

· 论著 ·

强化胰岛素治疗对脓毒症大鼠肠道微循环的影响研究

石斌 尹超 郭鸿 李斌 刘丽平

【摘要】 目的 探讨强化胰岛素治疗对脓毒症时小肠微循环障碍的影响。方法 采用盲肠结扎穿孔术 (CLP) 制备脓毒症模型。将雄性 SD 大鼠随机分为对照组、脓毒症组、胰岛素组, 每组 16 只。于给药后 3、6、12、24 h 各处死 4 只大鼠, 取肠组织, 采用放射免疫法检测血小板活化因子 (PAF)、前列环素 (PGI₂) 和血栓素 A₂ (TXA₂) 含量。结果 脓毒症组大鼠制模后 3 h PAF、PGI₂、TXA₂ 水平即明显升高, 6 h 达峰值, 之后逐渐下降; 不同时间点均较对照组明显升高 (P 均 < 0.05), 且以 TXA₂ 升高明显, PGI₂/TXA₂ 比值降低。胰岛素组各时间点 PAF、PGI₂、TXA₂ 水平均较脓毒症组明显降低, 以 TXA₂ 降低较明显 (P 均 < 0.05), PGI₂/TXA₂ 比值升高。结论 胰岛素可通过改善 PGI₂/TXA₂ 系统的失衡, 对抗 PAF 过度分泌而减轻肠道微循环血管痉挛、抗血小板聚集、抑制血栓形成, 从而起到保护脓毒症时肠道功能的作用。

【关键词】 强化胰岛素治疗; 脓毒症; 前列环素; 血栓素; 血小板活化因子

Influence of intensive insulin therapy on the intestinal microcirculatory dysfunction in rats with sepsis SHI Bin, YIN Chao, GUO Hong, LI Bin, LIU Li-ping. Intensive Care Unit, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu, China

【Abstract】 **Objective** To explore the influence of intensive insulin therapy on the intestinal microcirculatory dysfunction of rats suffering from sepsis. **Methods** The sepsis model of rat was reproduced by cecal ligation and puncture. Forty-eight male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into control group, sepsis group, and insulin treatment group ($n=16$ in each group). The intestinal tissue was harvested in the experimental groups before and 3, 6, 12 and 24 hours after insulin administration. Platelet activating factor (PAF), prostacyclin (PGI₂) and thromboxan (TXA₂) in the intestine were measured by radioimmunoassay. **Results** The levels of PAF, PGI and TXA₂ were significantly elevated in sepsis group at 3 hours, and peaked at 6 hours, then decreased gradually. At each time point they were higher in sepsis group compared with that of control group (all $P < 0.05$), especially TXA₂, which was more evident, while PGI₂/TXA₂ ratio showed a lowering. In contrast, PAF, PGI₂ and TXA₂ were significantly decreased in insulin treatment group compared with the sepsis group, especially TXA₂, which was more evident (all $P < 0.05$), but PGI₂/TXA₂ ratio showed an elevation. **Conclusion** Insulin plays an important role in amelioration of microcirculatory dysfunction in sepsis. Through improving the disorder of PGI₂/TXA₂ system and antagonising the expression of PAF, insulin alleviates vasospasm, inhibits platelet aggregation and thrombosis, thus protecting the function of intestine.

【Key words】 intensive insulin therapy; sepsis; prostacyclin; thromboxan; platelet activating factor

重要脏器的微循环障碍是导致脓毒症患者多器官功能障碍的重要原因之一, 已有研究指出, 脓毒症肠道微循环障碍严重影响肠道功能^[1]。早期开展对脓毒症肠道微循环功能的改善与保护具有特别重要的意义。近年来, 许多临床研究表明, 用胰岛素严格控制血糖在正常水平可改善脓毒症患者的预后^[2-4], 胰岛素严格控制血糖有抗炎和改善脓毒症免疫功能的作用^[5]。但胰岛素对脓毒症时肠道功能障碍的影响, 尤其是脓毒症肠道微循环作用的研究未见报道。为此, 本研究中通过观察强化胰岛素治疗前后肠道血小板活化因子 (PAF)、前列环素 (PGI₂)、血栓素 A₂

(TXA₂) 等指标的变化, 评价强化胰岛素治疗对脓毒症时肠道微循环的影响, 试图探讨改善脓毒症微循环、保护肠道功能的新途径。

1 材料与方法

1.1 脓毒症大鼠模型的建立: 48 只雄性 SD 大鼠 (兰州大学动物实验中心提供), 体重 (200 ± 20) g。用盐酸氯胺酮注射液 (40 mg/kg) 腹腔注射麻醉大鼠后, 仰卧位固定。沿腹部正中中线剖开腹腔, 采用盲肠结扎穿孔术 (CLP) 制成腹腔感染脓毒症动物模型^[6], 术后立即输入 40 ml/kg 林格液抗休克。

1.2 分组及标本采集: 按随机数字表法将大鼠分为对照组、脓毒症组、胰岛素组, 每组 16 只。胰岛素组每日皮下注射胰岛素 4~8 U, 每日 4 次 (早、中、晚喂食前注射普通胰岛素, 晚 9 时注射中效胰岛素)。

采用美国强生稳豪血糖仪, 2 h 测 1 次尾静脉血糖, 使血糖控制在 3.9~5.6 mmol/L。对照组和脓毒症组每日同时点皮下注射等量等渗盐水。实验前 8 h 禁食、不禁水, 于给药后 3、6、12、24 h 分别处死 4 只大鼠, 断髓处死后常规剖腹, 以 Treitz 韧带远端 6 cm 处为起点, 取上段空肠 4 cm, 液氮冻存备用。

1.3 肠组织 PAF、PGI₂ 及 TXA₂ 的测定: 采用放射免疫法。取 0.5 mg 小肠组织, 加无水乙醇, 经组织高速匀浆机离心, 于 -70 °C 保存待检。检测前 40 °C 离心 15 min, 取上清液, 分别检测 PAF、6-酮-前列腺素 F_{1α} (6-keto-PGF_{1α}, PGI₂ 的终产物) 及 TXB₂ (TXA₂ 的终产物), 采用 ¹²⁵I 标记放射免疫法测定, 试剂盒购自解放军总医院放射免疫研究所, 操作按试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理: 采用 SPSS 11.5 统计软件; 数据以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示; 方差齐时多组间比较用单因素分析, 两组间比较用 BONFERONI; 方差不齐进行秩和检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PAF 含量 (表 1): 脓毒症组肠组织 PAF 含量于 3 h 明显升高, 6 h 达峰值, 随后逐渐下降, 各时间点均高于对照组 (P 均 < 0.05)。胰岛素组各时间点肠组织 PAF 含量较脓毒症组均明显降低 (P 均 < 0.05), 但高于对照组水平 (P 均 > 0.05)。

表 1 各组大鼠肠组织中 PAF 含量比较 ($\bar{x} \pm s, n=4$)

组别	PAF (ng/L)			
	3 h	6 h	12 h	24 h
对照组	144.5 ± 15.2	156.3 ± 6.7	133.9 ± 2.3	129.9 ± 7.4
脓毒症组	208.5 ± 5.9 ^a	247.6 ± 3.6 ^a	198.2 ± 2.9 ^a	174.9 ± 8.1 ^a
胰岛素组	172.3 ± 4.3 ^b	189.5 ± 6.9 ^b	166.9 ± 2.7 ^b	162.4 ± 3.3 ^b

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$, 与脓毒症组比较, ^b $P < 0.05$

2.2 6-keto-PGF_{1α} 含量 (表 2): 脓毒症组和胰岛素组肠组织 6-keto-PGF_{1α} 含量于 3 h 明显升高, 6 h 达峰值, 随后逐渐下降, 3、6、12 h 时均高于对照组 (P 均 < 0.05)。胰岛素组 6-keto-PGF_{1α} 较脓毒症组有所升高, 但差异无统计学意义。

表 2 各组大鼠肠组织中 6-keto-PGF_{1α} 含量比较 ($\bar{x} \pm s, n=4$)

组别	6-keto-PGF _{1α} (ng/L)			
	3 h	6 h	12 h	24 h
对照组	134.1 ± 14.7	128.8 ± 12.8	144.0 ± 9.7	126.2 ± 17.4
脓毒症组	155.4 ± 16.8 ^a	188.0 ± 15.6 ^a	179.3 ± 8.4 ^a	136.2 ± 8.8
胰岛素组	156.6 ± 7.3 ^b	219.9 ± 13.8 ^b	187.9 ± 10.0 ^b	142.9 ± 13.3

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$

2.3 TXB₂ 含量 (表 3): 脓毒症组肠组织 TXB₂ 含量于 3 h 明显升高, 6 h 达峰值, 之后逐渐下降, 各时间点明显高于对照组 (P 均 < 0.05)。胰岛素组 TXB₂ 含量较脓毒症组明显降低 (P 均 < 0.05)。

表 3 各组大鼠肠组织中 TXB₂ 含量比较 ($\bar{x} \pm s, n=4$)

组别	TXB ₂ (ng/L)			
	3 h	6 h	12 h	24 h
对照组	121.0 ± 16.0	125.0 ± 15.7	124.0 ± 16.1	121.7 ± 11.2
脓毒症组	190.0 ± 11.8 ^a	334.6 ± 22.1 ^a	263.3 ± 14.9 ^a	141.8 ± 25.5 ^a
胰岛素组	165.6 ± 18.4 ^b	183.5 ± 15.8 ^b	155.7 ± 16.2 ^b	120.6 ± 19.7 ^b

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与脓毒症组比较, ^b $P < 0.05$

3 讨论

研究证实, 脓毒症时由于内毒素大量释放、炎症反应、代谢紊乱、血管内皮损害, 可导致肠道微循环障碍和组织缺血、缺氧; 而伴随的应激性高血糖可导致纤溶酶原激活物抑制剂 1 (PAI-1)、组织因子水平升高, 促使血小板聚集、诱导血管内皮损伤, 导致小动脉收缩, 可加重组织缺血、缺氧损害, 从而危害重要脏器功能^[7-8]。因此, 保护并改善脓毒症肠道微循环, 对保护脓毒症肠道功能, 防止肠源性细菌和毒素移位及多器官功能障碍综合征 (MODS) 的发生具有重要意义。

肠系膜微血管内皮细胞分泌的 PAF、PGI₂ 和 TXA₂ 是调控血管壁紧张度、防止微血管内微血栓形成的重要因素, 当其失衡后往往会引起组织器官微循环中微血栓的形成, 导致肠道血液循环障碍, 加重缺血、缺氧和周围组织水肿^[9-10]。胰岛素作为体内最重要的促合成激素不仅能对抗高血糖引起的损害, 还具有降低 PAI-1 和组织因子水平、抗血小板聚集、促进内皮释放一氧化氮 (NO) 等物质, 改善微循环的作用^[11]。但其能否改善脓毒症肠道微循环障碍尚未被证实。

本实验结果表明, 对照组肠黏膜微血管内皮细胞 PAF、PGI₂ 和 TXA₂ 的释放始终处于平稳状态, 其动态平衡维持着肠黏膜局部血液循环的正常进行。脓毒症时各时间点 PAF、PGI₂ 及 TXA₂ 分泌量出现较大幅度的增加, 且 TXA₂ 升高较 PGI₂ 明显, PGI₂/TXA₂ 比值降低, 于 6 h 达峰值, 随后逐渐下降。说明脓毒症时 PAF、TXA₂ 对机体的损伤作用超过 PGI₂ 对机体的保护作用, 且于 6 h 损伤程度最重。而强化胰岛素治疗后 PAF、TXA₂ 表达较脓毒症组显著降低, PGI₂ 表达与脓毒症组比较差异无统计学意义, 说明胰岛素可以通过抑制损伤因子 PAF、

TXA₂ 表达而改善脓毒症状况下的肠道微循环。提示胰岛素有可能通过抑制 PAF、TXA₂ 途径,阻止微血管过度收缩,缓解局部血液循环障碍,防止血小板聚集,从而发挥防止微血栓形成、改善肠道微循环功能的作用^[12-13]。

研究表明胰岛素还可抑制早期生长反应因子的表达,降低血浆反应蛋白、细胞间黏附分子、单核细胞趋化蛋白和 PAI-1 等组织因子的水平,增加血管内皮素的生成,阻抑白细胞与血管内皮细胞的相互作用,抑制血小板的聚集和血管壁的炎症反应,在发挥抗炎效应的同时防止血栓形成^[14]。胰岛素在改善脓毒症时的微循环有重要作用,对避免或减轻脓毒症中肠组织缺血、缺氧,保护脓毒症肠道功能有重要的临床意义。但胰岛素对 PAF、TXA₂ 及 PGI₂ 分泌的调控机制还需从分子水平做进一步的研究。

还有研究表明,胰岛素具有保护血管内皮、抗血小板聚集等作用,在改善应激状况下的微循环障碍及组织缺血、缺氧中发挥着不可忽视的作用^[15]。而肠上皮细胞大量表达的胰岛素和类胰岛素生长因子的结合位点则是胰岛素作用的生理基础^[16-17]。

胰岛素不仅是重要的代谢调节激素,而且可以减轻脓毒症所致的全身炎症反应^[18],避免免疫功能异常^[19]。脓毒症患者存在分解代谢加速,糖异生作用加强,常导致高血糖。2001 年 Van den Berghe 等^[20]对 1 548 例外科重症监护病房患者实施强化胰岛素治疗(使血糖降至 4.4~6.1 mmol/L),显著缩短了患者的机械通气时间,并改善了预后。自此,强化胰岛素治疗在危重病领域的作用逐渐受到了人们的重视。利用强化胰岛素治疗途径来改善脓毒症肠道微循环功能,有其合理性及重要的临床价值。

参考文献

[1] 张淑文. 脓毒症与急性肠衰竭. 继续医学教育, 2008, 22(1): 37-42.

[2] Van den Berghe G, Wilmer A, Hermans G, et al. Intensive insulin therapy in the medical ICU. *N Engl J Med*, 2006, 354(5): 449-461.

[3] 赵晓东, 马俊勋, 闫柏刚, 等. 严重创伤患者早期胰岛素强化治疗对预后的影响. *中国急救医学*, 2007, 27(9): 769-772.

[4] 王灵聪, 雷澍, 吴艳春, 等. 危重病患者抢救中胰岛素强化治疗的探讨. *中国危重病急救医学*, 2006, 18(12): 748-750.

[5] 虞文魁, 李维勤, 王晓东, 等. 胰岛素严格控制血糖对脓毒症患者的影响及其机理的初步探讨. *中华外科杂志*, 2005, 43(1): 29-32.

[6] Lidington D, Ouellette Y, Li F, et al. Conducted vasoconstriction is reduced in a mouse model of sepsis. *J Vasc Res*, 2003, 40(2): 149-158.

[7] Aljada A, Ghanim H, Mohanty P, et al. Glucose intake induces an increase in activator protein 1 and early growth response 1

binding activities, in the expression of tissue factor and matrix metalloproteinase in mononuclear cells, and in plasma tissue factor and matrix metalloproteinase concentrations. *Am J Clin Nutr*, 2004, 80(1): 51-57.

[8] 徐杰. 危重病患者肠黏膜屏障的变化与肠内营养. *中国中西医结合急救杂志*, 2004, 11(6): 385-387.

[9] Mochizuki M, Ishii Y, Itoh K, et al. Role of 15-deoxy delta(12, 14) prostaglandin J2 and Nrf2 pathways in protection against acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 171(11): 1260-1266.

[10] Becker BF, Heindl B, Kupatt C, et al. Endothelial function and hemostasis. *Z Kardiol*, 2000, 89(3): 160-167.

[11] Dandona P, Aljada A, Mohanty P, et al. Insulin suppresses plasma concentration of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9. *Diabetes Care*, 2003, 26(12): 3310-3314.

[12] 李江, 李伦, 马彬, 等. 强化胰岛素治疗对重症监护患者病死率影响的 Meta 分析. *中国危重病急救医学*, 2009, 21(6): 349-352.

[13] 董士民, 秦延军, 高玉芳, 等. 强化胰岛素治疗对脓毒性休克患者血流动力学的影响. *中国危重病急救医学*, 2009, 21(5): 290-292.

[14] 张心灵, 陈力, 黎覆实. 强化胰岛素治疗在危重病中的应用. *世界危重病医学杂志*, 2007, 4(6): 2173-2176.

[15] Van den Berghe G. How does blood glucose control with insulin save lives in intensive care? *J Clin Invest*, 2004, 114(9): 1187-1195.

[16] Gallo-Payet N, Hugon JS. Insulin receptors in isolated adult mouse intestinal cells: studies in vivo and in organ culture. *Endocrinology*, 1984, 114(5): 1885-1892.

[17] Nielsen CU, Amstrup J, Nielsen R, et al. Epidermal growth factor and insulin short-term increase hPep T1-mediated glycylsarcosine uptake in Caco-2 cells. *Acta physiol Scand*, 2003, 178(2): 139-148.

[18] Hansen TK, Thiel S, Wouters PJ, et al. Intensive insulin therapy exerts antiinflammatory effects in critically ill patients and counteracts the adverse effect of low mannose-binding lectin levels. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(3): 1082-1088.

[19] Das UN. Current advances in sepsis and septic shock with particular emphasis on the role of insulin. *Med Sci Monit*, 2003, 9(8): 181-192.

[20] Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, et al. Intensive insulin therapy in the critically ill patients. *N Engl J Med*, 2001, 345(19): 1359-1367.

(收稿日期: 2009-01-27 修回日期: 2009-02-24)
(本文编辑: 李银平)

• 广告目次 •

- ① 深圳迈瑞: 监护仪 (封二)
- ② 广东天普药业: 天普洛安 (插页)
- ③ 珠海丽珠: 丽珠血液灌流器 (插页)
- ④ 天津生化制药: 琥珀氢可 (插页)
- ⑤ 德尔格: Smart Care™ 智能化自动脱机系统 (插页)
- ⑥ 第一制药: 克倍宁 (封三)
- ⑦ 天津红日药业: 必血净注射液 (封底)