

休克饮抗肠菌转位的实验研究*

张 平 水文霞 杨午鸣 杜月光 金国英

内容提要 目的:观察休克饮的抗肠菌转位作用,为临床危重病患者多脏器衰竭(MOF)的中医治疗提供依据。方法:根据严重创伤如休克等引起肠菌转位及肠源性脓毒症继而导致 MOF 的病理生理学基础,建立出血性休克诱发肠菌转位的大鼠模型,用以确定温脾汤加减组成的休克饮对肠菌转位的影响。结果:以休克饮灌胃的休克组大鼠肠道细菌转位至肠系膜淋巴结、肝、脾的发生率(3/15)比未灌胃休克组大鼠的发生率(11/13)明显降低($P < 0.01$);但两组大鼠肠腔内生长细菌的种类和数量无明显差异($P > 0.05$);组织学检查所见,休克组大鼠肠粘膜水肿比休克饮治疗休克组明显。结论:休克饮可抑制出血性休克诱发的肠菌转位,其机理可能是保护肠粘膜,而对肠腔内细菌的生长无明显影响。

关键词 多脏器衰竭 肠菌转位 休克

Experimental Study on Mechanism of Xiukeyin in Anti-Bacterial Translocation from Gut Zhang Ping, Shui Wenxia, Yang Wuming, et al *Zhejiang College of TCM, Hangzhou (310009)*

Objective: To provide a TCM therapeutic base for treatment of critical multiple organ failure (MOF) patients clinically, the mechanism of Xiukeyin (XKY, Shock Beverage) in anti-bacterial translocation from gut in rats was studied. **Methods:** Based on the pathophysiology of MOF following severe injury, such as shock caused enterogenous-sepsis and bacterial translocation from gut, a hemorrhagic shock model of rat was established and used to determine the effect of XKY on anti-bacterial translocation. XKY was formulated by modifying Wenpi Decoction. **Results:** The incidence of intestinal bacterial translocation to mesenteric lymph nodes, liver and spleen was lower in the model rats infused via gastrogavage with XKY (3/15) than that in the noninfused rats (11/13) ($P < 0.01$). The amount and species of intestinal flora in XKY infused or noninfused rats were not different statistically ($P > 0.05$). Histological examination showed that the intestinal edema was severer in the model group than that in the XKY treated group. **Conclusions:** XKY could inhibit the shock induced enterogenous bacterial translocation, the mechanism might be due to its protective action on intestinal mucosa. XKY showed no effect on the growth of intestinal bacteria.

Key words multiple organ failure, bacterial translocation, shock

目前在严重创伤、休克等危重病患者的抢救中,虽经胃肠外营养、抗感染等多方面现代医学的综合处理,治愈率明显提高,但仍有不少患者因出现多脏器衰竭(MOF)而死亡^[1]。这类患者发生 MOF 的重要病理生理学基础是创伤、休克等因素引起肠道细菌经过肠壁转移至肠系膜淋巴结、肝、脾等肠外组织,称肠菌转位(bacteria translocating from the gut),进而导致全身性脓毒症,即肠源性脓毒症(gut-origin-sepsis)^[2~4],为此其多数患者呈现创伤、休克等—肠源性脓毒症—

MOF—死亡的规律。因而控制肠菌转位、降低肠源性脓毒症的发生是防治 MOF、降低危重病患者死亡率的重要一环,本实验利用出血性休克促进肠菌转位的大鼠模型,观察中药合剂“休克饮”对肠菌转位的作用,为临床危重病患者的中医治疗提供实验基础。

材料与方法

1 动物 Spragne - Dawley 大鼠,平均体重为 312.9g,月龄为 4.5~6 月(平均月龄 5.6 月),雌雄不限,由浙江医科大学实验动物中心提供。

2 药物及制剂 休克饮方以《备急千金要方》中温脾汤为基础,根据临床创伤、休克等危重病患者的辨

* 浙江省中医管理局资助项目
浙江中医学院(杭州 310009)

证施治原则,作适当加减,主要由附子、大黄、黄芪、地榆组成,本方中药购于我院附属门诊部。制剂过程大致如下:大鼠每味药量按成人 1 日量的 10 倍配制,每剂休克饮按 5 只大鼠药量合计,即附子 3.0g 大黄 3.0g 黄芪 9.0g 地榆 9.0g,先加水 200ml,浸泡 1h,煎至 50ml 时滤过药液,再加水 200ml,同样煎煮,滤出药液,将两次药液混合,浓缩至 50~60ml。

3 主要仪器 RM-6000 型多道生理记录仪,由日本光电公司制造;电热恒温培养箱,上海产,Leitz-1512 型组织切片机,由德国 Ernst Leitz 公司制造。

4 动物造模及分组 39 只大鼠随机分成 3 组:A 组 11 只,为假休克对照组;B 组 13 只,为出血性休克组;C 组 15 只,为休克饮灌胃休克组。各组大鼠术前、术后均自由进食、饮水。C 组大鼠手术前晚 20 点用休克饮灌胃 3.5ml,再于术前、术后麻醉清醒后各灌注同量休克饮。各组大鼠术前晚 20 点起禁食、水,术前用戊巴比妥钠(25mg/kg 体重)作腹腔注射,麻醉后,一侧股部剪毛、消毒、解剖、分离股动脉长约 10mm,切一小口,立即将多聚乙烯导管插入股动脉约 8~10mm,管内须充满肝素化生理盐水(10u 肝素/ml),以防管内血液凝固,插管另一端接三通阀,阀之一口接生理记录仪,以观察大鼠血压、心率,另一口接一含有肝素化生理盐水 1ml 的 10ml 针管,用以抽取一定血量,使大鼠平均血压降至 30mmHg,并维持 30min,其间随血压上下波动适当再抽取或回注一定血量,以保持恒定的休克状态。休克期结束,将保温的抽取血液重新注回大鼠股动脉内,处理切口,待其麻醉清醒后,放入笼内任其自由活动、进食。假休克对照组大鼠同样麻醉、消毒、解剖股动脉插管等步骤,但毋须抽取血液。

5 肠菌转位的细菌培养 各组大鼠于休克或假休克术后 24h,断头处死,在无菌条件下切取各鼠肝、脾及肠系膜淋巴结(MLN)各 0.5g,各组织分别置匀浆管内,加等量生理盐水,匀浆,取双份等量匀浆组织分别接种于普通血琼脂皿及 MacConkey 琼脂皿,置 37℃ 培养箱孵育 24~48h,观察各标本中有无细菌生长,并对生长菌作菌种鉴定及菌量计数。肠菌转位的判断:如每鼠所取三种肠外组织分别在普通皿及 MacConkey 皿的 6 只培养标本中,只要出现任一标本有细菌生长,即该大鼠为肠菌转位阳性;如每鼠 6 只标本均无细菌生长,则为阴性。

各大鼠于肝、脾及 MLN 取出后,再切取等量肠管组织,同样匀浆后作普通皿及 MacConkey 皿细菌培养,同样观察结果,了解各鼠肠腔内细菌生长变化。

6 组织病理学观察 将各组大鼠的部分肠组织

固定,经脱水、包埋等作石蜡切片,常规 HE 染色,光镜下观察各组大鼠肠组织学变化。

7 统计学方法 各组间肠菌转位的发生例数比较用 χ^2 检验,各组间肠腔中细菌生长数量比较用 Newmun-Kenls 法检验。

结 果

1 各组大鼠肠菌转位的变化 A 组大鼠肠菌转位的发生率为 18.2%(2/11);B 组大鼠的肠菌转位的发生率为 84.6%(11/13);C 组大鼠肠菌转位的发生率为 20.0%(3/15)。A、B 两组间及 B、C 两组间肠菌转位的发生率均有明显差异,两者均为 $P < 0.01$ 。各组大鼠肠菌转位的细菌培养结果如表 1 所示。

表 1 各组大鼠肠菌转位的细菌培养
阳性结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	肠菌转位动物数	MLN	肝	脾
A	11	2	0	1	2
B	13	11	10	7	3
C	15	3	3	1	0

对三脏器中培养生长的细菌鉴定为:乳酸杆菌占总生长菌的 42.59%,芽胞菌占 14.81%,大肠杆菌占 12.59%,库特氏菌及球杆菌均占 7.40%,肠杆菌及微球菌均占 5.55%,各组间菌种相似。

2 各组大鼠肠腔细菌培养结果 无论假休克对照组,或是休克组及休克饮灌胃休克组大鼠肠腔内均有大量细菌生长,见表 2。

表 2 各组大鼠肠腔细菌培养的菌量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	血琼脂皿	MacConkey 琼脂皿
A	11	938.9 $\pm$ 252	795.5 $\pm$ 378
B	13	1004.9 $\pm$ 313	687.7 $\pm$ 405
C	15	898.4 $\pm$ 305	795.1 $\pm$ 406

无论 A、B 组间或 B、C 组间菌量变化均无明显差异,两者均 $P > 0.05$ 。各组间生长菌种大致相同。

3 各组大鼠小肠组织光镜检查结果 休克组大鼠肠粘膜部分绒毛顶端固有层有明显水肿,肠粘膜上皮细胞与固有层间距离增宽,假休克组大鼠肠粘膜大致正常,休克饮灌胃组大鼠肠粘膜亦未见明显水肿。

讨 论

现代医学对监护病房中危重病患者抢救的死亡率仍较高(约 12%~36%),其主要原因是 MOF。在已知的 MOF 发生机理中,我们尤其注重肠菌转位导致的肠源性脓毒症与 MOF 的关系,是由于:(1)不少危重病患者(约 30%)在发生 MOF 的同时,虽有全身脓毒

症表现,但无腹腔或他处原发感染灶的存在⁽³⁾, (2)危重病医学中除了创伤、休克、大手术、胰腺炎及梗阻性黄疸等原始发病因素外,输血、胃肠道缺血或出血、滥用抗菌素等均可促进肠菌转位^(5~7)。尤其危重病患者抢救中常用的全胃肠外营养、禁食均可加重肠菌转位⁽⁸⁾,更增加了西医治疗的难度,说明对这类患者必须及早恢复胃肠道的摄入功能,重视肠菌转位的防治。本实验正基于上述认识,采用胃肠给药法,观察温脾汤为主的休克饮对肠菌转位过程的影响,为开拓危重病患者经胃肠道的中医治疗提供实验基础。

肠菌转位在发病学上的研究国内较少,本实验观察了处于失血性休克状态 30min 的大鼠 MLN、肝及脾肠外组织中细菌培养的阳性率达 84.6% (11/13),而对照组大鼠三肠外组织中细菌培养的阳性率仅为 18.2% (2/11),两者有显著性差异 ($P < 0.01$);鉴定三肠外组织中生长的细菌主要是乳酸杆菌、芽胞杆菌、大肠杆菌、库特氏菌、球杆菌、肠杆菌及微球菌,均属肠道菌群,说明休克状态确实促进肠道细菌向肠外转位。目前认为肠菌转位的机理可能涉及:(1)机体免疫系统功能状态^(4,9), (2)肠防御功能,包括肠粘膜上皮细胞等物理屏障、肠淋巴上皮组织抗感染抗过敏作用^(4,7), (3)肠道菌的过度生长及肠血供状态^(9,10), (4)巨噬细胞及细胞因子的复杂功能^(2,11)等多方面因素。必须注意,肠菌转位有程度上的差异,如 Sorrells 等为少量肠菌转位是一种肠上皮细胞递交抗原时发生的自然现象,但在有害因素损伤了上述机体免疫状态、肠防御功能等引起大量肠菌转位,使之转化为病理过程,导致全身性感染状态,发展为肠源性脓毒症。

本实验结果表明,休克饮灌胃组大鼠肝、脾及肠系膜淋巴结细菌培养的阳性率(20.0%)明显低于未灌胃休克组(84.6%), $P < 0.01$,说明中药合剂休克饮对肠菌转位过程具有一定的抑制作用。为了排除休克饮的抑制肠菌转位是否有抑制肠腔内细菌生长的可能性,实验还观察了各组大鼠肠腔内细菌的生长情况,结果

如表 2 所示,各组大鼠肠腔内细菌生长的种类、数量均无明显差异 ($P > 0.05$),说明休克饮抑制肠菌转位的结果并非是它直接抑制肠腔内细菌生长而引起。进一步对各组大鼠肠组织作病理学检查,发现休克组大鼠肠粘膜部分绒毛间质有明显水肿,而休克饮灌胃组大鼠肠粘膜未见明显变化,说明休克饮抑制肠菌转位,可能与其保护肠粘膜的正常结构有关。

参 考 文 献

1. Barie PS, Hydo LJ. Influence of multiple organ dysfunction syndrome on duration of critical illness and hospitalization. *Arch Surg* 1996;131:1318—1324.
2. Border J. Hypothesis: sepsis, multiple systems organ failure and the macrophage. *Arch Surg* 1988;123:285—286.
3. Deitch EA. Multiple organ failure: pathophysiology and potential future therapy. *Ann Surg* 1992;216:117—134.
4. Sanchez-Garcia M, Prieto A, Tejedor A, et al. Characteristics of thoracic duct lymph in multiple organ dysfunction syndrome. *Arch Surg* 1997;132:13—18.
5. Sedman PC, Macfie J, Sagar P, et al. The prevalence of gut translocation in humans. *Gastroenterology* 1994;107:643—649.
6. Gianotti L, Pyles T, Alexander JW, et al. Impact of blood transfusion and burn injury on microbial translocation and bacterial survival. *Transfusion* 1992;32:312—317.
7. Reynolds JV, Murchan P, Leonard N, et al. Gut barrier failure in experimental obstructive jaundice. *J Surg Res* 1996;62:11—16.
8. Alverdy JC, Aoye E, Moss GS. Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. *Surgery* 1988;104:185—190.
9. Shou J, Motyka LE, Daly JM. Intestinal microbial translocation: immunologic consequences effects of interleukin-4. *Surgery* 1994;116:868—876.
10. Gennari R, Alexander JW. Effects of hyperoxia on bacterial translocation and mortality during gut-derived sepsis. *Arch Surg* 1996;131:57—62.
11. Nieuwenhuijzen GAP, Haskel Y, Lu Q, et al. Macrophage elimination increases bacterial translocation and gut-origin-septicemia but attenuates symptoms and mortality rate in a model of systemic inflammation. *Ann Surg* 1993;218:791—799.

(收稿:1997-05-19 修回:1997-08-16)

中国中医研究院西医学习中医班招生

受国家中医药管理局委托,中国中医研究院第九期西医学习中医班(西苑医院)近日开始招生(1998年9月1日开学)。该院系国家科研、医疗、教学基地,并为北京针灸骨伤学院附属医院,每年招收研究生和国内外各类学员几百名,教学水平堪称一流。该班系统讲授 16 门中医课程,在本院进行临床学习,培养从事中医、中西医结合工作的骨干人材。课程考试和毕业实习合格者颁发中国中医研究院西医学习中医班毕业证书。凡西医院校毕业的医务人员均可报名参加。欲报名者请向西苑医院教育处函索招生简章。通讯处:北京海淀区中国中医研究院西苑医院教育处,邮政编码:100091,电话:(010)62563344—624,62627973。