

硒、维生素 E 缺乏对大鼠胰岛体密度、数密度、 平均体积的影响

应用基础医学研究所 张桂珍 李广生 王 凡 康德仁

提 要 体视学定量分析的结果表明,饲予低硒饲料(含硒量 <0.007 mg/kg, diet)引起大鼠胰岛体密度、平均体积下降,血清胰岛素、C 肽水平降低,提示低硒可引起胰岛 β 细胞结构与功能损害。在饲料中补一定剂量硒和(或)维生素 E(VE)明显改善了胰岛有关形态学参数及功能状态,表明硒和 VE 对胰岛细胞具有良好的保护作用。

关键词 硒、维生素 E 胰岛素 克山病

中图分类号 R335.5 R581

目前有关硒、VE 缺乏对胰腺影响的研究多以胰腺外分泌部的变化为主,对胰岛内分泌细胞影响资料比较罕见,尤其还未见到有关硒、VE 缺乏对胰岛形态结构影响的报道。本文拟用低硒克山病病区糖喂养大鼠使其体内硒缺乏和 VE 相对不足,探讨胰岛内分泌细胞机能与形态改变,进一步阐明克山病基本病因,硒和 VE 缺乏、胰岛素与心肌病变之间的关系。

1 材料与方 法

1.1 实验动物分组及饲料组成 由本校实验动物部提供的 Wistar 大鼠 60 只,体重 100~120 g,雌雄各半。按体重平均分为克山病病区粮组(EG,喂饲病区玉米 89%、病区大豆 10%、食盐 1%,加入鱼肝油 50 mg/kg, diet,其含硒量为 0.007 mg/kg,含 VE 量为 16 mg/kg);病区粮加硒组(EG+Se,在 EG 组饲料基础上补充硒 0.2 mg/kg);病区粮加 VE 组(EG+VE,在 EG 组饲料基础上补醋酸维生素 500 mg/kg);病区粮加硒和 VE 组(EG+Se, VE,在 EG 组饲料中补硒 0.2 mg、VE 500 mg/kg)及常规食组(饲予本校实验动物部提供的大鼠常规饲料,其中含硒量为 0.146 mg/kg,含 VE 量为 46 mg/kg)。

1.2 实验方法 喂养动物 12 周后,经眼眶动、静脉取血测定胰岛素和 C 肽含量并断头处

死动物。立即取出胰腺固定于 Bouin's 液中,常规脱水包埋,制作 5 μ m 厚的石蜡切片。应用葡萄球菌 A 蛋白法对胰岛 β 细胞进行免疫组化染色。染色程序:石蜡切片厚度 5 μ m,常规脱蜡,经梯度乙醇后用自来水洗及蒸馏水洗;0.1% pH 7.8 胰蛋白酶消化,37 $^{\circ}$ C 60 min,0.01 mol/L pH 7.4 PBS 洗 3 次,每次 5 min;0.3% H_2O_2 封闭血管内源性过氧化物酶,室温 15 min, PBS 洗 同前;滴加含 1% BSA 的豚鼠抗胰岛素抗血清(1:100 稀释,北京医科大学生理教研组提供),37 $^{\circ}$ C, 60 min,置 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜, PBS 洗;滴加 HRP-SPA(1:40 稀释,购于上海生物制品所),37 $^{\circ}$ C, 60 min, PBS 洗,滴加 DAB 显色剂(含 0.1% DAB、0.02% H_2O_2 的 Tris-HCL 缓冲液,0.05 mol/L pH 7.6),镜检控制,显色完毕经水洗、苏木素复染、脱水、透明、封片。用 PBS 代替一抗作为阴性对照,用正常大鼠胰腺切片作为阳性对照组。

胰岛的定量分析方法应用双方形网格测试板直接在显微镜下测试。实验点间距 $d=0.08$ mm、总测试点数 $P_T=256$ 。每张切片测 3 个视野,切片最终放大 100 倍。记录每一视野包容空间点数 P_c ,击中胰岛的试验点数 P_a ,胰岛的数目 N_a ,与胰岛边缘相交的实验点数 I_a 。按

Weibel^[1]公式计算出每例样本胰岛体积密度(V_v)、体数密度(N_v)、面数密度(N_A)、表面积密度(S_v)、平均体积(\bar{V})和平均表面积(\bar{S})。

2 结果

2.1 胰岛 β 细胞的一般形态及胰岛定量分析的结果 免疫组化染色结果显示胰岛一般为圆形或长椭圆形,体积大小不一,个别胰岛体积较大呈弯曲的圆柱状。 β 细胞主要分布于胰岛中心部位,占胰岛内分泌细胞的大多数,排列较规

则。 β 细胞一般呈圆形,大小均匀,胞浆中充满粗大的胰岛素染色颗粒。病区粮组大鼠胰岛 β 细胞松散排列,分布不规则,胞浆中胰岛素染色颗粒明显减少使细胞呈空虚状态。定量分析的结果表明,EG组大鼠胰岛的 V_v 、 N_v 、 N_A 、 S_v 、 \bar{V} 等参数均呈不同程度地下降趋势,其中 \bar{V} 下降的更明显。在饲料中补充一定剂量硒或VE均不同程度地明显增加了胰岛 V_v 及 \bar{V} ($P < 0.05$),详见表1。

Tab. 1 Quantitative analysis of islets in experimental rats

Groups	V_v ($\times 10^{-3} \text{mm}$)	N_v (mm^{-3})	N_A (mm^{-2})	S_v ($\times 10^{-2} \text{mm}^{-1}$)	\bar{V} ($\times 10^{-4} \text{mm}^3$)	\bar{S} ($\times 10^{-3} \text{mm}^{-1}$)
EG	10.07 \pm 2.90	9.43 \pm 3.05	1.05 \pm 0.27	6.00 \pm 2.65	8.00 \pm 3.74	6.90 \pm 1.60
EG+Se	17.21 \pm 7.40*	13.59 \pm 5.23	1.88 \pm 0.59	9.75 \pm 2.14	12.80 \pm 5.20*	7.20 \pm 2.10
EG+VE	18.64 \pm 9.08*	15.77 \pm 6.51*	1.96 \pm 0.77*	12.47 \pm 6.36*	12.40 \pm 6.10*	8.30 \pm 3.40
EG+Se.VE	18.61 \pm 6.80*	16.80 \pm 4.96*	2.04 \pm 0.40*	12.60 \pm 4.20*	12.90 \pm 6.20*	8.90 \pm 4.60
Stock diet	13.36 \pm 5.90*	12.06 \pm 5.81	1.46 \pm 0.51	8.46 \pm 4.21	12.70 \pm 5.70*	8.20 \pm 3.90

* :与EG组比较, $P < 0.05$

2.2 大鼠血清胰岛素及C肽含量测定结果 放免测定结果表明,EG组血清胰岛素及C肽含量明显减少,补一定剂量硒或VE均显著升高了血清胰岛素及C肽水平,尤以联合补充硒和VE的效果最佳。详见表2。

Tab. 2 Change of contents of insulin and CP in serum of rats

Groups	n	Insulin ($\mu\text{u/L}$)	CP (PmoL/mL)
EG	12	9.87 \pm 3.48	0.46 \pm 0.16
EG+Se	12	17.98 \pm 6.21*	0.79 \pm 0.46*
EG+VE	12	20.27 \pm 10.69*	0.86 \pm 0.53*
EG+Se.VE	12	33.37 \pm 12.05**	0.96 \pm 0.40*
Stock diet	12	38.78 \pm 12.97**	1.24 \pm 0.65**

* :与EG组比较, $P < 0.05$; ** : $P < 0.01$

3 讨论

硒和VE缺乏不仅损害胰腺外分泌部,亦可损害胰岛。但由于在普通H·E病理切片定性观察难以发现胰岛的明显损害,故目前尚不完全清楚克山病胰岛的病理变化。本文通过免疫组化方法特异地显示了胰岛 β 细胞的形成及病变。定量分析的结果则进一步显示胰岛多项参数异常,尤以胰岛 V_v 下降变化突出,此改变

可能与一部分 β 细胞合成胰岛素能力明显降低有关,以致当免疫组化染色时不能显示其形态。放免分析的结果表明病区粮组大鼠血清胰岛素、C肽含量明显减少,提示 β 细胞合成胰岛素功能障碍。因此,低硒克山病病区粮不仅引起胰岛功能障碍,而且引起胰岛结构明显损害。

我们新近的研究表明硒缺乏引起胰岛功能障碍时,伴有胰腺GSH-Px活力显著减退,LPO含量明显升高^[2],似提示低硒引起的胰岛损害与过氧化损伤之间有内在联系。国外学者曾用硒和VE联合缺乏饲料喂养大鼠,引起胰岛含锰SOD活性下降,胰岛素分泌贮备减少,糖耐量异常。在所有组织中,胰岛内含铜SOD和总SOD含量最低,提示胰岛抗氧化损伤系统存在天然薄弱环节。此外,胰岛内分泌细胞含有大量的内质网,富含多聚不饱和脂肪酸的内质网膜结构在硒缺乏条件下易成为自由基攻击的主要目标。内质网是合成多肽类激素的场所,始发于内质网的损害可直接减少激素的合成,故本研究中血清胰岛素、C肽水平下降与原始病因——硒缺乏引起的GSH-Px活性减退之间

有着明显的因果关系。

本研究在低硒的病区粮中补充 500 mg/kg VE 之后可有效地纠正 β 细胞功能障碍及某些结构参数异常,提示硒和 VE 对胰岛 β 细胞具有良好的保护作用,故临床上治疗胰岛及其相关性疾病时,补适量的硒和 VE 可能有助于疾

病的恢复。

参 考 文 献

- 1 Weibl ER. Stereological Methods. Vol. 1. Practical methods for biological morphology. London; Academic Press, 1979. 91~97
- 2 张桂珍,李广生,王凡,等. 营养学报,1993,15(3): 266 (1994-11-16 收稿)

Effects of selenium and vitamin E deficiency on the V_v, N_v, \bar{V} in islets of rats

Zhang Guizhen, Li Guangsheng, Wang Fan, et al

(Research Institute of Preclinical Sciences)

Abstract The secretory function of β cell and the V_v (volume density), N_v (number density), \bar{V} (average volume) of islets in the rats fed on low-selenium diet and effects of selenium and vitamin E on those were studied. The main results demonstrated that the contents of insulin and CP in serum as well as the V_v, \bar{V} of islets in these rats statistically decreased and the diets supplemented with either selenium (0.2 mg/kg) or vitamin E (500 mg/kg) or with the both caused the increase in V_v, \bar{V} of islets, in the contents of insulin, and in CP of serum obviously. The study also suggested that selenium and vitamin E might have an important role in protecting B cells of islets.

Key words selenium; vitamin E; insulin; Keshan disease

成功抢救一例严重颌面部粉碎性骨折的护理

第三临床学院耳鼻喉科 崔玉兰

颌面粉碎性骨折其术后的护理、防止并发症的发生是整个治疗及康复过程中的关键。

〔病例〕 男,48岁。颌面部被车撞伤12h后入院,入院前在当地医院行气管切开术及面部包扎处理,输血1500 mL。入院查:体温36.5℃,脉搏130次/min,血压19/11 kPa。神志清楚。右侧眉弓、鼻根、右下睑、鼻背及上唇处皮肤均破损,创口深达骨面,边缘不整,面中部明显凹陷,右眼球下移1.5 cm。术中探查:双侧上颌骨粉碎性骨折,窦腔消失,右眶下壁缺如,鼻骨骨折,鼻中隔后上方大穿孔,双侧筛窦、额窦均粉碎性骨折,蝶窦窦腔已暴露,前颅凹骨质大部分粉碎骨折,硬脑膜暴露,上列牙齿已和上颌骨离断。经彻底冲洗、止血后,以大块骨片及肌肉进行修复,创腔内填入碘仿纱条,齿间固定,缝合皮下及皮肤,伤后29天病愈出院。

讨 论

颌面外伤出血较多,应随时观察生命体征,血压、脉搏、呼吸情况,防止失血性休克,同是需要输血、输液以补充血容量。如输血量超过1000 mL,必须静脉给予枸橼酸钠,防止溶血反应,输液速度不要过快,以免发生肺水肿。

营养摄入: 本例患者因同时并发 Lefost-Ⅱ型骨折,术中已行上颌骨口齿间固定,术后不能正常进食,需鼻饲进食,营养的好坏,与康复密切相关。为此应该制定饮食计划,每日6次选用高营养、高热量、高蛋白、高维生素的鼻饲饮食。静脉给予脂肪乳和人血白蛋白,增强抵抗力和免疫力。长期鼻饲,应保持鼻饲管通畅,妥善固定,防止堵塞和脱落,保持鼻腔清洁,鼻饲管选用刺激性小具有抗凝作用的硅胶管为宜。

控制感染 ①条件具备时应设单间病房,室内定时用紫外线照射消毒,每日2次(每次30 min)。②保持房间清洁、通风。行气管切开术者,室温控制在18℃~22℃,湿度为50%~60%为宜。③控制随员数量和探视时间,以免影响患者休息。④保持患者口、眼、鼻的清洁,防止经鼻腔、口腔的逆行感染及脑膜炎的发生。⑤全身应用广谱抗生素,控制感染。