

严重烧伤大鼠胃粘膜血流量和 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的改变及对胃粘膜电位差的影响

张超 杨宗城

【摘要】 目的 观察大鼠严重烧伤后胃粘膜血流量(GMBF)和 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的变化,探讨其对胃粘膜电位差(GTPD)的影响。**方法** 制作烧伤大鼠模型,分别采用激光多普勒微循环流量计、电生理记录仪和生化法,检测大鼠伤前及伤后 3、6、12、24、48 h 时 GMBF、GTPD 和胃粘膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的改变;另设正常大鼠为对照组,于相同时相点检测以上指标。随后对各指标进行相关性分析。**结果** 与对照组比较,大鼠烧伤后 3~24 h GMBF 与 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性均明显降低($P < 0.05 \sim 0.01$),GTPD 于伤后 6~48 h 明显下降($P < 0.05 \sim 0.01$),3 项指标均于 12 h 时降至最低。相关性分析结果显示:Na⁺-K⁺-ATP 酶活性随 GMBF 的降低而下降($r = 0.417, P < 0.01$);GMBF 的减少或 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的降低,均可引起 GTPD 降低($r = 0.453$ 或 $0.527, P < 0.01$)。

结论 大鼠严重烧伤后,GMBF 减少,Na⁺-K⁺-ATP 酶活性降低,二者均为引起胃粘膜屏障功能受损的主要原因。

【关键词】 烧伤; 胃粘膜; 血流量; Na⁺-K⁺-ATP 酶; 膜电位

The postburn changes in gastric mucosal blood flow and Na⁺-K⁺-ATPase activity and their effects on gastric transmucosal potential difference in severely scalded rats ZHANG Chao, YANG Zong-cheng. Institute of Burn Research, Southwest Hospital, The Third Military Medical University, Chongqing, 400038. P. R. China

【Abstract】 Objective To investigate the postburn changes in gastric mucosal blood flow (GMBF) and Na⁺-K⁺-ATPase activity and their effects on gastric transmucosal potential difference (GTPD) in severely scalded rats. **Methods** Rats were inflicted with hot water scald on the back. Laser Doppler blood flow meter, electric physiological recorder meter and biochemical method were employed in the study to determine the changes in GMBF, GTPD and gastric mucosal Na⁺-K⁺-ATPase activity in the rats before injury and at 3, 6, 12, 24 and 48 PBHs. Normal rats served as controls, The above indices were also detected at the corresponding time points. All the data was collected and analyzed for their correlation. **Results** The GMBF and Na⁺-K⁺-ATPase activity was at 3-24 PBHs were evidently lower in the scalded rats than those in controls ($P < 0.05-0.01$). GTPD was decreased significantly at 6-48 PBHs ($P < 0.05-0.01$). was above three indices reached the lowest values at 12 PBH. By correlation analysis the results indicated that the Na⁺-K⁺-ATPase activity The decreased in accordance with a decrease in GMBF ($r = 0.527, P < 0.01$). The GTPD decrease could both be induced by GMBF decrease and Na⁺-K⁺-ATPase activity decrease ($r = 0.453$ and 0.527 , respectively, $P < 0.01$). **Conclusion** The decrease in GMBF and Na⁺-K⁺-ATPase activity occurred in severely scalded rats, both changes might be the major cause of postburn gastric mucosal barrier injury.

【Key words】 Burn; Gastric mucosa; Blood flow; Na⁺-K⁺-ATPase activity; Transmucosal potential

应激性溃疡是严重烧伤后常见的并发症,死亡率高达 10%~20%^[1],但其发生机制尚未完全阐明。目前认为,致伤因子与保护因子之间的动态平衡失调,导致胃粘膜屏障功能受损,可能是应激性溃疡发生的主要原因之一^[2]。跨胃粘膜电位差(gastric transmucosal potential difference, GTPD)因其测量

简便、无创伤性、重复性好,被认为是反映胃粘膜屏障完整性的敏感指标^[3]。而胃粘膜血流量(gastric mucosal blood flow, GMBF)和胃粘膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性,均在维持胃粘膜屏障功能的完整性中起重要作用。既往对烧伤后应激性胃粘膜损害的研究,主要集中在胃酸及胃肠道激素方面,而对 GMBF 和 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的变化报道较少。本研究观察了大鼠严重烧伤后 GMBF 及 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的变化,并探讨其与 GTPD 的关系,以了解烧伤后胃粘膜屏障功能的改变及其发生机制,为烧伤应激性溃疡的防治提供实验依据。

作者单位:400038 重庆,第三军医大学西南医院全军烧伤研究所(张超现在普通外科)

通讯作者:杨宗城(电话:023-68754484, E-mail: ZCYang@mail.tmmu.com.cn)400038 重庆,第三军医大学西南医院全军烧伤研究所

材 料 与 方 法

一、动物模型及分组

Wistar 雄性大白鼠 20 只(第三军医大学实验动物中心提供), 体重 220 ± 30 g。室温下单笼喂养 1 周后, 随机分为对照组和烧伤组, 每组 10 只。烧伤组大鼠实验前禁食 24 h, 自由饮水, 随后用戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射麻醉, 背部去毛后浸入 92°C 水中 18 s, 造成 30% TBSA III 度烫伤(以下称烧伤), 伤后立即腹腔注射无菌等渗盐水(30 ml/kg), 此后每隔 6 h 重复注射相同剂量等渗盐水 1 次。对照组除皮肤不烫伤外, 其余处理同烧伤组。烧伤组于伤前及伤后 3、6、12、24、48 h 时检测以下各项指标; 对照组于相同时相点检测各指标。

二、观察指标及检测方法

1. GMBF 的测定: 应用天津南开大学电子仪器厂研制的 LDF-3 型激光多普勒微循环血流计测定。测定条件: 光源为 He-Ne 激光, 功率 2.5 W, 工作波长 632.8 nm, 多普勒频率为(4~12) kHz, 时间常数 3 s, 量程为 1。于各组大鼠剑突下正中处切开腹壁, 充分暴露胃后, 剪开胃体前壁约 0.5 cm, 将血流仪探头插入切口内, 轻轻接触胃后壁粘膜, 待血流稳定后开始测量, 共测量 2 次, 每次 1 min, 计算平均值。所测得的 GMBF 为相对值, 以 mV 表示。

2. GTPD 的测定: 完成 GMBF 测定后, 将两只自

制的 AgCl_2 电极连接于 PHS-10A 数字式酸度-离子计上, 测定电极轻轻接触胃粘膜, 参与电极置于腹部切口皮下, 稳定后记录电位值(绝对值), 单位为 mV。

3. 胃粘膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性测定: (1) 酶制备: 按 Mozsik 等^[4]的方法略加修改。刮取胃粘膜, 称重、剪碎, 加 9 倍体积的冷冻匀浆液进行匀浆, 4°C $3\ 000 \times g$ 离心 15 min 后, 取上清液, 4°C $20\ 000 \times g$ 离心 20 min, 弃上清, 沉淀物用冷冻匀浆液洗涤 2 次, -20°C 冰箱保存。(2) 酶活力测定: 反应总体积 450 μl , pH7.4。设 A、B 两管, A 管含 100 mmol/L NaCl、20 mmol/L KCl、10 mmol/L 咪唑、5.6 mmol/L MgCl_2 、2 mmol/L ATP- Na_2 ; B 管除增加 1 mmol/L 哇巴因、NaCl 增至 120 mmol/L、不含 KCl 外, 其余成分同 A 管。分别向 A、B 两管中加入酶制备样品 100 μl , 参照文献[4]测定酶活力。酶活力单位: $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg 蛋白}^{-1}$ 。

三、统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 10.0 统计软件进行 *t* 检验和相关分析。

结 果

1. GMBF 的变化: 结果见表 1。

2. $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性的变化: 结果见表 2。

3. GTPD 的变化: 结果见表 3。

表 1 大鼠烧伤后胃粘膜血流量的变化 (mV, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Dynamic change in gastric mucosal blood flow (mV, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	伤前	伤后时间(h)				
			3	6	12	24	48
烧伤组	10	58.82 ± 2.80	44.58 ± 3.20*	38.25 ± 3.42**	32.72 ± 4.64**	46.64 ± 1.75*	53.36 ± 4.41
对照组	10	58.47 ± 2.69	57.35 ± 2.74	58.29 ± 3.07	59.83 ± 2.74	57.24 ± 3.89	58.43 ± 2.20

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 2 大鼠烧伤后胃粘膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性的变化 ($\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg 蛋白}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Dynamic changes in $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity in gastric mucosal tissue ($\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg protein}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	伤前	伤后时间(h)				
			3	6	12	24	48
烧伤组	10	156.78 ± 14.65	110.44 ± 11.36*	102.71 ± 13.72*	91.39 ± 9.43**	94.82 ± 12.11**	128.21 ± 14.70
对照组	10	157.35 ± 16.24	154.10 ± 10.30	150.01 ± 12.75	149.88 ± 1036	157.74 ± 12.10	152.24 ± 11.36

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 3 大鼠烧伤后胃粘膜电位差的变化 (mV, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Dynamic changes in gastric transmucosal potential difference (mV, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	伤前	伤后时间(h)				
			3	6	12	24	48
烧伤组	10	23.78 ± 1.56	20.42 ± 1.93	16.50 ± 4.30*	12.88 ± 1.69**	16.43 ± 1.76*	17.86 ± 2.54*
对照组	10	23.80 ± 1.62	23.54 ± 1.74	22.45 ± 1.89	23.17 ± 2.13	24.34 ± 2.05	23.70 ± 2.10

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4. 相关性分析结果:随着 GMBF 的降低, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性下降 ($r = 0.417, P < 0.01$)。GMBF 的减少或 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性的降低,均可引起 GTPD 降低 ($r = 0.453$ 或 $0.527, P < 0.01$)。

讨 论

胃粘膜在转运 H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 等离子时,所产生的离子梯度可导致 GTPD 形成,其大小取决于各种离子流在粘膜两侧的梯度差,以及粘膜组织结构所具有的电阻抗^[5]。正常情况下,胃腔内的 H^+ 浓度比粘膜内高 300 万 ~ 400 万倍^[6],当胃粘膜屏障功能受损时, H^+ 顺着巨大的离子梯度大量回渗到粘膜内, Na^+ 则从粘膜内流到胃腔,使离子梯度产生变化,导致 GTPD 降低。胃粘膜对 H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 等离子的跨膜转运是一个主动的耗能过程,需要 ATP 提供能量,这一过程主要依赖于胃粘膜细胞膜上的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶来完成^[7]。GMBF 是反映胃粘膜屏障功能的重要指标之一,它在清除过量的 H^+ 逆弥散、为胃粘膜细胞提供足够的能量代谢底物以及维护粘膜屏障功能方面都极为重要^[8]。

机体严重烧伤后,常出现全身血流灌注不良,同时应激反应引起交感神经兴奋,肾上腺髓质分泌儿茶酚胺增多。为保证心、脑等重要器官的血供,体内的血液发生重新分布,内脏血管收缩,胃肠道血流量减少尤为明显。此外,内皮素和血小板活化因子也参与了对 GMBF 的调节^[9],其中内皮素是目前所知的最强有力的血管收缩剂,可引起胃粘膜血管强烈收缩,具有潜在的致溃疡作用^[10]。本研究结果表明,大鼠严重烧伤后 GMBF、胃粘膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性、GTPD 均下降;相关性分析结果提示,GMBF 与胃粘膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性密切相关,其中任一项指标的下降均可引起胃粘膜屏障功能受损。GMBF 下降是引起胃粘膜屏障功能损害的基本因素,随着 GMBF 的下降,一方面机体不能迅速清除由胃腔弥散到粘膜内的 H^+ ,使胃粘膜内 pH (pHi) 下降,另一方面使组织细胞缺乏氧气和营养物质,干扰线粒体的氧化磷酸化过程,乏氧代谢增强,细胞内 CO_2 和乳酸增多,胃粘膜 pHi 下降。pHi 是近年来较受关

注的胃粘膜缺血缺氧检测指标,能极敏感地反映内脏系统“隐匿性”缺氧^[11]。由于线粒体的氧化磷酸化过程受阻,ATP 产生不足,导致粘膜细胞的能量代谢发生障碍,细胞膜上的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性下降,不能维护粘膜两侧的离子梯度,其结果是使胃粘膜屏障功能受损,GTPD 降低。此时,弥散到粘膜内的 H^+ 又可刺激胃酸和胃蛋白酶的分泌,并引起组织胺释放,加重胃粘膜细胞的损伤,形成恶性循环,进而发展成应激性溃疡。

参 考 文 献

- 1 Kwiecien S, Brzozowski T, Konturek SJ. Effects of reactive oxygen species action on gastric mucosal in various models of mucosal injury. *J Physiol Pharmacol*, 2002, 53: 39 - 50.
- 2 Synnerstad I, Johnson M, Nylander O, et al. Intraluminal acid and gastric mucosal integrity: the importance of blood-borne bicarbonate. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2001, 280: G121 - 129.
- 3 Szlachetka A, Bilski R, Dziadus SA, et al. The effect of nitric oxide donors and L-arginine on the gastric electrolyte barrier. *J Physiol Pharmacol*, 2001, 52: 211 - 220.
- 4 Mozsik G, Vizi F. Examination of stomach wall $\text{Mg}^{++} - \text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$, ATP, and ADP in pylorus-ligated rats. *Am J Dig Dis*, 1976, 21: 649 - 654.
- 5 Saita H, Murakami M. Effect of teprenone on gastric mucosal injury induced by *Helicobacter pylori* in rats. *Arzneimittelforschung*, 2000, 50: 1110 - 1114.
- 6 Kaunitz JD, Akiba Y. Integrated duodenal protective response to acid. *Life Sci*, 2001, 69: 3073 - 3081.
- 7 Okamoto CT, Chow DC, Forte AJ. Interaction of alpha-and beta-subunits in native H-K-ATPase and cultured cells transfected with H-K-ATPase beta-subunit. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2000, 278: 727 - 738.
- 8 Takeuchi K, Suzuki K, Mizoguchi H, et al. Monchloramine impairs mucosal blood flow response and healing of gastric lesions in rats: relation to capsaicin-sensitive sensory neurons. *J Gastroenterol Hepatol*, 2001, 16: 282 - 289.
- 9 Abe Y, Itoh K, Arakawa Y. Altered vascular response to acetylcholine in conditions of endothelial damage in the isolated perfused rat stomach. *J Gastroenterol*, 2000, 35: 93 - 98.
- 10 kawano S, Tsuji S. Role of mucosal blood flow; a conceptual review in gastric mucosal injury and protection. *J Gastroenterol Hepatol*, 2000, 15: 1 - 6.
- 11 高维谊, 郭振荣, 孙世荣, 等. 烧伤后早期某些炎性介质对胃粘膜损伤的临床研究. *中华整形烧伤外科杂志*, 1998, 14: 203 - 206.

(收稿日期: 2002 - 06 - 13)

(本文编辑: 罗 勤)

· 消息 ·

2003 年《中华烧伤杂志》编辑部在重庆市期刊评选中获奖四项

在重庆市新闻出版局、重庆市科学技术委员会组织的“重庆市第三届期刊好作品”评选活动中,《中华烧伤杂志》编辑部的“专家论坛”栏目被评为科技类“好栏目”,两篇论文获科技类“好稿”一等奖(作者胡大海、彭曦;编辑王旭、赵云),一篇论文题目获科技类“好标题”(编辑王旭)。编辑部将向作者寄发一定额度的奖金,用以鼓励更多的作者写出好论文,同时邮寄重庆市颁发给作者的证书。