大鼠严重烧伤后胃、十二指肠粘膜的扫描电镜观察

夏淑芳 杨宗城 黎 鳌 （第三军医大学西南医院烧伤研究所）630038
朱思和 施同舟 可金星 （第三军医大学基础部电镜室）630038

提 要 扫描电镜观察结果显示，两致伤组胃和十二指肠粘膜损害分为水肿、轻度坏死和重度坏死三型：胃粘膜轻度坏死，伤后早期较重，中间轻，后期加重的“马鞍状”。重度者发生较晚，见于 24 和 72 h。十二指肠绒毛，伤后立即水肿伴轻度坏死，2 h 重度坏死，24 h 达高峰，72 h 略减轻。十二指肠粘膜损害发生早、持续时间长、发病率高、程度严重。磷烧伤组胃肠改变较凝固汽油严重。主要原因是热应激反应及磷元素和磷自由基的毒作用；磷自由基较磷元素本身毒性更大。

关键词 灼伤/病理学；胃粘膜/超微结构；肠粘膜/超微结构；大鼠

20 多年来，扫描电镜广泛应用于医学领域，但用于观察烧伤，特别是磷烧伤消化道报告甚少。我们以往的实验观察到，磷烧伤后消化道反应早、损害程度较凝固汽油烧伤严重。为了较全面认识严重烧伤后对胃、肠粘膜损害程度和特点。本文应用扫描电镜对磷烧伤和火焰（凝固汽油）烧伤胃粘膜细胞及十二指肠绒毛表面结构形态学改变进行了动态观察，以供临床治疗参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物分组

健康、雄性 Wistar 成年大白鼠，体重 260±10.5g，分 3 组：(1)非烧伤对照组（简称非烧伤组）；(2)磷烧伤组；(3)凝固汽油烧伤组（简称汽油烧伤组）代表火焰烧伤。两致伤组设伤后立即、2、5、8、24 和 72 h 6 个时相点取材，每时相点动物数详见表 1，共 83 只。实验分批进行。实验时，每批由两致伤组各时相点取 1 只动物，个别点 2 只动物；伴随 1 只非烧伤动物作对照。

表 1 实验动物分组

Tab 1 The distribution of experimental animal

groups	postburn time (h) and number of animals					
	0	2	5	8	24	72
control	8	…	…	…	…	…
phosphorus burn	6	6	7	10	6	7
napalm burn	5	6	5	7	5	5

1.2 致伤

磷烧伤和汽油烧伤组动物，按本所模型[1]分别造成背部 30% Ⅲ度磷烧伤（20mg/cm²）和凝固汽油烧伤创面。

非烧伤组动物，只脱毛及进行有关操作，不致伤。

1.3 取材、组织制备和扫描电镜观察

各组动物取材前禁食 12 h，饮水不限，麻醉下剖腹，使胃及十二指肠充分暴露，分离网膜及部分肠系膜，沿胃大弯切开至十二指肠第一曲。将剖开的胃肠用 4 ℃生理盐水冲去内容物，肉眼观察粘膜变化。在胃体前壁及十二指肠头部病变处（无病变者，在该两部位固定点）各取一块组织，置于盛 4℃生理盐水的标本瓶内，反复摇荡洗涤后，再移至 1%糜蛋白酶液瓶中，如上法洗涤后，即置于 2.5%戊二醛磷酸缓冲液（pH7.4）中，固定 48 h，1%锇酸中固定 1 h 后，水冲洗、乙醇脱水，临界点干燥器干燥。导电胶将样品粘在金属台上，真空喷金。组织用 AMRAY－10 000 B 型扫描电子显微镜检查。

1.4 病变程度评定标准

根据扫描电镜下所见不同损害程度制定，分述如下：

1.4.1 胃粘膜细胞

1.4.1.1 水肿，细胞体积增大，形态正常。

1.4.1.2 轻度坏死，胃小凹形态正常，单个细胞内点状或小片状缺损，个别细胞膜模糊，范围在 1/2 以内。

1.4.1.3 重度坏死，胃小凹形态异常，窝孔变大，单个细胞破坏仅留残点、残片、或几个坏死细胞融合成片，形成空洞。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.4.2 十二指肠绒毛

1.4.2.1 水肿，绒毛体积增大，变长，变粗，表面纹理粗糙、紊乱，形态尚属正常。

1.4.2.2 轻度坏死，绒毛体内小灶性或小条状缺损，多数顶端组织断离，外形能辨认。

1.4.2.3 重度坏死，绒毛体裂开，溃烂，空洞，形态畸形。

2 结果

2.1 表面结构形态学改变

2.1.1 胃粘膜细胞表面结构显示(图 1)，非烧伤组大鼠胃体部粘膜可见许多胃小凹结构，其特点为：上皮细胞呈较为一致的环状排列，中间有一被称为腺孔的窝孔。每个胃小凹单位细胞呈[illegible]，整个细胞饱满，表面满布微小颗粒；细胞排列有序，细胞间界线清晰。两致伤组伤后立即和 2 h 即见细胞不同程度肿大，排列紧密，互相挤压，有的细胞被挤扁，或呈三角形。有的单个细胞呈点状或小片状缺损，但外形尚属正常，伤后立即较 2 h 明显。伤后 5 h 和 8 h，磷烧伤组，胃粘膜细胞轻度坏死较前减轻；汽油烧伤组未见坏死病变。伤后 5 h，两致伤组胃粘膜细胞水肿仍存在，8 h 略减轻。伤后 24 h 胃小凹单位形态异常(图 2)，腺孔扩大，孔周围大部分细胞呈现严重损害，有的细胞内点，片缺损，有的仅留残片，细胞间界线模糊，成片的细胞坏死病灶互相融合，酷似扩大的腺孔，其与腺孔的区别，在于坏死灶周围有不同程度损害细胞，该损害一直持续到 72 h，并有加重趋势。

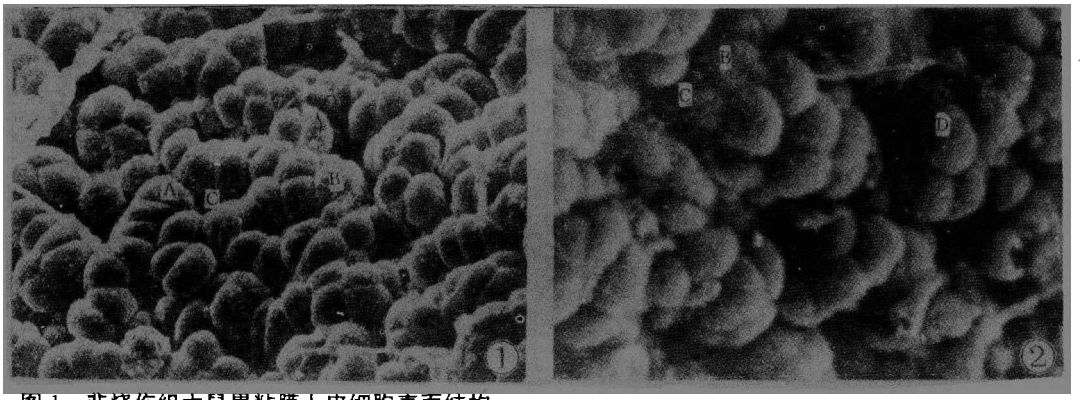


图 1 非烧伤组大鼠胃粘膜上皮细胞表面结构

A. 胃小凹结构；B. 周围细胞；C. 腺孔 SEM×1 200

Fig 1 Scanning electron micrographs of normal gastric mucose epithelial cells surface in zats showing gastzie cavity (A), round cells of gastric cavity (B) and glands shole. SEM×1 200

图 2 磷烧伤后 72 h 胃体粘膜上皮细胞表面结构

B. 轻度坏死；C. 重度坏死；D. 大片坏死区酷似扩大腺孔 SEM×1 200

Fig 2 Scanning electron micrograph showing; gastric mucosa epithelial cells zurface light necrosis (B), severe necrosis (C) and extenive necrosis (D); at 72 h after phosphorus burn. SEM×1 200

2.1.2 十二指肠绒毛表面形态结构如图 3。非烧伤组动物，十二指肠绒毛表面皱折的层次，沟条清晰，排列有序，边缘光滑，完整。两致伤组，伤后显示整个绒毛体积肿大粗长(图 4)，表面皱折层次模糊，沟条粗糙，排列紊乱，部分绒毛体顶端组织断离，有的表面呈点、条状缺损。伤后 2 h 和 5 h，肠绒毛水肿继续存在外，又见绒毛损害范围扩大，程度加重。伤后 8 h 绒毛水肿犹存。且大部分绒毛体内不同程度、不同面积坏死灶。有的绒毛体分裂成两半。图 5 表明，伤后 24 h 绒毛结构破坏程度极其严重，已达顶峰，有的绒毛分裂成数片、数段、数个坏死的绒毛融合在一起，形成一个坏死灶，或呈蜂窝状，或呈空洞，并有酷似豆渣样物质堆积。伤后 72 h 绒毛形态如图 6 所示，水肿已消失，绒毛外形瘦长，表面结构仍杂乱无章。所有绒毛破坏程度虽较 24 h 略轻，但绒毛坏死灶仍存在。上述胃十二指肠表面微细结构形态学改变，均以磷烧伤者严重。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

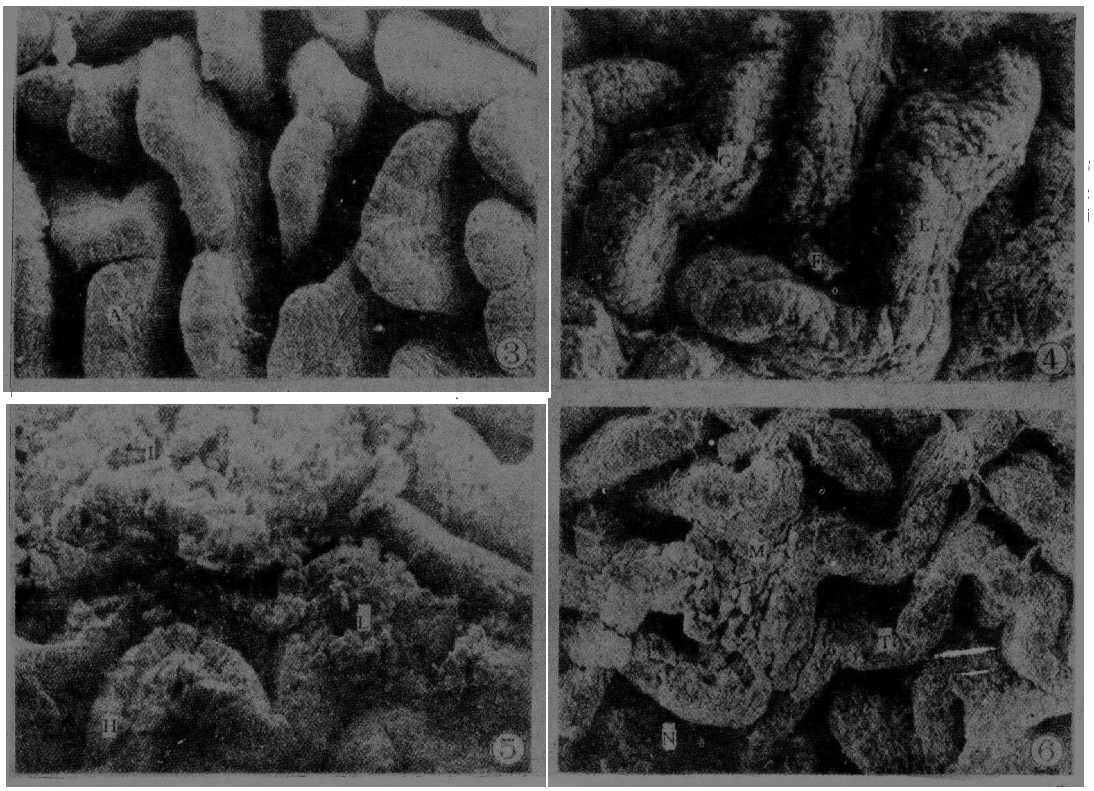


图 3 非烧伤组大鼠正常十二指肠绒毛

A. 完整无损，表面皱折，沟条清晰，层次分明。 SEM×140

Fig 3 Scanning electron micrograph showing

Normal duodenal villi. SEM×140

图 4 磷烧伤后立即十二指肠绒毛改变

E. 重度水肿，表面粗糙，沟条紊乱；F. 顶端组织坏死断落；G. 片状坏死。 SEM×140

Fig 4 Scanning electron micrograph showing

The duodenal villi were heavily swelling (E), the tip necrosis (F) and flake shape necrosis (G). Immediately after phosphorus burn . SEM×140

图 5 磷烧伤后 24 h 肠绒毛重度坏死

H. 绒毛裂开；I. 组织融解呈豆渣状；L. 蜂窝状及空洞。 SEM×140

Fig 5 Scanning electron micrograph showing

The duodenal villi were servere necrosis and breach (N) with the tissues has thawed like bean dreg shape (I) and honey comb (L). In 24 h after phosphorns burn. SEM×140

图 6 磷烧伤后 72 h 显示

T. 绒毛细胞长，结构紊乱；N. 绒毛重度坏死，结构异常；M. 粘液覆盖。 SEM×140

Fig 6 In 72 h after phosphorns burn showing

T. the villi has thinned; N. the villi heavily necrosis; M. the mucosa is covered with mucus. SEM×140

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2 胃十二指肠各病变的总发生率

如表 2 所示。两烧伤组，两部位细胞或绒毛水肿，十二指肠总发生率高于胃部。胃粘膜细胞轻度坏死，磷烧伤组 57.6%；汽油烧伤组 25.8%，两组差别显著（$P<0.05$）；两烧伤组，十二指肠绒毛轻度坏死发生率均 100%，高于胃粘膜坏死率非常显著（$P<0.01$）。磷烧伤组，胃粘膜细胞重度坏死发生率 12.1%；十二指肠绒毛坏死率 33.8%。显示磷烧伤组重度坏死率明显高于汽油烧伤组；十二指肠绒毛坏死率明显高于胃体部。两组，两部位差别非常显著（$P<0.05\sim0.01$）。

表 2 两烧伤组胃、肠粘膜病变总发生率(%)

Tab 2 The total occurrences percentage of the changes of gastroduodenal mucosa in burn groups

injure	groups	stomach			duodenum		
		smaple	injure	%	smaple	injure	%
swelling	phospnorus burn	33	21	63.6	36	29	75.0
	napalm burn	31	19	61.3	30	22	73.3
light necrosis	phospnorus burn	33	19	59.6	36	36	100.0
	napalm burn	31	8	25.8	30	30	100.0
severe necrosis	phospnorus burn	33	4	12.1	30	20	55.6
	napalm burn	29	1	3.4	30	10	33.3

2.3 两烧伤组动物胃粘膜病变发生时间的分布

如表 3。所有动物伤后立即均见胃粘膜细胞及十二指肠绒毛水肿，胃持续至伤后 5 h；十二指肠至 8 h，以后均有不同程度减轻，到 72 h 水肿均消失。两烧伤组胃粘膜细胞表面轻度坏死时间呈马鞍状，伤后立即和 2 h 偏高，磷烧伤组发生率顺序为 60.0% 和 50.0%；汽油烧伤组 33.3%，汽油烧伤组 0%；24 h及72h两组发生率又升高，前者83.3%，后者40.0%和 60.0%。而十二指肠绒毛轻度坏死从伤后立即为 100%，且持续整个实验过程。胃粘膜重度坏死发生时间较晚，磷烧伤组伤后 24 h 开始发生，为 16.7%，72 h 升高到 50.0%；汽油烧伤组 72 h 才发现 20.0%。十二指肠绒毛表面结构重度坏死较胃粘膜细胞发生时间早，且持续时间长；磷烧伤组伤后 2 h，汽油烧伤组 5 h，两者均为 40.0%。以后逐渐升高，磷烧伤组伤后 5h 和 8h 依次为 50.5%、70.0%；到伤后 24 h 达高峰，峰值 100%，汽油烧伤组为 75.0%。到伤后 72 h，两致伤组发生率均下降各为 66.7%和 40.0%。

表 3 两烧伤组胃、肠粘膜病变不同时间发生率(%)

Tab 3 The occurrence percentage changes of gastroduodenal mucosa on diffecent time in burn groups

injure		swelling				light necrosis				severe necrosis			
range		stomach		duodenum		stomach		duodenum		stomach		duodenum	
groups		P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N
time of past burn	0	100	100	100	100	60.0	40.0	100	100	0	0	0	0
	2	100	100	100	100	50.0	16.7	100	100	0	0	40.0	0
	5	100	100	100	100	33.3	0	100	100	0	0	50.0	40.0
	8	83.3	80.0	100	100	33.3	0	100	100	0	0	75.0	50.0
	24	16.7	20.5	40.0	25.0	83.3	40.0	100	100	16.7	0	100	75.0
	72	0	0	0	83.3	83.3	60.0	100	100	50.0	20.0	66.0	40.0

0:immediately; P:phosphorus burn; N:napalm burn

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 讨论

本文应用扫描电镜对两种致伤动物胃粘膜细胞和十二指肠绒毛表面结构观察结果显示：胃和十二指肠表面结构均有不同损害，如何正确判断这些病变的严重程度，到目前为止，国内外尚未见应用扫描电镜对烧伤，尤其磷烧伤观察的有关报告。作者仅参照了内科消化疾病及酒精中毒等病例胃粘膜细胞扫描电镜观察结果报告，他们对病变严重程度的评定，标准虽有差别，但较为一致的是，均将胃粘膜损害称为糜烂[2,3,4]。从病理角度来说，糜烂系肉眼观察到的胃粘膜表面损害特征。这种病变在镜下观察则多为粘膜浅表坏死[5]。本文将扫描电镜下所见，按损害的严重程度及病变性质将胃粘膜细胞和十二指肠绒毛病变分为：水肿、轻度坏死和重度坏死三个层次。这种评定方法是否合适，尚待反复实践和应用。

观察结果显示：两烧伤组胃粘膜细胞轻度坏死最显著特征是呈“马鞍状”，即实验早期较重，中期最轻，晚期又加重。这种现象在本所以往实验，光镜检查时也曾发现[6]。其发生原因，可能由于烧伤时，多种因素导致机体强烈应激反应，所产生的多种应激物质增多[7]，使胃粘膜微血管产生强烈收缩，局部血流减少[8]，致胃粘膜细胞缺血、缺氧[8]，导致胃粘膜细胞广泛损伤。通常在短暂应激反应后，常伴代偿性血管扩张血流量随之增多，粘膜细胞损伤也随之减轻。以后，又随着毒素、感染加重、能量合成等多种因素的作用，又加重了胃粘膜损伤。

本文结果显示：十二指肠绒毛三种病变均较胃粘膜细胞严重。水肿，肠绒毛 75.0%、胃粘膜细胞 63.3%；轻度坏死，前者 100%，后者57.6%；重度坏死顺序为55.6%和12.1%，两者差别非常显著（$P<0.01$）。肠绒毛伤后 2 h 即见重度坏死，胃粘膜细胞 24 h 才见到。差别的主要原因是胃粘膜细胞血流远较肠绒毛更丰富[5]。

肠绒毛坏死先发生于顶部，Hamlet[10]也有类似发现。其发生机制可能是：(1)肠绒毛顶部多为老化细胞[5]；(2)肠绒毛顶部的血流量及氧气供应均较底部少。

两烧伤组动物胃粘膜细胞和肠绒毛损害改变规律基本一致。说明两者具有共同的病理生理学基础。其中磷烧伤胃、肠粘膜病变均较凝固汽油烧伤更严重。其发生机制虽复杂，但主要为热损伤，热应激反应及磷元素毒素的直接作用所致。最近也有报告[9]认为，脂质过氧化损害也是两种烧伤胃肠粘膜损伤的重要因素。有报告发现，烧伤后胃肠脂质过氧化物质增多；另报告[9]发现，磷元素进入体内，形成磷自由基，其毒性远较磷元素本身毒性为大，从而，使磷烧伤胃、肠粘膜损伤较汽油烧伤更严重。

参考文献

1. 夏淑芳 黎 鳌 朱佩芳，等。大白鼠磷烧伤和凝固汽油烧伤模型制作。第三军医大学学报，1989；11：450
2. 小林绚三 荒川哲男 山田博明，等。形态かろみ胃粘膜细胞保护作用。胃と肠，1986；21：1189
3. 郭振泉 李静涵 李汝琪，等。胃粘膜病变的扫描电镜初步观察。动物学报，1979；25：7
4. 山际裕史 中村卓。加令による胃粘膜构筑の变动——走查电显による胃粘膜面的观察。最新医学，1974；28：180
5. 叶维法，主编。消化病学进展。天津：天津科学技术

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

出版社,1982:948,814,911,853
6. 柳凤轩 夏淑芳 贺光友。大鼠磷烧伤后急性胃粘膜病变的观察。中华实验外科杂志,1985;2:140
7. 夏淑芳 尤忠义 姚丹帆,等。重度磷烧伤大鼠胃组织内几种自体活性物质含量动态观察。中华整形烧伤外科杂志,1986;2:288
8. 夏淑芳 叶恒光 付琼芳,等。重度磷烧伤大鼠胃粘膜微循环研究。中华实验外科杂志,1989;6:89
9. Ghoshal AK, Porta EA, Stonley Hartroft W. The role of lipoperoxidationin the pathogenesis of ftatty livers induced by phosphorus poisoning in rats. Amer J Pathology, 1969;54:275
10. Hamlet R, Carr KE, Toner PG, et al. Scanning electron microscopy of mouse intestinal mucosa ofter Cobalt 60 and D-T neutron irrodiation. Bri J Radiology, 1976;49:624

(收稿:1992-06-27;修回:1993-04-16)

Ultrastructural changes of gastroduodenal mucosa after severe burns in rats

Xia Shufang, Zhu Dahe, Yang Zongcheng, et al (Burn Research Institute, Southwest Hospital, Third Military Medical Collgeg, Chongqing, 630038)

Abstract The changes of the gastroduodenal mucosa after severe burns were observed with scanning electron microscopy in rats. It was found that burn damages on the gastroduodenal mucosa could be distinguished into 3 categories; edema, mild necrosis and severe necrosis. The mild necrosis of the gastric mucosa was quite severe in the early stage postburn, was alleviated in the middle stage and became aggravated in the late stage. The onset of severe necrosis of the gastric mucosa was rather late, usually in the 24th to 72nd h postburn. There was edema associated with mild necrosis of the duodenal mucosa immediately after burns. Severe necrosis occurred in the 2nd h postburn. The manifestations reached the peak in the 24th h and were alleviated in the 72nd h postburn. As a rule, the damages on the duodenal mucosa occurred early and persisted for a long period with high incidence and severe wounding conditions.

The damages of gastroduodenal mucosa were more severe in the phosphorus burn group than in the napalm burn proup mainly because of the more intense heat stress after phosphorus burns and the tosicity of the element phosphorus and phosphorus free redicals.

Key words burn/PA; gastric mucosa/UL; intestinal mucosa/UL; rats

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net