

· 论 著 ·

腹腔复苏对失血性休克家兔肠黏膜屏障的影响

占乐云¹, 简道林², 陈小波¹, 向常清², 吕作均², 佟华丽²

(1. 三峡大学人民医院/宜昌市第一人民医院麻醉科, 湖北宜昌 443000;

2. 三峡大学仁和医院麻醉科, 湖北宜昌 443001)

摘要:目的 研究腹腔复苏对失血性休克家兔足量液体复苏后肠黏膜屏障的影响。方法 21 只雄性家兔随机分为 3 组: 对照组(A 组)、常规静脉复苏组(B 组)、腹腔复苏组(C 组)。利用三通管放血将 B、C 组家兔的平均动脉压于 10 min 内降至 40 mm Hg, 维持 60 min 后, 在 20 min 内静脉回输所放血液和 2 倍于放血量的复方乳酸钠溶液, 同时, C 组家兔腹腔内注射 120 mL 透析液, 而 A、B 组腹腔注入等量生理盐水对照。检测休克前及复苏 3 h 后静脉血二胺氧化酶(DAO)和脂多糖(LPS)的含量。于观察终点, 取距回盲部 5 cm 的一段回肠, 测定组织干湿质量比、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD), 并观察其形态学改变。结果 复苏 3 h 后 C 组家兔静脉血 DAO、LPS 的浓度及其回肠组织 MDA 水平较 B 组低($P < 0.05$), 而其组织干湿质量比、SOD 水平高于 B 组($P < 0.01$), 且组织损伤程度较 B 组轻。结论 腹腔复苏可能通过阻止组织间隙的液体滞留和抑制脂质过氧化反应而减轻失血性休克家兔肠黏膜的损伤。

关键词: 复苏术; 胺氧化酶; 脂多糖类; 丙二醛

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.34.005

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)34-3445-02

Effects of peritoneal resuscitation on intestinal mucosal barrier of rabbit with hemorrhagic shock

Zhan Leyun¹, Jian Daolin², Chen Xiaobo¹, Xiang Changqing², Lv Zuojun², Tong Huali²(1. Department of Anesthesiology, People's Hospital of China Three Gorges University/
the First People's Hospital of Yichang, Yichang, Hubei 443000; 2. Department of Anesthesiology,
Renhe Hospital of China Three Gorges University, Yichang, Hubei 443001, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of peritoneal resuscitation on intestinal mucosal barrier of rabbits with hemorrhagic shock after adequate fluid resuscitation. **Methods** 21 male rabbits were randomly divided into 3 groups: control group (group A), conventional intravenous resuscitation group (group B) and peritoneal resuscitation group (group C). Average arterial blood pressures of rabbits in group B, C were lowered to 40 mm Hg within 10 min via bloodletting using three-way pipe. After 60 min maintenance, all released blood and compound sodium lactate solution equivalent to 2 times of released blood by volume were transfused back within 20 min, meanwhile, rabbits in group C were given intraperitoneal injection of 120 mL of dialysis fluid, while those in group A and B received intraperitoneal injection of equivalent volume of physiological saline as control. Concentration of diamine oxidase (DAO) and lipopolysaccharide (LPS) in venous blood were detected before shock and 3 h after resuscitation. Ileum tissue located 5 cm from the ileocecal valve were taken to detect their wet and dry tissue mass ratio, malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), and to observe their morphological changes. **Results** After 3 hours resuscitation, concentration of DAO and LPS in venous blood, levels of MDA in ileum tissue of rabbits in group C were lower ($P < 0.05$) than those in group B, and wet and dry tissue mass ratio, levels of SOD in ileum tissue of rabbits were higher ($P < 0.01$). The extent of tissue damage was milder in group C than in group B. **Conclusion** Peritoneal resuscitation can decrease the intestinal mucosa damage induced by hemorrhagic shock in rabbits via preventing interstitial fluid retention and inhibiting lipid peroxidation.

Key words: resuscitation; amine oxidase; lipopolysaccharides; malondialdehyde

来自临床实验和动物实验的结果表明, 失血性休克/液体复苏后, 内脏器官血管存在持续收缩和低灌注现象。肠黏膜的持续性缺血导致屏障结构的完整性发生改变, 使肠源性细菌移位和血中内毒素水平升高, 大量的肠源性促炎症因子释放^[1]。2003 年 Zakariael 等^[2]对休克大鼠进行静脉补液的同时, 经腹腔注射一定容量的临床用腹膜透析液, 观察到这种新的复苏方法, 可以明显改善外置肠道的微循环, 逆转血管的收缩状态。而且本研究的前期实验结果表明, 腹腔复苏能够早期恢复休克家兔的动脉血和门静脉血乳酸浓度, 尤其是门静脉乳酸值直接体现腹腔脏器微循环的灌注状态^[3]。因此, 本研究推测腹腔复苏对内脏微循环的改善, 可能会对休克复苏后肠屏障的功能产生保护作用。

1 材料与与方法

1.1 材料 健康雄性家兔 21 只 (武汉万千嘉和动物养殖中心提供), 体质量 (2.5 ± 0.15) kg。随机分为 3 组: 无休克组 (A 组)、常规静脉复苏组 (B 组) 和腹腔复苏组 (C 组)。

1.2 方法

1.2.1 复制失血性休克模型 家兔自由饮水, 禁食过夜, 仰卧位固定于手术台。耳缘静脉穿刺置管, 3% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 静脉麻醉, 注射肝素液 (1 000 U/kg), 使之全身肝素化。行右侧颈动脉插管, 利用三通管放血和采血, 并连接 BL-420E 型多参数监测仪 (成都泰盟科技公司), 连续记录平均动脉压 (MAP), 另行同侧颈外静脉插管供回输血和补液。按 Wigger's 方法在血压稳定 30 min 后, 10 min 内从动脉均匀放血使 MAP 降至 40 mm Hg, 通过输血或放血维持 MAP 于 40 mm Hg, 共 60 min。B 组与 C 组于 20 min 内静脉回输放出的血液和两倍于放血量的复方乳酸钠液进行液体复苏。并于血液和液体复苏的相同时间, C 组腹腔内注射 120 mL 2.5% 临床用透析液 (葡萄糖 25 g/L、氯化钠 0.538 g/L、氯化钙 0.0124 g/L、镁 0.025 g/L、乳酸钠 0.392 g/L、渗透压 398 mOsm/L、pH 5.2 广州百特), 而 A 组和 B 组腹腔注入等量生理盐水对照。三组家兔体质量、术中条件 (室温)、术中干预 (麻醉药量、

肝素液量等)差异无统计学意义

1.2.2 观察指标和检测方法 观察休克前和复苏 3 h 后静脉血二胺氧化酶(DAO)和脂多糖(LPS)。复苏 3 h 后取一段距回盲部 5 cm 的回肠测定干湿质量比、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD),并观察其形态学变化,然后迅速静脉注射空气处死家兔。所有试剂均由南京建成生物有限公司提供。血浆 DAO 含量测定:全自动生化分析仪速率法;血浆 LPS 含量测定:酶联免疫特异性测定法(ELISA);组织干湿质量比:称质量法;组织 MDA:硫代巴比妥酸法;组织 SOD:黄嘌呤氧化酶法。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行分析。实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用方差分析,组间两两比较用 LSD 法,组内比较用配对 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

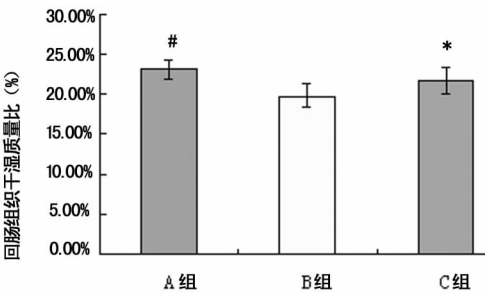
2.1 腹腔复苏对休克复苏后 DAO、LPS 值的影响 3 组家兔 DAO、LPS 基础值差异无统计学意义($P > 0.05$)。复苏 3 h 后,C 组各观察值分别低于 B 组($P < 0.05$),且 C 组观察值与 A 组相近($P > 0.05$),接近休克前水平($P > 0.05$)(表 1)(休克前和休克后代表 3 组均在相对应的时间点采取血液)。

表 1 3 组家兔休克前、后血 DAO、LPS 值($\bar{x} \pm s$)

组别	DAO(U/L)		LPS(ng/mL)	
	休克前	复苏后 3 h	休克前	复苏后 3 h
A 组	5.2±1.5	5.9±0.8**	0.447±0.096	0.471±0.065**
B 组	5.9±1.5	8.7±1.4☆	0.433±0.057	0.620±0.089☆
C 组	6.1±1.3	7.1±1.4*	0.439±0.067	0.503±0.058**

*: $P < 0.05$,**: $P < 0.01$,与 B 组比较;☆: $P < 0.01$,与休克前比较。

2.2 腹腔复苏对组织干湿质量比的影响 回肠组织干湿质量比 C 组为(21.7±0.016)%,B 组为(19.8±0.015)%,C 组的结果高于 B 组($P < 0.05$),与 A 组(23.1±0.012)% 结果相近($P > 0.05$),见图 1。



*: $P < 0.05$,#: $P < 0.01$,与 B 组比较。

图 1 回肠组织干湿质量比

2.3 腹腔复苏对组织 MDA、SOD 的影响 C 组回肠组织 MDA 和 SOD 值与 B 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),而且与 A 组结果相近($P > 0.05$)。

表 2 3 组家兔回肠组织中 MDA 和 SOD 的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	MDA (nmol/mg. prot)	SOD(U/mg. prot)
A 组	1.056±0.336 #	631.000±79.000 #
B 组	1.610±0.190	516.000±37.000
C 组	1.242±0.177 *	599.000±60.000 *

*: $P < 0.05$,#: $P < 0.01$,与 B 组比较。

2.4 腹腔复苏对形态学的影响 打开腹腔肉眼观察,B 组的肠壁、肠系膜有水肿表现,肠管呈暗红色,蠕动减弱,小肠表面还有散在出血点,而 C 组肠肉眼观红润有光泽,肠蠕动正常,小肠表面光滑,呈正常肠管形态。A 组光镜下回肠结构为正常形态(插 I 图 2A)。B 组光镜下肠黏膜灶性溃疡,坏死,上皮剥

脱,绒毛结构不完整,部分脱落绒毛顶端上皮间隙增宽(插 I 图 2B)、固有层血管充血,中性粒细胞及淋巴细胞浸润。C 组回肠黏膜轻度充血水肿,上皮细胞层完整,结构较接近正常,见插 I 图 2C。

3 讨 论

机体对创伤和休克的早期反应是以一系列的以代偿为特征的生理变化。儿茶酚胺、抗利尿激素、血管紧张素 II 等神经激素介导的周围脏器的血管收缩,使全身血流重新分配,以牺牲内脏器官的血流(肠和肝脏)为代价,保证重要生命器官的血流供应。对创伤性休克患者的传统复苏方式是利用晶体液和血液恢复血容量的亏欠,但是有研究证明,尽管恢复血压、心率和尿量等达到休克前或正常之后,肠道等内脏器官的血流并没有随之改善反而出现渐进性下降^[4-5]。肠黏膜持续缺血导致损伤加重,肠道屏障的完整性发生改变。结果出现肠源性细菌移位或血中 LPS 水平升高^[6-7],以及大量的肠源性炎症因子释放,最终继发全身性炎症反应,产生远隔脏器功能不全。考虑到肠道在多器官功能不全发病机制中的重要作用,所以恢复内脏器官的灌流为目的的复苏才是合理的。腹腔复苏就是以改善内脏器官的血流为目的的复苏方法。

有文献证明,创伤性休克患者肠道屏障功能受损时,外周血中 DAO 和 LPS 的水平升高^[8]。本实验结果表明,C 组血中 DAO 和 LPS 水平低于 B 组,与 A 组水平接近。DAO 和 LPS 两个指标之间具有较好的一致性,二者呈正相关。另有文献证明,休克复苏后内皮细胞功能失调致微循环灌流不足是肠黏膜发生缺血性损伤的机制之一。腹腔复苏可能通过保存和恢复内皮细胞的正常功能,改善休克复苏后肠黏膜循环的低灌流状态^[9]。

休克经超量液体补足了血容量的亏欠之后,水分在不同组织腔隙之间进行转移,水隔离在细胞内和组织间隙,表现为临床性组织水肿。这是一种对休克的适应性病理生理反应,其机制:(1)钠离子进入细胞内,而钾离子排除细胞外,使细胞膜电位和功能发生显著的变化,产生细胞水肿^[10];(2)休克复苏后跨毛细血管滤过压和淋巴流改变的结果^[11]。大量水分隔离与肠黏膜缺血、完整性丧失及肠源性促炎症因子的释放相关^[12]。本实验结果表明,C 组组织干湿质量比高于 B 组,接近 A 组水平。腹膜透析液逆转休克复苏后组织细胞水肿的机制与其溶液高渗透性有关^[13]。高渗透性的透析液驱动水分经水通道从细胞内和血管内向腹腔内转移,其中大部分水分来自细胞内,然后以相反方向进入腹壁组织,特别是腰大肌。尽管随着溶液中糖的吸收,渗透梯度消失,驱动水流动的作用停止,但是肠道隔离水的消失、淋巴流恢复正常,肠黏膜的正常灌流随之恢复^[14]。

本实验还提示,C 组组织中 MDA 含量低于 B 组,而 SOD 的水平要高于 B 组。大量的实验证明,休克/复苏再灌注后脂质氧化反应参与和促进肠黏膜的病理损伤,表现为血和组织中 SOD 活性降低,MDA 活性升高。已有实验结果表明,腹腔复苏可以改善组织的微循环,下调炎症因子如 IL-6 和 TNF 的水平以及限制白细胞的渗出、浸润。腹腔复苏减轻脂质氧化反应的机制可能是上述综合性作用的结果^[15]。

从外观上观察,C 组家兔的回肠红色有光泽,肠蠕动正常,肠黏膜表面光滑,呈正常肠管形态。B 组肠壁、肠系膜有水肿表现,肠管呈暗红色,蠕动减弱,黏膜表面还有散在出血点。病理结果反映 C 组家兔的肠黏膜损伤程度明显轻于 B 组,与 A 组相比结果相似。

本实验表明,腹腔注射一定量透析液行腹腔复苏能够减轻肠黏膜的损伤,可能与减轻水分在细胞内和组织间隙的隔离,恢复肠黏膜正常的血液灌流,减轻休克复苏后的氧化损伤有关。
(下转第 2449 页)

- 2009,2(3):77-79.
- [2] 张之南. 血液病诊断及疗效标准[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1998: 214-358.
 - [3] Groves FD, Linet MS, Travis LB, et al. Cancer surveillance series non-Hodgkin, s lymphoma incidence by histologic subtype in the United States from 1978 through 1995[J]. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(15): 1240-1251.
 - [4] Chang MH, Kim SJ, Kim K, et al. Clinical features and treatment outcomes of adult B- and T-lymphoblastic lymphoma; results of multicentre analysis in Korea[J]. Leuk Lymphoma, 2009, 50(7): 1119-1125.
 - [5] Han X, Bueso-Ramos CE. Precursor T-cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoblastic lymphoma and acute biphenotypic leukemias[J]. Am J Clin Pathol, 2007, 127(4): 528-544.
 - [6] Niino D, Ohsaki K, Arakawa F, et al. Composite T lymphoblastic leukemia/lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma; Case report[J]. Pathol Int, 2011, 61(6): 363-368.
 - [7] Suzumiya J, Ohshima K, Kikuchi M, et al. Terminal deoxynucleotidyl transferase staining of malignant lymphomas in paraffin sections: a useful method for the diagnosis of lymphoblastic lymphoma[J]. J Pathol, 1997, 182(1): 86-91.
 - [8] Richard DM. The art & science of cytopathology[M]. Chicago: ASCP Press, 1995(2): 263-264.
 - [9] Lewis RE, Cruse JM, Sanders CM, et al. The immunophenotype of pre-TALL/LBL revisited[J]. Exp Mol Pathol, 2006, 81(2): 162-165.
 - [10] 汪春年, 张正祥, 石群立, 等. LAT 和 CD99 在 T 淋巴瘤母细胞淋巴瘤中的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2008, 24(4): 447-449.
 - [11] Thomas DA, O'Brien S, Cortes J, et al. Outcome with the hyper-CVAD regimens in lymphoblastic lymphoma[J]. Blood, 2004, 104(6): 1624-1630.
 - [12] Hoelzer D, Gokbuget N. Treatment of lymphoblastic lymphoma in adults[J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2002, 15(4): 713-728.
 - [13] 胡晓慧, 吴德沛, 孙爱宁, 等. 异基因造血干细胞移植治疗 T 淋巴瘤母细胞淋巴瘤/白血病 1 例并文献复习[J]. 临床血液学杂志, 2010, 23(3): 107-108.
 - [14] Fortune A, O'Leary H, Gilmore R, et al. T-lymphoblastic leukemia/lymphoma: a single center retrospective study of outcome[J]. Leuk Lymphoma, 2010, 51(6): 1035-1039.
 - [15] Suzuki D, Kobayashi R, Yasuda K, et al. Precursor-T lymphoblastic lymphoma after unrelated bone marrow transplantation in a patient with Fanconi anemia[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2011, 33(1): 22-24.

(收稿日期: 2011-03-09 修回日期: 2011-07-12)

(上接第 3446 页)

参考文献:

- [1] Ivatury RR, Simon RJ, Islam S, et al. A prospective randomized study of end points of resuscitation after major trauma: global oxygen transport indices versus organ-specific gastric mucosal pH[J]. J Am Coll Surg, 1996, 183(2): 145-154.
- [2] Zakaria el R, Hurt RT, Matheson PJ, et al. A novel method of peritoneal resuscitation improves organ perfusion after hemorrhagic shock[J]. Am J Surg, 2003, 186(5): 443-448.
- [3] Frey L, Kesel K. Significance of perfusion of the gastrointestinal tract in shock[J]. Anaesthetist, 2000, 49(5): 446-450.
- [4] Zakaria el R, Spain DA, Harris PD, et al. Resuscitation regimens for hemorrhagic shock must contain blood[J]. Shock, 2002, 18(6): 567-573.
- [5] Fruchterman TM, Spain DA, Wilson MA, et al. Selective microvascular endothelial cell dysfunction in the small intestine following resuscitated hemorrhagic shock [J]. Shock, 1998, 10(6): 417-422.
- [6] 黎群友. 小肠屏障功能监测的实验研究[J]. 创伤外科杂志, 2001, 3(2): 109-111.
- [7] Chang JX, Chen S, Ma LP, et al. Functional and morphological changes of the gut barrier during the restitution process after hemorrhagic shock[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(35): 5485-5491.
- [8] 吴锦鸿, 许国根, 陈雯. 外周血监测失血性休克患者肠道黏膜屏障功能的研究[J]. 中国急救医学, 2006, 26(12): 893-895.
- [9] Zakaria el R, Li N, Matheson PJ, et al. Cellular edema regulates tissue capillary perfusion after hemorrhage resuscitation[J]. Surgery, 2007, 142(4): 487-496.
- [10] Day B, Friedman SM. Intracellular sodium and potassium changes in vascular smooth muscle during hemorrhagic shock[J]. Surg Gynecol Obstet, 1978, 147(1): 25-26.
- [11] Holliday RL, Illner HP, Shires GT. Liver cell membrane alterations during hemorrhagic shock in the rat[J]. J Surg Res, 1981, 31(6): 506-515.
- [12] Deitch EA, Xu D, Franko L, et al. Evidence favoring the role of the gut as a cytokine-generating organ in rats subjected to hemorrhagic shock[J]. Shock, 1994, 1(2): 141-145.
- [13] Zakaria el R, Li N, Garrison RN. Mechanisms of direct peritoneal resuscitation-mediated splanchnic hyperperfusion following hemorrhagic shock [J]. Shock, 2007, 27(4): 436-442.
- [14] Garrison RN, Conn AA, Harris PD, et al. Direct peritoneal resuscitation as adjunct to conventional resuscitation from hemorrhagic shock; a better outcome[J]. Surgery, 2004, 136(4): 900-908.
- [15] Matheson PJ, Mays CJ, Hurt RT, et al. Modulation of mesenteric lymph flow and composition by direct peritoneal resuscitation from hemorrhagic shock [J]. Arch Surg, 2009, 144(7): 625-634.

(收稿日期: 2011-05-09 修回日期: 2011-07-12)