

甲状腺激素对大鼠急性肝衰竭肠粘膜屏障功能的保护作用

葛玉明¹⁾, 胡敏²⁾, 顾玲³⁾, 何建平³⁾, 郭峰⁴⁾

(1) 会泽县妇幼保健院普外科, 云南会泽 654200; 2) 昆明学院医学院, 云南昆明 650214; 3) 昆明医科大学第一附属医院肝胆外科, 云南昆明 650031; 4) 昆明医科大学临床技能中心, 云南昆明 650031)

[摘要] **目的** 探讨补充外源性甲状腺激素 (thyroid hormone, TH) 对急性肝衰竭 (acute hepatic failure, AHF) 肠粘膜屏障的保护作用. **方法** SD大鼠36只, 随机分为3组: 对照组 (SO组)、急性肝衰竭组 (AHF组) 和治疗组 (AHF+TH组). 腹腔注射硫代乙酰胺 (thioacetamide, TAA) 制作 AHF 模型. 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的标准腹腔注射三碘甲状腺原氨酸 (T_3), 取下腔静脉血检测 TH 水平, 取小肠组织测二胺氧化酶 (DAO) 活性, 取末段回肠行普通 HE 染色观察, 并使用图像分析系统测量小肠绒毛长度. **结果** AHF+TH 组较 AHF 组小肠组织 DAO 活性升高 ($P < 0.05$), 小肠绒毛长度升高 ($P < 0.05$), 肠粘膜损伤程度降低 ($P < 0.05$). **结论** 补充外源性 TH 对 AHF 时肠粘膜屏障有明显的保护作用.

[关键词] 急性肝衰; 肠粘膜屏障; 甲状腺激素

[中图分类号] R735.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 07 - 0032 - 04

The Protective Effect of Thyroid Hormone on Function of Intestinal Mucosa Barrier in Rats with Acute Hepatic Failure

GE Yu - ming¹⁾, HU Min²⁾, GU Ling³⁾, HE Jian - ping³⁾, Guo Feng⁴⁾

(1) Maternity and Child care centers of Huze county, Huize Yunnan 654200; 2) Medical College of Kunming College, Kunming Yunnan 650214; 3) Department of Hepatobiliary surgery, The First Affiliated Hospital, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650031; 4) Clinical Skill Training Center of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650031, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the role of exogenous thyroid hormone in the protection of intestinal mucosal barrier of acute hepatic failure rats. **Methods** 36 SD rats were randomly divided into 3 groups: control group (SO group), acute liver failure group (AHF group) and treatment group (AHF+TH group). The AHF Rat model was established by repeated injection of thioacetamide (TAA). Triiodothyronine (T_3) was administered intraperitoneally to correct the low T_3 syndrome of AHF rats. The blood in inferior vena cava was collected to detect the level of thyroid hormone, the activity of diamine oxidase (DAO) in small intestine was detected, and the pathological structure of the end of ileum was observed by HE staining, the length of intestinal villi was determined by image analysis system. **Results** Compared with AHF group, the activity of DAO in small intestine was significantly increased ($P < 0.05$), the length of intestinal villi was shortened ($P < 0.05$), and the degree of intestinal mucosal injury was decreased. **Conclusion** Thyroid hormone might play roles in the protection of intestinal mucosal barrier.

[Key words] Acute hepatic failure; Intestinal mucosa barrier; Thyroid hormone

肠道是外科应激时多器官功能障碍的始动器官, 对其屏障作用改变的研究越来越深入, 尤其是 肝功异常时的肠源性内毒素血症的发生、发展更是大家广泛关注的病症. 同时外科应激下, 外周甲状

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (81060361)

[作者简介] 葛玉明 (1972~), 男, 云南会泽县人, 医学学士, 主治医师, 主要从事普通外科临床与教学工作. 胡敏与葛玉明对本文有同等贡献.

[通讯作者] 郭峰. E-mail: guofeng20013088@163.com; 何建平. E-mail: 120127855@qq.com

腺激素代谢障碍但甲状腺本身正常的病态综合症, 也与肠道屏障作用和肝功的改变有着很大联系. 基于此特设计此实验探寻急性肝衰竭时补充外源性甲状腺激素是否具有改善代谢、保护脏器、减轻纠正肠源性内毒素血症的功能. 现将部分实验结果汇报如下.

1 材料与方法

1.1 分组与动物模型

健康清洁 SD 大白鼠体重约 220 ~ 250 g, 雌雄不限, 由昆明医科大学实验动物学部提供. 随机分为 3 组: 正常组 (sham operation, SO 组 $n = 12$); 急性肝衰竭组 (acute hepatic failure, AHF 组 $n = 12$); 治疗组 (Thyroid hormone treatment of acute hepatic failure, AHF+TH 组 $n = 12$). 根据 AHF 的诊断标准^[1,2]以注射 TAA 方法模拟建立 AHF 大鼠模型, 具体方法详见文献^[3]. 每次注射 TAA 后腹腔注射生理盐水 2 mL, 于首次腹腔注射 TAA 始 48 h 宰杀存活的大鼠. AHF+TH 组另需造模前 30 min、首次腹腔注射 TAA 后 18 h、36 h, 分别按 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的标准对腹腔注射甲状腺激素, 共三次. 麻醉, 固定, 无菌条件下开腹, 开腹前 12 h 禁食, 自由饮水. SO 组未予任何人为干预, 按顺序取材检测.

1.2 统计学处理

所得数据采用 SPSS 统计软件包分析, 计量资料采用方差分析, 方差不齐采用秩和检验. 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

SO 组动物活动如常. AHF 组注射 TAA 后出现不同程度的精神萎靡、进食减少、腹泻、腹部高度膨隆 (中毒性鼓肠) 等症状. AHF+TH 组动物较 AHF 组稍有减轻. 各组死亡及中毒性鼓肠情况见表 1.

DFM-96 型多管放射免疫计数器测定下腔静脉血甲状腺素结果见表 2. 小肠组织二胺氧化酶 (diamine oxidase, DAO) 活性测定见表 3. 光镜下回肠组织病理学变化结果 ($\times 100$, $\times 200$): SO 组小肠粘膜腺体形态规则, 腺体大小基本一致, 腺体顶端可见微绒毛排列整齐, 间质内偶可见淋巴细胞散在于少许梭形细胞间 (见图 1、图 2). AHF 组肠粘膜固有层变薄, 上皮细胞变性脱落, 绒毛排列紊乱, 高度明显缩短, 大部分绒毛脱落, 部分完全失去原有形状, 破坏扩展到基底部, 淋巴细胞增多 (见图 3、图 4). AHF+TH 组粘膜绒毛水肿增粗, 排列较整齐, 绒毛高度较 AHF 组稍好, 部分绒毛脱落, 在腺体底部间质内仍可见少许淋巴细胞浸润 (见图 5、图 6).

HMIAS-2000 高清晰度彩色医学图文分析系统测肠粘膜绒毛高度结果见表 4.

表 1 各组实验大鼠死亡及中毒性鼓肠情况 (%)

Tab. 1 The death and intestinal meteorism rate of rats in each group

组 别	n	死亡率	中毒性鼓肠率
SO 组	12	0	0
AHF 组	12	33.33(4/12)	91.67(11/12)
AHF+TH 组	12	25.00(3/12)	75.00(9/12)

表 2 血清甲状腺素测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 The serum levels of thyroxine ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	FT3(ng/dL)	FT4($\mu\text{g}/\text{dL}$)	TSH($\mu\text{IU}/\text{dL}$)	rT3(ng/dL)
SO 组	12	3.352 \pm 0.748	4.556 \pm 0.287	0.126 \pm 0.017	0.257 \pm 0.019
AHF 组	8	1.279 \pm 0.456*	2.633 \pm 0.198*	0.127 \pm 0.029	0.469 \pm 0.009*
AHF+TH 组	9	1.676 \pm 0.272* Δ	3.975 \pm 0.375* Δ	0.108 \pm 0.031	0.401 \pm 0.019* Δ

与 SO 组比较, * $P < 0.01$; 与 AHF 组比较, $\Delta P < 0.05$.

表 3 各组小肠组织二胺氧化酶 (DAO) 活性测定结果
[($\bar{x} \pm s$), U/mg]

Tab. 3 The activities of DAO in small intestine of rats
in each group [($\bar{x} \pm s$), U/mg]

组别	n	小肠组织 DAO
SO 组	12	2.508 ± 0.216
AHF 组	8	1.275 ± 0.179*
AHF+TH 组	9	1.537 ± 0.156* [△]

与 SO 组比较, * $P < 0.01$; 与 AHF 组比较, [△] $P < 0.05$.

表 4 小肠粘膜肠绒毛长度统计结果 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Tlength of intestinal villi ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	肠绒毛长度 (μm)
SO 组	12	1 045.78 ± 43.45
AHF 组	8	597.89 ± 57.32*
AHF+TH 组	9	657.47 ± 69.52* [△]

与 SO 组比较, * $P < 0.01$; 与 AHF 组比较, [△] $P < 0.05$.



图 1 SO 组回肠组织 ($\times 100$)

Fig. 1 Ileum tissue in SO group ($\times 100$)

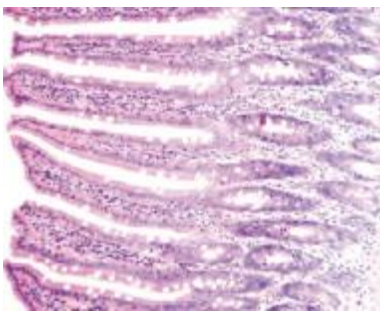


图 2 SO 组回肠组织 ($\times 200$)

Fig. 2 Ileum tissue in SO group ($\times 200$)

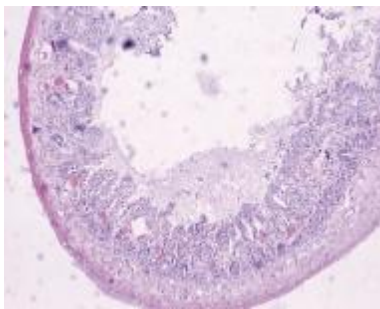


图 3 AHF 组回肠组织 ($\times 100$)

Fig. 3 Ileum tissue in AHF group ($\times 100$)

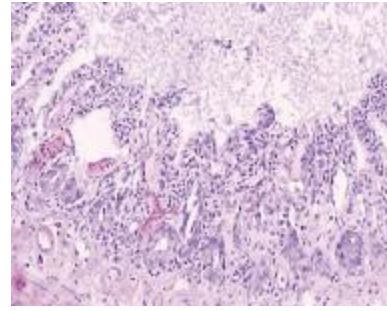


图 4 AHF 组回肠组织 ($\times 200$)

Fig. 4 Ileum tissue in AHF group ($\times 200$)

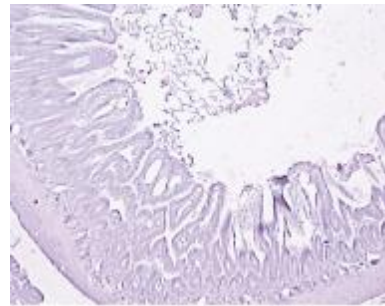


图 5 AHF+TH 组回肠组织 ($\times 100$)

Fig. 5 Ileum tissue in AHF+TH group ($\times 100$)

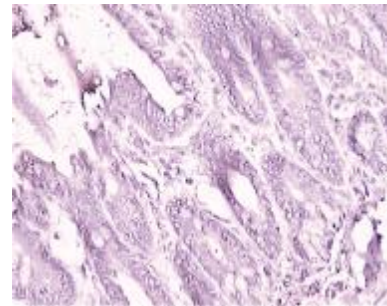


图 6 AHF+TH 组回肠组织 ($\times 200$)

Fig. 6 Ileum tissue in AHF+TH group ($\times 200$)

3 讨论

肠道不是一个消极的脏器, 肠功能障碍也不仅仅是肠道梗阻和肠道出血, 肠道及其内容物 (包括细菌及其代谢产物之一内毒素) 可影响其他脏器的功能. 肠道不仅有消化吸收营养的功能, 而且还有内分泌、免疫、代谢和屏障功能. 特别在感染、创伤等应激状态下, 肠道不是“静息”的, 而是活跃地参加应激反应. 目前普遍认为肠道是外科应激反应的“中心器官”, 许多外科疾病均可削弱肠道屏障功能, 引起细菌/内毒素移位, 使之成为全身炎症反应的细菌来源, 最终触发多脏器功能衰竭^[4]. 尤其是肠源性内毒素血症 (intestinal endotoxemia, IETM) 与肝病的关系日益受到重视, 国内有学者

认为^[5], IETM 是肝功能衰竭综合征发生的唯一的共同物质基础. 如何保护肠粘膜屏障以防止细菌易位正成为各国学者所关注的热点之一.

TH 对于调节肠粘膜生长、分化及屏障功能具有十分重要的作用. Hodin 等^[6]在体内及体外试验中均证实 T3 可诱导小肠上皮细胞碱性磷酸酶的表达. 有研究报道, 外科应激时存在着外周 TH 代谢障碍, 即所谓的正常甲状腺的病态综合症 (euthyroid sick syndrome, ESS)^[7]. 基于此补充外源性 TH 对外科重症时肠屏障应具有保护作用, 但国内外尚少见报道.

本实验显示 AHF 时大鼠发生了正常甲状腺的病态综合症 (euthyroid sick syndrome, ESS). 通过补充外源性 TH 基本纠正 ESS. 通过针对性的检测指标观察到 AHF 组肠粘膜机械性屏障明显受损, AHF+TH 组肠粘膜绒毛、细胞受损的程度明显减轻, 可反映肠粘膜屏障的功能状态的 DAO 活性升高, 提示甲状腺激素对 AHF 时肠粘膜机械屏障具有明显的保护作用. 以上实验结果提示, 适时补充外源性甲状腺激素可以减轻肠粘膜机械性屏障的损伤, 进而预防或减缓肠源性内毒素血症及 MODS 的发生, 从而改善预后. 因此在未来临床重症治疗方面可以适时考虑其的客观作用, 笔者也会在未来研究中继续关注, 希望能为临床实践提供更多的实

验依据.

[参考文献]

- [1] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南 [J]. 中华肝脏病杂志, 2006, 14(9): 643 - 646.
- [2] POLSON J, LEE W M. AASLD position paper: the management of acute liver failure [J]. *Hepatology*, 2005, 41(5): 1179 - 1197.
- [3] ZIMMERMANN C, PETER F, CHRISTIAN P, et al. Hepatic encephalopathy in thioacetamide induced acute liver failure in rat: characterization of improved model and study of amino acidergic neurotransmission [J]. *Hepatology*, 1989, 9(4): 594.
- [4] 何效东, 董家鸿. 外科危重症与肠源性细菌/内毒素移位 [J]. 中华胃肠外科杂志, 2001, 4(4): 270 - 272.
- [5] 韩德五. 肝功能衰竭发病机制的研究 - 肠源性内毒素血症假说 [J]. 肝脏病杂志, 1995, 3(3): 134 - 137.
- [6] HODIN R A, SHEI A, MORIN M, et al. Thyroid hormone and the gut: selective transcriptional activation of a villus-enterocyte marker [J]. *Surgery*, 1996, 120(2): 138.
- [7] 杨连粤, 黄耿文. 外科危重病人正常甲状腺病态综合征的研究进展 [J]. 中华实验外科杂志, 2000, 20(2): 114 - 118.

(2012-02-14 收稿)