DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.02.032
第24卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 2
2002年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2002

文章编号:1000-5404(2002)02-0189-03

论著

大鼠失血性休克复苏后胃损害观察

张连阳[1],王正国[2],朱佩芳[2],秦红军[1] (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所:[1]普通外科;[2]第四研究室;重庆 400042)

提 要:目的 观察大鼠失血性休克复苏后的胃损害。方法 108只Wistar大鼠随机分为假休克(SS)组和失血性休克复苏(HS)组,同位素标记生物微球法测量胃肠道血流量,同时测定胃粘膜内pH(pHi)、胃排空、胃粘膜,丙二醛(MDA)含量和Na^+-K^+-ATPase活性,并观察胃粘膜组织学和超微结构变化,以及胃粘膜Fos、Jun的免疫组化染色。结果 HS组各时相点胃血流量和pHi均显著下降,胃排空减慢,胃粘膜MDA含量显著升高,Na^+-K^+-ATPase活性明显受抑。HS组胃粘膜有明显的病理损害,胃粘膜Fos和Jun免疫反应性校正面积及免疫反应阳性细胞数显著增加。结论 在失血性休克复苏后,胃血流量下降,伴随胃排空延迟,并存在严重的缺血/再灌注损害,与休克后胃粘膜病变的发生相关。

关键词:失血性休克;复苏;胃;血流量;胃pHi
中图法分类号:R605.971;R656.6 文献标识码:A

Gastric injury posterior to hemorrhagic shock resuscitation in rats

ZHANG Lian-yang, WANG Zheng-guo, ZHU Pei-fang, QING Hong-jun (Department of General Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate the gastric lesion after resuscitation due to hemorrhagic shock. Methods 108 Wistar rats were randomly divided into sham shock (SS) group and hemorrhagic shock resuscitation (HS) group. The volume of gastric blood flow was determined by biological microglobulin isotope labelling methol. Gastric PHi, gastric emptying, the volume of gastric mucosa MDA, and Na^+—K^+— ATPase activity of gastric mucosa were determined. Pathological and ultrastructural changes of gastric mucosa were observed. Fos and Jun immunohistochemical staining of gastric mucosa were perfomed. Results After hemorrhagic shock resuscitation, the volume of gastric blood flow and gastric pHi and decreased significantly, gastric emptying retarded obviously, and the reactivity of Na^+-K^+-ATPase of gastric mucosa was inhibited. However, the volume of MDA in gastric mucosa increased. Meanwhile, there were significant pathological changes of gastric mucosa. In HS group, and the immunoreactivity expression area of gastric mucous membrane Fos and Jun were significantlyenlarged with a significant increase in positively reactive cells. Conclusion After hemorrhagic shock resuscitation, the volume of gastric blood flow decreases, accompanied with retarded gastric emptying. And there is severe gastric ischemia/reperfusion damage which is believed correlated with the development of other pathological changes of gastric mucosa.

Key words: hemorrhagic; shock; resuscitation; stomach; blood flow volume; gastric pHi

休克、创伤情况下,胃是最易受损的靶器官之一[1],急性胃粘膜病变对临床危重病人有着潜在的致命性威胁。失血性休克是创伤及外科手术后的常见合并症,本实验观察大鼠失血性休克复苏后的胃损害,包括胃粘膜Fos和Jun的免疫组化染色结果。

1 材料与方法

1.1 动物分组

健康Wistar大鼠108只,随机数字表法随机将动物分为2组,每组6~8只:①假休克(Sham shock group, SS)组,同休克组一样分离左股动、静脉,但不放血,仅结扎之;②失血性休克复苏(Hemorrhagic shock reperfusion, HS)组。分别于休克前、休克复苏后1、2、4 h取观察指标样本数6个。

1.2 失血性休克复苏大鼠模型的建立[2]

乙醚麻醉后,一侧股动脉插管,动物全身肝素化(250 U/kg),用注射器经动脉插管10 min内快速放血至平均动脉压35~40 mmHg,维持60 min,记录最大失血量,之后经股静脉缓慢回输全部失血及等量等渗盐水复苏。拔出动脉和静脉插管,结扎血管,缝合伤口。

1.3 观察指标

1.3.1 胃排空 以2%葡聚糖蓝2000溶液为胃内标志物。于各时相点前20 min各组动物灌服0.4 ml,各时相点以乙醚麻醉后剖腹,将胃内残留色素充分溶于2.0 ml去离子水中,3 500 r/min离心15 min,取上清液,过滤,以分光光度计(620 nm)测滤液吸光度为胃内色素残留量,以SS组胃内色素残留量均值为100%,求相对胃内色素残留率代表胃排空速率。

1.3.2 胃血流量测定 采用^{99m}Tc标记蟾蜍红细胞作为放射性生物微球法[3]。主要步骤:①生物微球制备:取蟾蜍1只,从心尖抽血3~4 ml,机械抗凝、过滤、离心,0.65%蛙生理盐水洗,去上清后加入3%戊二醛3 ml混匀,置4 ℃冰箱过夜备用。②蟾蜍红细胞计数。③红细胞酸化:移入氯化亚锡50 mg(0.1 ml无水乙醇溶解),407×10^4 Bq ^{99m}Tc加入混匀,室温下孵育40 min。④脏器血流量测定:分离大鼠同侧颈总动脉和股动脉,在生理记录仪引导下置左心室导管,股动脉插管用于抽参考血。取标记好的蟾蜍红细胞悬液1 ml,经左心室导管在30 s内匀速注入左心室,并用0.5 ml生理盐水将导管内残留微球在10 s内冲入左心室;在注射生物微球前10 s开始从股动脉,以(1.00±0.05)ml/min的恒速抽血1 ml,作参考血样本。注入微球后处死动物,取胃称重;用γ计数仪分别测定参考血及胃的放射活性,

作者简介:张连阳(1966—),男,广东省潮阳市人,博士,副教授,主要从事创伤后胃肠动力改变方面的研究,发表论文26篇。电话:(023)68757248

收稿日期:2001-02-13;修回日期:2001-06-18

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

按 Domenech 公式计算器官血流量。

$$\text{器官血流量}(ml\cdot min^{-1}\cdot g^{-1}) = \text{参考血流速}(ml/min)\times\frac{\text{组织放射强度}(cpm)}{\text{参考血样本放射强度}(cpm)}\div\text{组织重量}(g)$$

1.3.3 胃粘膜内 pH 测定[4] 于各时相点前 1 h 麻醉动物，腹腔内注入西咪替丁 15 mg，剖腹结扎贲门，于十二指肠前壁切一小口，经幽门插一小乳胶管入胃，先注入 3 ml 等渗盐水，吸尽弃去；结扎幽门，等渗盐水 1.5 ml 注入胃腔，保留 1 h，然后抽吸胃腔内盐水 1 ml，同时抽取动脉血 1 ml，立即行气体分析，按 Henderson-Hasseibach 方程式计算胃 pHi：

$$pHi = 6.1 + \log[(HCO_3^-)/PCO_2\times 0.03]$$

1.3.4 胃粘膜组织丙二醛(Malondialdehyde，MDA)含量和 Na^+-K^+-ATPase 活性测定 处死动物，迅速刮取胃粘膜 200 mg 左右，液氮保存。Folin-酚试剂蛋白定量法(Lowry 法)测定样品中蛋白质含量；上清液采用硫代巴比妥酸法(TBA 法)测定组织中 MDA 含量；改良 Goldberry ATPase 测定方法测定匀浆液中 Na^+-K^+-ATPase 活性。

1.3.5 胃粘膜形态学观察 组织学观察采用 HE 染色，同时透射电镜观察超微结构。

1.3.6 胃粘膜 Fos、Jun 免疫组化 取胃标本，4%多聚甲醛固定，石蜡包埋、切片，按过氧化物标记的链酶卵白素法(S-P 法)操作步骤，抗体购自美国 ZYMED 公司。图像分析应用 Tiger 920 微机医学图像分析仪，分析免组织化学结果，每组选 4 例标本，每例随机选 5 个视野，共 20 个视野：① 测量粘膜层免疫组化阳性染色区的面积及平均灰度，以平均灰度计算校正面积值；②随机选取 10 个阳性细胞，测定其面积，计算每个细胞面积，然后用“总阳性面积/单个细胞阳性面积”计算出阳性细胞数。

1.4 统计学分析

实验数据以“$\bar{x}\pm s$”表示，采用 t 检验。

2 结果

大鼠 HS 组，胃血流量及 pHi 显著降低($P<0.01$)，见表 1；1～4 h HS 组胃排空显著延迟($P<0.05$ 或 $P<0.01$)，见表 2；胃粘膜 MDA 含量明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)，胃粘膜 Na^+-K^+-ATPase 活性抑制($P<0.05$)，见表 3。HS 组各时相点胃粘膜有区域性坏死、水肿，部分有溃疡形成，粘膜下充血、出血，粘膜固有层多形性中性粒细胞浸润。透射电镜 HS 组可见胃主细胞线粒体肿胀，空化变性，嵴断裂、消失，基质密度降低；粗面内质网扩张、脱颗粒；大量髓鞘样结构形成，细胞基质密度降低，细胞坏死溶解性改变；核固缩。

表 1 失血性休克复苏后胃血流量及 pHi 变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 The changes of gastric blood flow volume and pHi after hemorr hagicshock($\bar{x}\pm s$)

	Blood flow volume($ml\cdot min^{-1}\cdot g^{-1}$)		pHi	
	1 h(n=6)	2 h(n=6)	1 h(n=6)	2 h(n=6)
SS	0.89±0.08	0.88±0.09	7.39±0.03	7.36±0.05
HS	0.47±0.23**	0.45±0.21**	7.19±0.06**	7.09±0.04**

**：$P<0.01$ *vs* SS

表 2 失血性休克复苏后胃排空(%，$\bar{x}\pm s$)

Tab 2 The changes of gastric emptying after hemorrhagic shock(%，$\bar{x}\pm s$)

	1 h(n=6)	2 h(n=6)	4 h(n=6)
SS	99.98±39.11	99.99±33.18	99.98±22.79
HS	164.73±42.43*	156.05±21.78*	205.87±23.84**

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ *vs* SS

表 3 失血性休克复苏后胃粘膜 MDA 及 Na^+-K^+-ATPase 活性($nmol/mg\ \bar{x}\pm s$)

Tab 3 The reactivity of MDA and Na^+-K^+-ATPase of gastric mucous membrance after hemorrhagic shock($nmol/mg\ \bar{x}\pm s$)

		1 h(n=6)	2 h(n=6)	4 h(n=6)
MDA	SS	13.31±2.89	12.89±3.11	13.67±2.44
	HS	17.42±2.16*	18.94±4.45**	17.81±2.48*
Na^+-K^+-ATPase	SS	0.17±0.04	0.17±0.02	0.17±0.02
	HS	0.10±0.04*	0.13±0.03*	0.10±0.05*

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ *vs* SS

图像分析表明，HS 组各时相点胃粘膜 Fos、Jun 免疫反应性校正面积及免疫反应阳性细胞数，较 SS 组显著增加($P<0.01$)，见图 1、2。

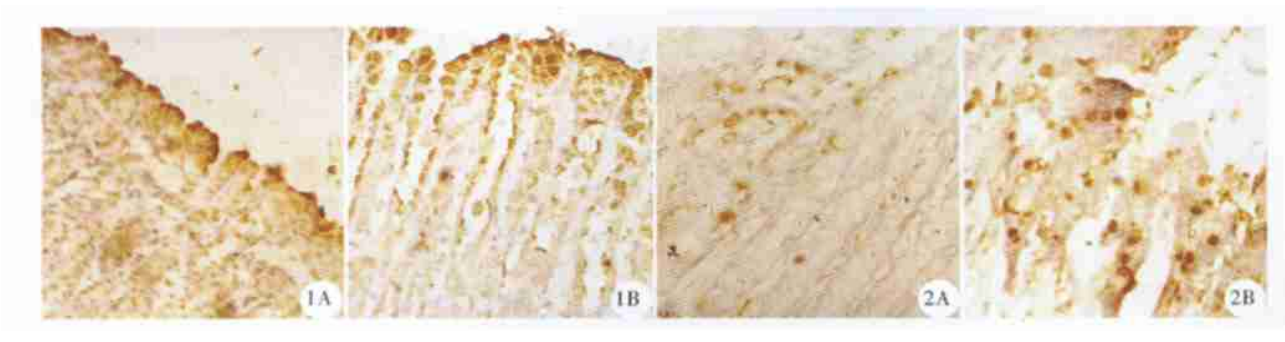


图 1 大鼠失血性休克复苏后 1 h 胃粘膜 Fos 阳性细胞分布 (S-P× 200)

Fig 1 Distributing of gastric mucous membrane Fos positive reactive cells 1 h posterior to hemorrhagic shock resuscitation in rats (S-P× 200)

A: SS group, Fos positive reactive cells distributing at the peak of gastric mucous membrane, with less amount and weak positive reaction; B: HS group, Fos positive reactive cells distributing at the peak of gastric mucous membrane with more amount and strong positive reaction

图 2 大鼠失血性休克复苏后 1 h 胃粘膜 Jun 阳性细胞分布 (S-P× 400)

Fig 2 Distributing of gastric mucous membrane Jun positive reactive cells 1 h posterior to hemorrhagic shock resuscitation in rats (S-P× 400)

A: SS group, Jun positive reactive cells with less amount and weak positivel reaction; B: HS group, Jun positive reactive cells with more amount and strong positive reaction

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

3 讨论

由于蟾蜍红细胞大小为 22.0 μm× 15.5 μm，既不能通过毛细血管，又不会栓塞较大的微动脉，不至影响局部血流量。故我们应用同位素标记蟾蜍红细胞，测定胃血流量，结果表明失血性休克复苏后，虽然经回输全部失血及等量生理盐水，胃血流量仍显著降低，与文献[5]结果一致。同时胃 pHi 显著下降，胃 pHi 与危重病人的预后密切相关[6,7]。我们还证实，在失血性休克复苏后 1～4 h，存在液体胃排空明显减慢，与烧伤等的结果[8]一致；且有胃粘膜的广泛的缺血/再灌注损害，包括 MDA 含量升高、Na^+-K^+-ATPase 活性抑制，以及胃粘膜的组织学和超微结构改变。胃动力下降及胃粘膜的各种损害是胃血流量下降的结果，与休克后胃粘膜病变的发生相关。反过来，在扩容、血压回升后，胃动力障碍和胃粘膜损害也是导致胃血流量不能随着血压的恢复而恢复的原因之一。积极纠正失血性休克复苏后的胃损害，包括促进胃动力恢复，对提高复苏效果有重要意义。

有关胃肠道即早基因(Immediate early gene, IEG)的研究较少。正常情况下肌层中各 IEGs 产物的基础免疫反应性低，粘膜层则高，尤其在绒毛顶端。大鼠小肠缺血 10 min 后，IEGs 无变化；缺血 30 min 后再灌注，则 IEGs mRNA 快速、短暂表达，c-jun 升高 2 倍，c-fos 升高 12 倍[9]。本研究结果表明，失血性休克复苏后，胃粘膜 Fos 和 Jun 免疫反应性表达面积明显增加，且其阳性反应细胞数显著增加。我们认为，失血性休克复苏后可导致胃缺血/再灌注损害后，胃粘膜 Fos 和 Jun 免疫反应性与损害程度呈正比，提示 Fos 和 Jun 蛋白可能在失血性休克复苏后维持组织完整性等方面起作用[10]，在失血性休克复苏后胃肠道病理生理改变中起中重要作用。

(致谢：衷心感谢第三军医大学高原军事医学系病理生理学教研室刘明福老师在脏器血流量测定中给予的指导和帮助，感谢野战外科研究所第六研究室赖西南教授和王丽丽技师在 MDA、Na^+-K^+-ATPase 测定中的指导。)

参考文献：

[1] Vincent J L. Prevention and therapy of multiple organ failure[J]. World J Surg, 1996, 20(4): 465－470.
[2] 王景贤，于占久，靳怀真，等. ^{51}铬-和^{99m}锝-生物微球法测量动物器官局部血流量[J]. 中国药理学报，1985, 6(4): 248－251.
[3] 蒋建新，陈惠孙，刁有芳，等. 失血性休克复苏后内源性内毒素在组织及循环中的分布及其对器官功能的影响[J]. 解放军医学杂志，1998, 23(2): 131－132.
[4] Montgomery A, Hartmann M, Jonsson K, *et al*. Intramucosal pH measurement with tonometers for detecting gastrointestinal ischemia in porcine hemorrhagic shock[J]. Circ Shock, 1989, 29(3): 319－327.
[5] Krejci V, Hiltebrand L, Banic A, *et al*. Continuous measurements of microcirculatory blood flow in gastrointestinal organs during acute haemorrhage [J]. Br J Anaesth, 2000, 84(4): 468－475.
[6] Uribe A. Indomethacin inhibits cell proliferation in the oxyntic epithelium of the rat[J]. Prostaglandins, 1993, 45(1): 15－26.
[7] Hatherill M, Tibby S M, Evans R, *et al*. Gastric tonometry in septic shock [J]. Arch Dis Child, 1998, 78(2): 155－158.
[8] Alican I, Coskun T, Yegen C, *et al*. The effect of thermal injury on gastric emptying in rats[J]. Burns, 1995, 21(3): 171－174.
[9] Pujic Z, Matsumoto I, Yamataka A, *et al*. Induction of immediate－early, ornithine decarboxylase and antizyme gene expression in the rat small intestine after transient ischaemia[J]. Life Sci, 1996, 58(25): 2 289－2 296.
[10] Matsumoto K, Saitoh K, Koike C, *et al*. Differential expression of fos and jun family members in the developing chicken gastrointestinal tract[J]. Oncogene, 1998, 16(12): 1 611－1 616.

(编辑 薛国文)

文章编号：1000-5404(2002)02-0191-01

个案与短篇

腭裂术中并发颊脂体疝 3 例

Three cases of cleft palate operation complicated with herniation of buccal adipose body

史文进，孙 远，杨 军，李慧增 (第三军医大学附属西南医院口腔科，重庆 400038)

我科自 1989 年 9 月以来收治的腭裂患者中，术中曾合并发生 3 例颊脂体疝，现报告如下。

1 临床资料

3 例患者均为幼儿，男 2 例，女 1 例，年龄均在 5～6 岁之间。术前诊断均为先天性腭裂，其中单侧Ⅲ度 2 例，Ⅱ度 1 例。术前检查无手术禁忌症，口腔粘膜无破溃，无明显炎症。患儿均在经口腔气管内插管全麻下行腭裂根治术。术中采用钳式开口器，保持大张口位。术中在上颌结节后方作松弛切口时，突然发现从切口内鼓出约鸽蛋大小光滑黄白色肿物，呈椭圆形，有蒂，与周围粘膜无连结，质软，有包膜。探查发现来源于创口内颊部，与深部的颊脂肪垫相连。1 例平蒂切除疝出物，2 例即刻手法复位，创口用碘纺纱团压迫。术后 2 周去除碘纺纱团，见创口均正常愈合，1 例术后半年信访无复发。

2 讨论

颊脂体疝一般均为外伤引起[1]，对局部解剖不熟悉，有时易

(下转 193 页)

作者简介：史文进(1966－)，男，陕西省安康市人，硕士，副主任医师，副教授，主要从事口腔颌面部缺损的修复与整形方面的研究，发表论文 11 篇。电话：(023)68754406

收稿日期：2001-07-12；修回日期：2002-01-07

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