥美拉唑20 mg/kg和0.9%生理盐水1 ml/只。对照组不施加应激。

1.4 胃粘膜损伤指数(UI)评定

于10倍放大镜下仔细计数UI:斑点糜烂计1分;糜烂长度<1 mm计2分;1~2 mm计3分;2~3 mm计4分;>4 mm计5分。

1.5 电镜标本制作

取腺胃前后壁中央处粘膜各一块,切成1 mm×1 mm×1 mm大小的组织块。标本经4%多聚甲醛4℃固定4 h,0.1 mol/L磷酸盐缓冲液(pH 7.30)充分漂洗,1%OsO_4后固定2 h,然后进行乙醇丙酮梯度脱水和Epson-812浸透包埋、超薄切片后,醋酸铀和醋酸铅染色,在透射电镜下观察壁细胞超微结构。

1.6 统计学处理

实验数据均以$\bar{x}\pm s$表示,各组之间的比较采用t检验,两变量之间的关系采用直线相关分析。

2 结果

2.1 胃粘膜大体及UI变化

对照组粘膜光滑,UI为0;应激1 h组粘膜充血,腺胃部见少量斑点状糜烂、出血,UI为9.5±2.98,高于对照组($P<0.01$);应激2 h组粘膜明显充血,表面附有少量血痂,腺胃部见多量的点线状糜烂、出血,UI明显高于对照组和应激1 h组($P<0.01$);应激4 h组粘膜,附有大量血痂,腺胃部广泛点线状出血、糜烂及溃疡形成,UI为(35.0±3.93),明显高于前三组($P<0.01$)。奥美拉唑组粘膜光滑,偶有少许点状糜烂、出血,UI与应激4 h组比,差异非常显著($P<0.01$),与对照组比差异无显著性。生理盐水组粘膜大体损伤与应激4 h组相似,UI与奥美拉唑组比,差异非常显著($P<0.01$)。胃粘膜损伤UI与应激时间呈明显正相关($r=0.9876$,$P<0.01$),见表1。

表1 应激状态下大鼠胃液pH值、胃粘膜损伤溃疡指数(UI)的变化($n=8$,$\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Changes of gastric juice pH value and gastric mucosal ulcer index under water immersion-restraint stress in rats ($n=8$, $\bar{x}\pm s$)

Group	Gastric juice pH	Ulcer index
Control	2.56±0.14	0
Stress 1 h	2.26±0.40	9.5±2.98**
Stress 2 h	1.81±0.25 **△	22.5±3.16 **△△
Stress 4 h	1.31±0.24 **△△	35.0±3.93 **△△
Omeprazole	6.61±0.31 **△△	3.5±2.39△△
NS	1.35±0.19 **△△	32.5±2.89 **△△

**: $P<0.01$ *vs* Control group; △: $P<0.05$, △△: $P<0.01$ *vs* Former group

2.2 胃粘膜组织学变化

对照组粘膜结构完整,腺体排列整齐,层次清楚。应激1 h组粘膜充血、水肿,表层上皮部分坏死、脱落。应激2 h组粘膜明显充血、水肿,表层受损明显,有大量的坏死、脱落,局部腺体结构紊乱。应激4 h组和生理盐水组粘膜均有明显出血、坏死、脱落、中断及溃疡形成,溃疡呈火山口状,可深达粘膜肌层,见图1。奥美拉唑组粘膜基本完整,偶见少量上皮脱落,无出血、溃疡,见图2。

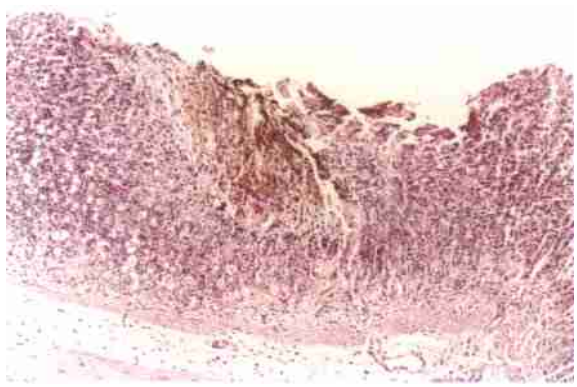


图1 应激4 h组胃粘膜见应激性溃疡呈火山口状 (HE×100)

Fig 1 Crateiform ulcer of gastric mucosa in water immersion-restraint stress 4 h group (HE×100)

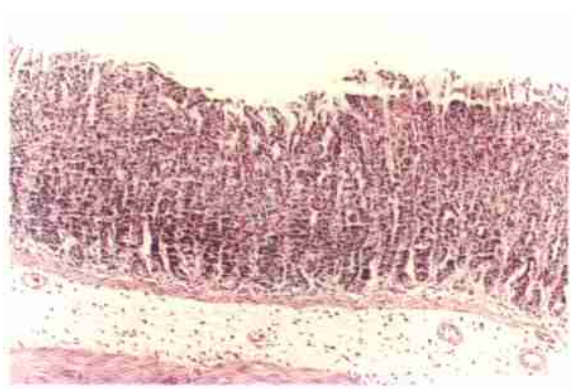


图2 奥美拉唑组仅见胃粘膜表层少量坏死、脱落 (HE×100)

Fig 2 Only some gastric mucosal shedding and necroses in omeprazole group (HE×100)

2.3 胃液pH值变化

对照组胃液pH值为(2.56±0.14);应激1 h组与对照组比差异无显著性($P>0.05$);应激2 h组明显低于对照组($P<0.01$),也低于应激1 h组($P<0.05$);应激4 h组为与前3组比差异均非常显著($P<0.01$)。随应激时间延长,胃液pH值与UI之间呈明显负相关($r=-0.9987$,$P<0.01$)。奥美拉唑组与对照组、应激4 h组和生理盐水组比较,差异均非常显著($P<0.01$),见表1。

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

2.4　壁细胞超微结构变化

对照组的壁细胞内可见大量散在分布的囊泡和管泡结构, 分泌小管内绒毛稀少或缺如, 呈明显静息状态, 见图 3; 应激 1 h 组可见分泌小管绒毛短少, 其周围有多量囊泡聚集, 呈开始激活状态; 应激 2 h 组可见分泌小管增多, 绒毛增多增长, 胞浆内囊泡明显减少, 呈激活状态; 应激 4 h 组和生理盐水组可见分泌小管密集, 周围的囊泡基本消失, 呈明显的泌酸活跃状态, 见图 4; 奥美拉唑组可见分泌小管明显扩张, 有绒毛稀少或密集分布的不同表现, 见图 5。

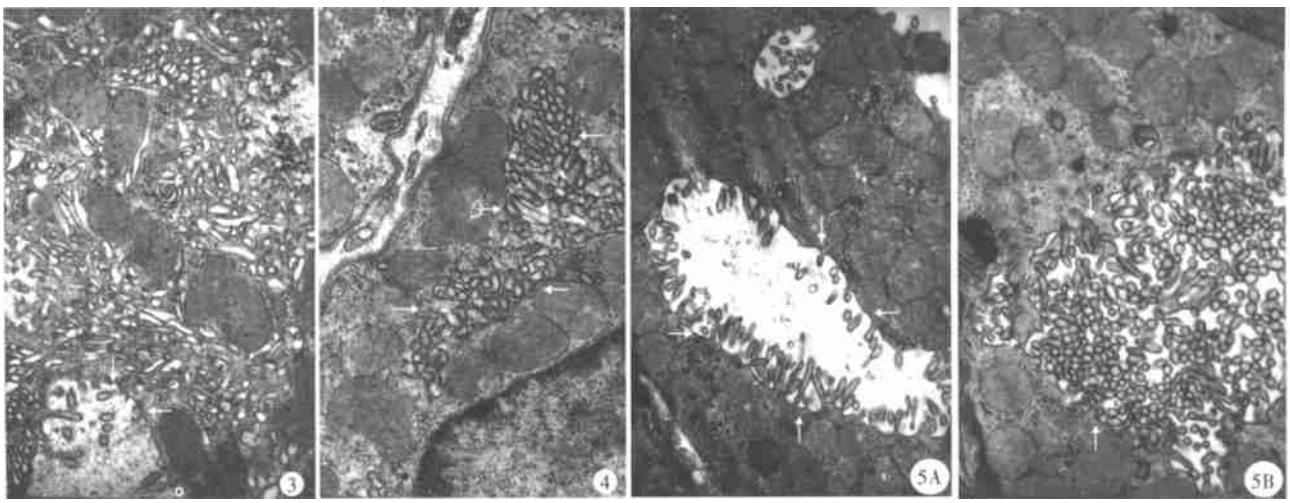


图 3　对照组壁细胞超微结构　(TME× 12 000)　壁细胞内见大量囊管泡(→), 分泌小管绒毛稀少或缺如, 呈静息状态

Fig 3　Ultrastructural changes of parietal cells in control group　(TME× 12 000)　Parietal cells in a resting state show massive intracellular canaliculi and few microvilli

图 4　应激 4 h 组壁细胞超微结构　(TME× 12 000)　壁细胞分泌小管内绒毛密集 (→), 周围囊泡基本消失, 线粒体丰富, 呈明显激活状态

Fig 4　Ultrastructural changes of parietal cells in stress 4 h group　(TME× 12 000)　Parietal cells in an activated state have numerous microvilli, vanished vesicles and abundant mitochondria

图 5　奥美拉唑组壁细胞超微结构　(A: TEM× 7 000; B: TEM× 9 000)　壁细胞内见分泌小管明显扩张, 有绒毛 (→) 稀少 (A) 或密集分布(B)的不同表现

Fig 5　Ultrastructural changes of parietal cells in omeprazole pretreated group　(A: TEM× 7 000; B: TEM× 9 000)　Parietal cells have expanded intracellular canaliculi, and rare (A) or numerous microvilli (B)

3　讨论

应激性溃疡是机体在严重应激状态下发生的胃、十二指肠粘膜急性糜烂和溃疡, 易合并出血, 病情危重, 预后凶险, 死亡率高。目前认为 SU 的发生是由于胃粘膜保护机制削弱、损伤因素作用相对增强及机体的神经内分泌功能失调的结果[1]。应激状态下, 由于损伤因子的攻击和防御作用的减弱, 可出现下丘脑调控垂体等内分泌腺体功能障碍、胃粘膜微循环障碍、胃粘膜屏障受损、迷走神经兴奋性异常增高、壁细胞激活、胃粘膜内脂质过氧化物含量升高和氧自由基产生增加等多方面改变[2~4]。最终, 胃粘膜对 H^+ 和胃蛋白酶失去抵抗力, 从而导致急性胃粘膜病变。

一般认为胃酸并不是 SU 发生的主要因素。不同应激状态下胃酸分泌可以增强或减弱, 但因粘膜屏障功能减弱, 而致实际 H^+ 逆向弥散的总量增加, 参与了溃疡的发生[4]。许多实验及临床研究证实, 应激状态下粘膜内 pH 异常降低, 且降低程度与胃粘膜病变呈明显正相关。因此, 胃酸在 SU 发生中的作用不容忽视, 这可被各种制酸剂预防和治疗 SU 和出血的确切疗效所证实[5,6]。

我们的实验结果表明, 水浸-束缚应激可致急性胃粘膜损伤, 且损伤程度与应激时间呈明显正相关(r= 0.9876, P< 0.01), 应激时间越长, 胃粘膜损伤越严重。应激 4 h 时, 胃粘膜出现广泛的糜烂、出血, 溃疡形成。光镜下可见粘膜正常的层次结构遭到严重破坏, 溃疡呈火山口状, 深达粘膜肌层, 粘膜充血、水肿明显。本研究显示, 在水浸束缚应激状态下, 大鼠胃酸分泌增加, 并随应激时间延长而胃液 pH 值明显降低。胃液 pH 值与胃粘膜损伤程度呈明显负相关(r= −0.9987, P< 0.01), 这与文献报道相一致。于应激前应用奥美拉唑后, 可以抑制应激状态下胃酸分泌, 明显提高胃液 pH 值, 胃粘膜损伤程度明显减轻, 这进一步证实了胃酸在应激性溃疡发生中的作用。目前认为, 在

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

脑外伤等并发SU时，胃酸的作用更加明显，且可能与溃疡表现为深度较大有关[7]。

电镜下可见壁细胞有两种特征性的质膜系统，即分泌小管和管泡系统。它们参与H^+的运输和分泌，其形态、数量与壁细胞的分泌状态有关[8]。在壁细胞受刺激后，壁细胞内的管泡结构急剧减少，而分泌小管显著增加，使质子泵不断由管泡向顶部分泌小管补充，以分泌大量盐酸。当刺激停止后，质子泵又重新回到管泡膜而终止其泌酸活动，这就形成了壁细胞的膜循环。本研究显示，壁细胞在对照组呈现静息状态，这是由于大鼠经禁食处理所致。水浸束缚应激1，2，4 h后，壁细胞呈现不同程度的激活状态，这与胃内酸度变化和胃粘膜损伤程度相一致。研究表明，壁细胞的泌酸活动是受自主神经和体液因素调控[9]，并有一系列的靶信号和蛋白-蛋白相互作用，参与并调控壁细胞分泌激活这个过程[10]。应激状态下机体的神经内分泌功能紊乱，迷走神经的兴奋性增高，直接刺激壁细胞或通过肠神经系统对肠嗜铬样细胞(ECL细胞)的影响，使壁细胞兴奋并分泌大量盐酸。奥美拉唑组壁细胞内的分泌小管明显扩张，并有绒毛稀少或密集分布的不同表现，这与奥美拉唑抑制胃酸分泌的作用机制有关。

总之，我们认为应激状态下大鼠胃粘膜急性损伤与壁细胞泌酸状态密切相关，提示胃酸在SU形成过程中起着不容忽视的作用，也为临床应用制酸剂治疗和预防SU提供重要的理论依据。

参考文献：

[1] 李兆申. 应激性溃疡发生机制及预防对策研究现状[J]. 解放军医学杂志，1999，24(6)：391－393.

[2] Kobayashi K，Kashimak K，Higuchi K，*et al*. The mechanisms of gastrointestinal mucosal injury repair[J]. Nippon Rinsho，1998，56(9)：2215－2223.

[3] Hwang S L，Lieu A S，Howng S L，*et al*. Hypothalamic dysfunction in acute head-injured patients with stress ulcer[J]. Kaohsiung J Med Sci，1998，14(9)：554－562.

[4] 李兆申，湛先保，崔忠敏，等. 应激对胃粘膜表面上皮层抗酸形态屏障及壁细胞超微结构的影响[J]. 解放军医学杂志，1999，24(6)：401－403.

[5] Lasky M R，Metzler M H，Phillips J O. A prospective study of omeprazole suspension to prevent clinically significant gastrointestinal bleeding from stress ulcers in mechanically ventilated trauma patients[J]. J Trauma，1998，44(3)：527－533.

[6] Li Y，Sha W，Nie Y，*et al*. Effect of intragastric pH on control of peptic ulcer bleeding[J]. J Gastroenterol Hepatol，2000，15(2)：148－154.

[7] 魏绍华，李兆申，湛先保，等. 大鼠重度脑外伤后胃粘膜血流、胃泌酸的动态变化[J]. 第二军医大学学报，1998，19(5)：458－460.

[8] Ogata T，Yamasaki Y. Morphological studies on the translocation of tubulovesicular system toward the intracellular canaliculus during stimulation of the gastric parietal cell[J]. Microsc Res Tech，2000，48(5)：282－292.

[9] Lindstrom E，Chen D，Norlen P，*et al*. Control of gastric acid secretion：the gastric-ECL cell-parietal cell axis[J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol，2001，128(3)：505－514.

[10] Caplan M J. Gastric H^+，K^+-ATPase：targeting signals in the regulation of physiologic function[J]. Curr Opin Cell Biol，1998，10(4)：468－473.

（编辑 陈聪连）

（上接126页）

脏器的严重损伤，不同程度地存在休克、出血、呼吸困难、昏迷等危及生命的情况，我们首先进行了抗休克、止血等重要脏器的抢救性手术和治疗，根据术中或术后病人的全身情况决定骨折的治疗是否同时进行，但有的存在皮肤软组织毁损伤、骨外露、重要神经血管损伤的严重开放性骨折也可能危及生命，必须及早进行抢救性手术。本组有14例严重开放性骨折患者就是不得已在病情尚未完全稳定的情况下进行的骨折手术治疗，其中6例术后1周内死亡。说明在生命体征不稳定的情况下实施骨折手术，因手术时间延长、创伤大、出血多，易加重病情，危及生命，因此，骨折的治疗时机应尽量选在生命体征比较平稳以后进行。

骨折的治疗方法应根据病人的全身情况来确定，同时对骨折的相关因素如骨折的部位、开放伤情况、局部并发症等进行评估，宜选用简单、快捷、有效的治疗方法，尽量缩短手术时间，减少出血和手术创伤。对于病情较重、生命体征不稳定的严重开放性骨折，尤其是合并症为肝、脾、胸腔损伤者，创伤大，出血多，又必须先进行肝、脾、胸腔的抢救性手术，病人的全身情况一般较差。因此，对于骨折的治疗我们多选用及早清创加牵引或外固定、骨外固定手术，以避免加重病情，确需进行内固定手术的，也尽量留在二期进行。对于病情较好，生命体征平稳的病人，也只根据骨折类型适当进行一些较为复杂的内固定手术，一期完成骨折的手术治疗。

合并颅脑损伤的骨折患者常常存在意识障碍、昏迷谵妄、烦躁不安，简单的骨牵引、外固定不但不能达到有效的固定，反而会因为骨折断端的活动加重局部的损伤，产生局部间室高压，甚至损伤局部的神经、血管；同时，文献[1]报道颅脑损伤患者因机械刺激作用、激素作用等可加速骨痂的生长，如不能及时对骨折进行有效的复位固定，容易导致骨折畸形愈合。因此，对于合并颅脑损伤的骨折应在病情比较稳定、生命体征平稳后尽早进行有效牢稳的固定，这既能防止加重局部损伤、促进骨折愈合，又便于病人的护理。

关键词：四肢骨折；严重并发症

中图法分类号：R683.405 文献标识码：B

参考文献：

[1] 黄煌渊，张 权，张 义，等. 合并颅脑外伤昏迷者的骨折愈合及其治疗时机选择[J]. 骨与关节损伤杂志，1999，14(5)：297－299.

（编辑 冯崇英）

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