

卡巴胆碱对烧伤休克犬肠内补液时肠组织缺血/再灌注损伤的影响

胡 森, 杜 颖, 车晋伟, 包呈梅

(解放军总医院第一附属医院全军烧伤研究所 休克与多器官功能障碍实验室, 北京 100048)

【摘要】 目的 探讨卡巴胆碱(CAR)对烧伤休克期肠内补液时肠缺血/再灌注损伤的保护作用。**方法** 18 只成年雄性 Beagle 犬被随机分为 3 组, 每组 6 只。采用凝固汽油燃烧法造成 50% 总体表面积(TBSA)Ⅲ度烧伤模型。伤后无治疗(不补液组)或于伤后 30 min 开始从十二指肠造口分别输入葡萄糖-电解质溶液(GES 组)或含 CAR 的 GES(20 μ g/kg CAR 溶于 GES, GES/CAR 组), 伤后 8 h 内输液量依据 Parkland 公式计算。检测伤前和伤后 1、2、4、6、8 h 小肠黏膜血流量(IMBF)及血浆肿瘤坏死因子- α (TNF- α)含量。伤后 8 h 处死动物, 取空肠组织用干重法测定小肠组织含水量; 并测定一氧化氮合酶(NOS)、丙二醛(MDA)、髓过氧化物酶(MPO)、黄嘌呤氧化酶(XOD)水平。**结果** 各组伤后 IMBF 均显著降低, TNF- α 显著升高; 伤后 4 h 起 GES 组 IMBF 显著高于不补液组, 6 h 后显著低于 GES/CAR 组(P 均 <0.01); 不补液组与 GES 组 TNF- α 含量差异无统计学意义, 但伤后 2 h 和 4 h 均显著高于 GES/CAR 组(P 均 <0.01)。伤后 8 h GES 组 NOS、MDA、MPO 和 XOD 均显著高于不补液组, 而 GES/CAR 组分别比 GES 组低 26.0%、17.1%、50.0% 和 19.2%, 差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。GES/CAR 组肠组织含水量也显著低于 GES 组($P<0.01$)。**结论** CAR 能有效减轻烧伤犬肠内补液时肠组织缺血/再灌注损伤, 机制可能与增加肠黏膜血流, 抗炎和抑制 XOD 活性, 减少炎症因子和氧自由基生成有关。

【关键词】 卡巴胆碱; 烧伤; 液体复苏; 缺血/再灌注损伤; 肠; 氧自由基; 炎症

中图分类号: R644; R605.974 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.05.003

The effect of carbachol on ischemia/reperfusion injury in gut during enteral fluid resuscitation of burn shock in dogs HU Sen, DU Ying, CHE Jin-wei, BAO Cheng-mei. Laboratory of Shock and Organ Dysfunction, Burns Institute, First Affiliated Hospital of PLA General Hospital, Beijing 100048, China

【Abstract】 Objective To investigate the effect of carbachol (CAR) on ischemia/reperfusion (I/R) injury in gut during enteral fluid resuscitation of burn shock. **Methods** Eighteen male Beagle dogs subjected to a 50% total body surface area (TBSA) full-thickness flame injury were randomized to three groups; no resuscitation (NR) group, enteral fluid resuscitation with glucose-electrolyte solution (GES, GES group), and enteral fluid resuscitation with GES containing CAR (20 μ g/kg, GES/CAR group). The delivery rate and volume of GES was followed that of Parkland formula 8 hours after burn. Intestinal mucosal blood flow (IMBF) and plasma tumor necrosis factor- α (TNF- α) content were determined at 0, 1, 2, 4, 6 and 8 hours after injury. Animals were sacrificed at the end of 8 hours postburn, and specimens of proximal jejunum was obtained for evaluation of nitric oxide synthase (NOS), malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO) and xanthine oxidase (XOD), and also tissue water content of intestinal tissue. **Results** 50%TBSA burn injury resulted in obvious decrease of IMBF and elevation of TNF- α in each group. IMBF in GES group was significantly higher than that in NR group from 4 hours after burn, but lower than that of GES/CAR group at 6 hours after burn (all $P<0.01$). There were no statistical differences in plasma level of TNF- α in animals between GES group and NR group, but they were significantly higher than that of GES/CAR group at 2 hours and 4 hours after burn (all $P<0.01$). Enteral resuscitation resulted in markedly higher levels of NOS, MDA, MPO, XOD in GES group compared with those in NR group at 8 hours after burn, EGS/CAR resuscitation led to a 26.0%, 17.1%, 50.0% and 19.2% decrease in NOS, MDA, MPO and XOD compared with those in GES group ($P<0.05$ or $P<0.01$). There was also a lower water content of gut tissues in GES/CAR group compared with the GES group ($P<0.01$). **Conclusion** CAR can alleviate gut I/R injury during enteral resuscitation for burn shock, which might be associated with its effects of promoting intestinal blood flow, anti-inflammation and inhibition of oxygen free radical production in gut tissue.

【Key words】 carbachol; burn; fluid resuscitation; gut ischemia/reperfusion injury; oxygen free radical; inflammation

口服补液是近年来针对战争、自然灾害和突发事件等特殊环境下难以进行早期静脉补液时采用的休克液体复苏方式^[1]。由于创、烧伤休克时胃肠道处于缺血、缺氧状态,口服或经胃肠道补液引起的再灌注过程可能加重胃肠组织局部炎症反应和过氧化损伤,进而抑制胃肠道排空和吸收功能,影响口服补液的复苏效果。我们以往的研究证明,拟胆碱药物卡巴胆碱(CAR)能有效抑制肠缺血/再灌注(I/R)时的促炎因子释放,减轻肠组织炎症反应和病理损害^[2-3]。本研究的目的是观察 CAR 能否减轻烧伤休克犬肠内补液时肠组织 I/R 引起的炎症反应和氧自由基损伤,为提高烧伤休克口服补液的疗效、降低胃肠并发症提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型制备和分组:成年雄性 Beagle 犬 18 只,体重 11~12 kg,购自军事医学科学院动物研究所。颈动、静脉插管检测血压和取血;开腹于 Treitz 韧带远端 10 cm 处造口插管,用于肠内补液和小肠黏膜血流量(IMBF)监测。术后 24 h 动物完全苏醒后再制备颈后、背部、臀部、胸腹Ⅲ度烧伤模型,依据贴纸拼图法计算该区域总面积约为(52.3±4.6)%总体表面积(TBSA),烧伤深度经病理组织切片证实。按随机数字表法将制模后动物分为 3 组,每组 6 只。伤后无治疗(不补液组)或于伤后 30 min 开始从十二指肠造口输入葡萄糖-电解质溶液(GES 组)或含 CAR 的 GES(20 μg/kg CAR 溶于 GES, GES/CAR 组),输液量和速率依据 Parkland 公式计算,即伤后 8 h 内给予 2 ml·kg⁻¹·1%TBSA⁻¹。

1.2 指标检测及方法:于伤前及伤后 1、2、4、6 和 8 h 测定 IMBF、血浆肿瘤坏死因子-α(TNF-α)含量。于伤后 8 h 处死各组动物,取空肠组织测定一氧化氮合酶(NOS)、丙二醛(MDA)、髓过氧化物酶(MPO)、黄嘌呤氧化酶(XOD)和小肠组织含水量。参照文献^[4]方法测定 IMBF,用血流灌注量单位(BPU)表示。TNF-α 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测;NOS、MDA、MPO 和 XOD 测定按试剂盒(南京建成生物工程研究所产品)说明书操作。取相同段肠组织称湿重后,放入烤箱 90℃烤 72 h,再称干重,计算肠组织含水量。

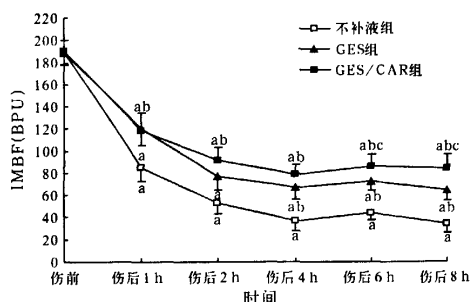
肠组织含水量(%)=(湿重-干重)/湿重×100%

1.3 统计学处理:实验数据采用 SPSS 11.0 统计软

件分析统计,结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,进行 *F* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

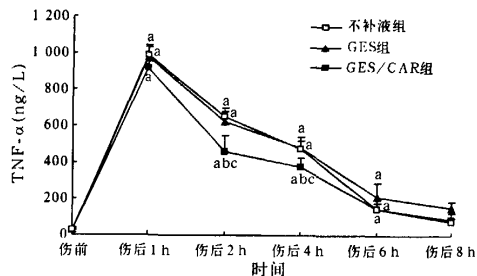
2.1 IMBF(图 1):各组伤后 IMBF 均较伤前显著降低;不补液组进行性降低,两补液组缓慢回升,伤后 8 h 各组 IMBF 仍低于伤前(P 均 <0.01)。伤后 4 h GES 组 IMBF 显著高于不补液组,自伤后 6 h 显著低于 GES/CAR 组(P 均 <0.01)。



注:与本组伤前比较,* $P < 0.01$;与不补液组比较,^a $P < 0.01$;与 GES 组比较,^c $P < 0.01$

图 1 各组动物 IMBF 的变化比较

2.2 TNF-α(图 2):各组伤后 TNF-α 均较伤前急剧升高;之后迅速回落,伤后 8 h 各组均恢复至伤前水平。不补液组与 GES 组伤后各时间点 TNF-α 含量差异无统计学意义,但伤后 2 h 和 4 h 均显著高于 GES/CAR 组(P 均 <0.01)。



注:与本组伤前比较,* $P < 0.01$;与不补液组比较,^a $P < 0.01$;与 GES 组比较,^c $P < 0.01$

图 2 各组动物血浆 TNF-α 的变化比较

2.3 NOS、MDA、MPO、XOD 和小肠组织含水量(表 1):伤后 8 h GES 组 NOS、MDA、MPO 和 XOD 均显著高于不补液组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而 GES/CAR 组 NOS、MDA、MPO 和 XOD 分别比 GES 组低 26.0%、17.1%、50.0% 和 19.2%,差异有统计学意义(P 均 <0.01);GES/CAR 组肠组织含水量也显著低于 GES 组($P < 0.01$)。

基金项目:军队“十一五”计划专项课题(06Z055)

作者简介:胡 森(1959-),男(汉族),山东省人,医学博士,教授,博士生导师,研究员,Email:hs82080@yahoo.com.cn.

表 1 各组动物肠组织 NOS、MDA、MPO、XOD 及含水量的变化比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	NOS(U/g)	MDA(nmol/mg)	MPO(U/g)	XOD(U/mg)	含水量(%)
不补液组	6	0.41±0.04	5.43±0.25	1.55±0.21	50.59±2.76	78.34±1.51
GES 组	6	0.50±0.04 ^a	5.74±0.51 ^b	2.08±0.46 ^a	58.39±3.82 ^b	81.46±1.83
GES/CAR 组	6	0.37±0.02 ^{ac}	4.76±0.44 ^{bc}	1.04±0.34 ^{ac}	47.18±2.77 ^{ac}	76.43±1.83 ^c

注:与不补液组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与 GES 组比较,^c $P<0.01$

3 讨论

早期液体复苏对于烧伤休克的救治十分关键,在静脉补液难以及时实施的情况(如偏远地区、战争、灾害等)下,选择口服或胃肠道补液若能达到相同或近似的复苏效果,则对减少现场病死率或延长生命、为后继治疗争取时间具有积极意义^[5]。口服液进入血循环的关键步骤是胃排空和肠吸收,但烧伤休克时机体为满足重要生命脏器的血液供应,将胃肠道血液重新分布至心、肺、脑等脏器,胃肠组织处于严重缺血、缺氧状态^[6],此时胃肠内输入大量液体,吸收后虽然能迅速恢复胃肠道局部和全身灌流,有效改善烧伤休克的脏器功能和循环指标^[7];但另一方面,也造成胃肠道 I/R 引起的局部炎症反应和氧自由基损伤,进而抑制口服液的排空和吸收,影响口服补液的复苏效果。

TNF- α 和一氧化氮(NO)是小肠缺血时产生的重要炎症因子,烧伤的强烈应激导致机体发生过度炎症反应,烧伤后的低血容量休克及随后 I/R 时 NOS 水平增高并被激活,使 NO 的组织浓度持续升高,高浓度的 NO 可引起胃肠局部和全身组织损伤。

CAR 是拟胆碱药,以往临床用于胃肠胀气和尿潴留的治疗等。根据“胆碱能抗炎通路”理论^[8],我们近年的研究证明,CAR 能结合细胞膜上的胆碱能受体 $\alpha 7$ 亚单位,发挥有效的抗炎作用,抑制肠 I/R 损伤大鼠肠组织和血浆中 TNF- α 、IL-6、IL-10 等促炎因子释放,减轻肠缺血时肠道局部及全身脏器功能损害^[9-12]。本实验结果显示,GES/CAR 组动物血浆 TNF- α 和肠组织 NOS 较单纯 GES 组明显减少,表明 CAR 也能抑制烧伤早期缺血组织 TNF- α 等炎症因子产生。

氧自由基大量生成是 I/R 时组织氧化损伤的重要环节^[13]。我们前期研究显示,CAR 能显著减轻脓毒症大鼠内脏组织 I/R 引起的氧自由基损伤^[14],还证明 CAR 对体外培养的肠上皮细胞过氧化损伤具有明显保护作用^[15]。本研究在烧伤休克肠内补液时应用 CAR,烧伤后 8 h GES 组 NOS、MDA、MPO 和 XOD 均显著高于不补液组,而 GES/CAR 组 NOS、MDA、MPO 和 XOD 分别比 GES 组低

26.0%、17.1%、50.0%和 19.2%,差异有统计学意义。GES/CAR 组 IMBF 显著高于 GES 组,肠组织含水量也显著低于 GES 组。以上结果充分说明 CAR 能有效减轻犬 50%TBSA 烧伤肠内补液时的肠组织 I/R 损伤,机制可能与增加 IMBF、抗炎和抑制 XOD 活性,减少炎症因子和氧自由基生成有关。本研究为烧伤休克口服补液时减轻胃肠道并发症、提高复苏效果提供了新的有效途径和实验依据。

参考文献

[1] 胡森,盛志勇. 口服补液——战争或突发事件及灾害时救治烧伤休克的液体复苏途径[J]. 解放军医学杂志,2008,33(6):635-636.

[2] 胡森,姜小国,石德光,等. 卡巴胆碱对缺血再灌注损伤时肠道局部炎症反应的影响[J]. 中国危重病急救医学,2003,15(12):748-750.

[3] 胡森,曹卫红,孙丹,等. 卡巴胆碱对肠部分缺血/再灌注损伤所致全身炎症反应和多器官功能障碍的综合[J]. 中国危重病急救医学,2005,17(1):49-52.

[4] 胡森,车晋伟,杜颖,等. 卡巴胆碱对烧伤犬肠内补液时肠黏膜血流量和吸收效率的影响[J]. 中国危重病急救医学,2008,20(3):167-171.

[5] Cancio LC, Kramer GC, Hoskins SL. Gastrointestinal fluid resuscitation of thermally injured patients[J]. J Burn Care Res, 2006,27(5):561-569.

[6] 崔晓林,盛志勇,郭振荣. 严重烧伤抗休克时胃肠黏膜内缺血的研究[J]. 中华整形外科杂志,1998,14(4):262-265.

[7] Michell MW, Oliveira HM, Kinsky MP, et al. Enteral resuscitation of burn shock using World Health Organization oral rehydration solution: a potential solution for mass casualty care[J]. J Burn Care Res, 2006,27(6):819-825.

[8] Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin[J]. Nature, 2000,405(6785):458-462.

[9] 胡森,周国勇,吕艺,等. 卡巴胆碱对脂多糖刺激巨噬细胞释放炎症细胞因子的影响及其受体研究[J]. 中国药理学通报,2007,23(12):1575-1579.

[10] 姜小国,胡森,石德光,等. 卡巴胆碱对肠缺血/再灌注大鼠血浆肿瘤坏死因子- α 和白介素-10 含量的影响[J]. 中国危重病急救医学,2003,15(3):167-169.

[11] 姜小国,胡森,石德光,等. 肠内注射卡巴胆碱对缺血/再灌注大鼠血浆炎症介质的影响[J]. 中国危重病急救医学,2004,16(2):90-92.

[12] 吕艺,姜小国,王海滨,等. 卡巴胆碱对肠缺血/再灌注大鼠外周血白细胞凋亡及细胞因子表达的影响[J]. 中国危重病急救医学,2005,17(2):113-116.

[13] Parks DA. Oxygen radicals: mediators of gastrointestinal pathophysiology[J]. Gut, 1989,30(3):293-298.

- [14] 胡森, 张立俭, 白慧颖, 等. 卡巴胆碱对腺毒症大鼠内脏组织缺血引起脂质过氧化损伤的作用研究[J]. 中国危重病急救医学, 2009, 21(9): 552-554. (收稿日期: 2008-07-06 修回日期: 2009-09-20) (本文编辑: 李银平)
- [15] 邹晓防, 胡森, 吕艺, 等. 卡巴胆碱对肠上皮细胞氧化损伤的保护作用[J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15(11): 1273-1275.

• 经验交流 •

血液灌流联合血液透析滤过治疗高脂血症性重症急性胰腺炎 8 例

王玉琴

(黔西南州人民医院血透室, 贵州 兴义 562400)

【关键词】 血液灌流; 血液透析; 高脂血症; 胰腺炎, 急性, 重症

中图分类号: R459.5 文献标识码: B DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.05.004

2007 年 10 月—2008 年 11 月, 采用血液灌流联合血液透析滤过 (HP/HDF) 治疗 8 例高脂血症性重症急性胰腺炎 (HL-SAP) 患者, 在降低血脂、改善症状方面取得了良好疗效, 报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料: 患者诊断符合 SAP 标准^[1], 男 7 例, 女 1 例; 年龄 28~64 岁, 平均 37.5 岁。入院后空腹血脂 11.3~61.2 mmol/L, 平均 39.3 mmol/L。

1.2 治疗方法: 给予禁食、胃肠减压、抗休克、抑制胰液分泌、肠外营养、抗感染等。用丹参注射液、低分子右旋糖酐等改善胰腺微循环。早期未应用降脂药, 能进食后口服血脂康等控制血脂。发病 6~72 h 行 HP/HDF 治疗, 经颈内或股静脉置管建立血液通路, 用金宝 AK-200 血透机、丽珠 HA330 型大孔树脂灌流器、FreseniusF80 血滤器, 将灌流器串联于滤器前, 采用后置换液行 HDF。

1.3 观察指标: 检测血清三酰甘油 (TG)、淀粉酶 (AMS)、碱性磷酸酶 (LPS)、肝肾功能、电解质等变化。

1.4 统计学方法: 计量资料以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床表现: 8 例患者经 1~3 次治疗后症状、体征显著改善。2 例合并意识障碍者于治疗当日清醒; 1 例合并心肌梗死者首次治疗后好转; 2 例合并肝功能损害者于 3 d 显著改善, 5~13 d 恢复正常; 2 例合并急性肾功能衰竭 (ARF)

表 1 8 例 SAP 患者 HP/HDF 治疗前后生化指标变化 ($\bar{x} \pm s$)

时间	TG (mmol/L)	AMS (U/L)	LPS (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)
治疗前	39.3 ± 17.6	973.0 ± 5.3	720.0 ± 220.1	190.0 ± 2.6	393.0 ± 5.6
治疗后	4.1 ± 1.2*	389.0 ± 78.5*	490.0 ± 126.0*	9.9 ± 1.8*	22.0 ± 3.4*

注: 与治疗前比较, * $P < 0.01$

者于 5~7 d 进入多尿期。

2.2 生化指标 (表 1): HP/HDF 治疗后患者血清 TG、AMS、LPS、丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST) 均较治疗前显著降低 (P 均 < 0.01), 且 TG 已达安全范围。

2.3 预后: 7 例治愈, 1 例死于多器官功能障碍综合征 (MODS)。

3 讨论

HL-SAP 的发病机制主要是由于高水平 TG 分解的产物对胰腺本身的毒性作用及其引起的胰腺微循环障碍并且随血液中 TG 水平的升高, HL-SAP 的并发症发生率也会升高^[2]。各种炎症因子进入血液, 激活中性粒细胞和巨噬细胞等进一步释放大炎症介质, 过度的炎症反应造成远隔器官的序贯损伤, 使得急性胰腺炎从局部病变迅速发展为全身炎症反应综合征 (SIRS) 和 MODS^[3], 病死率显著增加。

目前 HL-SAP 尚无统一、有效的治疗方案。贾春红^[4]在 SAP 患者早期即给予了 HP+血液透析 (HD) 治疗, 发现患者肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素 (IL-1、IL-6) 均显著下降, 微循环明显改善, 内环境稳定, 预后良好。但有研究认为 HL-SAP 治疗的关键是迅速降低 TG^[5]。当血 TG 降至 < 5.65 mmol/L 时, 便可阻止 HL-SAP 病情的进一步发展^[6]。本研究显示, 采用 HP/HDF 治疗

1~3 次可在 48 h 内迅速将 TG 降至安全范围内。HP/HDF 治疗不但可快速有效降低血脂, 还可迅速消除腹痛症状和防止病情的恶化, 这在 HL-SAP 早期治疗中是一个重要措施。HP/HDF 治疗优势互补, 可以有效纠正 SIRS、MODS 等由炎症介质引发的内环境紊乱, 并改善血流动力学和机体器官功能。

参考文献

- [1] 中国中西医结合学会普通外科专业委员会. 重症急性胰腺炎中西医结合诊治常规 (草案) [J]. 中国危重病急救医学, 2007, 19(8): 插页-451.
- [2] 孙斌谊, 潘耀振. 高脂血症性急性胰腺炎的发病机制及诊疗进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(4): 343-349.
- [3] 王曦. 日间持续性血液净化加血液灌流治疗重症急性胰腺炎合并多器官功能障碍综合征 [J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17(4): 237.
- [4] 贾春红. 血液灌流联合血液透析治疗重症急性胰腺炎 9 例疗效观察 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(6): 349.
- [5] Berger Z, Quera R, Poniachik J, et al. Heparin and insulin treatment of acute pancreatitis caused by hypertriglyceridemia, experience of 5 cases [J]. Rev Med Chil, 2001, 129(12): 1373-1378.
- [6] Yadav D, Pitchumoni CS. Issues in hyperlipidemic pancreatitis [J]. J Clin Gastroenterol, 2003, 36(1): 54-62.

(收稿日期: 2009-02-28)

(本文编辑: 李银平)

作者简介: 王玉琴 (1958-), 女 (汉族), 河南省人, 副主任医师。