

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.01193

不同预适应对海水浸泡束缚大鼠应激性溃疡的影响

施斌斌¹, 傅继华², 骆益宙^{3*}

1. 解放军第454医院消化科, 南京 210002
2. 中国药科大学生理学教研室, 南京 210009
3. 解放军第454医院肿瘤科, 南京 210002

[摘要] 目的: 建立束缚及海水浸泡致应激性溃疡的动物模型, 探讨预适应对应激性溃疡的作用机制及不同应激时间对溃疡影响。方法: Wistar 雄性大鼠 60 只均分成 6 组: A 组为正常对照组, B 组为直接应激组, C 组为预适应 I 组, D 组为预适应 II 组, E 组为预适应 III 组, F 组为雷尼替丁组。C、D、E 组预适应时间分别为 0.5 h/d、1 h/d、1 h/d 连续 5 d, F 组雷尼替丁灌胃, 每日 2 ml/100 g, 连续 6 d。应激: B、C、D、F 组海水浸泡 8 h, E 组海水浸泡 10 h。采用放射免疫法测定应激性溃疡大鼠血清内皮素和 6-酮-前列腺素 F1 α 水平变化, 通过 Guth 法评定溃疡指数, 溃疡局部胃组织行病理组织学检查。结果: C 组、D 组及 F 组血清内皮素水平显著低于 B 组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$); C 组、D 组及 F 组血清 6-酮-前列腺素 F1 α 水平显著高于 B 组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$); C 组、D 组及 E 组溃疡指数显著低于 B 组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$); C 组、D 组及 F 组病理较 B 组改善。E 组与 B 组各指标无明显差别。结论: 预适应可有效减轻大鼠应激性溃疡, 但应激时间太长可抵消预适应的保护作用。

[关键词] 应激性溃疡; 动物模型; 海水束缚应激; 预适应

[中图分类号] R 835.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)10-1193-04

Effect of different preconditionings on stress ulcer induced by seawater immersion and restriction in rats

SHI Bin-bin¹, FU Ji-hua², LUO Yi-zhou^{3*}

1. Department of Gastroenterology, No. 454 Hospital of PLA, Nanjing 210002, China
2. Department of Physiology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009
3. Department of Oncology, No. 454 Hospital of PLA, Nanjing 210002

[ABSTRACT] **Objective:** To establish a stress ulcer model by seawater immersion and restriction in rats, and to investigate the mechanism of preconditioning on stress ulcer and the effect of different stressing periods on the ulcer. **Methods:** A total of 60 male Wistar rats were equally divided into 6 groups, namely, the normal control group (Group A), direct stress group (Group B), precondition group I (Group C), precondition group II (Group S), precondition group III (Group E), and ranitidine group (Group F). Precondition periods of C, D, E groups were 0.5 h/d, 1 h/d, and 1 h/d, respectively, for 5 days. Stress time in E group was 10 h, and in B, C, D, and F groups were 8 h. Radioimmunoassay was used to determine the sera levels of endothelin (ET) and 6-dk-dPGF1 α in rats. Ulcer index was calculated by Guth method; the ulcer lesion tissues were collected for further pathological examination. **Results:** The sera ET levels in group C, D and F were lower than those in group B ($P < 0.01$, $P < 0.05$, and $P < 0.01$, respectively). The sera 6-dk-dPGF1 α levels in group C, D and F were significantly higher than those in group B ($P < 0.01$, $P < 0.05$, and $P < 0.01$, respectively). The ulcer indices in group C, D and F were significantly lower than those in group B ($P < 0.01$, $P < 0.05$, and $P < 0.01$, respectively). The pathological results were improved in group C, D, and F compared with those in group B. **Conclusion:** Preconditioning can effectively reduce the rat stress ulcer, but long-time stressing may offset the protective effect of precondition.

[KEY WORDS] stress ulcer; animal models; seawater-immersion and restraint stress; precondition

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(10):1193-1196]

应激是机体在受到刺激时出现的全身性非特异性适应反应, 过度应激可导致机体多系统病理性损

[收稿日期] 2008-03-31 **[接受日期]** 2008-05-17

[作者简介] 施斌斌, 硕士, 主治医师, E-mail: shibinbin1974@sina.com.cn

* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 025-80865260, E-mail: luoyizhou@csc.org.cn

伤,应激性溃疡是最常见的应激损伤之一。长时间泅渡疲劳、低温海水浸泡、情绪焦虑等因素是诱发应激性溃疡(stress ulcer, SU)的高危因素。本研究拟建立特异性因素诱导的大鼠应激性溃疡模型,并采用不同预处理方式对应激过程进行干预,为防治胃黏膜损伤、SU 提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物及试剂 20 周龄雄性 Wistar 大鼠, 体质量 180~220 g (北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证: SCXK 京 200620018)。实验室温度 (25±2)°C, 湿度 50%~60%, 自然光照。海水冻干粉(连云港海云生物科技有限公司, 批号 050216), 按照比例淡水稀释后作为海水。雷尼替丁胶囊为大连美罗制药厂生产(批号: 20060206), 使用时用生理盐水配制终浓度为 2.5 g/L 的混悬液。ET 放射免疫分析药盒购自天津联星生物技术有限公司。6-K-PGF1α 试剂盒购自中国原子能科学研究院。

1.2 海水-束缚应激性溃疡 (Seawater-immersion and restraint stress, SWRS) 模型建立 60 只雄性 Wistar 大鼠, 随机平均分为 6 组, A 组为正常对照组, B 组为直接应激组, C 组为预适应 I 组, D 组为预适应 II 组, E 组为预适应 III 组, F 组为雷尼替丁组。A 组大鼠正常喂养, 自由活动; C、D、E 各组大鼠进行预适应, 各组大鼠海水浸泡时间分别为 0.5 h/d, 连续 5 d, 1 h/d 浸泡 5 d, 2 h/d 浸泡 5 d; F 组大鼠用雷尼替丁混悬液按每日 2 ml/100 g 体质量灌胃, 连续 6 d, 第 5 日开始禁食。除 A 组外其余各组大鼠进行应激性溃疡试验, 禁食 24 h 后, 固定于自制木板上, 垂直浸入 (19±2)°C 海水中(深度为动物剑突水平), B、C、D、F 组浸泡 8 h, E 组 10 h。断头处死各组大鼠取全胃, 结扎幽门、贲门, 向胃内注入

1% 甲醛 4 ml 并将全胃浸于 1% 甲醛中固定 10 min, 沿胃大弯剪开。

1.3 血清内皮素(ET)、前列腺素 I₂(PGI₂)的测定 心脏取血, 每个试管预加 EDTA-Na₂ 20 ml 和抑肽酶 40 μl 以测量 ET; 另一试管中加 30 μl EDTA-Na₂, 测定 PGI₂ 代谢产物 6-酮-前列腺素 F1α (6-K-PGF1α), 离心 3 000×g, 5 min, 取血清-20°C 冻存待测。所有操作均按试剂盒说明进行。

1.4 胃黏膜组织病理形态学检查及溃疡指数(UI) 评定 将胃组织固定、脱水后, 做石蜡切片, H-E 染色, 用光学显微镜观察胃黏膜组织的病理形态变化。UI 的判定参考 Guth 法^[1], 即记录斑点糜烂计 1 分, 糜烂长度 < 1 mm 计 2 分, 1~2 mm 计 3 分, 2~3 mm 计 4 分, > 4 mm 计 5 分。宽度 > 1 mm 时分值×2。

1.5 统计学处理 各参数以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 均数间比较采用 ANOVA, 两两比较时用 LSD 检验。配对资料采用配对 *t* 检验。相关关系进行双变量相关分析, 其线性相关系数采用 Pearson 相关系数。全部统计在 SPSS 10.0 软件上进行。

2 结果

2.1 各组血清 ET、6-K-PGF1α 水平比较 A、C、D、F 组血清 ET 水平显著低于 B 组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), C、D、F 组血清 ET 水平显著高于正常对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), C 组与 F 组间无显著差异 ($P > 0.05$), D 组血清 ET 水平显著高于 C 组、F 组 ($P < 0.05$), E 组与 B 组无显著差异; A、C、D、F 组血清 6-K-PGF1α 水平显著高于 B 组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), D 组血清 6-K-PGF1α 水平低于 A、C、F 组 ($P < 0.05$), A、C 及 F 组各组间血清 6-K-PGF1α 水平无显著差异, E 组与 B 组无显著差异。详见表 1。

表 1 各组间血清 ET、6-K-PGF1α 水平、溃疡指数比较
Tab 1 Comparison of ET, 6-K-PGF1α and ulcer indices between different groups

Group	ET $\rho_B / (\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1})$	6-K-PGF1α $\rho_B / (\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1})$	Ulcer indexes (score)
Normal control	57.28 ± 19.8	87.36 ± 11.4	-
Direct stress	143.47 ± 21.9 ^{△△}	43.29 ± 7.8 ^{△△}	39.61 ± 4.5
Precondition I	71.98 ± 17.4 ^{**△}	76.57 ± 10.6 ^{**}	14.43 ± 3.7 ^{**}
Precondition II	103.63 ± 22.6 ^{*△△}	63.64 ± 8.2 ^{*△△}	26.56 ± 7.2 [*]
Precondition III	127.47 ± 18.7 ^{△△}	52.31 ± 9.9 ^{△△}	41.67 ± 6.1
Ranitidine treated	77.02 ± 17.4 ^{**△}	82.45 ± 12.8 ^{**}	11.98 ± 3.9 ^{**}

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs direct stress group; △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$ vs normal control group

2.2 溃疡指数 C、D、F 组溃疡指数显著低于 B 组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), E 组溃疡指数与 B 组无显著差异(表 1)。

2.3 胃黏膜组织学改变 肉眼观察, A 组胃黏膜结构基本完整, 未见溃疡及出血点; B 组可见黏膜点片状出血、坏死、脱落, 溃疡呈火山口状, 几乎深达黏膜肌层; C 组、F 组可见散在的黏膜间灶性或点状出血点, 溃疡较 B 组浅表, 大多局限于黏膜层和黏膜下

层, D 组介于 C 组、F 组和 B 组之间, E 组与 B 组无显著区别。镜下观察, A 组胃腺体细胞排列整齐规则, 黏膜完整性好; B 组黏膜完整性破坏, 伴有上皮细胞坏死、炎性渗出, 固有层和黏膜下层毛细血管可见微小血栓形成, C 组及 F 组可见少许黏膜上皮细胞脱落, 炎性渗出不明显, 黏膜层、黏膜下层偶见微小血栓形成, D 组介于 C 组、F 组和 B 组之间, E 组与 B 组无显著区别(图 1)。

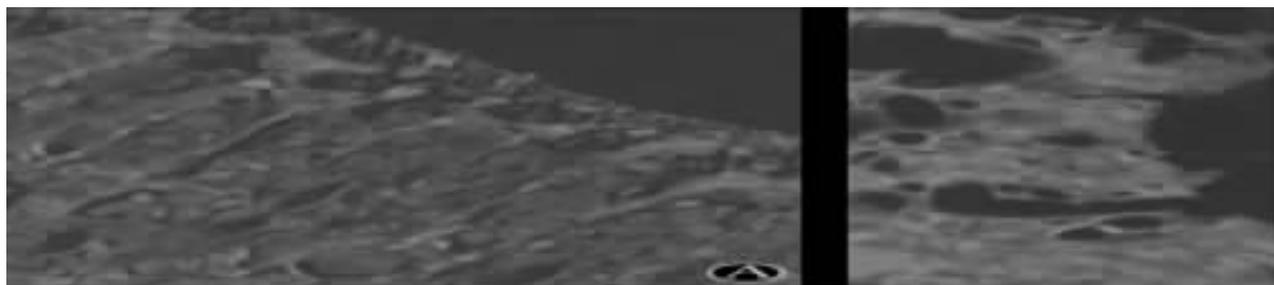


图 1 各组应激大鼠胃黏膜组织组织学检查

Fig 1 Pathological results of gastric mucosa tissues in stressed rats of different groups

A: Normal control; B: Direct stress group; C: Precondition I group; D: Precondition II group; E: Precondition III group; F: Ranitidine group (H-E stain, Original magnification: $\times 400$)

3 讨论

SU 是指由应激因素引起的一种急性胃黏膜表浅损伤, 寒冷、疲劳、游泳等持续刺激均可导致 SU 的产生。唐冬良等^[2]总结报道了海训期间应激性溃疡 50 例。因此研究海水束缚应激导致 SU 的形成具有重要的现实意义。

SU 在形成过程中, 可出现溃疡形成及相应的组织病理改变, UI 指数与病情的严重程度呈正相关, 关于此研究已多有报道。近年文献报道^[3], UI 与应激时间呈正相关。本次研究证实此观点, 并进一步发现, 在海水束缚应激前给予海水环境预适应、药物预处理, 预适应组 UI 及组织病理改变较直接应激组显著改善, 表明预适应可显著防止 SU 的形成, 防止应激过程中急性胃黏膜的损伤。

ET 是强效的血管收缩因子, 具有强烈持久的缩血管和促平滑肌增殖的作用, 表现出很强的致溃疡性。研究表明^[4-5], 应激状态下胃黏膜局部迷走神经兴奋, ET-1 分泌增多, 导致胃黏膜血流量减少、微血管通透性增加、血流淤滞和微循环障碍, 胃黏膜损伤, SU 形成。国内学者研究发现^[6]大鼠给予应激后血清 ET 水平较正常对照组显著升高, 给予药物干预后, ET 水平较对照组显著下降。本次研究结果直

接应激组血清 ET 水平显著升高, 而海水预适应组及雷尼替丁预处理组血清 ET 水平较直接应激组显著下降, 也进一步表明 ET 在 SU 形成过程中的作用, 其释放增加可能是胃溃疡的始动因子之一, 预处理能使 ET 合成和分泌减少, 降低血清中 ET 水平, 从而对胃黏膜起保护作用, 降低 SU 发生率。但也有国外学者研究^[7]发现, 在神经系统疾病所致的 SU 患者病程中使用奥美拉唑, 并在第 1 日和第 7 日分别行胃镜检查, 发现给药前 ET-1 表达增加, 胃黏膜损伤明显, 药物干预可显著改善胃黏膜损伤, 但给药前后 ET-1 的表达无明显差异。

前列腺素可由胃肠道黏膜合成, 其中 PGI_2 具有拮抗血栓素 (TXB_2) 的作用, 能增加胃黏膜血流量; 同时具有细胞保护作用, 是强血小板抑聚因子和舒血管因子, 由于 PGI_2 分子不稳定, 因此可通过测定 PGI_2 代谢产物 6-K-PGF 1α 来反映 PGI_2 水平。国外学者^[8-9]研究发现, 大鼠应激性溃疡形成过程中, UI 显著升高, 同时 6-K-PGF 1α 水平显著降低, 两者呈负相关; 给予相应治疗后, 前列腺素水平较前明显升高, 组织损伤得到改善, 表明 6-K-PGF 1α 具有黏膜保护, 防止溃疡形成的作用。本研究结果进一步证实此观点, 并证明预适应可增加 6-K-PGF 1α 含量, 从而对胃黏膜起保护作用, 促进溃疡愈合。

本次研究同时还发现,当应激条件持续存在时,UI及组织病理改变逐渐加重,血清ET及6-K-PGF1 α 水平逐渐接近直接应激组,应激条件持续存在10h时,预适应组与直接应激组间已无差异,提示进行预适应有助于防止SU的形成,但如果不尽早去除应激条件,则预适应无助于防止应激性溃疡的发生。

本次研究表明,进行预期环境适应或药物帮助干预,应激性溃疡的发生率及组织病理损伤能得到有效的控制,但随着应激时间的延长,这种效能随之下降,提示对于从事海上作业的人员,除对已发生SU患者可以按预定方案进行医疗救治外,重点在于平时加强科学的海训方法及适度的药物防止SU的产生,另外落水后给予及时援救也十分必要。这对于渡海登陆作战中减少非战斗减员,提高部队战斗力具有重要意义。

[参考文献]

[1] Guth P H,Paulsen G. Aspirin-induced gastric injury in the rat: histologic changes and sucralfate cytoprotection[J]. Proc Soc Exp Biol Med,1987,184:423-428.
 [2] 唐冬良,戴禄寿,肖燕,江拥军. 应急作战部队应激性溃疡出血50例分析[J]. 人民军医,2005,48:82-82.

[3] Li Y M,Lu G M,Zou X P,Li Z S,Peng G Y,Fang D C. Dynamic functional and ultrastructural changes of gastric parietal cells induced by water immersion-restraint stress in rats[J]. World J Gastroenterol,2006,12:3368-3372.
 [4] Duan Y M,Li Z S,Zhan X B,Xu G M,Tu Z X,Gong Y F. Changes in endothelin-1 gene expression in the gastric mucosa of rats under cold-restraint-stress[J]. Chin J Dig Dis,2004,5:28-34.
 [5] Szabo S,Deng X,Khomenko T,Chen L,Tolstanova G,Osapay K,et al. New molecular mechanisms of duodenal ulceration [J]. Ann N Y Acad Sci,2007,1113:238-255.
 [6] 孙元莹,郭茂松,李志军,刘红栓,王今达. 血必净对家兔应激性溃疡防治作用的研究发现[J]. 辽宁中医杂志,2006,33:490-491.
 [7] Hsieh J S,Howng S L,Huang T J,Wang J Y,Chen F M. Endothelin-1,inducible nitric oxide synthase and macrophage inflammatory protein-1alpha in the pathogenesis of stress ulcer in neurotraumatic patients[J]. J Trauma,2006,61:873-878.
 [8] Ismail H A,Khalifa M M,Hassan M K,Ashour O M. Insights in the mechanisms underlying the anti-ulcer activity of nicorandil[J]. Pharmazie,2007,62:60-66.
 [9] Shimozawa N,Okajima K,Harada N,Arai M,Ishida Y,Shimada S,et al. Contribution of sensory neurons to sex difference in the development of stress-induced gastric mucosal injury in mice[J]. Gastroenterology,2006,131:1826-1834.

[本文编辑] 李丹阳

• 消息 •

2008年度上海市优秀学科带头人计划、青年科技启明星计划项目揭晓

由上海市科委组织实施的上海市优秀学科带头人计划、上海市青年科技启明星计划项目近日已向社会公布。本年度总计241位优秀科技工作者获得这两项计划的资助。其中在获得本年度青年科技启明星计划资助的154人中,有79人来自高校和科研院所,40人来自企业,4人获联合申请资助,31人获跟踪支持;在获得本年度优秀学科带头人计划资助的87人中,有55人来自高校和科研院所,30人来自企业,2人获联合申请资助。

我校卫勤系曹广文、长海医院陆建平、长征医院徐沪济、东方肝胆外科医院卫立辛4名学者入选优秀学科带头人计划,分别受资助40万元;基础部韩岩梅,药学院曹颖瑛,中医系顾伟,长海医院汪滋民,长征医院何海龙、朱元杰,东方肝胆外科医院杨立群等7名学者入选青年科技启明星计划,分别受资助15万元;长征医院邓安梅入选启明星追踪计划项目,受资助20万元。

这是我校获得上海市人才计划项目数最多的一年,项目的启动与实施对于促进我校人才培养与学科建设具有很强的推动作用。