DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.19.015
第26卷第19期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 19
2004年10月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Oct. 2004

文章编号:1000-5404(2004)19-1735-03

论著

生长激素在梗阻性黄疸大鼠围手术期应用的意义

祝建勇,别 平,陈应果 (第三军医大学西南医院全军肝胆外科研究所,重庆 400038)

提 要:目的 探讨生长激素(recombinant human growth hormone, rhGH)在梗阻性黄疸(obstructive jaundice, OJ)大鼠胆流复通术前、术后应用对手术耐受性、安全性以及术后恢复的意义。方法 将146只Wistar大鼠分为假手术组(SHAM)、胆总管结扎组(CBDL)、胆流复通组(REF),CBDL-GH组和REF-GH组。测定各时相点血清肝功能指标、前白蛋白(PA)、肿瘤坏死因子(TNF-α)以及尿样DBIL的水平。结果 REF-GH组大鼠术后7 d病死率明显低于REF组($P<0.05$);给予rhGH的大鼠各项指标明显优于未用rhGH者($P<0.05$)。结论 围手术期应用rhGH能明显改善OJ大鼠胆流复通术前的肝功能,降低TNF-α水平,增强手术耐受性,提高手术安全性,并能促进术后的恢复。

关键词:梗阻性黄疸;生长激素
中图法分类号:R575; R619; R977.1 文献标识码:A

Effects of growth hormone on perioperative obstructive jaundice rats

ZHU Jian-yong, BIE Ping, CHEN Ying-guo (Institute of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the effects of recombinant human growth hormone (rhGH) applied perioperatively on the surgical tolerance, safety, and recovery in obstructive jaundice (OJ) rats. **Methods** A total of 146 Wistar male rats were randomly divided into five groups: SHAM, CBDL, REF, CBDL-GH, and REF-GH. rhGH was injected subcutaneously at the dose of 0.5 u/kg per day. One-week mortality was observed. Liver function indices, prealbumin (PA), TNF-α, and urine DBIL were measured. **Results** One-week mortality in REF-GH group was much lower than that in REF group ($P<0.05$). The above-mentioned indices in rhGH-treated rats were much better than those in non-rhGH-treated rats. **Conclusion** The application of rhGH may be a promising approach to enhance surgical tolerance and safety and promote recovery in obstructive jaundice rats.

Key words: obstructive jaundice; growth hormone

梗阻性黄疸(obstructive jaundice, OJ)时胆汁淤积常可导致复杂而严重的全身性病理生理改变,长期重度淤胆还将影响手术方式的选择,导致术后恢复慢以及严重并发症。本研究旨在探讨生长激素(recombinant human growth hormone, rhGH)在OJ大鼠胆流复通术前、术后的应用对手术耐受性、安全性以及术后恢复的意义,为临床治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型建立

健康雄性Wistar大鼠146只,体质量200~250 g,由重庆中医药研究所动物中心提供,标准饲料喂养。将其分为5组,即假手术组(SHAM)、胆总管结扎组(common bile duct ligation, CBDL)、胆总管结扎-生长激素注射组(CBDL-GH组)、胆流复通组(bile reflow, REF)和胆流复通-生长激素注射组(REF-GH组)。前3组随机分设术后3、7、10、14 d 4个时相点,后两组分设术后1、3、7 d 3个时相点,每个时相点保证6只。结扎前禁食12 h,自由饮水,乙醚吸入麻醉,消毒后取上腹正中切口入腹,游离胆总管3-0号丝线双重结扎并切断,关腹。14 d后再次开腹,以直径为1.5 mm的硅胶管架桥行胆总管-十二指肠内引流术。SHAM组只游离出胆总管但不结扎。rhGH(瑞士Serono大药厂生产Saizen 4 IU/支)于CBDL术后第1天开始每天8:00皮下注射0.5 IU/kg,直至动物被处死。

1.2 标本制备

各时相点大鼠均于后腔静脉穿刺取血4~5 ml,冰浴,离心15 min(4 ℃,3 000 r/min),取上清置于-70 ℃保存待测;尿样采集后,避光4 ℃冰箱保存,检测直接胆红素(DBIL)。

1.3 检测指标及方法

①动物一般情况,并发症、病死率等;②肝功能指标及尿样直接胆红素的检测,包括谷丙转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(AKP)、总胆红素(TBIL)和DBIL,均按照试剂盒说明测定;③前白蛋白(Prealbumin, PA)的检测,药盒购自福建太阳生物技术公

作者简介:祝建勇(1978-),男,湖北省孝感市人,博士,医师,主要从事肝胆外科方面的研究。电话:(023)68775400-73077

收稿日期:2003-09-08;修回日期:2004-06-12

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

司,采用免疫浊度法,在紫外分光光度计上测吸光度,PA 含量(mg/L)=(测定管吸光度/参比管吸光度)×参比品浓度(mg/L);④肿瘤坏死因子α(Tumor Necrosis Factorα, TNF-α)测定,按放免药盒(北京解放军总医院科技开发中心放免所)的说明在自动γ计数器上测放射性,得出有关参数、标准曲线及样品浓度。

1.4 统计学分析

计量数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用的 SPSS10.0 统计软件行双因素方差分析;计数资料采用四格表 χ^2 检验。

2 结果

2.1 动物一般情况和大体解剖观察

CBDL 术后 14 d 结扎近端胆总管极度扩张呈囊状,壁菲薄,肝淤胆肿大。架桥内引流术后大鼠黄疸逐渐减轻,REF-GH 组大鼠恢复较快。CBDL 术后 7、14 d 是病死高峰阶段,主要原因是胆漏和全身衰竭;架桥术后病死集中在手术时和术后 3 d 之内,主要原因是术中分离粘连时出血和术后胆漏。REF-GH 组大鼠术后 7 d 病死率为 21.7%(5/23),远低于 REF 组 48.6%(17/35),具有统计学意义($\chi^2=4.244$, $P=0.039$)。

2.2 肝功能及 PA、TNF-α 的变化

①CBDL 术后 ALT、AKP 显著升高,PA 逐渐下降,TBIL 在术后 7d 达到峰值,此后水平有所回落;胆流复通术后上述指标逐步好转,至术后 7 d 接近或已达到正常水平;给予 rhGH 的大鼠各项指标要明显优于未用 rhGH 者,随用药天数的增加,效果更趋明显。②CBDL 术后 TNF-α 浓度上升,随梗阻时间的延长,与 SHAM 组逐渐出现非常显著的差异($P<0.01$)。自 7 d 起,CBDL-GH 组的 TNF-α 水平显著低于 CBDL 组($P<0.05$)。复通术后 TNF-α 逐渐下降,REF-GH 组下降更为显著($P<0.05$),于术后 7 d 达到正常水平。见表 1、2。

表 1 胆道梗阻大鼠肝功能及 PA、TNF-α、尿样 DBIL 的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Changes of liver function, PA, TNF-α and urine DBIL in CBDL and CBDL-GH rats ($\bar{x}\pm s$)

Group	ALT (IU/L)	TBIL(μmol/L)	DBIL(μmol/L)	AKP (IU/L)	PA (mg/L)	TNFα(ng/ml)
SHAM						
3 d	82.7±16.4	5.6±1.1	1.0±0.3	35.3±3.3	261.9±32.7	0.95±0.19
7 d	64.7±10.7	5.9±1.2	0.9±0.2	34.6±3.7	274.2±31.4	0.89±0.15
10 d	62.5±9.3	5.3±1.0	0.8±0.2	34.9±4.3	278.0±37.8	0.94±0.17
14 d	62.7±14.5	5.3±0.7	0.6±0.3	34.9±3.5	284.1±34.7	0.92±0.17
CBDL						
3 d	147.6±21.5 **	142.7±33.6 **	5.9±1.2 **	161.2±22.0 **	214.7±22.5 *	1.46±0.48 *
7 d	198.4±26.8 **	180.8±36.7 **	22.7±8.7 **	280.5±34.8 **	180.4±25.1 **	4.14±0.70 **
10 d	249.4±32.6 **	156.4±35.1 **	34.7±9.2 **	371.9±31.6 **	153.2±19.6 **	5.14±0.84 **
14 d	318.1±61.8 **	136.7±29.5 **	44.7±11.7 **	465.1±45.2 **	90.4±10.8 **	6.36±0.76 **
CBDL-GH						
3 d	131.6±28.0 **	121.1±34.6 **	6.4±1.4 **	156.4±28.9 **	240.5±36.3	1.24±0.48
7 d	163.9±24.2 **#	134.9±32.0 **#	26.8±9.7 **	237.6±23.4 **#	210.5±34.4 *	2.45±0.85 **#
10 d	205.5±34.0 **#	102.5±22.9 **#	37.2±10.9 **	310.9±36.7 **#	170.6±26.2 **	3.83±0.63 **#
14 d	247.0±45.9 **#	94.1±20.3 **#	40.5±8.9 **	395.9±44.3 **#	138.3±28.8 **#	4.68±0.89 **#
F_g	175.139	219.395	113.623	711.408	100.913	190.880
P_g	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
F_t	28.077	3.944	40.452	135.797	18.432	70.677
P_t	0.000	0.012	0.000	0.000	0.000	0.000

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* SHAM rats; #: $P<0.05$, ##: $P<0.01$, *vs* CBDL rats

表 2 胆道再通大鼠肝功能及 PA、TNF-α、尿样 DBIL 的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Changes of liver function, PA, TNF-α and urine DBIL in REF and REF-GH rats ($\bar{x}\pm s$)

Group	ALT (IU/L)	TBIL(μmol/L)	DBIL(μmol/L)	AKP (IU/L)	PA (mg/L)	TNFα(ng/ml)
REF						
1 d	367.7±62.2	120.3±26.7	34.9±11.1	344.7±41.9	82.7±16.4	4.74±0.92
3 d	213.1±46.9	90.9±25.3	20.5±7.4	183.2±27.0	142.7±33.6	3.23±0.71
7 d	95.2±15.3	64.1±14.6	9.7±4.9	86.1±12.4	180.8±36.6	1.38±0.29
REF-GH						
1 d	291.0±54.8△	89.1±19.9△	22.8±6.3△	287.7±39.4△	126.6±24.4△△	3.29±0.74△△
3 d	142.6±33.6△	62.1±13.6△	12.1±4.5△	123.7±25.9△	205.5±34.0△△	1.67±0.21△△
7 d	69.6±11.9△	39.7±10.8△△	4.2±1.1△	50.8±11.4△	279.3±41.3△△	0.93±0.15△
Fg	16.958	18.831	15.325	27.739	40.768	43.574
Pg	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Ft	105.617	22.227	32.801	228.602	45.797	89.572
Pt	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

△: $P<0.05$, △△: $P<0.01$, *vs* REF rats

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.3　尿样直接胆红素(DBIL)的变化

CBDL 术后 3 d 大鼠尿样中 DBIL 即显著上升, 与 SHAM 组有非常显著的差异($P<0.01$)。随梗阻时间的延长, 尿样中 DBIL 持续上升, 先快后缓, CBDL-GH 组和 CBDL 组间差异并无统计学意义。复通术后 DBIL 迅速下降, REF-GH 组下降更为显著($P<0.05$), 但术后 7 d 仍显著高于正常水平($P<0.01$), 见表 1、2。

3　讨论

rhGH 具有促进肝细胞、胃肠粘膜上皮细胞、烧伤后残存上皮细胞和软骨细胞等多种细胞增殖的能力[1], 目前已经在肠瘘、慢性消耗性疾病, 全胃肠外营养支持治疗中得到广泛应用, 但是在 OJ 中研究尚缺乏。本实验显示, 在胆流复通 58 只大鼠中, 有 17 只术前一般情况很差, 黄疸很重, 术后 7 d 内死亡 13 只, 死亡率达到 76.5%, 占全部术后死亡的一半以上(59.1%, 13/22), 且大多数是未用 rhGH 的大鼠(9/13), 说明在影响 OJ 大鼠手术危险性的因素中, TBIL 水平是一项重要的指标, 而 rhGH 能降低 OJ 大鼠围手术期的 TBIL 水平。Mesotten 等[2] 认为 rhGH 通过 JAK/STAT5b 通路上调淤胆时钠-牛磺胆酸联合转运多肽(Na^+-dependent taurocholate cotransporting polypeptide, Ntcp)的表达, 从而起到"利胆"作用, 但 rhGH 对其它转运子的调节机制尚不清楚, 需进一步研究。实验中还表明, 在梗阻期间 TBIL 呈现先升高再降低的变化规律[3,4], 与尿中排泄增多, 以及某些"诱生"型胆红素转运子表达升高有关[3,5]。

OJ 常伴随内毒素血症, 而 TNF-α 是其毒性的主要执行者。TNF-α 可激活细胞因子的级联反应, 诱发白介素 IL-1、IL-6、IL-8、血小板激活因子(platelet activating factor, PAF)、前列腺素和白三烯等的分泌, 激发炎症连锁反应, 导致所谓的"瀑布效应"[6]。本实验结果显示, TNF-α 在 CBDL 术后 3 d 即有明显上升, 随梗阻时间的延长, 其水平逐步升高, 对肝脏的负面影响也逐渐加重, 表现在 ALT 和 TBIL 明显升高, ALB 和 PA 进行性下降。rhGH 的应用降低了 TNF-α 的水平, 减轻了肝脏的损害, 改善了胆流复通术前大鼠肝功能, 与 rhGH 有利于保护肠粘膜屏障, 减少细菌移位和内毒素吸收等有关[7]。但是, rhGH 并不能扭转 OJ 时严重的病理生理改变, CBDL-GH 组大鼠肝功能仍呈持续恶化趋势。梗阻解除后, REF-GH 组病死率低, 恢复快, 说明 rhGH 同时提高了胆流复通手术的安全性, 促进了术后恢复。

同时, 我们在临床上对重度 OJ(TBIL > 300 μmol/L)和淤胆性肝炎患者在用常规治疗无法使黄疸减轻时, 试用了 rhGH 治疗, 发现其具有较明显的"利胆"作用, 术前肝功能明显改善, 手术耐受性和安全性提高, 部分患者甚至获得了根治性切除的机会。因此, 对于长期重度 OJ, 在解除梗阻的原则下, rhGH 的"利胆"、改善肝功能的作用可用于部分重症患者的围手术期处理。

参考文献:

[1] Krupczak H K, Wang X, Dennewitz M B, *et al*. Growth hormone stimulates proliferation of old-aged regenerating liver through forkhead box m1b [J]. Hepatology, 2003, 38(6): 1552-1562.

[2] Mesotten D, Van den Berghe G, Liddle C, *et al*. Growth hormone modulation of the rat hepatic bile transporter system in endotoxin-induced cholestasis[J]. Endocrinology, 2003, 144(9): 4008-4017.

[3] Wagner M, Fickert P, Zollner G, *et al*. Role of farnesoid X receptor in determining hepatic ABC transporter expression and liver injury in bile duct-ligated mice[J]. Gastroenterology, 2003, 125(3): 825-838.

[4] 孙杨忠, 耿小平. 阻塞性黄疸大鼠胆总管直径、压力及血清胆红素代谢变化的观察[J]. 肝胆外科杂志, 2003, 11(2): 141-142.

[5] Tanaka Y, Kobayashi Y, Gabazza E C, *et al*. Increased renal expression of bilirubin glucuronide transporters in a rat model of obstructive jaundice[J]. Am J Physiol: Gastrointest Liver Physiol, 2002, 282(6): G656-G662.

[6] Tilg H. Cytokines and liver diseases[J]. Can J Gastroenterol, 2001, 15(10): 661-668.

[7] Scopa C D, Koureleas S, Tsamandas A C, *et al*. Beneficial effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on intestinal bacterial translocation, endotoxemia, and apoptosis in experimentally jaundiced rats [J]. J Am Coll Surg, 2000, 190(4): 423-431.

(编辑　刘洪娥)

作者书写数字须知

根据《关于出版物上数字用法的规定》, 本刊实行三位分节法(即从小数点算起, 向左向右每 3 位分 1 节, 节间留出一定空隙), 废除千分撇分节法(如 2,431 改为 2 431)。但年份、页数、部队编号、仪表型号、标准号不用三位分节法。中文出现的数字, 凡属计数数值, 一律用阿拉伯数字表示。

本刊编辑部

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net