

· 论 著 ·

## 腹部外伤大鼠在海水浸泡下急性胃黏膜病变和壁细胞超微结构改变

朱雄伟<sup>1</sup>, 王 强<sup>1</sup>, 满晓华<sup>2</sup>, 湛先保<sup>2</sup>, 李兆申<sup>2\*</sup>

(1. 第二军医大学长征医院普通外科, 上海 200003; 2. 第二军医大学长海医院消化内科, 上海 200433)

**[摘要]** **目的:**探讨海水浸泡开放性腹部创伤大鼠胃壁细胞泌酸动态变化及其与急性胃黏膜病变的关系。**方法:**将 104 只 SD 大鼠随机分为正常对照组、单纯腹腔开放组、单纯海水浸泡组(不开腹)、腹腔生理盐水浸泡伤组、腹腔海水浸泡伤组,后 4 组又分为浸泡 1 h、2 h、3 h 组,每组各 8 只。观测各组胃黏膜溃疡指数(UI)、胃液 pH 及壁细胞超微结构的动态变化。**结果:**随着海水浸泡时间的延长,大鼠胃液 pH 值明显降低而 UI 明显增加,二者之间呈明显负相关( $r = -0.70035, P < 0.01$ );电镜示胃壁细胞在正常对照组呈静息状态,而各种应激 1、2、3 h 后均有不同程度的泌酸活跃,以海水浸泡者更重,并在 3 h 时达高峰。**结论:**海水是一重要的致伤因素,可通过促进胃壁细胞泌酸作用而加重急性胃黏膜病变。

**[关键词]** 腹部损伤;海水;胃黏膜;壁细胞;胃**[中图分类号]** R 641**[文献标识码]** A**[文章编号]** 0258-879X(2004)08-0846-03

## Acute gastric mucosal lesion and parietal ultrastructural changes in rats with open abdominal trauma after seawater immersion

ZHU Xiong-Wei<sup>1</sup>, WANG Qiang<sup>1</sup>, MAN Xiao-Hua<sup>2</sup>, ZHAN Xian-Bao<sup>2</sup>, LI Zhao-Shen<sup>2\*</sup> (1. Department of General Surgery, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 20003, China; 2. Department of Gastroenterology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To investigate the dynamic changes of oxyntic function and its relationship with acute gastric mucosal lesions (AGML) in rats with open abdominal trauma after seawater immersion. **Methods:** Totally 104 SD rats were randomly divided into 5 groups: normal control group, simple open abdominal trauma group, simple abdominal seawater immersion group, celiac normal saline immersion group, celiac seawater immersion group, and the later 4 groups were each further divided into 3 groups after 1, 2, 3h treatment respectively. The changes of gastric mucosal ulcer index (UI), pH of gastric juice and the ultrastructural changes of parietal cells were observed. **Results:** With the passing of immersion time, pH of gastric juice decreased and UI increased gradually in experimental rats. Moreover, there was a significantly negative relationship between UI and pH value ( $r = -0.70035, P < 0.01$ ). Parietal cells were in a resting state in normal control group, but were active in experimental control groups and experimental group, especially in rats with open abdominal trauma after 3 h seawater immersion. **Conclusion:** Seawater is a traumatogenic factor, which may exacerbate AGML by promoting the parietal cells to secrete gastric acid.

**[KEY WORDS]** abdominal injuries; seawater; gastric mucosa; parietal cells; gastric

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2004, 25(8): 846-848]

急性胃黏膜病变(acute gastric mucosal lesion, AGML)即应激性溃疡,是机体在应激状态下,如败血症、脑出血、休克、烧伤、大手术、严重创伤及严重心理障碍等,胃、十二指肠等消化道发生黏膜急性糜烂、溃疡、出血,主要发生于胃底和胃体。有关 AGML 的产生机制一直是医学领域研究的重要课题,但迄今仍未完全阐明,且目前缺乏确切有效的控制手段和预防方法。开放性腹部海水浸泡伤是一种特殊的强烈应激原和紧急状况,存在腹部开放性创伤和高渗海水浸泡双重应激,其是否导致 AGML,确切机制如何,目前尚不清楚。本研究对海水浸泡伤大鼠胃黏膜的损伤情况及胃液 pH 值进行了观察,以期为该领域的进一步研究提供重要资料。

## 1 材料和方法

1.1 实验动物与分组 SD 大鼠 104 只,体质量 200~300 g(清洁级,上海西普尔-必凯公司提供),雌雄不拘,随机分为正常组、单纯腹腔开放组、单纯海水浸泡组(不开腹)、生理盐水浸泡伤组和海水浸泡伤组;除正常组外,后 4 组又分为浸泡 1 h、2 h、3 h 组,每组各 8 只。

1.2 主要材料 便携式 pH 计(上海雷磁电子仪表

**[基金项目]** 全军医药科研“十五”规划重点项目(01Z059);全军医药科研“十五”规划指令性课题(01L056)。

**[作者简介]** 朱雄伟(1972-),男(汉族),主治医师,博士生。

\*Corresponding author. E-mail: zhslj@81890.net

厂)、Philip CM-120 透射电镜(荷兰)。实验用人工海水根据国家海洋局第三研究所提供的我国东南沿海海水主要成分配制:渗透浓度( $1\ 250 \pm 11.52$ ) mmol/L, pH 8.2,  $\text{Na}^+$  浓度( $630 \pm 5.33$ ) mmol/L,  $\text{K}^+$  浓度( $10.88 \pm 0.68$ ) mmol/L,  $\text{Cl}^-$  浓度为( $658.8 \pm 5.25$ ) mmol/L, 实验室平均温度为 25℃。

1.3 模型制作 大鼠经乙醚轻度麻醉后固定于鼠板。沿中下腹部正中切开约 2 cm 进腹,用自制铁网片撑开并固定;待其麻醉清醒后将鼠板直立浸泡于温度( $21 \pm 2$ )℃的人工海水浴中,水面平齐剑突处。为消除生物节律对实验结果的影响,均于上午 8 时开始实验。造模前禁食 24 h,自由饮水,实验前 1 h 禁水。

1.4 胃黏膜溃疡指数(UI)的判定 在 10 倍放大镜下按 Guth 评分<sup>[1]</sup>:点状出血为 1 分,线状出血长度  $< 1$  mm 为 2 分,1~2 mm 为 3 分,2~3 mm 为 4 分, $> 4$  mm 为 5 分,若宽度  $> 1$  mm 则加倍记分。

1.5 电镜标本制作 取腺胃中央处黏膜各 1 块,切成  $1\ \text{mm} \times 1\ \text{mm} \times 1\ \text{mm}$  大小的组织块,经 2% 戊二醛 PBS 固定液 4℃ 固定 2 h;4℃ PBS 缓冲液洗涤 2 次,每次 10 min;1% 锇酸 PBS 固定液 4℃ 固定 2 h;PBS 缓冲液 4℃ 洗涤 2 次,每次 10 min;乙醇丙酮梯度脱水和 618 包埋液与环氧丙烷浸透包埋、超薄切片;枸橼酸铅电子染色后在透射电镜下观察胃壁细胞。

1.6 统计学处理 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。均值间差异采用 *t* 检验,两变量间采用直线相关分析。

## 2 结果

2.1 胃黏膜 UI 的改变 正常对照组 UI 为 0,单纯腹腔开放伤组 UI 在浸泡 1 h、2 h、3 h 后分别为  $10.25 \pm 1.04$ 、 $20.25 \pm 2.38$ 、 $30.25 \pm 1.49$ ,单纯海水浸泡组 UI 分别为  $9.50 \pm 2.33$ 、 $22.50 \pm 2.45$ 、 $34.88 \pm 3.23$ ,生理盐水浸泡伤组 UI 分别为  $11.38 \pm 2.83$ 、 $27.13 \pm 4.45$ 、 $38.88 \pm 4.79$ ,海水浸泡伤组 UI 分别为  $11.25 \pm 1.98$ 、 $30.50 \pm 3.96$ 、 $50.13 \pm 2.95$ 。各组各时段胃黏膜 UI 均较正常对照组明显升高( $P < 0.01$ ),同时各组 UI 随着应激时间延长而明显增高( $P < 0.01$ )。浸泡 1 h 后各组 UI 无显著性差异;浸泡 2 h 后海水浸泡伤组和生理盐水浸泡伤组 UI 较单纯腹腔开放伤组和单纯海水浸泡组明显升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );浸泡 3 h 后单纯腹腔开放伤组、单纯海水浸泡组、生理盐水浸泡伤组、海水浸泡伤组 UI 依次明显升高( $P < 0.01$ )。各组大鼠中以海水浸泡伤组 3 h 组 UI 最高,明显高

于任何一组( $P < 0.01$ ),光镜下可见黏膜正常的层次结构遭到严重破坏,黏膜充血、水肿明显,溃疡呈火山口状,深达黏膜肌层。

2.2 腹部开放伤海水浸泡后大鼠胃液 pH 的改变 单纯腹腔开放伤组 pH 1 h、2 h、3 h 分别为  $2.10 \pm 0.13$ 、 $1.94 \pm 0.11$ 、 $1.52 \pm 0.05$ ,单纯海水浸泡组 pH 分别为  $2.26 \pm 0.13$ 、 $1.83 \pm 0.06$ 、 $1.51 \pm 0.14$ ,生理盐水浸泡伤组 pH 分别为  $2.22 \pm 0.07$ 、 $1.88 \pm 0.09$ 、 $1.53 \pm 0.10$ ,海水浸泡伤组 pH 分别为  $2.23 \pm 0.18$ 、 $1.84 \pm 0.03$ 、 $1.30 \pm 0.05$ 。各组各时段胃液 pH 较正常大鼠明显降低( $P < 0.01$ )。各组 pH 随着应激时间延长而明显降低( $P < 0.01$ )。浸泡 1 h 单纯海水浸泡组和海水浸泡伤组 pH 均较单纯腹腔开放伤组明显升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );浸泡 2 h 海水浸泡伤组 pH 较单纯腹腔开放伤组明显降低( $P < 0.01$ );浸泡 3 h 海水浸泡伤组 pH 较其他各组明显降低( $P < 0.01$ )。pH 值与 UI 之间呈明显负相关( $r = -0.700\ 35$ ,  $P < 0.01$ )。

2.3 胃壁细胞超微结构变化 对照组胃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(图 1A);海水浸泡伤组 1 h 组壁细胞开始激活,可见分泌小管绒毛短少,其周围有多量囊泡聚集(图 1B);海水浸泡伤组 2 h 组可见分泌小管增多,绒毛增多增长,胞质内囊泡明显减少,呈激活状态(图 1C);海水浸泡伤组 3 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(图 1D);尚可见凋亡小体的形成(图 1E)。

## 3 讨论

目前认为 AGML 的发生是由于胃黏膜保护机制削弱、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<sup>[2]</sup>。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、胃黏膜微循环障碍、胃黏膜屏障受损、迷走神经兴奋性异常增高、壁细胞激活、胃黏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<sup>[3]</sup>。最终,胃黏膜对  $\text{H}^+$  和胃蛋白酶失去抵抗力,从而导致 AGML。一般认为,胃酸是局部最强的攻击因子,是形成 AGML 的基本条件,但非主要原因,胃黏膜发生病变后胃酸可起加重作用。一方面,胃酸分泌是耗能的活跃代谢过程,需要持续良好的血流灌注和能量供应<sup>[4]</sup>;另一方面,胃酸不仅是胃黏膜损伤的有害因素,同时也是机体防御机能的重要组成部分。不同应激状态下胃酸分泌可以不变、

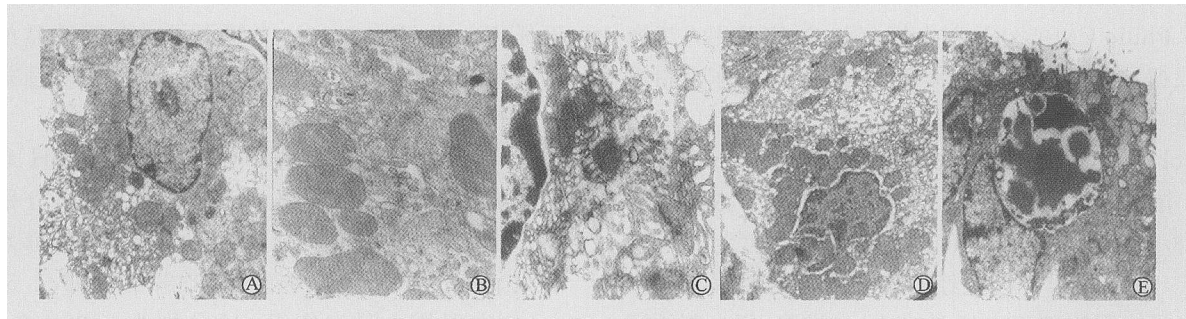


图1 各组胃壁细胞超微结构改变

Fig 1 Ultrastructural changes of gastric parietal cells in different groups

A: Control group( $\times 6\ 400$ ); B: Seawater-immersing trauma 1 h group( $\times 20\ 000$ ); C: Seawater-immersing trauma 2 h group( $\times 15\ 000$ ); D: Seawater-immersing trauma 3 h group( $\times 6\ 500$ ); E: Seawater-immersing trauma 3 h group, apoptotic body formed( $\times 6\ 500$ )

增强或减弱,但可因黏膜屏障功能减弱,而致实际 $H^+$ 逆向弥散的总量增加,参与了溃疡的发生。研究证实,应激状态下黏膜内pH异常降低,且降低程度与胃黏膜病变呈明显正相关<sup>[5]</sup>。我们的实验结果表明,大鼠经海水浸泡和腹部开放伤双重应激后可发生AGML,且胃黏膜损伤的程度随着应激时间的延长而严重。应激3h时胃黏膜出现广泛的糜烂、出血,溃疡形成。光镜下可见黏膜层次结构严重破坏,溃疡呈火山口状,深达黏膜肌层,黏膜充血、水肿明显。本研究同时发现,在海水浸泡伤状态下,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。胃液的pH值与胃黏膜损伤的程度呈现明显的负相关( $r = -0.700\ 35, P < 0.01$ ),这与文献报道<sup>[6]</sup>一致。

电镜下可见壁细胞有两种质膜,一种是细胞内小管(又称分泌小管),由壁细胞腔面质膜内陷、折叠而成,内衬大量微绒毛。另一种是由滑面内质网和囊泡状膜性结构组成的管泡系统。分泌小管和管泡系统均参与运输和分泌 $H^+$ ,其形态、数量与壁细胞状态有关<sup>[7]</sup>。静息状态壁细胞胞质内管泡增多,分泌小管则很少,管腔狭窄,微绒毛少而短;激活状态壁细胞,分泌小管增多,微绒毛多而长,管泡则减少或消失。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。在海水浸泡伤应激1、2、3h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黏膜损伤程度相一致。其余各种应激1、2、3h后均有不同程度的泌酸活跃,但以海水浸泡者更重,并在3h时达高峰。其中海水浸泡伤应激3h电镜检查尚发现壁细胞凋亡小体,可能与加重AGML有关,但确切机制尚有待于进一步的研究。

总之,我们发现海水是一重要的致伤因素,可通

过促进壁细胞泌酸作用而加重急性胃黏膜病变。海水浸泡伤应激状态下大鼠AGML与壁细胞泌酸状态密切相关,提示在海水浸泡伤状态下,胃酸在AGML形成过程中起着不容忽视的作用,这为我们在海战伤时应用制酸剂治疗和预防AGML提供重要的理论依据。

#### [参考文献]

- [1] Guth PH, Aures D, Paulsen G. Topical aspirin plus HCl gastric lesion in the rat. Cytoprotective effect of prostaglandin, cimetidine, and probanthine [J]. *Gastroenterology*, 1979, 76(1): 88-93.
- [2] 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.
- [3] Kobayashi K, Kashima K, Higuchi K, et al. The mechanisms of gastrointestinal mucosal injury repair [J]. *Nippon Rinsho*, 1998, 56(9): 2215-2223.
- [4] Higgins D, Mythen MG, Webb AR. Low intramucosal pH is associated with failure to acidify the gastric lumen in response to pentagastrin [J]. *Intensive Care Med*, 1994, 20(2): 105-108.
- [5] 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.
- [6] 李玉梅, 彭贵勇, 房殿春, 等. 大鼠应激性溃疡胃黏膜损伤与壁细胞泌酸的关系 [J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(2): 127-130.  
Li YM, Peng GY, Fang DC, et al. Relationship of gastric mucosal lesion and oxyntic function of parietal cells in rats under stress [J]. *Disan Junyi Daxue Xuebao (Acta Acad Med Militariae Tertiae)*, 2003, 25(2): 127-130.
- [7] Ogata T, Yamasaki Y. Morphological studies on the translocation of tubovesicular system toward the intracellular canaliculus during stimulation of the gastric parietal cell [J]. *Microsc Res Tech*, 2000, 48(5): 282-292.

[收稿日期] 2004-02-11

[修回日期] 2004-07-15

[本文编辑] 曹静