DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.09.014

内毒素血症大鼠肠道 P物质的变化及意义

史洪涛* 冷恩仁 桂先勇 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所消化内科) 重庆, 400042

提 要 目的: 探讨 P物质(SP)在内毒素血症大鼠肠蠕动变化中的作用。方法: Wistar大鼠分为对照组、内毒素血症(LPS)组。① 采用活性炭标记法观察内毒素血症状态下肠道传输速率变化;② 观察内毒素血症后 3、6、12 h大鼠血浆、空肠组织匀浆 SP含量变化及空肠免疫组化 SP阳性神经在肠道分布及内毒素血症后的变化。结果:① 内毒素血症后小肠传输速率加快;② 内毒素血症后血浆 SP变化不显著,空肠组织 SP含量下降,空肠 SP阳性神经纤维及产物表达明显减少,且与空肠组织 SP含量变化相一致。结论: 内毒素血症后肠道传输功能发生变化,可能与肠神经递质 SP改变有一定关系。

关键词 P物质;内毒素血症;肠道传输
中图法分类号 R631; R977.6

肠源性内毒素血症是多器官功能衰竭的重要发病因素之一,而内毒素血症状态下肠蠕动变化及肠道神经内分泌系统的研究甚少, P物质(Substance P, SP)存在于人和哺乳类动物的整个胃肠道,具有增加血管通透性和调节肠道运动等十分重要的生物活性。本研究利用动物实验,观察内毒素血症状态下肠道传输速率变化及肠神经递质 SP改变,为肠源性内毒素移位的发生机制提供新的依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选用健康成年(10~12周龄)雄性 Wistar大鼠 88只,体重(220±30) g,随机分组,实验前禁食 12 h。大肠杆菌脂多糖(*Lipopolysaccharide* LPS 0111 B4)购自美国 Sigma公司。SP放射免疫测试药盒购自北京海科锐生物技术中心。SP多克隆抗体为北京中山生物公司进口分装。

1.2 方法

1.2.1 肠道传输速率研究 采用活性炭标记法,实验动物随机分为 2组,每组 11只。对照组: 腹腔注射生理盐水, 1 ml/kg;内毒素血症(LPS)组: 腹腔注射 LPS, 10 mg/kg 大鼠灌服 5%活性炭-2%羟甲基纤维素钠混悬液 0.4 ml, 30 min后处死动物,开腹取全部胃肠,量取自幽门括约肌至色素最前端及盲肠距离,以二者之百分比为小肠推进比。

1.2.2 内毒素血症模型建立及检测指标 以 1%戊巴比妥钠 30 mg/kg行大鼠腹腔注射麻醉后,取仰卧位,切开颈部皮肤,分离皮下组织,显露颈外静脉,作颈外静脉插管。LPS组: 静脉一次性注射 LPS, 10 mg/kg;对照组: 静注等量生理盐水。于 3、6、12 h后处死动物,穿刺取心脏血,分离血浆,并取空肠标本。每组 33只动物,每个时相点 11只。

大鼠血浆、空肠组织 SP放射免疫测定以北京海科锐生物技术中心提供的 SP-RIA-Kit整套试剂测定;空肠石蜡切片 SP免疫组化染色。

1.2.3 图像分析 SP免疫组织化学切片采用 Vander-winden[1]方法选取同一染色条件下不同时相点切片,每时相点 6张,于 200倍光镜下选 5个视野观察粘膜、粘膜下层、环肌层、肌间神经丛中阳性细胞、纤维及产物的染色强度、分布状况,进行判断、评分。标准: ⅲ特别密集(4分), ⅲ密集(3分), ⅱ中等(2分), + 稀疏(1分), - 阴性(0分)。

1.3 统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$表示,采用微软 Excel统计分析程序进行单因素方差分析及 t检验。

2 结果

2.1 内毒素血症大鼠肠道传输速率变化

内毒素使小肠传输速率加快($P<0.01$),见表 1。

表 1 肠道传输速率变化($n=11$)

Tab 1 The changes of the rate of intestinal transit($n=11$)

Group	Total length (cm)	Propulsive length (cm)	Propulsive ratio (%)
LPS	98.28±7.27	66.40±4.43	67.56±2.49*
Control	98.17±6.89	55.86±5.26	56.82±2.30

*: $P<0.01$ *vs* control

2.2 内毒素血症大鼠血浆及空肠完整肠管 SP含量变化

内毒素血症 3、6、12 h,血浆 SP含量与对照组比较无明显差异,空肠组织 SP含量明显低于对照组($P<0.01$),并呈下降趋势。见表 2。

* 史洪涛,男,32岁,主治医师,讲师,硕士。

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

表 2 空肠组织 P物质含量变化(pg/mg,n= 33)

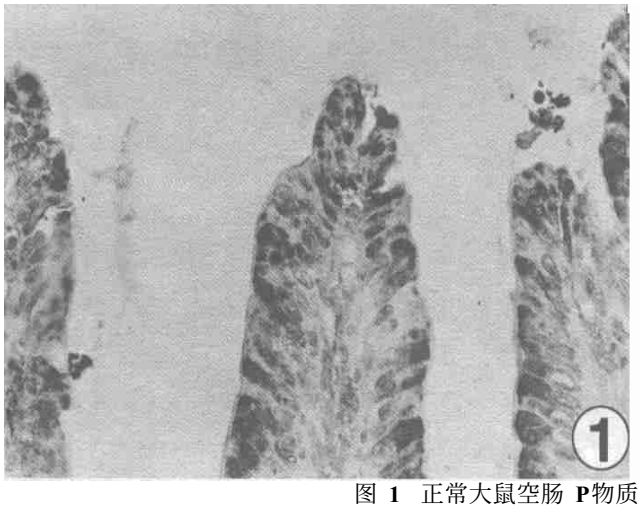
Tab 2 The content of substance P in jejunal tissue(pg/mg,n= 33)

Group	3 h	6 h	12 h
LPS	39.75± 4.31*	15.66± 2.61*	11.89± 3.27*
Control	61.53± 6.09	59.08± 4.05	60.12± 6.43

*: P <0.01 *vs* control

2.3 内毒素血症大鼠空肠 SP免疫组化染色结果

SP免疫组化染色阳性产物为棕色沉淀,分布于空肠绒毛粘膜上皮、粘膜下层、肌间神经丛。对照组(6 h)大鼠空肠绒毛内可见丰富的 SP阳性神经纤维存在,多数沿绒毛纵轴走行,靠绒毛粘膜上皮侧较多,肠肌间神经丛亦可见多数阳性神经元,见图 1 内毒素血症后空肠绒毛内及肠肌间神经丛表达明显减少,见图 2 表 3



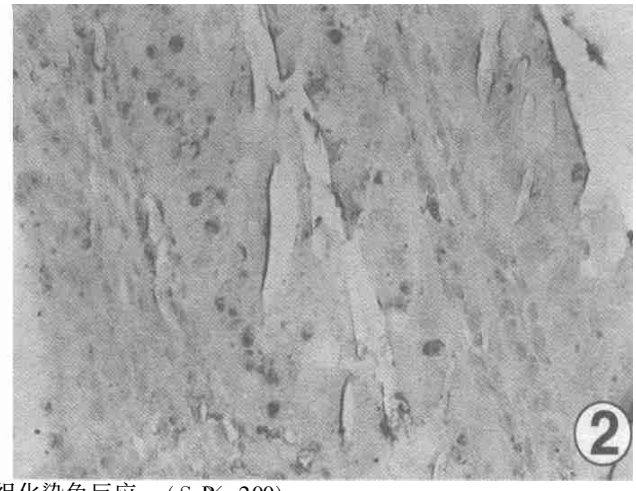


图 1 正常大鼠空肠 P物质免疫组化染色反应 (S-P× 200)

Fig 1 Immunohistochemical staining of substance P in jejunum of control rat (S-P× 200)

图 2 内毒素血症(3 h)大鼠空肠 P物质免疫组化染色反应 (S-P× 200)

Fig 2 Immunohistochemical staining of substance P in jejunum of rat during endotoxemia (3 h) (S-P× 200)

表 3 空肠 P物质免疫组化染色积分结果(n= 11)

Tab 3 The changes of immunoreactive substance P in jejunum (n= 11)

Group	Mucous	Submucous	Circular muscle	Myenteric plexus
Control	3.68± 0.29	2.43± 0.30	2.61± 0.32	3.27± 0.26
LPS (3 h)	2.05± 0.18*	1.34± 0.22*	1.43± 0.20*	2.06± 0.26*
LPS (6 h)	1.28± 0.14*	1.18± 0.24*	1.08± 0.18*	1.34± 0.24*
LPS (12 h)	1.17± 0.13*	1.14± 0.20*	1.06± 0.12*	1.33± 0.24*

*: P <0.01 *vs* control

3 讨论

本实验通过观察内毒素对清醒状态下大鼠肠道传输功能影响,显示内毒素可加快大鼠小肠传输推进力,与 Cullen等[2]结果相一致。认为肠内容物传输的加快及内毒素对肠道分泌机制的作用可能导致腹泻的发生,这种胃肠动力和传输功能的紊乱可增加细菌的再生和移位,引发多器官功能衰竭的发生。

胃肠神经肽和它们的受体广泛地分布于肠神经系统和胃肠道平滑肌细胞中,参与胃肠动力功能的调控。外界刺激因素的强弱可直接影响到组织内肽的生成、释放与降解间的平衡关系,这种平衡关系决定了组织中肽含量的高低[3]。内毒素血症作为一种强烈的刺激状态可引起神经内分泌系统变化,表现为神经内分泌激素释放的增多或减少,进而影响局部或全身其它系统的功能。SP存在于人和哺乳类动物的整个胃肠道中,具有增加血管通透性和调节肠道运动等十分重要的生物活性,SP的神经末梢是一类具有双向传递功能的感觉神经末梢,它既向中枢传递信号,又可在局部释放物质,发挥重要的递质和调质功能。SP亦是一种感受伤害性物质,受刺激可从神经末梢释放,促进炎症损伤,影响免疫功能。本实验中,内毒素血症后,空肠组织 SP含量下降而血浆 SP含量变化不显著,空肠绒毛内 SP阳性产物明显减少,且与肠管内 SP含量变化相一致,呈下降趋势。提示内毒素血症状态下,空肠肠壁内 SP能神经末梢释放耗竭,使空肠组织局部 SP产生减少,空肠完整肠管 SP含量取决于肠壁内 SP能神经中的 SP含量,局部 SP的释放被认为与肌电复合波紊乱、引起不规律的峰电位活动有关[4],亦说明内毒素血症后肠道内 SP含量下降与肠运动功能紊乱有关。

肠道是多器官功能衰竭发生的"始动器"。Hu等[5]提出:肠道神经内分泌系统可能是应激状态下的此"始动器"的"起始因子"。神经内分泌的过度反应是引起肠粘膜损害、肠源性内毒素移位的一个因素,对于内毒素血症状态下,肠道神经内分泌的深入研究,有助于更好

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

地阐明肠道微生物移位及多器官功能衰竭的发生和发展,而且对临床上防治这两种病理过程的发生,可能提供有效的手段,其研究前景广阔。

参考文献

1 Vanderwinden J M, De Leat M H, Schiffmann S N, *et al*. Nitric oxide synthase distribution in the enteric nervous system of Hirschsprung's disease. Gastroenterology, 1993, 105(4): 969

2 Cullen J J, Caropreso D K, Ephgraveks, *et al*. The effect of endotoxin on canine jejunal motility and transit. J Surg Res, 1997, 67(1): 54

3 韩济生. 神经肽研究中的若干问题. 生理科学进展, 1988, 19(2): 173

4 Lordal M, Johansson C, Hellstrom P M. Myoelectric pattern and effects on small bowel transit induced by the tachykinins neurokinin A, neurokinin B, substance P and neuropeptide K in the rat. J Gastrointest Motil, 1993, 5(1): 33

5 Hu D, Chan B, Lin S, *et al*. Changes in substance P in the jejunum of rats after burns. Burns, 1996, 20(6): 463

(收稿: 1998-11-10;修回: 1999-03-22)

(编辑　冷怀明)

Changes and significance of substance P in intestinal tract after endotoxemia in rats

Shi Hongtao, Neng Enren, Gui Xianyong (Department of Gastroenterology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042)

Abstract **Objective**: To determine the role of substance P (SP) in the changes of intestinal transit after endotoxemia. **Methods**: ① The effects of *E. coli lipopolysaccharide* (LPS) on the rate of intestinal transit were investigated in Wistar rats that were given LPS (10 mg/kg) intraperitoneally. ② Tissue and serum levels of SP were measured at the 3rd, 6th and 12th hour after endotoxemia. Immunohistochemical method was used to evaluate the effects of endotoxemia on the distribution of SP-positive nerve fibers and product in the jejuna. **Results**: ① Intestinal transit was increased after endotoxemia. ② The tissue level of SP was decreased while that in plasma was not. **Conclusion**: The changes in intestinal transit might be associated with those of SP.

Key words substance P; endotoxemia; intestinal transit; rat

(上接 650页)

眼压: 右眼 18 mm Hg,左眼 16 mm Hg　B超示: 右眼鼻侧玻璃体腔内见一 14.5 mm× 11.0 mm边界清,壁薄的椭圆型囊性占位,伴下方视网膜脱离。眼底荧光造影及脉络膜造影均未见异常。于 1998年 7月 10日在局麻下行右眼玻璃体切割,视网膜复位, C3F8气填充术。术后 6月复查右眼矫正视力 0.4,视网膜复位好。

2 讨论

视网膜脱离伴有视网膜囊肿临床上并不多见,国内文献报道较少[1,2],故在临床工作中容易引起误诊。视网膜囊肿是在囊样变性基础上发展的,好发于年轻人,多存在于有陈旧性视网膜脱离的眼中。不合并视网膜脱离的孤立的视网膜囊肿非常少见。

对于视网膜囊肿的诊断,临床上应与单纯视网膜脱离相鉴别,而 B超有极其重要的诊断和鉴别诊断价值。视网膜脱离表现为玻璃体腔内"-"或"V"型强回声光带,其后为无回声积液;而视网膜囊肿表现为玻璃体腔内囊样薄壁椭圆型光带,之间为无回声积液。关于手术治疗视网膜脱离合并囊肿,过去报道中提出可行囊肿直接穿刺,放出内容液,并且行巩膜冷凝外加压,以达到视网膜复位的目的。还有人认为只要手术封闭裂孔,视网膜复位,囊肿可自行消失,不需做特殊处理,预后良好[3]。但对于伴有视网膜脱离的巨大囊肿,采用外加压手术和直接穿刺手术,视网膜均难以复位,囊肿难以自行吸收。故本病例采用了玻璃体切割术来治疗视网膜巨大囊肿,效果很好。

关键词　视网膜囊肿;视网膜脱离

中图法分类号　R730.269; R774.13

参考文献

1 魏景文,邹远辉. 视网膜脱离合并视网膜囊肿. 中华眼科杂志, 1984, 20(2): 109

2 郭荣珍,魏景文. 视网膜脱离合并视网膜囊肿. 中华眼底病杂志, 1986, 2(2): 101

3 云　波,魏文斌. 视网膜脱离合并视网膜囊肿 18例临床分析. 中华眼底病杂志, 1995, 11(2): 90

(收稿: 1999-04-07;修回: 1999-07-28)

(编辑　薛国文)

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