

• 论 著 •

大黄对严重烫伤大鼠肠道平滑肌细胞内无机元素的影响研究

潘丹丹

(泸州市人民医院检验科, 四川 泸州 646000)

摘要:目的 探讨严重烫伤大鼠肠道平滑肌内无机元素的变化规律及大黄促进肠道运动的作用。方法 选取健康成年 Wistar 大鼠 68 只, 其中 8 只设为健康对照组; 另外 60 只建立 30% 烫伤大鼠模型, 其中烫伤治疗组(30 只)管饲大黄水提液, 烫伤对照组(30 只)管饲等量蒸馏水, 测定伤后 6、12、24、48 及 72 h 肠道平滑肌细胞内铜离子(Cu^{2+})、锌离子(Zn^{2+})、钙离子(Ca^{2+})、镁离子(Mg^{2+})浓度。结果 烫伤对照组 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 浓度均有降低, 而 Mg^{2+} 浓度则先升高后降低, 与健康对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$); 烫伤治疗组大鼠在烫伤后 12 h 各无机元素浓度基本恢复至正常水平, 且各时间点与烫伤对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 严重烫伤后早期大鼠肠道平滑肌细胞内无机元素水平出现明显变化, 早期给予大黄治疗可调节无机元素水平。

关键词: 烫伤; 大黄; 无机元素; 胃肠动力

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.23.027

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)23-3428-03

Study on effects of rhubarb on inorganic elements in smooth muscle cells of severe scalded rats' gastrointestinal tract

Pan Dandan

(Department of Clinical Laboratory, Luzhou People's Hospital, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: **Objective** To explore the change regulations of inorganic elements in smooth muscle cells of sever scalded rats' gastrointestinal tracts and the effects of rhubarb on promoting bowel movement. **Methods** A total of 68 healthy male rats were selected, 8 rats were enrolled in the healthy control group, the other 60 rats were selected to establishing 30% scalded models. The treating scalded group(30 rats) were treated by tube-feeding of extracting solution of rhubarb, while the scalded control group(30 rats) were given commensurable distilled water. The concentrations of Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} and Mg^{2+} in smooth muscle cells of gastrointestinal tracts were determined 6, 12, 24, 48 and 72 h after establishing scalded rats. **Results** The concentrations of Cu^{2+} 、 Zn^{2+} and Ca^{2+} were decreased, while the concentration of Mg^{2+} was initially increased and then decreased, statistically significant differences were found when compared with the healthy control group($P < 0.05$). 12 h after scalding, concentrations of these inorganic elements of rats in the treating scalded group were almost back to normal levels, and there were statistically significant differences when compared with the scalded control group at any time points($P < 0.05$). **Conclusion** It is shown that concentrations of inorganic elements in smooth muscle cells of rats' gastrointestinal tracts change obviously at the early stage of sever scald, and early treatment with rhubarb could regulate levels of inorganic elements.

Key words: scald; rhubarb; inorganic elements; gastrointestinal motility

胃肠运动受神经、体液等多种因素的调节, 其中胃肠道内无机元素与烫伤后胃肠运动有着密不可分的联系, 而创面的修复又与锌等无机元素关系十分紧密, 因此对肠道中无机元素的研究将为临床提供大量有利的依据。传统中药大黄具有较强的泻下作用, 能促进胃肠道电活动, 促进肠蠕动, 改善肠麻痹、肠梗阻, 现已被广泛应用于临床治疗多种疾病, 但其在严重烧伤早期的应用至今仍缺乏有力的理论依据。大黄是否能通过对肠道内无机元素的影响来改善胃肠运动功能和创面的恢复, 尚缺乏系统、严谨的动物实验研究。因此, 本研究通过分析严重烫伤对大鼠肠道内无机元素的影响及其所致胃肠动力变化, 探讨大黄对严重烫伤大鼠肠道无机元素的影响, 以研究大黄促进肠道运动的机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选用健康 Wistar 大鼠 68 只, 雌雄不限, 平均体质量(220 ± 30)g, 均由泸州医学院实验动物科提供, 动物质量合格证号为: 川医动字第 250119 号。将大鼠分为 3 组: 健康对照组(8 只)、烫伤对照组(30 只)、烫伤治疗组(30 只)。实验

前单笼喂养 1 周, 普通饲料喂养使其适应。大鼠烫伤前 12 h 禁食、禁饮。

1.2 仪器与试剂 大黄水提液: 大黄, 产自四川, 秋季收集, 由泸州医学院附属中医院药房提供, 片状晒干后研磨成粉末, 用 5 倍蒸馏水浸泡 30 min 后, 煎煮 10 min 后过滤, 制成 25% 水提液(每毫升含大黄 0.25 g), 4℃ 备用, 用时复温; 0.3% 戊巴比妥钠溶液; 复方乳酸林格液; 博辉五通道原子吸收光谱仪及其配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 烫伤大鼠模型的建立及评估指标 大鼠腹腔注射 0.3% 戊巴比妥钠(30 mg/kg), 麻醉后背部剃毛, 称重, 置剃毛区于 92~95℃ 沸水浴中 13 s, 造成 7 cm×10 cm 的Ⅲ度烫伤, 烫伤后立即腹腔注射复方乳酸林格液(50 mL/kg)复苏, 创面涂磺胺嘧啶银封闭, 单笼喂养, 自由进食。烫伤面积标志: 92~95℃ 水中沸水浴 13 s, 造成背部 7 cm×10 cm 面积的烫伤, 且 30% 达Ⅲ度烫伤; 休克复苏 24 h 死亡小于 5%。剔除标准: 烫伤面积小于 7 cm×10 cm, 未达到Ⅲ度烫伤; 在规定时间内未

复苏。

1.3.2 烫伤大鼠处理方法 烫伤治疗组:烫伤后立即经口腔插管,管饲大黄水提液,每次 10 mL/kg,每日 2 次;烫伤对照组:管饲等量蒸馏水,直至取材。

1.3.3 肠道组织的切取及匀浆的制备 烫伤对照组及烫伤治疗组均分别于烫伤后 6、12、24、48、72 h 处死大鼠,剪开腹腔分离肠管,在距大鼠盲肠 20 cm 处取肠道组织,长约 10 cm,剖开肠管,以无钙生理盐溶液反复清洗肠道组织,吸干、称重、制成 10% 肠道组织匀浆备用。

1.3.4 无机元素的测定 取用制备的肠道组织匀浆,采用博辉五通道原子吸收光谱仪检测无机元素浓度。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据处理与统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 实验大鼠纳入情况 共 68 只大鼠纳入结果分析,实验过程无缺失值。

2.2 各组铜离子(Cu²⁺)浓度变化及比较 烫伤对照组:烫伤后 12 h 内 Cu²⁺ 浓度明显降低,随后逐渐上升,烫伤后 48 h 达最高浓度,之后降至接近正常水平;且烫伤后各时相点 Cu²⁺ 浓度与健康对照组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。烫伤治疗组:烫伤后 6 h 内 Cu²⁺ 浓度有明显降低,且烫伤后 6 h 为最低浓度,与健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),之后 Cu²⁺ 浓度缓慢上升,烫伤后 72 h 基本恢复正常。烫伤治疗组与烫伤对照组各相同时间点 Cu²⁺ 浓度比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组 Cu²⁺ 浓度变化及比较($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$)

组别	<i>n</i>	未烫伤	烫伤后各时间点(h)				
			6	12	24	48	72
健康对照组	8	5.37±0.36	—	—	—	—	—
烫伤对照组	30	—	4.83±0.32*	4.33±0.40*	6.47±1.10*	6.78±0.68*	5.84±0.51*
烫伤治疗组	30	—	4.52±0.18*#	5.22±0.17#	5.25±0.30#	5.28±0.30#	5.32±0.17#

*: $P < 0.05$,与健康对照组比较;#: $P < 0.05$,与烫伤对照组相应时间点比较;—:无数据。

表 2 各组 Zn²⁺ 浓度变化及比较($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$)

组别	<i>n</i>	未烫伤	烫伤后各时间点(h)				
			6	12	24	48	72
健康对照组	8	23.52±1.81	—	—	—	—	—
烫伤对照组	30	—	17.72±1.14*	16.07±6.13*	20.82±2.25*	24.90±0.66*	20.35±1.45*
烫伤治疗组	30	—	20.27±1.59*#	22.48±2.00#	23.50±1.28#	23.60±0.66#	23.90±1.35#

*: $P < 0.05$,与健康对照组比较;#: $P < 0.05$,与烫伤对照组相应时间点比较;—:无数据。

表 3 各组 Ca²⁺ 浓度变化及比较($\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)

组别	<i>n</i>	未烫伤	烫伤后各时间点(h)				
			6	12	24	48	72
健康对照组	8	1.55±0.02	—	—	—	—	—
烫伤对照组	30	—	1.17±0.05*	1.40±0.03*	1.89±0.10*	2.23±0.16*	1.17±0.08*
烫伤治疗组	30	—	1.73±0.07#	1.68±0.06#	1.56±0.07#	1.61±0.01#	1.56±0.12#

*: $P < 0.05$,与健康对照组比较;#: $P < 0.05$,与烫伤对照组相应时间点比较;—:无数据。

2.3 各组锌离子(Zn²⁺)浓度变化及比较 烫伤对照组:烫伤后 Zn²⁺ 浓度明显下降,烫伤后 12 h 降至最低,之后缓慢上升,但烫伤后 72 h 仍未恢复正常水平。烫伤治疗组:烫伤后 Zn²⁺ 浓度下降,烫伤后 12 h 降至最低,然后逐渐上升,烫伤后 24 h 基本恢复正常水平,48 h 恢复正常水平;且烫伤后 6 h Zn²⁺ 浓度明显低于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。烫伤治疗组烫伤后 6 h Zn²⁺ 浓度明显高于烫伤对照组,且两组各相同时间点 Zn²⁺ 浓度比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 各组钙离子(Ca²⁺)浓度变化及比较 烫伤对照组:烫伤后 12 h 内 Ca²⁺ 浓度明显降低,12 h 为最低水平,而后逐渐升高并高于正常水平,烫伤后 48 h 为最高水平,然后迅速下降;且烫伤后各时间点 Ca²⁺ 浓度与健康对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。烫伤治疗组:烫伤后 6~12 h 均高于正常水平,至 24 h 恢复正常,之后趋于平稳;且与健康对照组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。烫伤治疗组与烫伤对照组各相同时间点 Ca²⁺ 浓度比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.5 各组镁离子(Mg²⁺)浓度变化及比较 烫伤对照组:烫伤后 6~48 h 内 Mg²⁺ 浓度均有不同程度的升高,烫伤后 24 h 升至最高,之后逐渐下降,至 72 h 时基本恢复正常水平;且烫伤后各时间点 Mg²⁺ 浓度与健康对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。烫伤治疗组:烫伤后 6 h Mg²⁺ 浓度上升,之后逐渐恢复正常;与健康对照组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。烫伤治疗组与烫伤对照组各相同时间点 Mg²⁺ 浓度比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 各组 Mg^{2+} 浓度变化及比较 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	n	未烫伤	烫伤后各时间点(h)				
			6	12	24	48	72
健康对照组	8	0.42±0.06	—	—	—	—	—
烫伤对照组	30	—	0.58±0.02*	0.54±0.02*	0.71±0.08*	0.64±0.04*	0.37±0.01*
烫伤治疗组	30	—	0.55±0.00#	0.39±0.04#	0.44±0.03#	0.39±0.05#	0.46±0.02#

*: $P<0.05$, 与健康对照组比较; #: $P<0.05$, 与烫伤对照组相应时间点比较; —: 无数据。

3 讨 论

严重烫伤后常发生多器官功能障碍综合征,其病死率高,救治难度大,是目前烫伤并发症研究领域的重大课题。临床资料表明,大面积烫伤患者多发生腹部胀气、纳差甚至恶心呕吐,严重者可表现为中毒性肠麻痹,肠鸣音减弱,胃肠动力丧失,X线片表现为肠道扩张^[1]。严重烫伤早期胃排空及肠道推进功能明显下降,研究发现烫伤面积越大,休克时间越长,胃肠动力受损越严重,恢复也越慢。

无机元素铜、锌、钙、镁作为肠道平滑肌细胞内的重要元素,与烫伤及烫伤后胃肠动力的改变有着密切的联系。(1)铜:其生物学作用与酶和蛋白有关,至少有3种含铜酶具有抗氧化作用,包括在细胞内外广泛分布的超氧化物歧化酶(SOD)、细胞外的血浆铜蓝蛋白和主要在细胞内的铜硫蛋白^[2]。(2)锌:其在体内的浓度虽然很低,但生物学作用广泛而重要,最突出的作用是可加速创面愈合,严重烫伤后机体对锌的需要量明显增加^[3];此外,锌缺乏将会影响多个器官的功能,导致机体免疫系统失衡,生长迟缓,以及疾病发病率的升高^[4]。(3)钙:现在较为明确的是胃肠平滑肌细胞的舒缩活动与胞内 Ca^{2+} 浓度密切相关^[5],平滑肌细胞静止时胞内 Ca^{2+} 浓度低,兴奋时 Ca^{2+} 浓度增高^[6]; Ca^{2+} 还在胃肠平滑肌的兴奋-收缩耦联中起关键作用,由于平滑肌的肌浆内质网并不像骨骼肌那样发达,其 Ca^{2+} 浓度很低,所以收缩时所需 Ca^{2+} 只有在动作电位产生时才从细胞外移入细胞内,高浓度 Ca^{2+} 引起平滑肌收缩,低浓度 Ca^{2+} 则引起平滑肌舒张;此外, Ca^{2+} 广泛分布于人体细胞与体液内,细胞内游离 Ca^{2+} 浓度的变化是细胞生理生化功能的重要物质基础,也是多种受体激动后信号传递的中心环节^[7]。(4)镁: Mg^{2+} 是人体内浓度较高的阳离子之一,其生理功能包括与细胞内许多成分形成复合物而激活,并参与许多代谢过程,是氧化磷酸化的辅助因子,可稳定细胞内 DNA、RNA 及核糖体,对神经系统和心血管系统有重要影响,是维持神经肌肉正常功能的重要元素^[8];此外, Mg^{2+} 是 Mg^{2+} -腺苷三磷酸(ATP)酶的组成部分,同 Ca^{2+} -ATP 酶及 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶一样,其浓度会对胃肠功能产生影响。鉴于 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 对胃肠动力及创面修复的重要作用,研究其对烫伤后肠道功能障碍的影响具有一定的现实意义。

本实验中,严重烫伤后,烫伤对照组 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 浓度均有降低,而 Mg^{2+} 浓度则先升高后降低,与健康对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。证实严重烫伤会导致肠道内各种无机元素浓度降低,而 Ca^{2+} 等元素与肠道平滑肌舒缩活动密切相关,说明严重烫伤可导致胃肠动力减弱。已有研究证实,大黄对肠道传输有较强的泻下作用^[9],其主要功能成分是结合性蒽醌衍生物,作用于大肠,经细胞和酶分解成甙元,刺激大肠增加张力和蠕动,减少水分吸收,产生泻下作用。但大黄促进肠道传输的机制并不十分明确,对其具体的作用机制仍

缺乏系统的阐述。以往的实验发现,大黄对肠道运动和分泌的促进作用是其抑制细菌移位的作用机制之一,可能与以下因素有关:(1)大黄可促进肠道蠕动,清除肠道内细菌和内毒素,减轻内毒素对机体的损伤并维持平均动脉压;(2)抑制细菌繁殖,保护肠道菌群的微生态平衡,改善肠道黏膜的血液灌注,降低血管通透性,缓解其缺血、缺氧状态,提高组织对缺氧的耐受力及抗氧自由基能力,促进肠道黏膜损伤的修复,保护肠黏膜和上皮细胞,维持肠黏膜的完整性^[10]。本实验中,大鼠严重烫伤后使用大黄治疗,其无机元素下降程度明显降低,在烫伤后 12 h 基本恢复至正常水平,并且与烫伤对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。

据此推测,大黄改善了胃肠黏膜的血液灌注,降低了血管通透性,缓解了缺血、缺氧状态,使肠道平滑肌细胞内无机元素的耗损降低,同时大黄刺激肠道增加张力和蠕动,减少水分吸收,使胃肠容量扩大,加强无机元素特别是 Ca^{2+} 的作用,进一步加强肠道运动。说明大黄促进肠道运动的功能在很大程度上是通过促进肠道内无机元素的作用来调控的,但其具体作用机制有待进一步探讨。

参考文献

[1] 范蔚林. 烫伤大鼠结肠 Kit、Kitl 及 Gjal 基因表达与胃肠动力障碍的实验研究[D]. 四川: 泸州医学院, 2007.

[2] 郭振荣. 烧伤学临床新视野——烧伤休克、感染、营养、修复与整复[M]. 北京: 清华大学出版社, 2005: 213-217.

[3] 孙玉静, 赵维川, 张茉莉, 等. 承德地区不同年龄段儿童静脉全血 6 种无机元素检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(4): 432-434.

[4] 胡守亮, 卢宏柱, 程骏章, 等. 补铁与补锌在小儿生长发育中作用的研究进展[J]. 广东医学, 2010, 31(8): 1066-1069.

[5] Cullen JJ, Ephgrave KS, Caropreso DK. Gastrointestinal myoelectric activity during endotoxemia[J]. Am J Surg, 1996, 171(6): 596-599.

[6] 李兆申, 刘婧, 许国铭, 等. 烧伤患者急性期胃动力及相关神经肽变化的研究[J]. 解放军医学杂志, 1999, 24(2): 47-49.

[7] 贾雄飞, 吴乐斌, 滕毅, 等. 血清镁自主研发生化诊断试剂的临床研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(3): 295-296.

[8] 朱金照, 冷恩仁, 陈东风, 等. 15 味中药促胃肠动力作用的筛选研究[J]. 第三军医大学学报, 2000, 22(5): 436-438.

[9] 陈德昌, 景炳文, 陈基岱, 等. 大黄对内毒素所致肠源性感染治疗作用的实验研究[J]. 中国中医急救, 1994, 3(2): 84-86.

[10] 陈德昌, 杨建东, 景炳文, 等. 大黄对大鼠肠粘膜及肠血管通透性的影响[J]. 中国危重病急救医学, 1997, 9(7): 3-6.