

• 论著 •

直肠补液对重症急性胰腺炎大鼠器官功能的保护作用

盛慧球¹, 张飞虎¹, 金敏¹, 陈影¹, 费健², 赵冰¹, 毛恩强¹, 陈尔真¹, 张圣道²

(上海交通大学医学院附属瑞金医院 ①急诊科/ICU, ②普外科, 上海 200025)

【摘要】目的 探讨经直肠补液对重症急性胰腺炎(SAP)大鼠并发器官功能损伤的作用。**方法** 将30只雄性SD大鼠按随机数字表法分为模型组、静脉补液组和直肠补液组,每组10只。采用胰管内推注5%牛磺胆酸钠的方法制备SAP模型,颈动脉置管监测血流动力学指标。模型组不进行液体复苏,静脉补液组和直肠补液组分别于制模后30 min以 $4\text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 的速率输注生理盐水。观察制模后0(即刻)、0.5、1、2、4、8 h大鼠平均动脉血压(MAP)的变化;于制模后8 h处死动物,光镜下观察胰腺、肝脏和肺脏组织病理学变化,并检测胰腺、肝脏和肺脏组织的病理学评分、腹腔渗液量、血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6)含量的变化。**结果** 3组制模后0.5 h MAP即出现下降,2 h时静脉补液组MAP (mm Hg, $1\text{ mm Hg}=0.133\text{ kPa}$)明显高于模型组(110.0 ± 7.4 比 97.0 ± 7.8 , $P<0.05$),4 h时直肠补液组MAP即显著高于模型组(100.0 ± 7.2 比 93.0 ± 7.6 , $P<0.05$)而低于静脉补液组(108.0 ± 5.7 , $P<0.05$)。复苏后8 h,模型组胰腺、肝脏、肺脏出现明显病理学改变,静脉补液组和直肠补液组病理学改变明显减轻,3组间胰腺病理评分(分)比较差异均无统计学意义(9.1 ± 0.4 , 9.2 ± 0.3 , 9.4 ± 0.6 , 均 $P>0.05$)。静脉补液组和直肠补液组的肝脏病理评分(分)比较差异均无统计学意义($P>0.05$),但均显著低于模型组(1.5 ± 0.3 , 1.5 ± 0.4 比 1.8 ± 0.4 , 均 $P<0.05$);直肠补液组肺脏病理评分(分)显著低于静脉补液组(2.1 ± 0.4 比 2.6 ± 0.5 , $P<0.05$),但静脉补液组和直肠补液组与模型组比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。直肠补液组腹腔渗液量(ml/kg)显著低于模型组和静脉补液组(23 ± 2 比 25 ± 2 , 26 ± 2 , 均 $P<0.05$)。静脉补液组和直肠补液组血清TNF- α (ng/L)、IL-6 (ng/L)含量均显著低于模型组,以静脉补液组降低程度更显著(TNF- α : 58.2 ± 6.8 比 81.6 ± 6.4 , IL-6: 715.9 ± 39.4 比 971.2 ± 47.5 , 均 $P<0.05$)。**结论** 早期经直肠输液在改善SAP血流动力学的同时,对肝脏和肺脏功能均具有良好的保护作用。

【关键词】 急性胰腺炎,重症; 液体复苏; 直肠补液; 细胞因子; 器官功能

Effect of fluid resuscitation via rectum on protection of organ function in rats with severe acute pancreatitis SHENG Hui-qiu*, ZHANG Fei-hu, JIN Min, CHEN Ying, FEI Jian, ZHAO Bing, MAO En-qiang, CHEN Er-zhen, ZHANG Sheng-dao. *Department of Emergency and Intensive Care Unit, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China
Corresponding author: MAO En-qiang, Email: maoeq@yeah.net

【Abstract】Objective To investigate the effect of fluid resuscitation via rectum on rats with severe acute pancreatitis (SAP) complicated by organ function injury. **Methods** Thirty male SD rats were divided into three groups at random: a model group, an intravenous infusion group and a rectum infusion group (each group $n=10$). SAP model was induced by injection of 5% sterile sodium taurocholate into the pancreatic duct of rats. The right carotid artery of each rat was catheterized to monitor hemodynamic continuously. The rats of model group received no fluid resuscitation. The rats of intravenous infusion group and rectum infusion group were resuscitated with normal saline (NS) $4\text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ through veins and rectum respectively 30 minutes after SAP model induction. The mean arterial pressure (MAP) changes of rats in each group were recorded in the recovery process 0 (immediate), 0.5, 1, 2, 4 and 8 hours respectively after SAP model was induced. The rats were killed at the 8th hour after the model establishment, and the pathological changes of pancreas, liver and lung tissues were observed under the light microscope, the pathological scores of such tissues and the amount of ascites in rats were detected; the serum concentrations of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) were determined simultaneously. **Results** The MAP appeared to decline about 0.5 hours after SAP model was established in all three groups, the MAP (mm Hg, $1\text{ mm Hg}=0.133\text{ kPa}$) of the intravenous infusion group was obviously higher than that in the model group (110.0 ± 7.4 vs. 97.0 ± 7.8 , $P<0.05$) at 2 hours, the MAP of the rectum infusion group was distinctly higher than that of the model group (100.0 ± 7.2 vs. 93.0 ± 7.6 , $P<0.05$), but lower than that of the intravenous infusion group (108.0 ± 5.7 , $P<0.05$) at 4 hours. There were distinct pathological changes of pancreas, liver and lung tissues in the model group about 8 hours after resuscitation for other two groups whose pathological changes of the above organs at that time were obviously ameliorated. As regards the pathological scores of pancreas, there was no significant difference among the three groups (9.1 ± 0.4 , 9.2 ± 0.3 , 9.4 ± 0.6 , all $P>0.05$). There were no statistical significant differences in the pathological score of liver between the intravenous infusion group and the rectum infusion group ($P>0.05$), but both significantly lower than that of the model group (1.5 ± 0.3 , 1.5 ± 0.4 vs. 1.8 ± 0.4 , both $P<0.05$). The pathological score of lung in the rectum infusion group was obviously lower than that of the intravenous infusion group (2.1 ± 0.4 vs. 2.6 ± 0.5 , $P<$

0.05)。However, the above score in each of the above two infusion groups had no significant difference compared with that in the model group respectively (both $P>0.05$)。The amount of ascites (ml/kg) in the rectum infusion group was significantly lower than that of the other two groups (23 ± 2 vs. $25 \pm 2, 26 \pm 2$, both $P<0.05$), and the levels of serum TNF- α (ng/L) and IL-6 (ng/L) in the intravenous infusion group and the rectum infusion group were significantly lower than those in the model group, especially prominent in the intravenous infusion group (TNF- α : 58.2 ± 6.8 vs. 81.6 ± 6.4 , IL-6: 715.9 ± 39.4 vs. 971.2 ± 47.5 , both $P<0.05$)。 **Conclusion** Early resuscitation through rectum can improve hemodynamics of rats with SAP, and simultaneously, it well protects their lung and liver functions.

【Key words】 Severe acute pancreatitis; Fluid resuscitation; Rectum infusion; Cytokine; Organ function

重症急性胰腺炎(SAP)的发病不仅局限于胰腺,往往累及全身多个器官。在炎症反应早期,单核/巨噬细胞、中性粒细胞和局部释放的肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6)等促炎细胞因子进入血液循环,导致全身炎症反应综合征(SIRS)和多器官功能障碍综合征(MODS)^[1]。SAP急性反应期毛细血管渗漏导致体液丢失而引起血流动力学异常是急性反应期治疗的关键之一^[2],也是公认的首要治疗环节^[3]。目前液体复苏的输液途径几乎都采取静脉输液,其优点是能迅速扩充有效循环血量、操作方便,并能根据血流动力学变化随时调节输液量和速度;但缺点为机体只能被动接受输注的液体,从而导致体液严重滞留而引起新的器官功能不全。本院在临床中经肛管灌注生理盐水疏通肠道时发现,灌注了1500 ml/24 h的生理盐水后患者的血流动力学逐渐稳定,且未发生急性呼吸衰竭(呼衰)。基于此,本研究初步探索经直肠补液是否可以在改善血流动力学的同时避免器官功能损伤。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要试剂: 30只6~7周龄的SPF级健康雄性SD大鼠,体质量300~330 g,购自中国科学院上海实验动物中心[动物合格证号:SCXK(沪)2008-0016]。主要试剂:纯度>95%的牛磺胆酸钠(美国Sigma公司),TNF- α 和IL-6酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(美国R&D公司)。

1.2 动物模型制备与分组: 采用5%牛磺胆酸钠建立SD大鼠SAP模型,应用微量注射泵逆行在大鼠的胰管内推注5%的牛磺胆酸钠1 ml/kg,保持压力5 min,应用多导生理记录仪监测动脉血压。大鼠编号后用电脑随机抽取编号分组,模型组(10只):制模成功后不进行液体复苏;静脉补液组(10只):制模成功后30 min经静脉途径输注生理盐水进行液体复苏,输液速率为4 ml·kg⁻¹·h⁻¹;

直肠补液组(10只):制模成功后30 min经直肠途径进行液体复苏,输液速率为4 ml·kg⁻¹·h⁻¹。

本实验动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 平均动脉压(MAP)及腹腔渗液量测定: 于制模后0(即刻)、0.5、1、2、4、8 h观察各组大鼠MAP的变化;于复苏8 h后观察各组大鼠腹腔渗液量的变化。

1.3.2 组织形态学观察: 取一块米粒大小组织置于10%的甲醛水溶液中固定72 h后,常规脱水、透明、浸蜡、包埋,进行苏木-素伊红(HE)染色,光镜下观察,并按Schmidt等^[4]、Camargo等^[5]和Jiang等^[6]的评分标准进行胰腺、肝脏和肺脏组织病理评分。

1.3.3 血清细胞因子TNF- α 和IL-6含量检测: 复苏8 h后用乙醚麻醉大鼠,腹主动脉取血,分离血清,采用ELISA检测血清TNF- α 和IL-6的含量。

1.4 统计学方法: 采用SPSS 16.0统计软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用方差分析(one-way ANOVA), $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组大鼠不同时间点平均动脉压(MAP)的变化比较(表1): 3组大鼠制模后0.5 h MAP即出现下降;2 h静脉补液组MAP明显高于模型组($P<0.05$),直肠补液组虽高于模型组,但差异无统计学意义($P>0.05$);4 h静脉补液组MAP显著高于模型组和直肠补液组($P<0.01$ 和 $P<0.05$),直肠补液组高于模型组($P<0.05$);8 h直肠补液组MAP明显高于模型组,但低于静脉补液组(均 $P<0.01$)。

表1 3组SAP大鼠不同时间点MAP的变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	MAP (mm Hg)					
		制模后即刻	制模后0.5 h	制模后1 h	制模后2 h	制模后4 h	制模后8 h
模型组	10	126.0 $\pm$ 4.9	117.0 $\pm$ 9.1	110.0 $\pm$ 10.3	97.0 $\pm$ 7.8	93.0 $\pm$ 7.6	94.0 $\pm$ 7.4
静脉补液组	10	126.0 $\pm$ 6.9	118.0 $\pm$ 8.2	111.0 $\pm$ 5.9	110.0 $\pm$ 7.4 ^a	108.0 $\pm$ 5.7 ^b	125.0 $\pm$ 5.4 ^b
直肠补液组	10	126.0 $\pm$ 5.8	116.0 $\pm$ 8.6	111.0 $\pm$ 5.6	101.0 $\pm$ 8.9	100.0 $\pm$ 7.2 ^{ac}	108.0 $\pm$ 6.6 ^{bd}

注:与模型组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与静脉补液组比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$;1 mm Hg=0.133 kPa

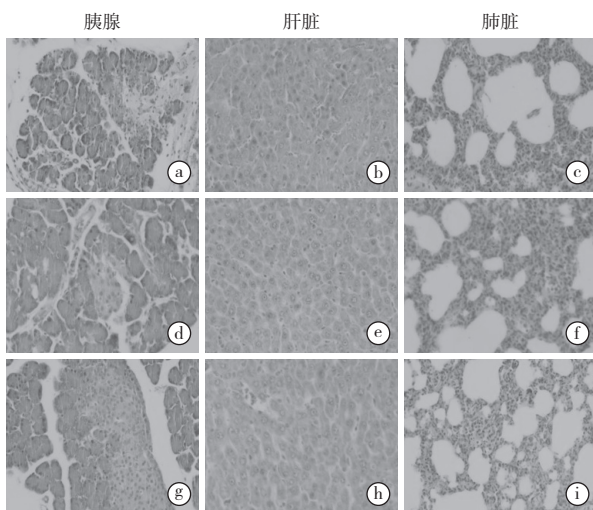
2.2 3 组大鼠腹腔渗液量比较 (表 2):复苏 8 h 后, 直肠补液组腹腔渗液量明显少于模型组及静脉补液组 (均 $P < 0.05$); 静脉补液组腹腔渗液量较模型组有所增多, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 3 组 SAP 大鼠腹腔渗液量以及肝脏、胰腺和肺脏组织病理评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	腹腔渗液量 (ml/kg)	病理评分 (分)		
			胰腺	肝脏	肺脏
模型组	10	25 ± 2	9.4 ± 0.6	1.8 ± 0.4	2.4 ± 0.6
静脉补液组	10	26 ± 2	9.1 ± 0.4	1.5 ± 0.3 ^a	2.6 ± 0.5
直肠补液组	10	23 ± 2 ^{ab}	9.2 ± 0.3	1.5 ± 0.4 ^a	2.1 ± 0.4 ^b

注: 与模型组比较, ^a $P < 0.05$; 与静脉补液组比较, ^b $P < 0.05$

2.3 3 组 SAP 大鼠组织病理学改变和病理评分比较:图 1 结果显示, 复苏 8 h 后, 模型组胰腺大面积出血、坏死, 大量炎性细胞浸润, 腺泡结构模糊; 肝脏细胞结构紊乱, 排列不齐, 肝细胞肿胀, 部分可见空泡样变性; 肺间质充血、水肿, 部分肺泡融合形成肺大疱; 而静脉补液组肺组织水肿则加重; 直肠补液组各器官病变减轻, 尤其肺组织水肿明显减轻。表 2 结果显示, 3 组大鼠胰腺组织病理评分比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$); 静脉补液组和直肠补液组肝脏病理评分均显著低于模型组 (均 $P < 0.05$); 静脉补液组肺脏病理评分与模型组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而直肠补液组显著低于静脉补液组 ($P < 0.05$)。



注: ①~③: 模型组; ④~⑥: 静脉补液组; ⑦~⑨: 直肠补液组

图 1 各组 SAP 大鼠复苏后 8 h 胰腺、肝脏、肺脏组织病理学改变 (HE 染色 低倍放大)

2.4 3 组 SAP 大鼠血清 TNF- α 和 IL-6 水平比较 (表 3):静脉补液组和直肠补液组血清 TNF- α 、

IL-6 水平均较模型组明显降低 (均 $P < 0.05$), 且以静脉补液组降低程度更显著 ($P < 0.05$)。

表 3 3 组 SAP 大鼠血清 TNF- α 和 IL-6 水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	TNF- α (ng/L)	IL-6 (ng/L)
模型组	10	81.6 ± 6.4	971.2 ± 47.5
静脉补液组	10	58.2 ± 6.8 ^a	715.9 ± 39.4 ^a
直肠补液组	10	72.5 ± 6.6 ^{ab}	777.5 ± 44.3 ^{ab}

注: 与模型组比较, ^a $P < 0.05$; 与静脉补液组比较, ^b $P < 0.05$

3 讨论

SAP 发生后, 内皮细胞受损引起毛细血管渗漏, 一方面循环血容量大量丢失引发休克导致组织灌注不足; 另一方面, 大量液体滞留在第三间隙导致毛细血管间的距离增加, 进一步加重细胞缺氧而导致多器官功能衰竭 (MOF)^[7], 而外源性液体的快速静脉内输注可进一步加重液体滞留。缺血、缺氧、酸中毒等导致多种使毛细血管壁通透性增加的细胞因子 (如组胺、白细胞三烯、激肽、肿瘤坏死因子等) 大量产生, 进一步加重毛细血管通透性引发毛细血管渗漏综合征 (CLS)。随着疾病的发展和毛细血管渗漏加重, 腹壁、肠壁、腹膜出现水肿以及肠道扩张和腹腔大量的液体渗出, 使腹腔压力升高, 最后导致腹腔间隔室综合征 (ACS)^[8]。液体复苏既要恢复有效血容量、稳定血流动力学、增加组织灌注、改善微循环和维持内稳态^[9], 又要防止因不恰当的静脉输液导致液体滞留而引起急性肺水肿或急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 等新的器官功能损伤^[10]。

静脉输液是传统的液体复苏途径, 该方式可快速纠正体液失衡, 恢复有效循环血容量和稳定血流动力学, 但如果液体输入过多、过快, 则可导致液体大量滞留, 加重组织细胞缺氧。人类通过消化道补液的历史远早于静脉补液, 1906 年 Sneve 就报道经口服或灌胃输入低温盐水能暂时维持循环功能^[11]; 2006 年 Girisingin 报道 1 例失血性休克患者经直肠持续滴注液体而抢救成功^[12]。维持胃肠屏障功能的完整性和早期进行肠内营养被列为 SAP 早期适当液体复苏治疗减轻低血容量相关损伤的主要目标之一^[13]。SAP 发病后存在血容量的严重缺乏, 如果过快的输注液体可引起急性肺水肿、机械通气率升高和 ACS 等严重并发症, 目前常采取限制性液体复苏策略^[14], 既然静脉液体复苏并不需要快速补液, 因此, 直肠途径进行液体复苏符合 SAP 的血容量扩充需求。在临床工作中发现, 在发病 72 h 内, SAP 患者的结肠功能具有强大吸收水分的能力, 经直肠输

液既可保证血流动力学稳定,又可防止过度输液,当机体血容量充足时,即使再经肠道灌注液体,机体也不会再吸收,因此该方法已经成为重症监护病房(ICU)常规的一种辅助补液策略。也就是说,静脉联合直肠途径输液优于单纯的静脉补液。

本研究结果表明,尽管静脉途径补液在恢复血流动力学稳定和减少炎症介质释放方面占优势,两组大鼠复苏后的全身炎症反应均得到显著控制,且肝脏、肺脏的病理改变显著减轻,尤以直肠补液组改善明显,说明直肠补液途径在改善血流动力学同时,具有保护器官功能的作用,且优于静脉输液途径。肠道补液比较安全,操作简单方便,而且机体可根据自身需要经肠道吸收水分,这更符合人体生理功能^[15]。肠道是机体与外界环境接触的主要屏障,SAP 患者受到应激时,使得肠道的蠕动、分泌、消化和免疫防御作用受到抑制,肠屏障功能遭到破坏,进而发生细菌和内毒素移位,发生内毒素血症,出现血行感染^[16],而血行感染使病情进一步恶化,累及多个器官,发展为脓毒症、MODS,增加病死率^[17]。生大黄保留灌肠用于治疗 SAP,可抑制细菌生长,维护肠黏膜屏障功能,防止肠道细菌移位和内毒素吸收^[18],且与灌胃给药相比,在 C-反应蛋白(CRP)、淀粉酶和肠道功能恢复及腹痛消除时间方面差异均无统计学意义^[19]。生大黄的肠道给药途径也进一步支持直肠补液的可行性,直肠补液是否也能够保护肠黏膜的屏障的功能,则有待进一步研究。

到目前为止,经直肠补液的机制尚无明确定论。有研究表明,消化道上皮细胞表达丰富的水通道蛋白(AQPs),提示经细胞途径的水分吸收机制可能具有更为重要的意义^[20-23]。因此,经直肠补液途径能够快速有效恢复循环血容量的机制可能在于通过调节肠道 AQPs 的表达,这需进一步研究。

3 组的胰腺病理评分差异无统计学意义,这可能与本研究观察时间较短有关。另外,本实验没有观察自然病死率,有待今后进一步研究。基于直肠和静脉补液两个途径各自的特点,如果将两者联合应用可能更有利于 SAP 早期的液体复苏治疗,既能迅速维持大循环血流动力学稳态,又能防止严重体液潴留而导致器官功能损伤。

总之,本实验初步验证了早期直肠输液对 SAP 的器官保护作用,其作用机制以及如何改进直肠输液的方法有待于深入研究。

参考文献

[1] Carnovale A, Rabitti PG, Manes G, et al. Mortality in acute

- pancreatitis: is it an early or a late event?. JOP, 2005, 6 (5): 438-444.
- [2] 吴旭波,雷若庆,毛恩强,等.暴发性急性胰腺炎合并腹腔间隔室综合征的临床观察.医学临床研究,2005,22(10):1372-1376.
- [3] Gardner TB, Vege SS, Pearson RK, et al. Fluid resuscitation in acute pancreatitis. Clin Gastroenterol Hepatol, 2008, 6 (10): 1070-1076.
- [4] Schmidt J, Rattner DW, Lewandrowski K, et al. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy. Ann Surg, 1992, 215 (1): 44-56.
- [5] Camargo CA Jr, Madden JF, Gao W, et al. Interleukin-6 protects liver against warm ischemia/reperfusion injury and promotes hepatocyte proliferation in the rodent. Hepatology, 1997, 26 (6): 1513-1520.
- [6] Jiang H, Meng F, Li W, et al. Splenectomy ameliorates acute multiple organ damage induced by liver warm ischemia reperfusion in rats. Surgery, 2007, 141 (1): 32-40.
- [7] De Waele JJ, Leppäniemi AK. Intra-abdominal hypertension in acute pancreatitis. World J Surg, 2009, 33 (6): 1128-1133.
- [8] 毛恩强.重症急性胰腺炎急性反应期腹腔高压的识别与处理.中国实用外科杂志,2006,26(5):331-333.
- [9] 倪海滨,李维勤,柯路,等.液体复苏对重症急性胰腺炎患者内稳态影响的临床分析.中国危重病急救医学,2010,22(9):522-524.
- [10] 冯永文,吴明,曾晶晶,等.不同晶胶比液体复苏对重症急性胰腺炎患者血管外肺水指数的影响.中国危重病急救医学,2011,23(8):458-461.
- [11] Sneve H. The treatment of burns and skin grafting. JAMA, 1906, 45 (1): 1-8.
- [12] Girgin AS, Acar F, Cander B, et al. Fluid replacement via the rectum for treatment of hypovolaemic shock in an animal model. Emerg Med J, 2006, 23 (11): 862-864.
- [13] Capurso G, Zerboni G, Signoretti M, et al. Role of the gut barrier in acute pancreatitis. J Clin Gastroenterol, 2012, 46 Suppl: S46-51.
- [14] Mao EQ, Tang YQ, Fei J, et al. Fluid therapy for severe acute pancreatitis in acute response stage. Chin Med J (Engl), 2009, 122 (2): 169-173.
- [15] 胡泉,胡森,柴家科,等.肠内输入与静脉输入高渗盐葡萄糖溶液复苏犬烧伤休克的疗效比较.解放军医学杂志,2008,33(5):531-533.
- [16] 傅强,崔乃强,喻文立.严重腹腔感染患者免疫失衡与肠屏障功能障碍的关系.中国危重病急救医学,2009,21(7):429-433.
- [17] 余杨梓,傅强,华鹏鹏.重症急性胰腺炎血行感染患者肠屏障功能障碍的研究.中国中西医结合急救杂志,2012,19(4):196-199.
- [18] 王笑微.生大黄保留灌肠治疗重症急性胰腺炎的疗效观察.中国中西医结合急救杂志,2007,14(4):250.
- [19] 郑世华,全巧云,朱宗耀,等.3种途径注入大黄治疗重症急性胰腺炎疗效观察.中国中西医结合急救杂志,2010,17(4):212-213.
- [20] Ma T, Verkman AS. Aquaporin water channels in gastrointestinal physiology. J Physiol, 1999, 517 (Pt 2): 317-326.
- [21] Wang KS, Ma T, Filiz F, et al. Colon water transport in transgenic mice lacking aquaporin-4 water channels. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2000, 279 (2): G463-470.
- [22] Masyuk AI, Marinelli RA, LaRusso NF. Water transport by epithelia of the digestive tract. Gastroenterology, 2002, 122 (2): 545-562.
- [23] Takata K, Matsuzaki T, Tajika Y. Aquaporins: water channel proteins of the cell membrane. Prog Histochem Cytochem, 2004, 39 (1): 1-83.

(收稿日期:2013-01-07)(本文编辑:李银平)