

辅助腹腔复苏对大鼠失血性休克早期肠损伤的动态影响

邓哲 曾红科 梁实 赵中江 冯永文 刘德红 姚彬 黄皓 彭刚刚

【摘要】 目的 探讨辅助腹腔复苏 (APR) 对大鼠失血性休克早期肠损伤的动态影响及可能机制。方法 将 96 只雄性 Wistar 大鼠按随机数字表法分成对照组、休克组、林格液 APR 组和透析液 APR 组 4 组, 每组再分为复苏后 1、2、6 h 3 个时间点, 每个时间点 8 只大鼠。复制失血性休克动物模型。休克组采用常规静脉复苏 (回输失血 + 2 倍失血量的生理盐水); 林格液 APR 组和透析液 APR 组在常规静脉复苏基础上, 分别于开始液体复苏时一次性腹腔注射 100 mL/kg 林格液或 2.5% 葡萄糖腹膜透析液。各组于相应时间点活杀动物, 用紫外比色法检测血浆二胺氧化酶 (DAO) 活性, 镜下观察小肠组织病理改变并进行肠黏膜损伤评分, 用反转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测小肠组织核转录因子 κ B (NF- κ B)、热休克蛋白 70 (HSP70) 的 mRNA 表达, 取剩余肠组织计算湿/干质量 (W/D) 比值。**结果** 与对照组比较, 休克组复苏后 1 h, 血浆 DAO 活性、小肠黏膜损伤评分、小肠组织 NF- κ B 和 HSP70 的 mRNA 表达、肠 W/D 比值即明显升高, 除 NF- κ B mRNA 于复苏后 2 h 达高峰外, 其余各指标均随时间逐渐升高。与休克组比较, 透析液 APR 组复苏后 1、2、6 h 各时间点血浆 DAO 活性 (U/L: 8.78 ± 0.76 比 13.30 ± 1.37, 9.67 ± 0.92 比 16.56 ± 1.61, 10.53 ± 0.84 比 18.31 ± 1.72, 均 $P < 0.05$)、小肠黏膜损伤评分 (分: 1.36 ± 0.31 比 3.51 ± 0.66, 2.28 ± 0.40 比 4.02 ± 0.76, 2.47 ± 0.38 比 4.76 ± 0.77, 均 $P < 0.05$)、肠组织 NF- κ B mRNA 表达 (灰度值: 0.658 ± 0.062 比 0.765 ± 0.067, 0.945 ± 0.077 比 1.158 ± 0.096, 0.761 ± 0.062 比 0.912 ± 0.082, 均 $P < 0.05$)、肠 W/D 比值 (3.91 ± 0.26 比 4.34 ± 0.33, 3.96 ± 0.32 比 4.51 ± 0.40, 4.37 ± 0.33 比 4.99 ± 0.43, 均 $P < 0.05$) 明显降低, 肠组织 HSP70 mRNA 表达显著增强 (灰度值: 0.717 ± 0.054 比 0.635 ± 0.056, 0.853 ± 0.068 比 0.745 ± 0.071, 1.258 ± 0.111 比 1.108 ± 0.105, 均 $P < 0.05$)。林格液 APR 组仅复苏后 1 h 血浆 DAO 活性、肠黏膜损伤评分显著低于休克组, 其余各指标变化与休克组比较差异无统计学意义。**结论** 2.5% 葡萄糖腹膜透析液 APR 可减轻失血性休克早期肠损伤, 其作用机制可能与增强肠组织 HSP70 mRNA 表达、抑制 NF- κ B mRNA 表达有关。

【关键词】 辅助腹腔复苏; 失血性休克; 核转录因子 κ B; 热休克蛋白 70; 小肠损伤

Dynamic effects of adjunct peritoneal resuscitation on the early intestinal injury of rats after hemorrhagic shock

Deng Zhe*, Zeng Hongke, Liang Shi, Zhao Zhongjiang, Feng Yongwen, Liu Dehong, Yao Bin, Huang Hao, Peng Ganggang. * Department of Emergency Medicine, the First Affiliated Hospital of Shenzhen University, the Second People's Hospital of Shenzhen City, Shenzhen 518035, Guangdong, China

Corresponding author: Deng Zhe, Email: dengz163@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the dynamic effects of adjunct peritoneal resuscitation (APR) on the early intestinal injury of rats with hemorrhagic shock, and explore its possible mechanisms. **Methods** According to random number table, 96 male Wistar rats were assigned randomly into control group, shock group, Ringer solution APR group and dialysate APR group. Each group was further divided into three time points, namely 1, 2, and 6 hours after resuscitation, with 8 rats for each time point. The model of hemorrhagic shock was reproduced. The rats in the shock group received shed blood plus twice amount of normal saline as conventional intravenous resuscitation (CIR). Besides CIR, at the beginning of resuscitation, those rats in Ringer solution APR and dialysate APR groups were given 100 mL/kg of Ringer solution or 2.5% glucose-based peritoneal dialysis solution intravenously, respectively. The rats in four groups were sacrificed at 1, 2 and 6 hours after resuscitation, respectively. Plasma activity of diamine oxidase (DAO) was detected by ultraviolet spectrophotometry colorimetry. Intestinal pathological changes were observed under light microscope, and the grading of the intestinal mucosal damage (GIMD) score was estimated. The expressions of nuclear

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.01.013

基金项目: 广东省深圳市科技计划项目 (201002033); 广东省深圳市科技研发知识创新计划项目 (JCYJ20130401112547042)

作者单位: 518035 广东深圳, 深圳市第二人民医院 (深圳大学第一附属医院) 急诊科 (邓哲、赵中江、冯永文、刘德红、姚彬、黄皓、彭刚刚); 510080 广东广州, 广东省人民医院急危重症医学部 (曾红科); 518000 广东深圳, 深圳市医学信息中心 (梁实)

通讯作者: 邓哲, Email: dengz163@163.com

factor- κ B (NF- κ B) and heat shock protein 70 (HSP70) mRNA in the intestinal tissue were determined with reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), and the wet/dry weight ratios (W/D) of the remaining intestinal tissue were measured. **Results** Compared with the control group, plasma activity of DAO, GIMD score, expressions of NF- κ B and HSP70 mRNA and W/D ratios of intestinal tissue at 1 hour after resuscitation were increased significantly in the shock group. Except the expression of NF- κ B mRNA reached the peak level at 2 hours after resuscitation, all the other parameters increased with time. Compared with the shock group, plasma activity of DAO (U/L: 8.78 ± 0.76 vs. 13.30 ± 1.37 , 9.67 ± 0.92 vs. 16.56 ± 1.61 , 10.53 ± 0.84 vs. 18.31 ± 1.72 , all $P < 0.05$), GIMD score (1.36 ± 0.31 vs. 3.51 ± 0.66 , 2.28 ± 0.40 vs. 4.02 ± 0.76 , 2.47 ± 0.38 vs. 4.76 ± 0.77 , all $P < 0.05$), the expressions of NF- κ B mRNA in the intestine tissue (gray value: 0.658 ± 0.062 vs. 0.765 ± 0.067 , 0.945 ± 0.077 vs. 1.158 ± 0.096 , 0.761 ± 0.062 vs. 0.912 ± 0.082 , all $P < 0.05$), and W/D ratios (3.91 ± 0.26 vs. 4.34 ± 0.33 , 3.96 ± 0.32 vs. 4.51 ± 0.40 , 4.37 ± 0.33 vs. 4.99 ± 0.43 , all $P < 0.05$) at 1, 2, 6 hours after resuscitation in the dialysate APR group were decreased significantly, but the expressions of HSP70 mRNA were increased significantly (gray value: 0.717 ± 0.054 vs. 0.635 ± 0.056 , 0.853 ± 0.068 vs. 0.745 ± 0.071 , 1.258 ± 0.111 vs. 1.108 ± 0.105 , all $P < 0.05$). The activity of DAO and GIMD score at 1 hour after resuscitation in the Ringer solution APR group were decreased significantly compared with the shock group, while the differences of the other parameters between the Ringer solution APR group and shock group showed no statistical significance. **Conclusion** APR with 2.5% glucose-based peritoneal dialysis solution can significantly mitigate the early intestinal injury secondary to hemorrhagic shock, and the mechanism may be associated with enhancement of the expressions of HSP70 mRNA and inhibition of the expressions of NF- κ B mRNA.

【Key words】 Adjunct peritoneal resuscitation; Hemorrhagic shock; Nuclear factor- κ B; Heat shock protein 70; Intestinal injury

失血性休克后,常规静脉复苏虽然可以恢复并维持血压、心率等中心血流动力学参数,但肠道等重要内脏器官微循环血管呈持续进行性收缩及低灌注状态,因而常出现早期肠道损伤,进而导致多器官功能障碍综合征(MODS),甚至死亡^[1]。辅助腹腔复苏(APR)可逆转休克及静脉复苏后的内脏微血管收缩、改善微循环血供,防止MODS发生并降低病死率,被认为是“数十年来可望改善休克复苏效果的重大突破”^[2],但对失血性休克后早期肠损伤的动态影响及机制尚未明确。核转录因子- κ B(NF- κ B)是失血性休克后发生全身炎症反应综合征(SIRS)和继发肠损伤的关键调节位点^[3],而热休克蛋白70(HSP70)对创伤和失血后继发肠黏膜损伤有保护作用^[4]。本研究通过复制失血性休克大鼠模型,观察两种不同液体行APR对失血性休克早期大鼠死亡率、血浆二胺氧化酶(DAO)活性、肠病理改变、肠组织NF- κ B和HSP70 mRNA表达,及肠湿/干质量(W/D)比值的干预作用,从而探讨APR对失血性休克早期肠损伤的动态影响及可能机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器: NF- κ B、HSP70、 β -肌动蛋白(β -actin)引物均由日本Takara公司合成。2.5%葡萄糖腹膜透析液(腹透液,广州百特医疗用品有限公司)组成:每100 mL中含葡萄糖2.5 g、氯化钠538 mg、乳酸钠448 mg、氯化钙25.7 mg、氯化镁5.08 mg, pH值为5.2,渗透压浓度396 mmol/L;大

鼠血浆DAO试剂盒(南京建成生物工程研究所);反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)试剂盒(日本Takara公司);PCR扩增仪(美国Gene Cyclor公司);紫外可见光分光光度计、Gel Doc 2000型凝胶电泳成像分析系统(美国Bio-RAD公司)。

1.2 动物分组、模型制作与处理

1.2.1 实验动物及分组:健康雄性Wistar大鼠96只,体质量200~220 g,由中山大学实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(粤)2011-0029。按随机数字表法分为对照组、失血性休克+常规静脉复苏组(休克组)、失血性休克+常规静脉复苏+林格液腹腔复苏组(林格液APR组)、失血性休克+常规静脉复苏+腹透液腹腔复苏组(透析液APR组)4组,每组又分为失血性休克复苏后1、2、6 h共3个时间点,每个时间点8只大鼠。

1.2.2 失血性休克动物模型制作:采用改良Wiggers法制备失血性休克动物模型^[5],腹腔注射戊巴比妥钠40 mg/kg麻醉并固定动物。肛温维持在 (37.0 ± 0.5) °C。眨眼反射及疼痛回缩反射消失后,行单侧颈动脉及右股动脉、静脉插管(置管前行肝素化)。颈动脉插管后连接LMS-2B型二道生理记录仪监测血压,稳定10 min。以1 mL/min的速度从股动脉放血到含肝素的注射器内,直到血压为平均动脉压(MAP)的40%并维持60 min。当血压低于40% MAP时,经股静脉持续少量泵入生理盐水。复苏前死亡的大鼠不计入本组实验,另取大鼠补充。

1.2.3 干预和处理:① 对照组:仅进行手术操作,不放血诱导休克及复苏。② 休克组:维持 40% MAP 60 min 后,于 30 min 内将失血和 2 倍失血量的生理盐水经股静脉泵入,为常规液体复苏。③ 林格液 APR 组:在休克组基础上,于开始股静脉液体复苏的同时,一次性向腹腔内注入 100 mL/kg 林格液。④ 透析液 APR 组:在休克组基础上,于开始股静脉液体复苏的同时,一次性向腹腔内注入 100 mL/kg 2.5% 葡萄糖腹透液。输液完毕后立即拔管、缝合刀口,待动物完全清醒后置于 25 °C 室温下观察。

本实验动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 观察指标及方法

1.3.1 各组大鼠累计死亡率:计算各组大鼠休克复苏后 6 h 内累计死亡率。

1.3.2 DAO 活性:采用紫外比色法检测血浆 DAO 活性,操作按试剂盒说明书进行。

1.3.3 肠组织病理观察及评分:取距回盲瓣 5 cm 处回肠 3 cm,常规石蜡包埋、切片,行苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察。采用 Chiu 等^[6]评分法评价回肠黏膜损伤程度,评分越高,表明损伤越严重。每只动物观察 10 个高倍视野(400 倍),取均值。

1.3.4 RT-PCR 法检测肠组织 NF-κB、HSP70 的 mRNA 表达:取距回盲瓣 8 cm 处回肠组织 5 cm,TRIzol 试剂提取肠组织总 RNA,按试剂盒说明书合成 cDNA。PCR 反应条件:94 °C 预变性 3 min,然后 94 °C 变性 30 s,55 °C 复性 45 s;72 °C 延伸 1 min,共 40 个循环,最后于 72 °C 延伸 7 min。PCR 产物电泳后经溴化乙锭染色,凝胶成像系统进行分析,分别以 NF-κB、HSP70 与内参 β-actin 条带的灰度值比值作为各自 mRNA 表达量。

1.3.5 计算肠组织湿/干质量(W/D)比值:剩余小肠组织精确称湿质量,置 80 °C 烘箱内烘 48 h 至恒重,计算 W/D 比值。

1.4 统计学分析:用 SPSS 16.0 软件处理数据,计量数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间差异采用方差分析;计数资料组间差异用 χ^2 检验及 Fisher 精确概率检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 复苏后 6 h 内大鼠死亡率:对照组及透析液 APR 组无大鼠死亡;休克组分别于 1.5、3、5 h 各死亡 1 只;林格液 APR 组分别于 1.5 h、5.5 h 各死亡 1 只。4 组累计死亡率分别为 0、0、12.50%、8.33%,差异无统计学意义($\chi^2 = 4.464, P > 0.05$)。

2.2 血浆 DAO 活性变化(表 1):休克组复苏后 1 h 血浆 DAO 活性即较对照组明显升高,并随时间延长而递增。与休克组同时时间点比较,林格液 APR 组复苏后 1 h 血浆 DAO 活性明显降低($P < 0.05$)。透析液 APR 组各时间点血浆 DAO 活性均明显低于休克组及林格液 APR 组(均 $P < 0.05$)。

表 1 不同液体 APR 对失血性休克大鼠复苏后各时间点血浆 DAO 活性变化的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	血浆 DAO 活性 (U/L)		
	复苏后 1 h	复苏后 2 h	复苏后 6 h
对照组	7.22 ± 0.89 (8)	7.33 ± 0.84 (8)	7.18 ± 0.91 (8)
休克组	13.30 ± 1.37 (8) ^a	16.56 ± 1.61 (7) ^a	18.31 ± 1.72 (5) ^a
林格液 APR 组	11.73 ± 1.08 (8) ^{ab}	15.82 ± 1.43 (7) ^a	17.56 ± 1.66 (6) ^a
透析液 APR 组	8.78 ± 0.76 (8) ^{abc}	9.67 ± 0.92 (8) ^{abc}	10.53 ± 0.84 (8) ^{abc}

注:APR 为辅助腹腔复苏,DAO 为二胺氧化酶;与对照组比较,^a $P < 0.05$;与休克组比较,^b $P < 0.05$;与林格液 APR 组比较,^c $P < 0.05$;括号内为动物数

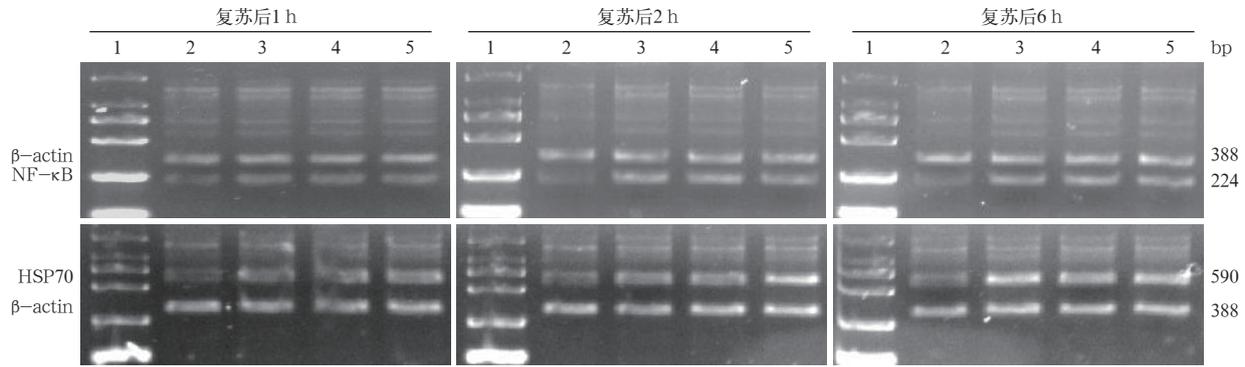
2.3 肠组织病理形态学观察及小肠黏膜损伤评分(表 2):对照组回肠黏膜结构及绒毛上皮完好,无炎症细胞浸润及淋巴滤泡增生。休克组复苏后 1 h 可见绒毛生长稀疏,稍有水肿,出现中性粒细胞浸润及淋巴滤泡增生;复苏后 6 h 可见大量绒毛脱落,残存绒毛长短不一、水肿、稀疏,固有层淋巴滤泡增生及大量中性粒细胞浸润;各时间点小肠黏膜损伤评分明显高于对照组(均 $P < 0.05$)。林格液 APR 组复苏后 1 h 肠绒毛水肿、中性粒细胞浸润及淋巴滤泡增生较休克组稍有减轻,2 h、6 h 则减轻不明显。透析液 APR 组复苏后各时间点肠组织病理改变均较休克组及林格液 APR 组明显减轻;小肠黏膜损伤评分明显低于休克组及林格液 APR 组(均 $P < 0.05$)。

表 2 不同液体 APR 对失血性休克大鼠复苏后各时间点小肠黏膜损伤评分的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	小肠黏膜损伤评分(分)		
	复苏后 1 h	复苏后 2 h	复苏后 6 h
对照组	0.38 ± 0.08 (8)	0.35 ± 0.06 (8)	0.41 ± 0.09 (8)
休克组	3.51 ± 0.66 (8) ^a	4.02 ± 0.76 (7) ^a	4.76 ± 0.77 (5) ^a
林格液 APR 组	3.03 ± 0.62 (8) ^{ab}	3.89 ± 0.61 (7) ^a	4.71 ± 0.69 (6) ^a
透析液 APR 组	1.36 ± 0.31 (8) ^{abc}	2.28 ± 0.40 (8) ^{abc}	2.47 ± 0.38 (8) ^{abc}

注:APR 为辅助腹腔复苏;与对照组比较,^a $P < 0.05$;与休克组比较,^b $P < 0.05$;与林格液 APR 组比较,^c $P < 0.05$;括号内为动物数

2.4 肠组织 NF-κB、HSP70 mRNA 表达(图 1;表 3):休克组复苏后 1 h 肠组织 NF-κB、HSP70 mRNA 表达即较对照组显著增加,NF-κB mRNA 表达于 2 h 达高峰,6 h 仍高于对照组(均 $P < 0.05$);HSP70



RT-PCR 为反转录 - 聚合酶链反应, NF-κB 为核转录因子 -κB, HSP70 为热休克蛋白 70, β-actin 为 β-肌动蛋白;

1~5 分别代表 Marker、对照组、休克组、林格液辅助腹腔复苏 (ARP) 组及透析液 APR 组

图 1 RT-PCR 检测各组大鼠不同时间点肠组织 NF-κB、HSP70 的 mRNA 表达

表 3 不同液体 APR 对失血性休克大鼠复苏后各时间点肠组织 NF-κB、HSP70 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	NF-κB/β-actin (灰度值)			HSP70/β-actin (灰度值)		
	复苏后 1 h	复苏后 2 h	复苏后 6 h	复苏后 1 h	复苏后 2 h	复苏后 6 h
对照组	0.262 ± 0.028 (8)	0.256 ± 0.031 (8)	0.264 ± 0.034 (8)	0.248 ± 0.022 (8)	0.252 ± 0.023 (8)	0.245 ± 0.020 (8)
休克组	0.765 ± 0.067 (8) ^a	1.158 ± 0.096 (7) ^a	0.912 ± 0.082 (5) ^a	0.635 ± 0.056 (8) ^a	0.745 ± 0.071 (7) ^a	1.108 ± 0.105 (5) ^a
林格液 APR 组	0.746 ± 0.070 (8) ^a	1.094 ± 0.087 (7) ^a	0.887 ± 0.090 (6) ^a	0.642 ± 0.061 (8) ^a	0.759 ± 0.070 (7) ^a	1.119 ± 0.099 (6) ^a
透析液 APR 组	0.658 ± 0.062 (8) ^{abc}	0.945 ± 0.077 (8) ^{abc}	0.761 ± 0.062 (8) ^{abc}	0.717 ± 0.054 (8) ^{abc}	0.853 ± 0.068 (8) ^{abc}	1.258 ± 0.111 (8) ^{abc}

注: APR 为辅助腹腔复苏, NF-κB 为核转录因子 -κB, HSP70 为热休克蛋白 70, β-actin 为 β-肌动蛋白;与对照组比较, ^a*P*<0.05;与休克组比较, ^b*P*<0.05;与林格液 APR 组比较, ^c*P*<0.05;括号内为动物数

mRNA 表达于复苏后 6 h 内呈递增趋势,各时间点明显高于对照组 (均 *P*<0.05)。林格液 APR 组与休克组各时间点 NF-κB、HSP70 的 mRNA 表达比较差异无统计学意义。透析液 APR 组复苏后各时间点肠组织 NF-κB mRNA 表达均明显低于休克组和林格液 APR 组, HSP70 mRNA 表达明显高于休克组和林格液 APR 组 (均 *P*<0.05)。

2.5 肠 W/D 比值 (表 4):失血性休克大鼠复苏后肠 W/D 比值随时间延长而升高。休克组、林格液 APR 组各时间点肠 W/D 比值明显高于对照组 (均 *P*<0.05)。透析液 APR 组各时间点肠 W/D 比值均明显低于休克组及林格液 APR 组 (均 *P*<0.05),仅于复苏后 6 h 肠 W/D 比值高于对照组 (*P*<0.05)。

表 4 不同液体 APR 对失血性休克大鼠复苏后各时间点肠 W/D 比值的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	肠 W/D 比值		
	复苏后 1 h	复苏后 2 h	复苏后 6 h
对照组	3.86 ± 0.30 (8)	3.91 ± 0.28 (8)	3.82 ± 0.34 (8)
休克组	4.34 ± 0.33 (8) ^a	4.51 ± 0.40 (7) ^a	4.99 ± 0.43 (5) ^a
林格液 APR 组	4.37 ± 0.29 (8) ^a	4.53 ± 0.38 (7) ^a	4.96 ± 0.46 (6) ^a
透析液 APR 组	3.91 ± 0.26 (8) ^{bc}	3.96 ± 0.32 (8) ^{bc}	4.37 ± 0.33 (8) ^{abc}

注: APR 为辅助腹腔复苏, 肠 W/D 为肠湿 / 干质量比值;与对照组比较, ^a*P*<0.05;与休克组比较, ^b*P*<0.05;与林格液 APR 组比较, ^c*P*<0.05;括号内为动物数

3 讨论

失血性休克及常规静脉复苏后,肠道等重要内脏器官微循环血管呈持续进行性收缩及低灌注状态。应激、缺血 / 缺氧、再灌注损伤等激活了效应细胞,如巨噬细胞、多形核白细胞等,使得炎症介质“瀑布”样释放,发生 SIRS,损伤内皮细胞及远隔器官,最终导致 MODS^[7]。而肠源性 SIRS 及组织液体扣押是导致失血性休克常规静脉复苏后 MODS 及死亡的主要原因之一^[2,8]。

NF-κB 在 SIRS 及 MODS 发病中起关键作用,其活化和移位进入细胞核后介导炎症细胞因子转录,是多种信号转导途径的汇聚点。NF-κB 可高效诱导多种细胞因子、趋化因子、黏附分子和急性期反应蛋白的基因表达,同时也调控参与炎症级联“瀑布”效应多种酶的基因表达^[3,9]。因此,许多学者提出, NF-κB 是极具潜力的新型抗炎靶点。

HSP70 通过保护正常蛋白结构、修复或清除损伤蛋白,起到维持细胞内环境稳态而不受环境或物理损伤的作用。HSP70 具有多种保护功能,如抑制炎症细胞因子,恢复氧化 - 还原平衡,阻止细胞凋亡途径激活及修复离子通道等。HSP70 升高可改善创伤患者肠、肝、脑等重要器官的继发功能损害,减轻创伤、休克等导致的肠黏膜损伤^[4,10-11]。

DAO 是敏感的肠上皮细胞内酶, 血浆 DAO 活性变化能特异性地反映创伤后小肠黏膜屏障功能受损和修复情况^[12]。

本研究结果表明, 大鼠失血性休克后 6 h 内, 血浆 DAO 活性、小肠黏膜损伤评分及肠 W/D 比值随时间延长而升高, 提示失血性休克早期存在肠损伤并随时间延长而加重。此外, 失血性休克后早期肠组织 NF- κ B 及 HSP70 mRNA 表达均出现了升高, 提示两者均参与了失血性休克后肠损伤过程。研究表明, HSP70 可通过阻止 NF- κ B 抑制物 (I κ B α) 的降解及 NF- κ B p65 核移位, 从而影响 NF- κ B 的表达和活化^[13-14]。本研究中, 肠组织 NF- κ B mRNA 表达在复苏后 2 h 达峰值后即呈下降趋势, 可能与 HSP70 mRNA 表达随时间延长而上调, 并对 NF- κ B mRNA 表达的抑制作用逐渐增强有关。

本研究发现, 在常规静脉复苏的基础上, APR 可以快速逆转失血性休克大鼠内脏器官低灌注并提高生存率。其作用机制可能为^[15-20]: 恢复肠黏膜血管内皮细胞功能, 增加重要器官血流; 减轻组织细胞水肿, 促进早期液体循环; 保护肠黏膜屏障, 减轻肠道和全身炎症反应; 减轻组织脂质过氧化反应和缺血 / 再灌注损伤; 改善能量代谢。尽管复苏液体与腹腔内脏器官直接接触可部分解释腹内器官血流的增加, 但不能用来解释腹腔复苏后腹外器官如肺和骨骼肌血流的增加。

本实验结果还显示, 2.5% 葡萄糖腹透液腹腔复苏能降低血浆 DAO 活性、小肠黏膜损伤评分以及肠 W/D 比值, 还能增强肠组织 HSP70 mRNA 表达并抑制 NF- κ B mRNA 表达。提示其改善失血性休克早期大鼠死亡率、肠损伤及减轻肠组织水肿的作用机制可能是通过增强肠组织 HSP70 mRNA 表达、抑制 NF- κ B mRNA 表达来实现的。而等体积林格液腹腔注射则无血管扩张及保护作用, 主要是因为 2.5% 葡萄糖腹透液具有重要的血管活性^[21]: 高渗是导致其血管活性的主要原因; 在腹透液引起的血管扩张效应中, 高渗及活跃细胞内葡萄糖摄取共占据了 75% 的作用, 而葡萄糖降解产物约起 25% 的作用; 乳酸盐仅在低 pH 值时具血管活性。

综上所述, 2.5% 葡萄糖腹透液 APR 可以通过减轻肠组织病理损伤、组织水肿和黏膜损伤, 有效防治失血性休克早期肠损伤, 其作用机制可能与增强肠组织 HSP70 mRNA 表达、抑制 NF- κ B mRNA 表达有关。

参考文献

- [1] 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; discussion 496. e1-2.
- [2] 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.
- [3] Tsai MC, Chen WJ, Ching CH, et al. Resuscitation with hydroxyethyl starch solution prevents nuclear factor kappaB activation and oxidative stress after hemorrhagic shock and resuscitation in rats [J]. *Shock*, 2007, 27 (5): 527-533.
- [4] Wu X, Zhang Y, Yin Y, et al. Roles of heat-shock protein 70 in protecting against intestinal mucosal damage [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2013, 18: 356-365.
- [5] 石海梅, 周华成, 贾雅蕊, 等. 氢气对失血性休克大鼠急性肺损伤的影响 [J]. *中华危重病急救医学*, 2013, 25 (6): 347-350.
- [6] Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal [J]. *Arch Surg*, 1970, 101 (4): 478-483.
- [7] 邓哲, 赵中江, 梁实, 等. 盐酸戊二奎醚对大鼠创伤性休克继发性肺损伤的保护作用 [J]. *中华创伤杂志*, 2012, 28 (6): 556-560.
- [8] 刘勇军, 毛恩强, 李磊, 等. 失血性休克大鼠器官组织中促炎细胞因子表达及释放的时相性研究 [J]. *中国危重病急救医学*, 2007, 19 (5): 290-294.
- [9] 邓哲, 刘德红, 赵中江, 等. 甘氨酸对创伤性休克大鼠血单核细胞内核转录因子 κ B 活性的影响 [J]. *中国危重病急救医学*, 2008, 20 (7): 426-427.
- [10] 邓哲, 杨欣建, 赵中江, 等. 甘氨酸对大鼠创伤性休克继发性肝损伤的防护作用 [J]. *中华创伤杂志*, 2009, 25 (8): 739-742.
- [11] 郇姗姗, 宋晓聪, 胡丹, 等. 腺病毒介导的热休克蛋白 70 对脑缺血缺氧大鼠保护作用的研究 [J]. *中国危重病急救医学*, 2011, 23 (6): 365-367.
- [12] 胡森, 段美丽, 夏斌, 等. 通腑颗粒对犬缺血 / 再灌注损伤小肠黏膜血液灌流和通透性的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2006, 13 (6): 331-334.
- [13] Dokladny K, Lobb R, Wharton W, et al. LPS-induced cytokine levels are repressed by elevated expression of HSP70 in rats: possible role of NF- κ B [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2010, 15 (2): 153-163.
- [14] 毛定安, 杨于嘉, 俞燕. 热休克蛋白 70 对感染性脑水肿核转录因子 κ B 及其抑制蛋白的影响 [J]. *中国危重病急救医学*, 2005, 17 (11): 644-646.
- [15] Zakaria el R, Matheson PJ, Flessner MF, et al. Hemorrhagic shock and resuscitation-mediated tissue water distribution is normalized by adjunctive peritoneal resuscitation [J]. *J Am Coll Surg*, 2008, 206 (5): 970-980; discussion 980-983.
- [16] Zakaria el R, Garrison RN, Spain DA, et al. Intraperitoneal resuscitation improves intestinal blood flow following hemorrhagic shock [J]. *Ann Surg*, 2003, 237 (5): 704-711; discussion 711-713.
- [17] 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.
- [18] Smith JW, Ghazi CA, Cain BC, et al. Direct peritoneal resuscitation improves inflammation, liver blood flow, and pulmonary edema in a rat model of acute brain death [J]. *J Am Coll Surg*, 2014, 219 (1): 79-87.
- [19] Hurt RT, Zakaria el R, Matheson PJ, et al. Hemorrhage-induced hepatic injury and hypoperfusion can be prevented by direct peritoneal resuscitation [J]. *J Gastrointest Surg*, 2009, 13 (4): 587-594.
- [20] 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.
- [21] Zakaria el R, Patel AA, Li N, et al. Vasoactive components of dialysis solution [J]. *Perit Dial Int*, 2008, 28 (3): 283-295.

(收稿日期: 2014-06-11)

(本文编辑: 李银平)