论著

文章编号:1000-5404(2005)16-1694-03

重组生长激素对手术后疲劳综合征大鼠模型的影响

杨建新[1],钱聚标[1],王 华[1],邱幸凡[2],张六通[2] ([1]广东药学院临床医学院普通外科,广州 510240,[2]湖北中医学院中医基础理论教研室,武汉 430022)

提 要:目的 探讨rhGH对POFS大鼠模型的作用及其作用机制初步探讨。**方法** 选用POFS大鼠模型,观察大鼠体重、肛温、体力活动、血清蛋白、转铁蛋白等;对模型大鼠小肠粘膜损伤进行病理评价;测定肝脏白蛋白基因表达。**结果** rhGH能改善大鼠模型术后一般情况和转铁蛋白等营养学指标,减轻创伤应激带来的小肠粘膜损伤,增加肝白蛋白基因表达。**结论** rhGH能缩短大鼠模型POFS持续时间,减轻POFS的程度。

关键词: 手术后疲劳综合征;动物模型;大鼠;基因表达;重组生长激素

中图法分类号: R-332;R746.9;R977.1 **文献标识码:** A

Effect of rhGH on rat model of postoperative fatigue

YANG Jian-xin[1], QIAN Ju-biao[1], WANG Hua[1], QIU Xing-fan[2], ZHANG Liu-tong[2] ([1]Department of General Surgery, Pharmaceutical College of Guangdong, Guangzhou 510240, [2]Hubei College of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430022, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of rhGH on rat model of postoperative fatigue syndrome (POFS) and to study its mechanism. **Methods** A total of 36 SD rats were randomly divided into 3 groups. The model group and rhGH group were estalished into the model of POFS by partial resection of the liver, and administrated with the same volume of physiological saline and rhGH, and control group was without any treatment. The behavioral changes and the disorder of nutrition intake after operation, stress reaction (pathological changes of mucous membrane in small intestine) and the liver albumin expression were observed. **Results** The rhGH could improve behavioral changes of rat model and increase the serum levels of the iron, total protein, albumin and globulin as the index of nutrition, and restore the injury of the mucous membrane resulted from the stress reaction and increase the expression of the liver albumin. **Conclusion** rhGH can shorten the time of POFS and mitigate POFS of rat model.

Key words: postoperative fatigue syndrome; animal model; rat; gene expression; rhGH

手术后疲劳综合征(postoperative fatigue syndrome, POFS)是指接受手术后康复过程中,患者出现的长短不一、程度不等的疲倦感觉期。国外的研究表明,普通阑尾切除术的POFS恢复期可以从5~60 d不等,且发现这期间的疲劳和不适是患者住院时间延长,生存质量下降,不能尽早恢复工作的主要原因之一[1]。其病因是多源性的,与手术创伤、术后营养及代谢状态恶化、骨骼肌收缩力和耐力下降等因素有关[2,3]。本研究通过POFS大鼠模型观察重组生长激素(rhGH)对POFS大鼠的作用并初步探讨其作用机制。

基金项目: 广东省中医药管理局科研基金资助项目(099511)
Supported by the Research Foundation of Drug Administration of Guangdong Province (099511)

作者简介: 杨建新(1957-),男,湖北省武汉市人,博士,副教授,主要从事外科围手术期方面的研究。电话:13710539081

收稿日期: 2004-12-20;**修回日期:** 2005-05-05

1 材料与方法

1.1 实验动物和药物

SD大鼠36只,清洁级,体质量260~300 g,雌雄各半,由南方医科大学实验动物中心提供(粤检证字:2001A051号)。经适应性喂养1周后用于实验。rhGh由瑞士雪兰诺药厂提供。

1.2 动物模型制作及分组

动物模型制作见文献[4];将36只SD大鼠随机分为病理模型组(model group, $n=12$),rhGH治疗组(rhGH group, $n=12$)和正常对照组(control group, $n=12$)3组。rhGH治疗组术后第1天开始给予腹腔注射rhGH 0.5 U·kg^{-1}·d^{-1},直至处死前为止;模型组大鼠注射同等体积的生理盐水;对照组大鼠不做手术自由进食。

1.3 检测指标及方法

造模后观察并详细记录各组大鼠一般情况,第3、5天进行鼠尾悬挂实验[5],第4、6天进行负重游泳力竭实验[6]。第2次负重力竭游泳实验结束后,所有动物行心脏穿刺采血,然

后将实验动物脱颈椎处死，取材检测：①转铁蛋白含量测定（免疫比浊法）试剂采用上海太阳生物技术经营部提供的专用试剂盒；②血清铁测定采用干片生化分析法，用美国强生干生化分析仪 250 型进行检测。③小肠粘膜损伤病理评价按照 Muller[7] 评分标准；④肝脏白蛋白基因表达采用异硫氰酸胍一步法提取、分离实验大鼠肝总 RNA。逆转录聚合酶链反应（RT-PCR）方法测定[8]。

1.4　统计学方法

所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用自身对照比较的 t 检验或配对实验的 t 检验。

2　结果

2.1　rhGH 对 POFS 大鼠肛温的影响

术后第 1 天，各组动物出现寒战、四肢冰冷等症状，对照组症状较轻，rhGh 治疗组和病理模型组肛温明显下降，从术后第 3 天起，rhGh 治疗组上述症状逐渐改善，病理模型组动物症状改善不明显。rhGh 治疗组肛温明显高于病理模型组，差异有显著性（$P<0.01$）。对照组和 rhGh 治疗组肛温比较差异无显著性（$P>0.05$）（图 1）。

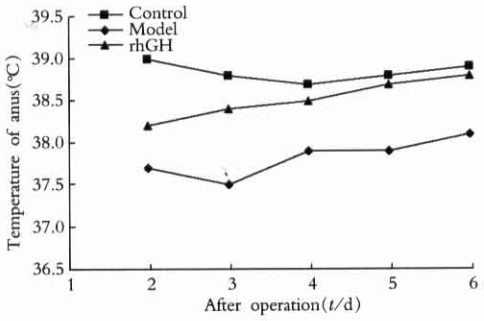


图 1　rhGH 对 POFS 大鼠肛温的影响

Fig 1　Effects of rhGH on the temperature of anus in POFS rats

2.2　rhGH 对 POF 大鼠体重的影响

术后各组动物体重均有所下降，rhGh 治疗组大鼠体重逐渐回升，和病理模型组比较差异有显著差异（$P<0.05$）。对照组和 rhGh 治疗组体重比较差异无显著性差异（$P>0.05$）（图 2）。

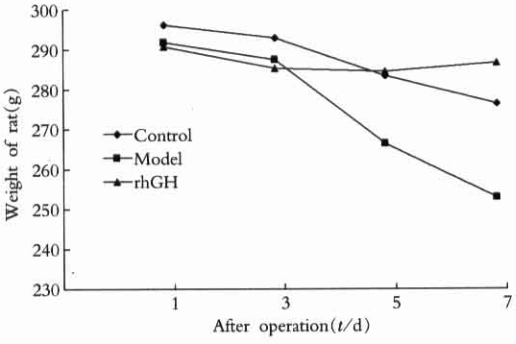


图 2　rhGH 对 POFS 大鼠模型体重的影响

Fig 2　Effects of rhGH on weight of POFS rats

2.3　rhGH 对大鼠术后活动状况的影响

手术后，rhGH 治疗组和模型组大鼠活动明显减少，活动不能发生率升高，对照组变化不明显；用药后，rhGH 治疗组活动不能发生率逐渐下降，模型组则明显升高，两组比较差异有显著差异（$P<0.01$）。rhGH 治疗组和对照组比较差异无显著差异（$P>0.05$）（图 3）。

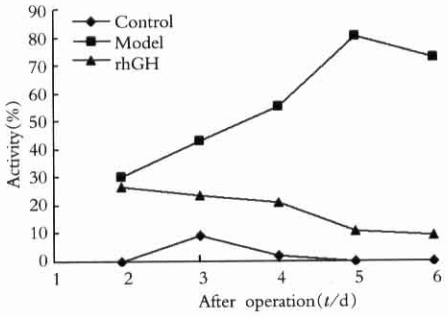


图 3　rhGH 对各组大鼠活动能力的影响

Fig 3　Effects of rhGH on activity of POFS rats

2.4　rhGH 对 POFS 大鼠悬尾不动时间和挣扎幅度的影响

随着手术后时间的延长，各组动物悬尾挣扎不动时间有逐渐缩短的趋势。rhGH 治疗组大鼠悬尾不动时间明显缩短，与病理模型组比较差异有显著差异（$P<0.01$）；rhGH 治疗组与正常对照组比较，差异无显著差异（$P>0.05$）。病理模型组 80% 大鼠最大挣扎幅度在中位，仅有 10% 能达到高位，rhGH 治疗组 72% 的大鼠最大挣扎幅度出现在高位，两者比较差异有显著性（$P<0.01$）；rhGH 治疗组与正常对照组比较，差异无显著差异（$P>0.05$）（表 1）。

表 1　rhGH 对 POFS 大鼠模型悬尾不动时间和挣扎幅度的影响（$\bar{x} \pm s$）

Tab 1　Effects of rhGH on no-movement time and struggling level in hanging rats（$\bar{x} \pm s$）

Group	n	No-movement time (s)		Struggling level (%)		
		3 d	5 d	Low position	Middle position	High position
Control	12	33	21	0	15	85
Model	12	65	40	10	80	10
rhGH	12	36 *	25 *	0	28 *	72 *

*：$P<0.01$，*vs* model group

2.5　rhGH 对 POFS 大鼠负重游泳力竭时间的影响

手术后 3 d，rhGH 治疗组大鼠负重游泳力竭时间平均（6.8 ± 1.1）min，与模型组大鼠比较（3.7 ± 0.9）min，差异有显著差异（$P<0.01$）；rhGH 治疗组和对照组（7.1 ± 0.6）min 比较，差异无显著差异（$P>0.05$）；手术后 6 d 的情况也大致相同。

2.6　rhGH 对 POFS 大鼠血清蛋白、血清铁和血浆转铁蛋白的影响

rhGH 治疗组大鼠肝总蛋白、球蛋白含量上升，与模型组比

较差异有显著性($P<0.01$)($P<0.05$),白蛋白含量变化不明显。rhGH 治疗组和对照组比较无显著差异($P>0.05$)。模型组大鼠血清铁和血浆转铁蛋白含量明显低于对照组和 rhGH 治疗组,差异有显著性($P<0.01$);rhGH 治疗组和对照组比较无显著差异($P>0.05$)(表2)。

表2 rhGH 对 POFS 大鼠血清蛋白、血清铁和血浆转铁蛋白的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Effects of rhGH on serum protein, serum iron and transferrin in POFS rats($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Total protein (g/L)	Albumin (g/L)	Globulin (g/L)	Serum iron (μmol/L)	TRf (g/L)
Control	12	56.4±1.8	25.9±0.7	31.9±2.1	29.1±2.0	0.66±0.15
Model	12	48.7±3.6	23.4±3.7	25.3±2.8	14.3±2.3	0.48±0.21
rhGH	12	54.9±2.1*	25.2±1.9	30.6±4.0**	27.9±3.4△	0.64±0.10△

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$, △: $P<0.01$, *vs* model group

2.7 rhGH 对 POFS 大鼠小肠粘膜损伤的影响

按照 Muller 评分标准,病理读片分析结果显示,rhGH 治疗组大鼠小肠粘膜上皮损伤评定为0分和1分占66.7%,属轻度损伤;模型组评为2分和3分占83.4%,为中重度损伤,两者比较有显著性差异($P<0.01$)。

2.8 rhGH 对 POF 大鼠肝白蛋白基因表达的影响

rhGH 对大鼠肝白蛋白表达有明显促进作用,以正常对照组为参照(100%),rhGH 治疗组大鼠肝白蛋白表达为(73.30±10.1)%,与之相比较有显著差异($P<0.05$);病理模型组大鼠肝白蛋白表达(35.6±9.71)%,与 rhGH 治疗组比较有显著差异($P<0.01$)。

3 讨论

围手术期病人常处于应激状态,需要解决营养、伤口愈合、高分解代谢所致的营养不良进行性加重以及 POFS 等一系列问题。20 世纪 80 年代中期,Shaw 等[9]提出代谢调理(metabolic intervention)的概念。rhGH 作为"代谢调理因子"广泛应用于术后病人,以改善机体的异常代谢状态,达到预防或减轻 POFS 的目的。

实验结果显示,术后使用 rhGH:①改善 POFS 大鼠一般情况,表现为肌肉寒战,四肢冰冷减轻,肛温升高,活动增多。②改善 POFS 大鼠体力、情绪。鼠尾悬挂实验的间断不动时间一定程度上能反映动物肌无力以及抑郁倾向(悬尾挣扎不动时间明显延长可以反映动物的情绪表现为"失望")。力竭游泳时间是反映动物体力及衡量其是否疲劳的经典指标。③肝白蛋白基因表达增强,蛋白合成增加。④血清铁和血浆转铁蛋白是术后营养不良、贫血的重要指标[10],rhGH 组大鼠转铁蛋白和血清铁的含量明显增加。⑤小肠粘膜损伤程度明显减轻,而小肠粘膜损伤,是机体营养不良的重要原因,加快 POFS 的发生。

Vara Thorbeck 等[11]研究证实,rhGH 能增强骨骼肌蛋白的合成,减少氨基酸分解及增强骨骼肌对氨基酸的摄取和利用,加速免疫球蛋白的合成,提高机体抗应激能力和免疫功能,从而能缩短 POFS 持续时间,减轻 POFS 的程度。

本研究结果显示,rhGH 能改善肝部分切除后 POFS 大鼠的症状,改善术后营养学指标,减轻创伤应激带来的小肠粘膜损伤,增加肝白蛋白基因表达。其作用机制主要是增强 POFS 大鼠肝脏白蛋白基因表达,促进机体合成蛋白质及分解脂肪,加强免疫球蛋白的合成,逆转手术创伤应激的分解代谢等途径改善 POFS 大鼠营养不良。同时,保护或修复小肠粘膜的完整,增加小肠的营养物质吸收。

参考文献:

[1] Rubin G J, Hotopf M. Systematic review and meta-analysis of interventions for postoperative fatigue [J]. Br J Surg, 2002, 89(8): 971-984.

[2] Christensen T, Hougard F, Kehlet H. Influence of pre-and intra-operative factors on the occurrence of postoperative fatigue [J]. Br J Surg, 1985, 72(1): 63-65.

[3] Christensen T, Kehlet H. Postoperative fatigue [J]. World J Surg, 1993, 17(2): 220-225.

[4] 杨建新, 邓时贵, 杨 明, 等. 大鼠手术后疲劳综合征模型的建立及其评价[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2004, 11(5): 424-427.

[5] 王天芳, 陈易新, 季绍良, 等. 慢性束缚致慢性疲劳动物模型的研制及其行为学观察[J]. 中国中医基础医学杂志, 1999, 5(5): 25-29.

[6] 艾 华, 陈吉棣, 贺师鹏. 力竭性游泳对大鼠睾丸金属结合蛋白的诱导及其与睾酮和锌的关系[J]. 中国应用生理学杂志, 1994, 10(2): 117-120.

[7] Muller A R, Langrehr J M, Nalesenik M, *et al*. Mucosal glutaminase activity and histology as parameters of small bowel preservation injury [J]. J Surg Res, 1994, 56(3): 207-215.

[8] Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction [J]. Anal Biochem, 1987, 162(1): 156-159.

[9] Show J H, Koea J B. Metabolic basis for the management of the septic surgical patient[J]. World J Surg, 1993, 17(2): 154-164.

[10] 杨建新, 张茂威, 陈志强, 等. 转铁蛋白和血清铁作为腹部手术后疲劳综合征虚实辨证指标的研究[J]. 新中医, 2003, 35(5): 18-19.

[11] Vara Thorbeck R, Guerrero J A, Ruiz Requena E, *et al*. Can the use of growth hormone reduce the postoperative fatigue syndrome [J]? World J Surg, 1996, 20(1): 81-86.

(编辑 龙 亮)