DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.06.005
第22卷第6期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 6
2000年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 2000

文章编号:1000-5404(2000)06-0519-04

论著

人重组生长激素对大鼠肠道缺血/再灌注损伤后肠源性细菌/内毒素移位的影响

屠伟峰,陈 军,郑 江,夏培元,周 红,肖光夏,黎 鳌 (第三军医大学附属西南医院烧伤研究所,重庆 400038)

提 要:目的 观察人重组生长激素(rhGH)对肠道缺血再灌注(IIR)损伤后肠源性细菌/内毒素移位的影响。方法 检测门、腔静脉血浆内毒素水平(鲎试剂定量法);血浆TNFα水平(放免法)和肠系膜淋巴结、肝、肺、肾等肠道外器官组织细菌培养,动态观察rhGH对IIR后肠道细菌/内毒素移位情况。结果 早期应用rhGH,无论是IIR后3 h用药组还是12 h用药组,均可明显降低IIR后血浆内毒素和TNFα水平;显著减少IIR后肠系膜淋巴结、肺、肝、肾等肠道外组织器官中的移位细菌量。结论 早期应用rhGH可有效地降低肠源性细菌/内毒素移位,减轻促炎介质的释放,保护肠道外脏器。

关键词:肠道;缺血再灌注损伤;人重组生长激素;细菌/内毒素移位
中图法分类号:R619.9;R977.1 文献标识码:A

Effects of recombinant human growth hormone on enterogenous bacteria-endotoxin translocation after intestinal ischemia-reperfusion injury in rats

TU Wei-feng, CHEN Jun, ZHENG Jiang, XIA Pei-yuan, ZHOU Hong, XIAO Guang-xia, LI Ao (Institute of Burn Research, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To observe the effects of recombinant human growth hormone (rhGH) on enterogenous bacteria-endotoxin translocation (EBET) after intestinal ischemia-reperfusion injury (IIR) in rats. **Methods** Plasma level of endotoxin and TNFα in the portal and caval veins were measured with limulus amebocyte lysate test and radioimmunoassay respectively in the rats with IIR. The homogenate of the mesenteric lymph nodes, lungs, liver and kidneys were cultured to detect the existence of translocated bacteria. The data mentioned above were compared before and after the administration of rhGH. **Results** The administration of rhGH in the 3rd and 12th hour after IIR significantly decreased the plasma level of endotoxin and TNFα and the amount of the translocated bacteria in the mesenteric lymph nodes, lungs, liver and kidneys of the rats. **Conclusion** The administration of rhGH in the 3rd and 12th hour after IIR injury significantly decreased enterogenous bacteria-endotoxin translocation after IIR injury in rats and consequently protected various internal organs from being damaged.

Key words: intestine; ischemia-reperfusion injury; human recombinant growth hormone; bacteria-endotoxin translocation

临床研究和动物实验证实生长激素(Growth hormone, GH)可加速外科创伤和烧伤创面愈合、减少感染发生[1,2];并可促进肠粘膜上皮细胞生长,加速肠切除或肠损伤后的肠粘膜结构和功能的恢复[3,4]。本研究通过建立肠道缺血再灌注(Intestinal ischemia-reperfusion, IIR)损伤大鼠模型,以了解IIR损伤早期应用人重组生长激素(Recombinant human growth hormone, rhGH)对肠源性细菌/内毒素移位的影响。

基金项目:全军"九五"指令性攻关项目(96L042)
作者简介:屠伟峰(1961—),男,浙江省余姚市人,博士,副主任医师,副教授,主要从事麻醉学与危重医学方面的研究,发表论文16篇,现在广州军区广州总医院全军麻醉中心工作。电话:(020)86662205—53504
收稿日期:1999-12-10;修回日期:2000-03-07

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

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康Wistar大鼠42只，雌雄不限，体重为(320±30)g，由第三军医大学实验动物中心提供。

1.2 分组

42只大鼠随机分为正常对照组、IIR后3 h应用rhGH组和12 h用药组，该两组又分为用药后48 h和72 h观察组及同期IIR损伤对照共7组，每组6只动物。

1.3 IIR模型制作

大鼠术前禁食12 h，自由饮水。麻醉诱导用2%氯胺酮(Ketamine)和6 mg/L阿托品(Atropine)混合液3~5 ml/kg。备皮后常规消毒、铺巾，上腹部沿正中线切口，暴露并在根部游离、夹闭肠系膜前动脉，60 min后松开肠系膜前动脉夹。在进行肠系膜前动脉夹闭期间，间断地向腹腔内注射约15~20 ml/kg生理盐水，以预防一过性低血容量反应。关腹后再向腹腔内追加25~30 ml/kg生理盐水(内含庆大霉素32万U/L)，以达到既扩容又预防腹腔操作时污染的目的。术毕放回鼠饲养笼观察，一笼一鼠，自由进食、饮水。

1.4 投药方法

rhGH 3 h用药组：松开肠系膜前动脉夹后3 h，无菌条件下在腹壁皮下注射rhGH(中国金赛药业产品，批号为980509-1，4.5 IU/支)1.0 IU/kg，以后每12 h追加1次，并于IIR后48、72 h处死动物进行观察。rhGH 12 h用药组：开始给药时间为松开肠系膜前动脉夹后12 h，其余同rhGH 3 h用药组。

1.5 观察指标

1.5.1 一般观察 包括大鼠的活动、饮食、饮水和精神状况，以及大便颜色、性状等。

1.5.2 门、腔静脉血浆内毒素测定 鲎试剂定量试剂盒(上海医化所产品)，按操作说明书进行。

1.5.3 腔静脉血浆TNFα测定 放免试剂盒(北京福瑞生物有限公司产品)，按操作说明书进行。

1.5.4 组织培养 按Gautraux[5]方法将肠系膜淋巴结(MLN)分为3组：MLN1主要收集要来自盲结肠的淋巴液；MLN2主要收集来自回肠的淋巴液；MLN3主要收集来自空肠的淋巴液。处死动物后分别取3组MLN、肺、肝、肾等组织若干重(取材部位相对固定)，制备成10%组织匀浆液，取50、20、2 μl在血平板、麦康凯、沙氏、厌氧菌培养基中作定量培养，菌落计数并换算成CFU/g组织。

1.6 统计学处理

所列计量资料均采用$\bar{x}\pm s$表示，应用统计软件包STATISTICA/W5.0作方差分析、Post-hoc comparisons of means、t检验等。

2 结果

2.1 一般情况

IIR模型大鼠第1天有轻微粘液样血便，其余活动、饮食、饮水和精神状况未见异常，实验全过程无1只大鼠死亡。

2.2 门静脉血浆内毒素的变化

结果显示，与IIR对照组比较，无论是IIR损伤后3 h还是12 h应用rhGH均能有效地降低门静脉血浆内毒素水平(P均<0.01)，两用药组间比较无显著性差异，见图1。

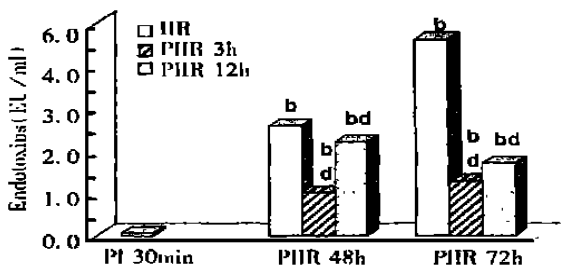


图1 人重组生长激素对IIR损伤大鼠门脉血浆内毒素水平的影响

b：$P<0.01$与PI 30 min比较；d：$P<0.01$与IIR组比较；PI：缺血前；PIIR：IIR损伤后

Fig 1 Effects of rhGH on the levels of plasma endotoxins in portal vein of IIR rats

b：$P<0.01$ *vs* PI 30 min；d：$P<0.01$ *vs* IIR group；PI：pre-ischemia；PIIR：post-IIR

2.3 腔静脉血浆内毒素的变化

结果显示，与IIR对照组比较，3 h和12 h用药组均可明显地降低腔静脉血浆内毒素水平(P均<0.05)，两用药组间比较差异不显著，见图2。且门、腔静脉血内毒素水平呈显著性正相关($r=0.5680$，$P<0.001$)。

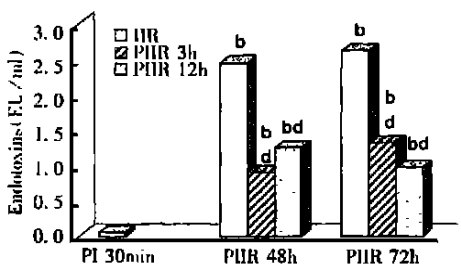


图2 人重组生长激素对IIR损伤大鼠腔静脉血浆内毒素水平的影响

b：$P<0.01$与PI 30 min比较；d：$P<0.01$与IIR组比较；PI：缺血前；PIIR：IIR损伤后

Fig 2 Effects of rhGH on the levels of plasma endotoxins in caval vein in IIR rats

b：$P<0.01$ *vs* PI 30 min；d：$P<0.01$ *vs* IIR group；PI：pre-ischemia；PIIR：post-IIR

2.4 腔静脉血浆TNFα水平的变化

3 h和12 h应用rhGH组与IIR对照组比较，均可降低腔静

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

脉血浆 TNFα 水平, 药后 72 h TNFα 水平出现显著下降($P<0.05$), 见图 3。统计学分析发现腔静脉血浆 TNFα 水平与门、腔静脉血中内毒素水平呈正相关($r=0.3287$ 和 0.3321, P 均<0.05)。

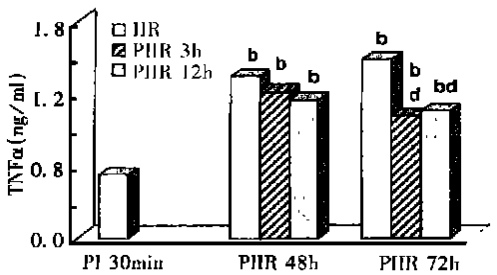


图3　人重组生长激素对 **IIR** 损伤大鼠腔静脉血浆 **TNF**α 水平的影响

b: $P<0.01$ 与 PI 30 min 比较; d: $P<0.01$ 与 IIR 组比较; PI: 缺血前; PIIR: IIR 损伤后

Fig 3　Effects of rhGH on the levels of plasma TNFα **in caval vein in IIR rats**

b: $P<0.01$ *vs* PI 30 min; d: $P<0.01$ *vs* IIR group; PI: pre-ischemia; PIIR: post-IIR

2.5　对不同组织细菌移位量的影响

与 IIR 对照组比较, 3 h 和 12 h 用药组大鼠肠系膜淋巴结和肺、肝、肾组织中移位细菌量显著降低。与 PIIR 12 h 用药组比较, PIIR 3 h 用药疗效似乎要好些, 但两组间比较差异均无显著性, 见图 4。

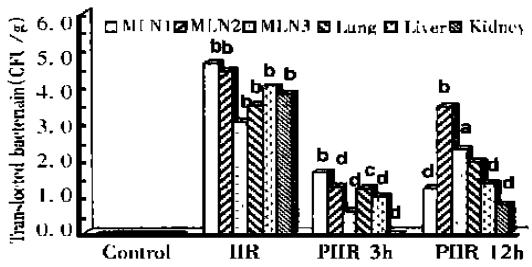


图 4　人重组生长激素对 **IIR** 损伤组织移位细菌的影响

b: $P<0.01$ 与 PI 30 min 比较; d: $P<0.01$ 与 IIR 组比较; PIIR: IIR 损伤后

Fig 4　Effects of rhGH on the counts of translocted bacteriain tissues in IIR rats

b: $P<0.01$ *vs* PI 30 min; d: $P<0.01$ *vs* IIR group; PIIR: post-IIR

2.6　血浆内毒素水平与各组织中移位细菌量之间的相关分析

统计学结果显示, 腔静脉血内毒素与肠系膜淋巴结、肺、肝、肾等肠道外组织中的移位细菌量呈显著正相关($P<0.01$)。且肺、肝、肾等器官中的移位细菌量与三组肠系膜淋巴结的移位细菌量均呈显著性正相关($P<0.01$)。

表 1　**IIR** 损伤大鼠腔静脉血浆内毒素与组织移位细菌间的相关分析 *

Tab 1　The correlative analysis between plasma endotoxins in caval vein and translocated bateria in tissues of rats with IIR injury

	CV-LPS	MLN1	MLN2	MLN3	Lung	Liver	Kidney
CV-LPS	1						
MLN1	0.3668[b]	1					
MLN2	0.1664	0.5861[c]	1				
MLN3	0.4001[b]	0.5715[c]	0.6292[c]	1			
Lung	0.3117[a]	0.5830[c]	0.3667[b]	0.5809[c]	1		
Liver	0.3371[b]	0.5435[c]	0.5415[c]	0.5628[c]	0.4551[b]	1	
Kidney	0.4052[b]	0.4916[c]	0.3517[b]	0.3744[b]	0.3637[b]	0.4093[b]	1

*: It is analyzed with the averages of plasma endotoxins in caval vein and translocated bacteria in tissues various times before and after IIR injury in rats; a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, c: $P<0.001$; LPS: Lipopolysaccharides/endotoxins; MLN: Mesenteric lymph nodes

3　讨论

大鼠 IIR 损伤后肠道细菌、内毒素可向肠外脏器组织移位, 并导致 TNFα 等炎症介质的大量释放。本研究发现, 早期应用 rhGH 可显著减少肠系膜淋巴结和肺、肝、肾等肠外脏器组织中的移位细菌量; 降低门、腔静脉血浆内毒素水平和腔静脉血 TNFα 水平, 这与其他的研究报告一致[4,6]。统计学分析显示, 应用 rhGH 前后门、腔静脉血浆内毒素水平之间以及腔静脉血浆内毒素水平与肠系膜淋巴结、肺、肝、肾等组织中的移位细菌量之间均呈显著正相关($P<0.01$), 提示腔静脉血内毒素主要由肠道内毒素移位而来, 且与组织器官中的移位细菌量相平行; 同时说明 rhGH 的作用是其增强肠道屏障功能的结果。

Gomez-de-Segura 等[6] 用 rhGH 治疗放射性损伤大鼠时发现, 给予 rhGH 7 d 后不仅可明显增加实验大鼠的体重、增强肠道对放射性损伤适应性, 而且可明显降低其死亡率和肠道细菌移位, 并认为该作用与 rhGH

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

增强宿主全身或肠道局部免疫力，刺激肠粘膜上皮再生、修复，促进肠道粘膜结构和功能恢复有关[7]。本研究在延迟至肠道缺血灌注损伤12 h后开始给予rhGH，应用48 h、72 h均可有效地减少IIR后肠源性细菌/内毒素移位和脓毒血症的发生。这为临床上严重创(烧)伤病人早期应用rhGH，减少严重创(烧)伤后肠源性细菌/内毒素移位和医院感染的发生提供了实验依据，具有重要的意义。

参考文献：

[1] Jarrar D, Wolf S W, Jeschke M G, *et al*. Growth hormone attenuates the acute-phase response to thermal injury[J]. Arch Surg, 1997, 132(11): 1 171—1 175.

[2] Takagi K, Suzuki F, Barrow R E, *et al*. Growth hormone improves immune function and survival in burned mice infected with herpes simplex virus type 1[J]. J Surg Res, 1997, 69(1): 160—170.

[3] Krahenbuhl L, Buchler M W. Pathophysiology, clinical aspects and therapy of short bowel syndrome[J]. Chirurg, 1997, 68(6): 559—567.

[4] Prieto I, Gomezde Segura I A, Garcia Grande A, *et al*. Growth hormone reduces bacterial translocation in radiation enteritis in the rat[J]. Rev Esp Enferm Dig, 1998, 90(5): 353—360.

[5] Gautreaux M D, Deitch E A, Berg R D. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract to various segments of the mesenteric lymph node complex[J]. Infect Immun, 1994, 62(5): 2 132—2 134.

[6] Gomez de Segura I A, Prieto I, Grande A G, *et al*. Growth hormone reduces mortality and bacterial translocation in irradiated rats[J]. Acta Oncol, 1998, 37(2): 179—185.

[7] Prieto I, Gomez de Segura I A, Garcia Grande A, *et al*. Morphometric and proliferative effects of growth hormone on radiation enteritis in the rat[J]. Rev Esp Enferm Dig, 1998, 90(3): 163—173.

(编辑 郭建秀)

(上接515页)

表1 TNFα刺激对MVEC表达ICAM-1的影响

分组	未处理	TNFα处理	
		10 U/ml	100 U/ml
对照组	0.036±0.011	0.068±0.021*	0.096±0.021**#
致伤组	0.140±0.051△△	0.167±0.072△	0.193±0.082△

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ 与未处理相比；
#：$P<0.05$ 与同组10 U/ml TNFα处理相比；
△：$P<0.05$，△△：$P<0.01$ 与对照组相比

2.2 CD11b、ICAM-1单抗对PMN与MVEC粘附率的影响

伤鼠PMN粘附于伤鼠MVEC的百分率明显高于对照鼠；CD11b和ICAM-1单抗对正常组大鼠PMN与其MVEC粘附的影响均不明显。CD11b和ICAM-1单抗均能显著降低伤鼠PMN与伤鼠MVEC的粘附，ICAM-1单抗所致的粘附率减少更为显著。

表2 CD11b、ICAM-1单抗对PMN与MVEC粘附率的影响

分组	粘附PMN的MPO活性降低百分数	
	CD11b单抗处理	ICAM-1单抗处理
对照组	5.48±2.33	5.91±1.99
致伤组	14.50±7.80*	38.42±13.03**##

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ 与对照组相比；
#：$P<0.05$，##：$P<0.01$ 与CD11b单抗处理相比

3 讨论

内皮细胞的ICAM-1与PMN的CD11b/CD18之间的相互作用在二者的粘附过程中起着极为重要的作用，Silvestro等[4]证实ICAM-1单克隆抗体可减轻HCl吸入导致的肺损伤，Grau等[2]的研究结果表明：多数ARDS患者肺MVEC的ICAM-1表达上调，提示ICAM-1可能部分参与了急性肺损伤的发生；ARDS时循环白细胞与内皮的粘附增多可能主要与CD11b/CD18表达增多有关。

本结果显示：伤鼠PMN与MVEC的粘附率明显高于对照组；CD11b单抗和ICAM-1单抗均能显著降低伤鼠PMN与MVEC的粘附率，ICAM-1单抗所致的粘附率降低更为显著，但对照组PMN与MVEC粘附受两种抗体的影响均不明显。表明ICAM-1及其配体CD11b可能是烧冲复合伤早期肺内PMN聚集及肺损伤中起重要作用的CAMs之一，其中ICAM-1的作用更为明显，MVEC与PMN粘附的过程中，MVEC的作用可能占主导地位，其原因可能与烧冲复合伤对肺MVEC的损伤在先有关。

关键词：微血管内皮细胞；肺损伤；CD11b；细胞间粘附分子-1
中图法分类号：R642.023 文献标识码：B

参考文献：

[1] 金榕兵，朱佩芳，王正国，等. 烧冲复合早期肺细胞间粘附分子-1的表达变化及意义[J]. 中华创伤杂志，1997，13(5)：282—284.

[2] Grau G E, Mili N, Lou J N, *et al*. Phenotypic and functional analysis of pulmonary microvascular endothelial cells from patients with acute respiratory distress syndrome[J]. Lab Invest, 1996, 74(4): 761—770.

[3] 刘 勇，周敬德，房台生，等. 细胞间粘附分子在脑血管内皮细胞的表达[J]. 基础医学与临床，1995，15(2)：71—74.

[4] Silvestro L, Ruikun C, Sommer F, *et al*. Platelet-activating factor-induced endothelial cell expression of adhesion molecules and modulation of surface glycocalyx, evaluated by electron spectroscopy chemical analysis[J]. Semin Thromb Hemost, 1994, 20(2): 214—222.

(编辑 汪勤俭)

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