

[文章编号] 1000-4718(2007)07-1419-03

海水浸泡伤大鼠胃黏膜和血浆中神经激肽 A 和降钙素基因相关肽的动态变化*

朱雄伟¹, 史伟雄², 李兆申³, 傅志仁¹, 丁国善¹

(¹ 第二军医大学长征医院普通外科, 上海 200003; ² 复旦大学华山医院神经内科, 上海 200040;

³ 第二军医大学长海医院消化内科, 上海 200433)

[摘要] 目的: 观察腹腔海水浸泡伤后大鼠胃黏膜和血浆中神经激肽 A (NKA) 和降钙素基因相关肽 (CGRP) 水平的动态变化, 以探讨感觉神经肽在急性胃黏膜病变中的作用。方法: 32 只 SD 大鼠随机分成正常对照组和腹腔浸泡伤组, 后者又分为 1 h、2 h、3 h 3 组, 取大鼠胃黏膜和血浆, 采用酶标法和放免法测定胃黏膜和血浆中 NKA 和 CGRP 水平。结果: 随着浸泡时间的延长, 腹腔浸泡伤组大鼠胃黏膜 NKA 和 CGRP 水平进行性低于正常大鼠 ($P < 0.05$), 而血浆 NKA 和 CGRP 水平进行性高于正常大鼠。结论: 海水浸泡伤是一损伤性因素, 可引起胃黏膜中 NKA 和 CGRP 水平降低、血浆中 NKA 和 CGRP 水平升高, 提示 NKA 和 CGRP 等感觉神经肽在急性胃黏膜病变发生发展过程中可能有重要作用。

[关键词] 海水浸泡; 腹部损伤; 神经激肽 A; 降钙素基因相关肽; 胃黏膜

[中图分类号] R363 **[文献标识码]** A

Dynamic changes of neurokinin A and calcitonin gene – related peptide levels in gastric mucosal and plasma in rats with celiac seawater – immersing trauma

ZHU Xiong – wei¹, SHI Wei – xiong², LI Zhao – shen³, FU Zhi – ren¹, DING Guo – shan¹

(¹ Department of General Surgery, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China;

² Department of Neurology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China; ³ Department of Gastroenterology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China. E – mail: zhuxiongwei@yahoo.com.cn)

[ABSTRACT] **AIM:** To observe the dynamic changes of neurokinin A (NKA) and calcitonin gene – related peptide (CGRP) levels in gastric mucosal and plasma in rats after abdominal seawater – immersing trauma, and to investigate the influence of these two sensory neuropeptides on acute gastric mucosal lesion. **METHODS:** Thirty – two SD rats were randomly divided into four groups (normal group, celiac seawater – immersing trauma 1, 2 and 3 h groups). With emzyo-immunoassay and radioimmunoassay respectively, gastric mucosal and plasma NKA and CGRP levels in rats were measured. **RESULTS:** Compared with normal rats, with the seawater – immersing time prolonged, gastric mucosal NKA and CGRP levels in rats were progressively decreased ($P < 0.05$), while plasma NKA and CGRP levels significantly elevated. **CONCLUSION:** Seawater – immersion is a harmful factor, it can lead to elevated plasma NKA and CGRP levels and decrease gastric mucosal NKA and CGRP levels.

[KEY WORDS] Seawater immersion; Abdominal injuries; Neurokinin A; Calcitonin gene – related peptide; Gastric mucosa

急性胃黏膜病变 (acute gastric mucosal lesion, AGML) 是创伤后最为常见的内脏并发症之一, 一旦合并大量出血, 处理非常困难, 死亡率高, 严重威胁生命。在现代海战和渡海登陆战争中, 由于特殊的

[收稿日期] 2005-09-22 [修回日期] 2006-01-04

* [基金项目] 全军医学科学技术研究“十五”计划重点课题基金资助项目 (No. 01Z059)

E – mail: zhuxiongwei@yahoo.com.cn

战争环境,海水进入腹腔内的情况时有发生。研究证实^[1],腹腔海水浸泡伤后会引发 AGML。

机体对应激的反应始于中枢神经系统,多种神经肽参与 AGML 的发生和发展^[2]。有研究报道^[3],降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)和神经激肽 A(neurokinin A, NKA)通过增加胃黏膜内黏蛋白的含量而对胃黏膜起保护作用,但两感觉神经肽在海水浸泡伤大鼠 AGML 发病中的变化尚未见报道。本实验检测海水浸泡伤大鼠胃黏膜与血浆中 CGRP 和 NKA 的动态变化,旨在探讨 CGRP 与 NKA 与 AGML 的关系,从而为海水浸泡伤的综合救治提供新的思路。

材 料 和 方 法

1 材料

32 只健康成年 SD 大鼠(购自上海西谱尔-必凯公司),体重 200-300 g;清洁级,雌雄各半,随机分成 4 组:0 h 组即正常组;腹腔开放伤浸泡人工海水组分为 1 h、2 h、3 h 3 组。

CGRP 试剂盒购自北京东亚免疫研究所;NKA 试剂盒购自美国 Phoenix Pharmaceuticals Inc.。其余试剂为 CR 或 PR 级。

2 方法

参照文献^[1]配置人工海水并复制模型。造模前禁食 24 h,自由饮水,实验前 1 h 禁水。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。

2.1 血浆样品制备 断头、尾静脉或心脏取血 2 mL 注入含 10% EDTA2Na(30 μL)及抑肽酶 800 U (40 μL)的试管中混匀。4 ℃ 3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆、置 -70 ℃ 冰箱中保存。测定前使标本置于冷水中复融,再次 4 ℃ 3 000 r/min 离心 5 min,取上清液测定。

2.2 胃黏膜标本 刮取新鲜腺胃部受损黏膜组织,置 -70 ℃ 冰箱中保存,经真空冷冻干燥器进行低温冷冻干燥脱水并称组织干重,精确称重,放入含 1 mL 浓度为 1 mol/L 醋酸的试管中,略作研磨,100 ℃ 煮沸 10 min,倒入匀浆器中匀浆,4 ℃,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液,-70 ℃ 冰箱中保存待测,测定时用 5 倍 PBS 稀释上清液以调节 pH 值。

3 CGRP 和 NKA 含量的测定方法

采用放射免疫分析方法测定 CGRP 含量,采用酶标法测定 NKA,按试剂盒说明书进行操作。

4 统计学处理

实验数据均以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用方差分析。

结 果

1 血浆与胃黏膜中 NKA 的含量变化

海水浸泡伤应激后,大鼠胃黏膜组织 NKA 含量显著低于正常大鼠黏膜 NKA ($P < 0.05$),随着应激时间的延长而下降 ($P < 0.05$);血浆中 NKA 含量则高于正常组大鼠血浆 NKA 水平 ($P < 0.05$),随着应激时间的延长而更显著 ($P < 0.01$),见表 1。

2 血浆与胃黏膜中 CGRP 的含量变化

海水浸泡伤应激后,大鼠胃黏膜组织 CGRP 含量显著低于正常大鼠胃黏膜 ($P < 0.01$),随着应激时间的延长而更显著 ($P < 0.05$)。血浆中 CGRP 含量显著高于正常组大鼠 ($P < 0.05$),随着应激时间的延长而更显著升高 ($P < 0.05$),见表 2。

表 1 海水浸泡伤后大鼠胃黏膜与血浆中 NKA 的变化

Tab 1 The changes of NKA levels in gastric mucosa and plasma of rats with celiac seawater-immersing trauma ($\bar{x} \pm s. n = 8$)

Group	Gastric mucosa NKA (ng/g dry tissue)	Plasma NKA (μg/L)
0 h	70.28 ± 8.92	3.95 ± 1.58
1 h	60.63 ± 6.50*	5.25 ± 0.68*
2 h	49.12 ± 6.67** ^Δ	6.06 ± 0.71* ^Δ
3 h	35.29 ± 3.95** ^{ΔΔ}	7.37 ± 0.58** ^{ΔΔ}

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 h group; ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$ vs 1 h group.

表 2 海水浸泡伤后大鼠胃黏膜与血浆中 CGRP 的变化

Tab 2 The changes of CGRP levels in gastric mucosa and plasma of rats with celiac seawater-immersing trauma ($\bar{x} \pm s. n = 8$)

Group	Gastric mucosa CGRP (pmol/g dry tissue)	Plasma CGRP (nmol/L)
0 h	36.12 ± 4.36	72.11 ± 11.19
1 h	28.16 ± 4.72**	84.29 ± 4.17*
2 h	21.02 ± 4.62** ^Δ	95.79 ± 5.05** ^{ΔΔ}
3 h	14.77 ± 2.81** ^{ΔΔ}	116.22 ± 16.17** ^{ΔΔ}

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 h group; ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$ vs 1 h group.

讨 论

在渡海登岛战事中,腹部开放伤是一种较为常见的伤型。腹腔海水浸泡可直接损伤组织细胞,引起机体多器官功能障碍综合征^[4]。AGML 系机体在严重创伤、感染、休克等应激状态下,发生以胃黏膜损害为主的病理改变和上消化道出血为特征的临床病症。海水浸泡腹腔本身就是一种特殊的应激原和

危重状态。应激诱发 AGML 是临床常见的病变之一,机体内多种神经递质、神经内分泌激素和多肽类物质参与应激时机体的反应性改变。

研究发现^[5],幽门括约肌有丰富的 CGRP 免疫反应性神经,胃、肠端侧邻近括约肌、黏膜下层、血管、腺体周围均有 CGRP 免疫反应性神经。CGRP 受体主要分布于胃幽门腺表面小细胞和 D 细胞的细胞膜上^[6]。大鼠胃分泌细胞通过刺激芳香草酸受体而释放 CGRP^[7],调节某些胃肠激素的释放而抑制胃酸的基础分泌和由组织胺等引起的胃酸分泌^[8]。CGRP 是目前最强的血管扩张剂,CGRP 通过 NO 和 PGs 扩张黏膜血管增加胃黏膜血流量而保护黏膜,调节胃酸与胃肠激素的释放^[9],可拮抗内皮素的作用。

NKA 广泛分布于大鼠胃肠道各段的肌间神经丛神经元内,可以刺激胃肠平滑肌收缩、抑制胃酸分泌,对胃黏膜有保护作用,且该作用比 P 物质强。有关 NKA 在消化系统中作用的研究目前非常少,主要集中于呼吸系统炎症方面的研究^[10]。Kawabata 等^[3]发现,极低剂量(0.001 - 0.1nmol/kg)的 NKA 就可强烈刺激胃黏膜黏蛋白的分泌,而超过 0.1nmol/kg 后却不能再增强该作用,且作用比 CGRP 和 P 物质都强。

高张液、高乳酸可直接刺激 CGRP 神经释放 CGRP^[11]。在渡海登陆战斗中,开放的腹腔浸泡在高张的海水中是常见的现象。腹腔海水浸泡伤应激作为一种特殊的损伤性精神原应激,存在代谢性酸中毒和高渗性海水的刺激。精神应激并不直接刺激机体广泛释放 CGRP,而应激却可以间接刺激局部组织胃黏膜中含 CGRP 的神经纤维释放 CGRP^[11]。应激后大鼠胃黏膜 CGRP 的降低与 Vongthavaravat 等^[12]的研究结论相似。本实验发现,随着海水浸泡伤时间的延长,胃黏膜 CGRP 和 NKA 水平进行性降低而血浆中二者水平则进行性升高,后者是由于腹腔海水浸泡引起大鼠 AGML。在 AGML 过程中,胃黏膜的缺血、缺氧和能量代谢障碍导致自由基的产生,大鼠胃黏膜发生损伤,导致胃黏膜中感觉神经纤维合成 CGRP 和 NKA 合成减少。血浆 CGRP 和 NKA 水平进行性升高则可能是应激后机体发生的代偿性反应。可见,应激是整个机体适应、保护机制的重要组成部分,但在一定的条件下则可造成机体损害;海水浸泡伤可能涉及多种发病机制,AGML 是多因素综合作用的结果。

综上所述,腹腔海水浸泡伤是一种严重的应激状态,是一种损害因素。海水浸泡大鼠腹腔可引起

应激性胃黏膜损伤,胃黏膜中 CGRP 和 NKA 水平下降和血浆 CGRP 和 NKA 水平升高,提示 CGRP 和 NKA 等感觉神经肽可能参与了海水浸泡伤应激性 AGML 的发病过程。

[参 考 文 献]

- [1] 朱雄伟,王 强,湛先保,等. 开放性腹腔海水浸泡伤后大鼠急性胃黏膜病变模型的建立[J]. 中国现代医学杂志,2004,14(21): 45 - 47.
- [2] Gyires K. Neuropeptides and gastric mucosal homeostasis [J]. *Curr Top Med Chem*, 2004, 4(1): 63 - 73.
- [3] Kawabata A, Kinoshita M, Nishikawa H, et al. The protease - activated receptor - 2 agonist induces gastric mucus secretion and mucosal cytoprotection [J]. *J Clin Invest*, 2001, 107(11): 1443 - 1450.
- [4] 王育红,鹿尔驯,虞积耀,等. 腹部开放性损伤犬经海水浸泡后血液动力学及病理学的变化[J]. 中华外科杂志,2000,38(9): 700 - 702.
- [5] 夏保芦,李 琴,胡道松,等. 炎性胃痛幽门括约肌内 VIP 和 CGRP 能神经的变化[J]. 中国临床解剖学杂志,2001,19(3): 257 - 258.
- [6] Kawashima K, Ishihara S, Karim Rumi MA. Localization of calcitonin gene - related peptide receptors in rat gastric mucosa[J]. *Peptides*, 2002, 23(5): 955 - 966.
- [7] Wang L, Hu CP, Deng PY, et al. The protective effects of rutaecarpine on gastric mucosa injury in rats[J]. *Planta Med*, 2005, 71(5): 416 - 419.
- [8] Salomone S, Caruso A, Martinez G, et al. Secretory and vascular effects of adrenomedullin in gastric ulcer; role of CGRP and adrenomedullin receptors[J]. *Peptides*, 2003, 24(8): 1175 - 1180.
- [9] Zayachkivska OS, Konturek SJ, Drozdowicz D, et al. Gastroprotective effects of flavonoids in plant extracts[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2005, 56 (Suppl 1): 219 - 231.
- [10] Dinh QT, Mingomataj E, Quarcoo D, et al. Allergic airway inflammation induces tachykinin peptides expression in vagal sensory neurons innervating mouse airways[J]. *Clin Exp Allergy*, 2005, 35(6): 820 - 825.
- [11] Tsuchiya T, Kishimoto J, Granstein RD, et al. Quantitative analysis of cutaneous calcitonin gene - related peptide content in response to acute cutaneous mechanical or thermal stimuli and immobilization - induced stress in rats [J]. *Neuropeptide*, 1996, 30(2): 149 - 157.
- [12] Vongthavaravat V, Mesiya S, Saymeh L, et al. Transforming growth factor alpha - mediated gastroprotection against stress ulceration in the rat: involvement of capsaicin - sensitive sensory neurons [J]. *Life Sci*, 2003, 72 (16): 1803 - 1811.