

· 论 著 ·

## 糖尿病小鼠小肠黏膜扫描电镜的观察

张献彩<sup>1</sup>, 张 雷<sup>2</sup>

(1. 邢台医学高等专科学校解剖与组胚教研室, 河北邢台 054000;

2. 河北医科大学组胚教研室, 石家庄 050017)

**摘要:**目的 观察糖尿病小鼠小肠黏膜吸收通路的形态学是否改变,为进一步研究糖尿病的消化系统并发症提供形态学基础。方法 分别选取 3、5、6、8、10 月龄 db/db 糖尿病小鼠及相应年龄段的 db/+m 正常小鼠,每组 6 只。灌注固定后用扫描电镜观察小肠黏膜上皮及上皮固有层的结构。结果 小肠绒毛比对照组宽大;上皮细胞侧面上部的微皱褶稀疏,排列不规则;绒毛中轴的筛状孔比对照组多。结论 糖尿病小鼠小肠黏膜的形态发生了改变。糖尿病时小肠黏膜的形态变化有利于物质的异常吸收。

**关键词:**肠黏膜;扫描电镜;吸收通路

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.28.003

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)28-2815-02

## Observation of small intestinal mucosa of diabetic mice by scanning electron microscope

Zhang Xiancai<sup>1</sup>, Zhang Lei<sup>2</sup>

(1. Department of Anatomy Histology and Embryology, Xingtai Medical College, Xingtai, Hebei 054000, China;

2. Department of Histology and Embryology of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

**Abstract:** Objective To observe if the shape of absorbing route in small intestinal mucosa of diabetic mice was changed, and to provide basement of morphology for the next research of complication in digestive system. **Methods** 3, 5, 6, 8, 10 month-age db/db mice were used in test groups, and age-matched db/+m mice were used as control group. Each group included 6 mice. Samples of intestines were obtained after being infused to observe epithelial cell and structure of below epithelium. **Results** In the diabetic group, intestinal villus was larger than that in control group, tiny creases in lateral cell membranes on the upper parts became rare and irregular, and the quantity of cribriform holes were more than that in control group. **Conclusion** The shape of small intestinal mucosa in diabetic mice was changed.

**Key words:** intestinal mucosa; electron microscope; absorb route

临床上糖尿病常引起多种消化道症状,患者常表现为腹泻、便秘、上腹胀痛等症状<sup>[1-5]</sup>,其发病机制尚不太清楚。现在大多数学者认为糖尿病胃肠功能紊乱的发病机制主要与胃肠的自主神经病变有关,也有临床和实验室研究发现在无自主神经病变时亦可出现胃肠功能紊乱<sup>[6-10]</sup>。但有关小肠黏膜吸收通路的形态学研究较少,鉴于此,本研究以 db/db 自发性糖尿病小鼠为研究对象,应用扫描电镜观察了糖尿病小鼠小肠黏膜的吸收通路的形态有无改变,为进一步研究糖尿病的消化系统并发症提供形态学基础。

**1 材料与方****1.1 材料**

**1.1.1 动物来源与饲养** 引进日本 C57bl/ksj-db/+m 转基因小鼠,在河北医科大学组胚教研室动物室分笼饲养于无菌包中,自由摄食(Co<sup>60</sup>照射饲养),饮水(高压消毒蒸馏水),近亲(兄妹)交配,db/+m 型为糖尿病和肥胖基因携带者,其表型正常,后代中雌雄纯合子个体发生糖尿病和肥胖,即 db/db 型。

**1.1.2 动物分组** 病例组:选取 3、5、6、8、10 月龄 db/db 自发性糖尿小鼠,每组 6 只。对照组:选取相应年龄段 db/+m 表型正常小鼠,每组 6 只。分组标准,表型:糖尿病小鼠均发生肥胖。血糖大于 10 mmol/L 定为糖尿病。

**1.2 扫描电镜步骤** (1)2.5%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(0.3 mL/100 mg),开胸,经左心室插管入主动脉,剪去右心耳,灌注生理盐水,待冲干净血后,灌注 Karnovsky 固定液约 200 mL。从距 Treitz 韧带约 10 cm 处取下一段空肠,纵行切开肠管,用

生理盐水充分冲洗肠内容物,冲洗干净后浸入 Karnovsky 固定液中固定约 48 h。(2)0.01 mol/L PBS 缓冲液充分冲洗固定好的组织块。(3)对组织块进行以下 3 种处理:①用刀片切下一 2 mm×2 mm 组织块,用于观察小肠绒毛以及上皮细胞的微绒毛。②用钝剪刀剪下一约 2 mm×2 mm 组织块,同时用 2 mol/L NaOH 室温消化 2 h,目的是把固有层中结缔组织的基质消化掉。从组织块侧面观察上皮细胞的形态以及绒毛中轴的固有层。③用刀片切下一约 2 mm×2 mm 组织块,用 2 mol/L NaOH 室温消化 6 d,目的把上皮及固有层中结缔组织的基质消化掉,用于观察固有层中成纤维细胞分泌的纤维排列及其相互交织所形成的筛状孔。(4)NaOH 消化组织块后再用 0.01 mol/L PBS 洗涤 3 次,每次 10 min。(5)超声波处理 1 min。(6)0.01 mol/L PBS 洗涤 3 次,每次 5 min。(7)放入盛有 1%单宁酸的培养器中,室温,30 min。目的增加样品的导电性。(8)加入 1%锇酸,4℃,固定 1 h。注意:1%锇酸需现配现用。储存液为 2%锇酸,用 0.2 mol/L PBS:2%锇酸=1:1 配成 1%锇酸。(9)梯度乙醇脱水:30%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、100%乙醇 I、II、III 各约 30 min,室温。(10)100%叔丁醇:无水乙醇=1:1,30 min,37℃烤箱。(11)100%叔丁醇 I、II 各 1 h,37℃烤箱。(12)-4℃冰箱冷冻过夜。(13)真空干燥,IB-3 离子镀膜仪镀膜。(14)日立 S-3500N 扫描电子显微镜观察。

**2 结 果**

**2.1 绒毛** 扫描电镜观察,正常对照组小肠绒毛呈比较宽厚

的叶片状,排列整齐、规则,表面有纵横交错,深浅不一的裂隙,见插 I 图 1。

糖尿病组小肠绒毛均比正常对照组要宽大,绒毛自身多弯曲,并且其上裂隙多而深,见插 I 图 2。但糖尿病组随病程进展小肠绒毛的形态未见有明显的规律性变化。

**2.2 上皮细胞** 消化扫描电镜观察,对照组的上皮细胞呈柱状,在游离面有排列紧密而整齐的微绒毛;在细胞侧面环细胞顶部的细胞膜光滑平整,继而向下出现许多纵行且排列规则的微皱褶,愈近底部微皱褶稀而不规则,见插 I 图 3;部分细胞根部变细,相邻上皮细胞间形成侧面间隙,类似孔状,可见物质出入此孔,见插 I 图 4,在上皮细胞基底面有与之对应的孔隙。

糖尿病组上皮细胞的形态变化:细胞侧面环细胞顶部的细胞膜光滑平整区不规则,上皮细胞侧面的微皱褶上部变得稀疏,排列不规则,下部未见有明显的变化,见插 I 图 5。

**2.3 绒毛中轴** 正常绒毛中轴内有成纤维细胞及成纤维细胞产生的纤维互相交织成网,并形成较多的筛状孔,这些筛状孔是由成纤维细胞的突起作为支架,其分泌的胶原纤维呈环形缠绕在支架上所形成的,其他部位的胶原纤维是相互纵横交织形成的,见插 I 图 6、7,这些筛状孔是物质的通道,见插 I 图 8。扫描电镜观察,这些筛状孔与上皮细胞根部之间的孔隙或上皮细胞基底面之间的孔隙有相互对应的关系,而且也与中轴内毛细血管或毛细淋巴管相交通,见插 I 图 9。

糖尿病组小鼠小肠绒毛中轴内也有一些大小不等的筛状孔,这些筛状孔也是由胶原纤维缠绕成纤维细胞的突起所形成的,纤维的排列与正常对照组相比无明显区别,只是筛状孔的数量比正常对照组要明显增多,并且这些筛状孔的沟通关系与对照组相同,见插 I 图 10。

### 3 讨论

糖尿病时胰岛素抵抗的病因以及胰岛素如何转运等研究很多<sup>[11-14]</sup>,而本实验则从形态学方面研究了吸收通路上皮细胞形态和小肠黏膜固有层内结缔组织的通路,关于结缔组织内的通路有无固定形态,国内外学者尚有分歧,岛田达生教授研究横膈淋巴的吸收时,提出脉管外吸收通路的概念,但小肠黏膜固有层内有无相同结构尚无定论,鉴于此作者主要研究了小肠绒毛及其上皮细胞的形态有无改变,固有层内成纤维细胞产生的纤维排列有无规律,它们所形成的筛状孔是否改变。

**3.1 关于小肠绒毛的形态学改变** 有研究发现糖尿病小鼠小肠的湿重明显高于正常鼠<sup>[15]</sup>,肠黏膜厚度和肠腔直径明显增加,这与作者的研究结果,糖尿病小鼠的小肠绒毛比正常对照组宽大基本相一致,小肠绒毛的宽大相应增大了小肠黏膜的吸收面积,故此变化有利于物质的吸收。

**3.2 关于柱状上皮细胞的形态学改变** 正常小肠黏膜的柱状上皮细胞,其侧面上部的微皱褶排列比较规则,愈近底部微皱褶愈稀而不规则,微皱褶是相邻细胞连接的一种结构。糖尿病组小鼠小肠黏膜的柱状上皮细胞侧面上部的微皱褶变得稀疏、不规则,这一现象表明上皮细胞之间的连接相对疏松,更有利于物质的通过和吸收。

**3.3 关于固有层结缔组织中的形态学改变** 通过本次研究发现正常小鼠绒毛中轴内有筛状孔,并且这些筛状孔与上皮细胞之间的孔隙和中轴内的毛细血管或毛细淋巴管有对应的沟通

关系。提示营养物质的吸收经过上皮细胞后再通过固有层结缔组织内的筛状孔。而糖尿病组绒毛中轴内形成的筛状孔比对照组要多,故营养物质可以经过更多的筛状孔进入毛细血管或毛细淋巴管,这也证实了糖尿病时更有利于物质吸收。

### 参考文献:

- [1] 李卉,刘芳,王常林,等. 糖尿病腹泻的发病机制及中西医结合治疗[J]. 长春中医药大学学报,2009,25(1):50-51.
- [2] 黄康. 生物反馈在胃肠功能紊乱治疗中的作用[J]. 安徽医学,2010,31(5):535-537.
- [3] 朱聪,姜喆. 益气养阴活血法治疗糖尿病性便秘的体会[J]. 长春中医药大学学报,2008,24(2):182-183.
- [4] 方朝晖. 内质网应激与 2 型糖尿病[J]. 安徽医药,2010,14(1):15-16.
- [5] 陈开宁,高勇义,黎艺,等. 低血糖指数膳食联合运动干预对初诊 2 型糖尿病胰岛素抵抗影响[J]. 重庆医学,2010,39(5):581-583.
- [6] 徐新芳,陈国昌,毛伯能,等. 糖尿病大鼠胃肠功能紊乱时结肠组织中 Cajal 间质细胞的表达[J]. 胃肠病学和肝病杂志,2009,18(12):1087-1090.
- [7] Talley NJ, Young L, Bytzer P, et al. Impact of chronic gastrointestinal symptoms in diabetes mellitus on health-related quality of life[J]. Am J Gastroenterol, 2005, 96(1):71-76.
- [8] 龙庆林,房殿春,史洪涛,等. 胃 Cajal 间质细胞在糖尿病胃轻瘫中的作用[J]. 重庆医学,2005,34(8):1159-1160, 1163.
- [9] 林琳,徐丽明,罗云,等. 糖尿病结肠动力障碍时 Cajal 间质细胞和干细胞因子的变化以及胰岛素的干预效应[J]. 胃肠病学,2008,13(4):200-204.
- [10] 吴高珏. 胰岛素、干细胞因子和 Cajal 间质细胞在糖尿病胃轻瘫中的作用[J]. 胃肠病学,2008,13(4):249-251.
- [11] Chiu KC, Chuang LM, Saad MF, et al. Association of leptin receptor poly morphism with insulin resistance[J]. Eur J Endocrinol, 2004, 150(5):725-729.
- [12] 徐隍,付建芳,姬秋和. A 型胰岛素抵抗综合征与胰岛素受体[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2010,24(2):105-108.
- [13] Young J, Morbets Trabut L, Couzinet B, et al. Type A insulin resistance syndrome revealing a novel lamin A mutation[J]. Diabetes, 2005, 54(6):1873-1878.
- [14] Carcia Vicente S, Yraola F, Marti L, et al. Oral insulin mimetic compounds that act independently of insulin[J]. Diabetes, 2007, 56(2):486-493.
- [15] Ozturk Y, Yildizoglu Ari N, Ozuari A, et al. Decreased beta-adrenergic responses of rat small intestine due to non-insulin-dependent diabetes[J]. Diabetes Res Clin Pract, 1990, 9(2):123-127.