DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.09.029
第23卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 9
2001年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2001


文章编号:1000-5404(2001)09-1065-03

论著

# 内源性一氧化氮与胃电节律失常关系的实验研究

龙庆林,王振华 (第三军医大学附属西南医院全军消化专科中心,重庆 400038)

提 要:目的 探讨内源性一氧化氮与胃电节律失常的关系。方法 36只大鼠分为:①正常对照组(12只);②胃电节律失常模型组(8只);③白芍组(8只)和④药物作用组(8只)。①②③组喂养4周后,先记录胃电、再行胃窦肌间神经丛氮能神经染色,药物组观察注射不同剂量一氧化氮合酶抑制剂左型精氨酸甲酯(L-NAME)后的胃电变化。结果 药物组大鼠注射大剂量L-NAME后出现了明显的胃电节律失常,异常节律指数(ARI)明显增加;与正常对照组相比,模型组大鼠胃电节律失常和胃窦肌间神经丛的氮能神经含量明显增加,异常节律指数(ARI)和慢波频率变异系数(*CV*)显著增加;白芍组胃电节律失常和胃窦肌间神经丛的氮能神经含量与正常组相似,异常节律指数(ARI)和慢波频率变异系数(*CV*)变化不明显。结论 内源性一氧化氮增多或过少均可导致明显的胃电节律失常。

关键词:胃电节律失常;一氧化氮
中图法分类号:R322.44;R338.8;R914.3 文献标识码:A

# Experimental study on the relationship between endogenous nitric oxide and gastroelectric rhythm in rats

LONG Qing-lin, WANG Zhen-hua (Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical Univisity, Chongqing 400038, China)

**Abstract:** Objective To explore the relation ship between endogenous nitric oxide and gastroelectric rhythm. Methods A total of 36 Wistar rats were randomly divided into four groups: ①control group, ②gastroelectric allorhythmia model group, ③Paeonia lactifloro pall (PLP) group, and ④drug treated group. In the rats of control group, model group and PLP group, electrogastrogram were recorded and nitrergic nerves in the myenteric plexus of rat antrum were investigated; electrogastrogram was recorded after normal rats were injected intrapertoneally with different dosage of N (omega)-nitro-arginine methyledter (L-NAME). Results ① In model group, the gastroelectric allorhythmia and the content of nitrergic nerves in the myenteric plexus of rat antrum increased. ② In PLP group, the abnormal rhythm index (ARI), the coefficient of variation of slow wave frequency (*CV*) and the content of nitrergic nerves in the myenteric plexus of rat antrum decreased. ③ Higher dosage of L-NAME, increased ARI and *CV* were gastro-electric allorhythmia significantly. Conclusion Increase or decrease of endogenous nitric oxide can increase gastroelectric allorhythmia.

**Key words:** electrogastrography; nitric oxide

胃电节律失常在临床上十分常见,但其发病机制不明。有实验表明:一氧化氮(NO)是胃肠道中非胆碱能非肾上腺素能(Non-adrenergic-non-cholinergic, NANC)神经终末抑制性递质[1],它在胃肠道起非常重要作用。本实验研究内源性一氧化氮对胃电节律的影响,探讨胃电节律失常发生机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

健康成年Wistar大鼠36只,体重250~360 g,分为4组:正常对照组:12只,正常进食、饮水;模型组(Model):8只,按单日进食、双日禁食方法饲养4周,建立大鼠胃电节律失常模型[2];白芍治疗组:8只,按模型组方法喂养4周,第3~4周予以1 kg/L白芍浓煎液(10 ml/kg)饮用,每日1次;药物作用组:8只,正常进食、饮水。

### 1.2 方法

1.2.1 大鼠麻醉后,胃窦浆膜下埋植电极。记录胃电图,每次记录60 min,由计算机采集并分析采集的胃电图信号,计算出每组动物慢波的频率、异常节律指数(Abnormal rhythm index, ARI)和慢波频率变异系数(*CV*)。

1.2.2 胃电节律失常分型 根据本实验记录正常对照组大鼠胃电慢波频率(4.52±0.93次/min),将慢波频率正常范围定为2.70~6.34次/min。根据胃电节律失常定义,参考胃电频谱分析方法[3],将大鼠胃电节律失常分为两型:胃动过速:慢波频率≥6.34次/min,持续时间≥1 min;胃动过缓:慢波频率≤2.70次/min,持续时间≥1 min。

1.2.3 药物对大鼠胃电活动影响 胃电记录方法同前,每只大鼠先观察基础胃电20 min后,腹腔注射不同剂量L-NAME(12.5、25、37.5 mg/kg)后记录胃电图。每天每只大鼠应用一种剂量药物。

1.2.4 正常对照组、模型组及白芍组记录胃电图后将大鼠全胃游离,结扎十二指肠球部并将结扎远端剪掉,在食道下段剪断食道,胃内灌注适量4%多聚甲醛(PFA)-0.1 mol/L磷酸缓冲液,使胃扩张,最后结扎食道。将胃放入上述固定液中8~12 h(4 ℃)后再放入30%蔗糖溶液中8~12 h(4 ℃)。将胃窦剪下,去掉幽门环,沿胃窦纵轴剪开胃窦后,将胃窦剪成0.4 cm×0.8 cm大小的组织块,0.01 mol/L磷酸缓冲生理盐水液(PBS)漂洗3次,用钟表镊轻轻刮去粘膜层和粘膜下层,再撕掉斜肌层,挑去附于纵肌之上的环肌即得到附于纵肌之上的肌间神经丛。铺片标本采用还原型尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸脱氢酶(NADPH-d)组化法显示氮能神经。再进行图像定量分析,计算阳性神经的平均面密度。

### 1.3 统计学处理

数据采用$\bar{x}\pm s$表示。采用单因素方差分析。

作者简介:龙庆林(1970-),男,湖南省茶陵县人,博士研究生,主治医师,讲师,主要从事消化道动力学方面的研究,发表论文9篇。电话:(023)65428751

收稿日期:2001-05-14;修回日期:2001-07-30

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

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠胃电参数变化,见表 1

表 1 各组大鼠胃电参数变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Changes of electrogastric parameters of rats($\bar{x}\pm s$)

| Group | $n$ | Frequency(min$^{-1}$) | $CV$(%) | ARI(%) |
|---|---|---|---|---|
| Control | 12 | 4.52±0.93 | 17.24±5.77 | 9.53±8.50 |
| Model group | 8 | 4.29±1.16 ** | 25.68±6.24 ** | 21.81±9.09 ** |
| PLP group | 8 | 4.4 ±0.8 # | 17.5 ±2.8 # | 6.4 ±4.8 # |
| Drug group | 8 | | | |
| L-NAME(12.5 mg/kg) | | 4.87±1.14 ** | 19.39±4.47 | 14.49±6.44 |
| L-NAME(25.0 mg/kg) | | 5.03±1.07 ** | 20.60±3.58 | 15.25±9.85 |
| L-NAME(37.5 mg/kg) | | 4.75±1.20 * | 21.88±5.71 | 17.38±6.25 * |

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* control; #: $P<0.05$ *vs* model group

正常组大鼠慢波多数呈正弦波形,少数有切迹而呈双峰型,振幅较整齐,频率为 2.70~6.34 次/min,平均频率最大相差 1 次/min。慢波频率变异系数($CV$)为 17.24%,异常节律指数(ARI)为 9.53%,节律失常持续时间短暂,呈一过性。

模型组大鼠慢波波形不规则,振幅不齐,出现了明显的胃电节律失常,ARI 和慢波频率 $CV$ 分别高达 21.81%和 25.68%,均显著高于正常对照组。

白芍组大鼠胃肌电与正常组相似,见图 1。慢波频率 $CV$ 为 17.5%,ARI 为 6.4%,均与正常对照组相近,明显低于模型组。



图 1 白芍组大鼠胃电图

Fig 1 Electrogastrogram of rats of PLP group

L-NAME 能使正常大鼠慢波频率 $CV$ 和 ARI 增加,且异常节律指数与注射剂量呈正相关,但小剂量 L-NAME(12.5 mg/kg 以及 25 mg/kg)注射后,慢波频率 $CV$ 和 ARI 增加并不明显,大剂量注射时 ARI 高达 17.38%,显著高于正常组,但 $CV$ 增加并不明显,见图 2。



图 2 大鼠注射 L-NAME 37.5 mg/kg 后的胃电图

Fig 2 Electrogastrogram of rats after injected with 37.5% mg/kg L-NAME

### 2.2 大鼠胃窦肌间神经丛氮能神经的分布与定量

光镜下,正常大鼠胃窦肌间神经丛中的氮能神经纤维呈"树根状"分布,神经节粗大,见图 3。其中可见深浅不一、大小不等的蓝色神经元及突起,节间束可见散在神经元,神经元细胞呈卵圆型或锥形,细胞核不着色。通常每个神经元胞体有一条或多条长突起伸入节间束,部分神经元胞体相互融合,以及神经元的短突彼此连接,构成神经元回路。此外还可见神经元的短突末端分叉,投射到附近神经元的胞体上。白芍组大鼠胃窦肌间神经丛中氮能神经纤维分布与正常组类似,见图 4。模型组大鼠胃窦肌间神经丛中氮能神经纤维及神经节增粗增大,可见神经元胞体融合,见图 5。图像分析显示:模型组大鼠胃窦肌间神经丛氮能神经平均面密度为(21.78±5.62)%,显著高于正常对照组的(13.80±5.77)%。而白芍组氮能神经平均面密度为(11.5±3.6)%,与正常对照组相类似,明显低于模型组。

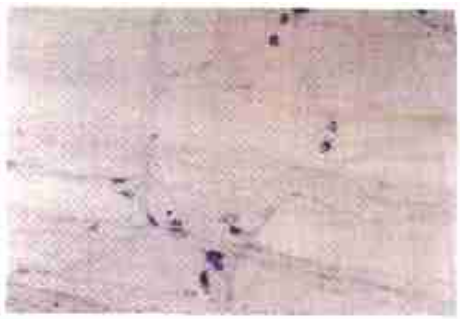


图 3 正常大鼠胃窦肌间神经丛氮能神经 NADPH-d 组化染色 (× 100)

Fig 3 Nitrergic nerves in the myenteric plexus of normal rat antrum (NADPH-d× 100)

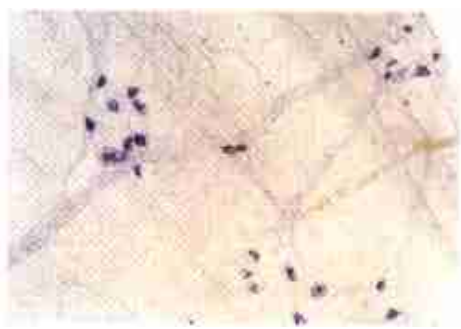


图 4 白芍组大鼠胃窦肌间神经丛氮能神经 NADPH-d 组化染色 (× 100)

Fig 4 Nitrergic nerves in the myenteric plexus of rat antrum in PLP group (NADPH-d× 100)

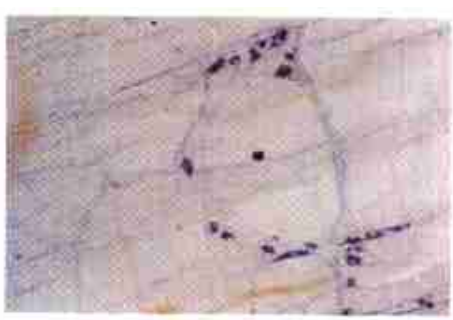


图 5 模型组大鼠胃窦肌间神经丛氮能神经 NADPH-d 组化染色 (× 100)

Fig 5 Nitrergic nerves in the myenteric plexus of modd rat antrum (NADPH-d× 100)

## 3 讨论

一氧化氮(NO)是胃肠道中非胆碱能非肾上腺素能(NANC)神经终末抑制性递质,其阳性神经元遍布整个消化道。对消化道分泌吸收、平滑肌功能、胃肠道运动、胃排空以及胃肠的电生理均有重要的作用。

我们通过实验发现:隔日禁食方法喂养 4 周后,模型组大鼠出现了明显的胃电节律紊乱,异常节律指数平均高达 21.81%,慢波频率变异系数也增高,平均为 25.68%,胃窦肌间神经丛内氮能神经也明显增多,均显著高于正常对照组($P<0.05$),提示内源性一氧化氮增加可促使胃电节律失常发生。进一步实验发现胃

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

电节律失常大鼠经白芍治疗后氮能神经含量恢复正常后,胃肌电也与正常组相似,慢波频率变异系数为17.5%,异常节律指数为6.4%,均与正常对照组相近,明显低于模型组,更证实了胃电节律失常发生与胃窦肌间神经丛氮能神经含量改变有关,白芍通过使氮能神经和胆碱能神经含量恢复正常纠正胃电节律失常。陈代陆等给模型组大鼠注射 L-NAME(25 mg·kg$^{-1}$·d$^{-1}$, 2/d)治疗4周后,胃电节律失常发生率明显减低,异常节律指数和慢波频率变异系数均明显减少,进一步说明内源性一氧化氮增加可促使胃电节律失常发生。

以前曾有实验[4]发现给正常大鼠注射 20mg/kg 一氧化氮合酶抑制剂 L-NAME 后,慢波频率变异系数明显减少,胃电节律异常指数也有下降的趋势,认为L-NAME 能使慢波趋于整齐。但本实验发现 L-NAME 能使正常大鼠异常节律指数增加,且异常节律指数与注射剂量呈正相关,但小剂量 L-NAME(12.5 mg/kg 以及 25 mg/kg)增加并不明显, L-NAME 剂量加大至 37.5 mg/kg 后,胃电节律失常增加,异常节律指数显著增高。故我们认为内源性一氧化氮过少也与胃电节律失常发生有关。

参考文献:

[1] Rodeberg D A, Chaet M S, Bass R C, *et al*. Nitric oxide: an overview [J]. Am J Surg, 1995, 170(2): 292-303.
[2] 龙庆林, 王振华, 任文海. 白芍对大鼠胃电节律失常的影响机制[J]. 世界华人消化杂志, 2001, 9(1): 109-110.
[3] Chen J, Mccallum R W. EGG parameters and their clinical significance. In: J Chen. Mccallum. Electrogastrography: principles and applications [M]. New York: Raven Press, 1994. 49.
[4] 黄茂涛, 王振华, 陈代陆. 氮能神经在大鼠胃电节律失常中的作用[J]. 中华消化杂志, 1997, 17(增刊): 61-62.

(编辑　陈聪连)

文章编号: 1000-5404(2001)09-1067-01

# 个案与短篇

## 维生素 D 中毒致肾钙质沉着 1 例

## A case report of nephrocalcinosis caused by vitamin D intoxication

吴晓云, 熊　丰　(重庆医科大学儿童医院内科, 重庆 400014)

患儿, 男, 4 月, 因反复低热 1 月余入院。1 月余前反复低热, 伴精神、食欲差, 恶心、呕吐, 症状加重 1 周, 烦躁、无力, 不能抬头及认人, 无惊厥、昏迷等表现, 当地医院抗感染、对症治疗无效。查体: 体温: 38 ℃, 血压: 11.31/7.98 kPa (85/60 mmHg), 心率: 135 次/min, 呼吸: 40 次/min。神清, 反应差, 不能竖颈, 前囟 0.5 cm×0.5 cm, 稍饱满, 枕骨骨缝重叠, 四肢肌张力降低, 腱反射减弱。拟诊"发热待查, 脑发育不全?"。追问病史, 患儿于生后半月因多汗疑佝偻病曾用维生素 $D_3$ 60 万U im 每月 1 次, 连用 3 次, 1 周前给予葡萄糖酸钙静滴, 每天 1 g, 连用 5 d。化验检查: 血钙 3.37 mmol/L, 血钾 2.9 mmol/L, 尿钙阳性, 24 h 尿钙定量为 1.67 mmol, 尿密度固定为 1.005, 血 1, 25-$(OH)_2D_3$ 浓度显著增高达 131.43 mmol/L(正常值 17.25~63.03 mmol/L)。X 线片检查见头颅人字缝周骨密度增强, 双股骨远端及胫腓骨近远端临时钙化带增厚致密> 1 mm。心电图提示高钙血症及心肌缺血。双肾 B 超见实质回声增强, 肾乳头回声增强似花瓣状, 提示肾钙质沉着。诊断维生素 D 中毒。采取避免日光照射、低钙饮食、补液、利尿、激素等综合性治疗, 3 周后患儿全身情况基本恢复, 尿钙阴性, 血钙为 2.43 mmol/L。3 月后头颅及长骨摄片正常, 5 月后血 1, 25-$(OH)_2D_3$ 浓度降为 63.54 mmol/L。肾脏 B 超随访 5 年肾钙质沉着无明显变化, 肾功能及尿常规正常。

### 讨论

维生素 D 中毒系医源性疾病, 主要由于防治佝偻病时过量使用维生素 D 所致。婴儿每天摄入维生素 $D_3$ 2 万U 数周即可出现中毒症状。1, 25-$(OH)_2D_3$ 体内浓度过高时, 肠吸收钙、磷增加致高钙血症, 在降钙素的调节下钙沉积于骨及其他脏器, 形成钙化灶, 引起功能障碍。中毒早期临床表现无特异性, 不易被重视。中毒严重时出现惊厥、血压升高、心律不齐、多尿、血尿、蛋白尿、脱水及酸中毒, 易误诊。诊断依据: 长期或过量应用维生素 $D_3$ 史, 血钙、尿钙、血 1, 25-$(OH)_2D_3$ 浓度增高及长骨摄片的特征性改变, 脑、心、肺、肝、肾等脏器有无功能损害及钙化灶形成。治疗重点在于抑制钙的摄取、吸收及促进钙的排泄, 临床症状多逐步消失。远期预后以肾损害为突出, 包括持续蛋白尿, 高钙血症性肾病, 急、慢性肾功能衰竭, 间质性肾炎, 肾钙质沉着等[1]。本例连续使用大剂量维生素 D 致中毒, 引起肾钙质沉着, 随访 5 年无明显变化, 因钙质沉着在皮髓质交界处可不影响肾功能, 但是否引起其它肾脏后遗症还需进一步随访。B 超在肾钙化早期诊断的特异性和敏感性均优于 CT 和 X 线片[2], 可作为诊断和随访肾钙化的最佳选择。

关键词: 维生素 D 中毒; 肾钙质沉着
中图法分类号: R595.4　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 沈菲菲, 舒子正, 朱姿英, 等. 维生素 D 中毒合并高钙血症性肾病 1 例[J]. 中华内分泌代谢杂志, 1999, 15(3): 163.
[2] Nayir A, Kadioglu A, Sirin A, *et al*. Causes of increased renal medullary echogenicity in Turkish children[J]. Pediatr Nephrol, 1995, 9(6): 729-733.

(编辑　冷怀明)

作者简介: 吴晓云(1966-)女, 重庆市人, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事儿童心力衰竭治疗方面的研究。电话: (023) 63632756-3483
收稿日期: 2001-07-03; 修回日期: 2001-08-15

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