6 Iwata T, Chen L, Li C, *et al*. A neonatal lethal mutation in FGFR3 uncouples proliferation and differentiation of growth plate chondrocytes in embryos. Hum Mol Genet, 2000, 9:1603 – 1613

7 Hart KC, Robertson SC, Donoghue DJ. Identification of tyrosine residues in constitutively activated fibroblast growth factor receptor 3 involved in mitogenesis, Stat activation, and phosphatidylinositol 3 – kinase activation. Mol Biol Cell, 2001, 12: 931 – 942

8 Kong M, Wang CS, Donoghue DJ. Interaction of fibroblast growth factor receptor 3 and the adapter protein SH2 – B. A role in STAT5 activation. J Biol Chem, 2002, 277: 15962 – 15970

9 Ornitz DM, Itoh N. Fibroblast growth factors. Genome Biol, 2001, 2: Reviews 3005

10 Han DS, Li F, Holt L, *et al*. Keratinocyte growth factor – 2 (FGF – 10) promotes healing of experimental small intestinal ulceration in rats. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2000, 279: G1011 – G1022

11 Iwakiri D, Podolsky DK. Keratinocyte growth factor promotes goblet cell differentiation through regulation of goblet cell silencer inhibitor. Gastroenterology, 2001, 120: 1372 – 1380

(收稿:2009 – 10 – 26)
(修回:2009 – 12 – 03)

不同病因导致的应激性胃黏膜损伤及其血液 ET、TNF – α 的改变

张宏亮 徐 杨 范 晓

摘 要 目的 探讨不同病因导致的应激性胃黏膜损伤改变及其血液中 ET、TNF – α 的浓度变化及二者的关系。**方法** 通过建立急性甲胺磷中毒及急性心肌梗死动物模型,采用胃黏膜溃疡指数评定是否发生胃黏膜损伤,应用放射免疫分析法测定应激性胃黏膜损伤时血液中 ET、TNF – α 的变化。**结果** (1)成功建立大鼠急性甲胺磷中毒及急性心肌梗死动物模型。(2)急性甲胺磷中毒及急性心肌梗死两种应激状态下胃黏膜发生了损伤。(3)不同病因所致应激性胃黏膜损伤时血液中 ET、TNF – α 浓度增加。**结论** (1)临床危重疾病的应激状态下胃黏膜发生了损伤,胃黏膜溃疡指数增加。(2)不同病因所致的应激性胃黏膜损伤时血液中 ET、TNF – α 浓度增加,表明 ET、TNF – α 在应激性胃黏膜损伤时有重要作用。

关键词 应激 溃疡指数 内皮素 肿瘤坏死因子

Study of the Changes of Endothelin, Tumor Necrosis Factor in Different Stress – related Gastric Mucosal Disease. *Zhang Hongliang, Xu Yang, Fan Xiao. The Second Xiangya Hospital of Central South University, Emergency Department, Hunan 410011, China*

Abstract Objective To observe the changes of Endothelin, Tumor Necrosis Factor in different stress; and to explore the corelation between the changes of Endothelin, Tumor Necrosis Factor and the occurrence of stress – related gastric mucosal disease. **Methods** The models of the acute methamidophos poison and the acute myocardial infarction in rats were made. The gastric ulcer index was counted and the content of blood plasma Endothelin and blood serum Tumor Necrosis Factor were checked. **Results** Models of the acute methamidophos poison and the acute myocardial infarction in rats were set up successfully. The gastric ulcer index of rats in the stress groups increased . The blood plasma Endothelin and blood serum Tumor Necrosis Factor in the stress group were significantly higher than those in the control group. **Conclusion** The gastric mucosal disease under different stress was observed with the gastric mucosal ulcer index. The blood plasm Endothelin and blood serum Tumor Necrosis Factor under different stress were increased, suggesting they play an important role in this phenomenen.

Key words Stress; Ulcer index, Endothelin; Tumor necrosis factor

应激是生活中常见的致病因素,机体在应激状态下,如严重创伤、中毒、急性心肌梗死等,可发生急性胃黏膜损伤或应激性溃疡(stressulcer, SU)并出血。SU 的病理生理过程涉及机体神经内分泌失调、体液因子改变、胃黏膜屏障功能削弱及胃黏膜损伤因素作用相对增强等诸多方面。在体液因子改变的方面,内皮素(ET)和肿瘤坏死因子(TNF – α)引起了越来越多研究者的注意。ET 是一种强烈的血管张力调节因子,TNF – α 是一种具有多种生物学活性的细胞因

作者单位:410011 长沙,中南大学湘雅二医院急诊科
通信作者:徐杨,电子信箱:13808432219xy@ sina. com

医学研究杂志

子，TNF－α在体内的大量产生和释放则会破坏机体的免疫平衡，与其他炎症因子一起产生多种病理损伤，如急性肺损伤、急性胃黏膜损伤等。本研究旨在探讨急性心肌梗死和急性重度中毒这两种临床重症所致应激状况下胃黏膜是否发生了损伤及血液中ET、TNF－α的变化，进而初步探讨这两种体液因子发生变化的作用。

材料与方法

1. 实验动物与分组：健康 Sprague－Dawley（SD）大鼠 40 只，鼠龄 8 周，雌雄不拘，体重 250～300g，由中南大学湘雅二医院动物室提供。随机分为 4 组，空白对照（A）组，急性甲胺磷中毒（B）组，急性心肌梗死对照（C）组，急性心肌梗死（D）组，各组 10 只。

2. 主要试剂与仪器：主要试剂：10% 甲醛、2% 氯胺酮注射液、0.2% 甲胺磷、ET 放免检测试剂盒和 TNF－α 放免检测试剂盒购自解放军总医院科技开发中心放免所。

3. 实验方法：（1）将各组实验动物编号、称重。各组大鼠实验前禁食 24h，自由饮水，实验开始后禁水。（2）A 组大鼠给予 8ml/kg 生理盐水灌胃；B 组大鼠经口灌服 0.2% 甲胺磷 16mg/kg（相当于 8ml/kg）。C 组大鼠给予 80mg/kg 氯胺酮腹腔麻醉后气管插管，上人工动物呼吸机，开胸后在左冠状动脉前降支根部以一根零号医用缝合线穿过但不结扎，不造成急性心肌梗死。D 组大鼠采用与 C 组相同的方法，在左冠状动脉前降支根部以一根零号医用缝合线结扎，造成急性心肌梗死。C、D 组大鼠用动物心电图机描记开胸前和动物模型建立 30min 后的心电图。（3）A 、B 组大鼠动物模型建立后留置观察 4h，C 、D 组大鼠动物模型制作成功后留置观察 1h，然后各组大鼠下腔静脉采血 4ml 测定胆碱酯酶活力及 ET、TNF－α。然后解剖分离其胃，观察胃黏膜大体改变并评定胃黏膜溃疡指数（ulcer index，UI）。

4. 胃黏膜溃疡指数的评定：按 Guth 标准[1]计算胃黏膜溃疡指数，按溃疡或糜烂面积大小给予计分：①每 3 个点状溃疡（黏膜缺损小于 lmm 或出血性糜烂小点，称点状溃疡）计 1 分；②条状或斑片状糜烂、出血：以游标卡尺测量溃疡面的最大长径和垂直于最大长径的最大宽径，二者的乘积即为溃疡指数。宽为 1mm 者每毫米长为 1 分；2mm 宽者每毫米长为 2 分；3mm 宽者每毫米长为 3 分。两者之和即为溃疡指数评分。

5. 统计学方法：应用 SPSS11.5 统计软件进行统计学处理，实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，对计量资料进行方差齐性检验，方差齐性者，用单因素方差分析（one－way ANOVA，又称 F 检验）检验总体均数差异性，有显著差异者再进行两两比较（Student－Newman－Keuls Test），$P<0.05$ 判为差异有统计学意义。

结　　果

1. 动物模型的建立：（1）急性甲胺磷中毒模型的建立：A 组大鼠血清胆碱酯酶活力为（126.5 ± 2.83）U/L，最大值为 130.0U/L，最小值为 120.0U/L。B 组血清胆碱酯酶活力为 0，因此判断急性甲胺磷中毒动物模型成功建立。（2）急性心肌梗死动物模型的建立：C 组大鼠开胸前及动物模型建立 30min 后的心电图对比无明显变化。D 组大鼠动物模型建立 30min 后的心电图较开胸前未结扎冠状动脉心电图发生明显变化，ST 段明显呈弓背上抬，因此判断急性心肌梗死动物模型成功建立（图 1～图 4）。

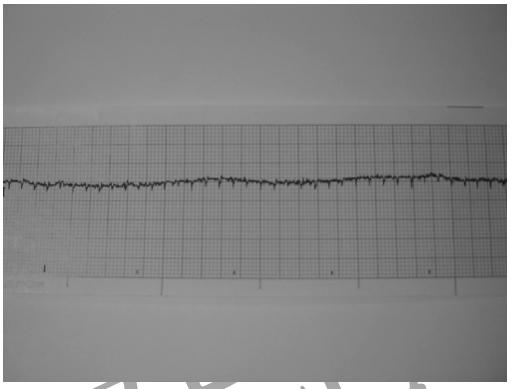

图 1　C 组大鼠开胸前的心电图
ST 段无明显上抬

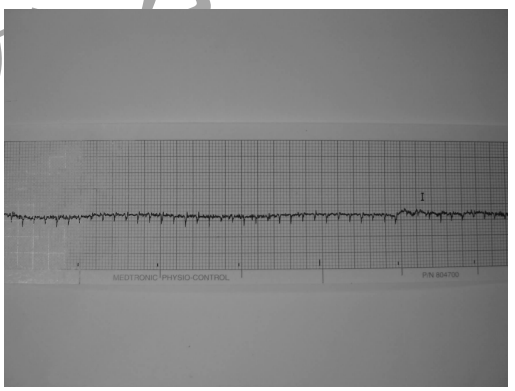

图 2　C 组大鼠动物模型建立 30min 后的心电图
ST 段无明显上抬

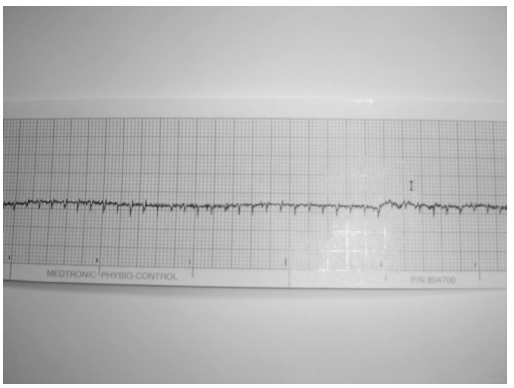

图 3　D 组大鼠开胸前的心电图
ST 段无明显上抬

医学研究杂志

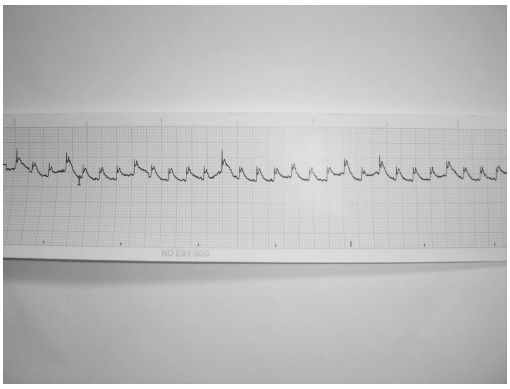

图 4　D 组大鼠动物模型建立 30min 后的心电图

ST 段明显呈弓背上抬

2. 胃黏膜溃疡指数在各组的改变及各组间的比较：见表 1。A 与 B、C 与 D 组比较，$P<0.05$，有显著性差异，提示急性甲胺磷中毒及急性心肌梗死的应激状态下胃黏膜发生了损伤，B 与 D 组比较，$P>0.05$，没有显著性差异，提示本实验条件下两种临床重症导致了同等程度的应激性胃黏膜损伤。A 与 C 组比较，$P>0.05$，没有显著性差异，提示仅开胸手术而无心肌梗死没有导致胃黏膜损伤产生。

表 1　各组大鼠胃黏膜溃疡指数的改变

组别	n	最小值	最大值	$\bar{x}$	s
A	10	0.0	3.0	1.26	1.01
B	10	20.0	25.0	22.70	1.60
C	10	0.5	4.0	1.70	1.03
D	10	12.5	17.0	14.75	1.51

3. 体液因子血浆 ET 的浓度在各组的改变及各组间的比较：见表 2。A 与 B、C 与 D 组比较，$P<0.05$，有显著性差异，提示急性甲胺磷中毒及急性心肌梗死的应激状态下血浆 ET 浓度增加，B 与 D 组比较，$P>0.05$，没有显著性差异，提示本实验条件下两种临床重症所致的应激性胃黏膜损伤时血浆 ET 浓度的增加程度相同。A 与 C 组比较，$P>0.05$，没有显著性差异，提示急性心肌梗死对照（C）组血浆 ET 浓度较正常对照组无改变。

表 2　各组体液因子血浆 ET 的含量（pg/ml）

组别	n	最小值	最大值	$\bar{x}$	s
A	10	78.60	85.52	81.82	2.11
B	10	123.60	141.20	134.48	5.49
C	10	80.73	92.98	84.97	3.56
D	10	115.20	133.00	119.54	4.98

4. 体液因子血清 TNF－α 的浓度在各组的改变及各组间的比较：见表 3。A 与 B、C 与 D 组比较，$P<0.05$，有显著性差异，提示急性甲胺磷中毒及急性心肌梗死所致应激状态下血清 TNF－α 浓度增加，B 与 D 组比较，$P>0.05$，没有显著性差异，提示本实验条件下两种临床重症所致的应激性胃黏膜损伤时血清 TNF－α 浓度的增加程度相同。A 与 C 组比较，$P>0.05$（$P=0.33$），没有显著性差异提示仅开胸手术而无心肌梗死没有导致血清 TNF－α 浓度发生变化。

表 3　各组体液因子血清 TNF－α 含量（ng/ml）

组别	n	最小值	最大值	$\bar{x}$	s
A	10	0.47	0.77	0.63	0.09
B	10	0.98	1.30	1.14	0.08
C	10	0.53	0.78	0.67	0.07
D	10	0.84	1.20	1.01	0.11

讨　论

1. 急性甲胺磷中毒及急性心肌梗死均可产生应激性胃黏膜损伤：急性甲胺磷中毒及急性心肌梗死是临床常见的危重疾病。急性甲胺磷中毒主要是引起乙酰胆碱在体内的大量蓄积，进而诱发一系列中毒症状。急性心肌梗死是在冠状动脉病变的基础上，发生冠状动脉血供急剧减少或中断，导致心肌坏死。这两种临床危重疾病状态下常可导致呼吸衰竭、心力衰竭、脑水肿、上消化道出血等，这些并发症常加速病人的死亡。本研究从 A、B 组大鼠有机磷农药中毒表现及血清胆碱酯酶活力评定急性甲胺磷中毒动物模型已成功建立，C、D 组大鼠依据开胸前及动物模型建立 30min 后的心电图变化评定急性心肌梗死动物模型已成功建立。而在本胃黏膜溃疡指数的研究中 A 与 B、C 与 D 组比较，$P<0.05$，有显著性差异，提示急性甲胺磷中毒及急性心肌梗死的应激状态下胃黏膜发生了损伤。B 与 D 组比较，$P>0.05$，没有显著性差异，提示本实验条件下两者所致的应激性胃黏膜损伤程度相同。A 与 C 组比较，$P>0.05$，没有显著性差异，提示急性心肌梗死对照组（C）没有发生胃黏膜损伤。

目前对于应激性胃黏膜损伤的发生机制的研究结果包括：应激状态下[2,3]可出现下丘脑调控垂体等内分泌腺体功能障碍，儿茶酚胺分泌增加；胃血管瘀血，动－静脉短路开放，黏膜有效血容量减少，血液氧合作用障碍，胃黏膜对各种有害因子的敏感性增加；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、炎症介质产生增加

医学研究杂志

等多方面改变。最终,胃黏膜 H^+ 浓度增加和胃蛋白酶活性增高,导致黏膜缺血、坏死、糜烂形成溃疡。通过本研究证实了这两种临床危重疾病状态下应激性胃黏膜损伤的发生,而且应激性胃黏膜损伤发生的时间较早,在发病后几小时即可发生,说明为了减轻胃黏膜损伤的危害,在危重疾病的应激早期,胃黏膜损伤的保护性治疗应尽早应用。

2. 不同病因所致的应激性胃黏膜损伤时血液中 ET、TNF－α 浓度变化及其意义:胃黏膜具有丰富毛细血管,胃黏膜血管张力的最适调整、胃黏膜微循环的良好血流对于保护胃黏膜屏障、维持胃黏膜完整性具有重要作用。因此内源性扩血管因子和缩血管因子失衡、胃黏膜微循环调节障碍、胃黏膜血流减少在胃黏膜损伤发挥越来越重要的作用。内皮素(ET)是一类由 21 个氨基酸残基组成的短链多肽,相对分子质量为 2.6kDa,残基 N 端为胱氨酸,C 端为色氨酸,最早于 1988 年由 Yanagiswa 等从猪主动脉内皮细胞中所分离,是一种强烈的血管张力调节因子。

在本实验血浆 ET 的浓度测定中,A 与 B、C 与 D 组比较,$P<0.05$,有显著性差异存在。B 与 D、A 与 C 组比较,$P>0.05$,没有显著性差异。通过以上两种动物模型,说明在临床危重疾病的应激状态下,血浆 ET 分泌明显增加,而本实验条件下两种临床重症所致的应激性胃黏膜损伤时 ET 浓度的增加程度相同。目前的观点认为,ET 分泌的增加会导致胃黏膜损伤[4,5],其机制考虑可能与以下因素有关。ET 可以降低胃黏膜血流及影响胃壁平滑肌收缩,导致胃运动加强,胃黏膜氧耗增加,胃黏膜缺氧的发生。另外 ET 可能通过 ETB 受体调节胃酸的分泌[6]及 ETA 受体影响迷走神经背核的兴奋性,增强胃窦部的收缩并增加胃内压[7]。

TNF－α 是一种具有多种生物学活性的细胞因子,主要来源于单核细胞和巨噬细胞,T 淋巴细胞、中性粒细胞、肥大细胞及内皮细胞在一定条件下也能产生。本实验血清 TNF－α 的浓度测定中,A 与 B、C 与 D 组比较,$P<0.05$,B 与 D、A 与 C 组比较,$P>0.05$,没有显著性差异。通过以上两种动物模型,说明在临床实际危重疾病的应激状态下,血清 TNF－α 分泌明显增加,而本实验条件下两种临床重症所致的应激性胃黏膜损伤时血清 TNF－α 浓度的增加程度相同。目前的观点认为,TNF－α 的大量增加会加重胃黏膜损伤[8,9]。对于应激状态下 TNF－α 致胃黏膜损伤的机制考虑与 TNF－α 可引起中性粒细胞聚集浸润,中性粒细胞溶酶体酶类的释放增加,内皮细胞受损,血管收缩,血栓形成,胃黏膜微循环障碍,从而导致胃黏膜受损有关。另外,TNF 可激活髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)及黄嘌呤氧化酶(xanthinoxidase, XO),导致氧自由基产生增加,加重胃黏膜的损伤[10]。

现在的研究表明,ET、TNF－α 与胃黏膜损伤有密切的关系。而二者在胃黏膜损伤中又可以相互影响。首先内毒素、缺氧、TNF－α、转化生长因子 β 等能促进 ET 的合成[2]。而 ET 的产生可以加重组织的缺血与缺氧,活化中性粒细胞,刺激单核吞噬细胞释放过多的 TNF－α。由此提示应激性胃黏膜损伤的临床治疗中 ET、TNF－α 拮抗剂的应用可以为减轻损伤提供新的治疗思路,其次改善组织的缺血与缺氧也可减少 ET、TNF－α 的产生,进而减轻胃黏膜损伤的发生。

参考文献

1 Hassan M, Kashimura H, Matsumaru K, *et al*. Phosphoramidon, an endothelin converting enzyme inhibitor attenuates local gastric ischemia－reperfusion injury in rats. Life Sci, 1997, 61(10): PL 141－PL 147

2 Hwang SL, Lieu AS, Howng SL, *et al*. Hypothalamic dysfunction in actue head－injuryed patients with stress ulcer. Kaohsiung J Med Sci, 1998, 14(9): 554－562

3 湛先保,李兆申,邹多武,等. 应激对大鼠胃黏膜黏液层 pH 梯度的影响. 第二军医大学学报, 2007, 28(4): 377－380

4 Michida T, Kawano S, Masuda E, *et al*. Role of endothelin 1 in hemorrhagic shock－induced gastric mucosal injury in rats. Gastroenterology, 1994, 106(4): 988－993

5 Michida T, Kawano S, Masuda E, *et al*. Endothelin－1 in the gastric mucosa in stress ulcers of critically ill patients. Am J Gastroenterol, 1997, 92(7): 1177－1181

6 Saeki Y, Arakawa T, Higuchi K, *et al*. Effects of endothelin on serum gastrin level and acid secretion in rats. J Cardiovasc Pharmacol, 1995, 26 Suppl 3: S123－S125

7 Krowicki ZK, Nathan NA, Hornby PJ. Excitatory gastric motor and cardiovascular effects of endothelins in the dorsal vagal complex are mediated through ET(A) receptors. J Pharmacol Exp Ther, 1997, 282(2): 535－542

8 李国平,邓长生,杜意平,等. TNF－α 参与消炎痛诱导大鼠胃黏膜损伤机制的探讨. 中国病理生理杂志, 1999, 15(9): 814－816

9 张伟,吴本俨. TNF－α 蛋白和 mRNA 在大鼠药物性胃黏膜损伤表达的研究. 军医进修学院学报, 2001, 22(1): 20－22

10 Villegas I, Martin AR, Toma W, *et al*. Rosiglitazone, an agonist of peroxisome proliferator－activated receptor gamma, protects against gastric ischemia－reperfusion damage in rats: role of oxygen free radicals generation. Eur J Pharmacol, 2004, 505(1－3): 195－203

(收稿:2009－09－21)
(修回:2009－12－03)

医学研究杂志