

甲状腺激素对大鼠急性肝衰竭肠粘膜屏障功能影响的实验研究

郭峰¹⁾, 胡敏²⁾, 何建平³⁾, 顾玲³⁾, 储平坤⁴⁾

(1) 昆明医科大学临床技能中心, 云南昆明 650031; 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) 昆明市呈贡区人民医院普外科, 云南呈贡 650500)

[摘要] **目的** 探讨急性肝衰竭 (acute hepatic failure, AHF) 时肠粘膜屏障功能损害及甲状腺激素 (thyroid hormone, TH) 代谢异常, 补充外源性甲状腺激素对损害的肠粘膜屏障的影响。 **方法** SD 大鼠 34 只, 随机分为 3 组: 正常对照组 (SO 组)、急性肝衰竭组 (AHF 组) 和治疗组 (AHF+TH 组)。腹腔内注射硫代乙酰胺 (thioacetamide, TAA) 模拟建立 AHF 模型。按 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的标准腹腔注射 TH, 取下腔静脉血检测 TH 水平及肝功能指标, 取门静脉血测内毒素水平, 取肝脏行普通 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 组肝功能较 AHF 组有改善 ($P < 0.05$), 内毒素水平有所降低, 小肠绒毛长度有所升高 ($P < 0.05$)。 **结论** 补充外源性 TH 在 AHF 时有一定的保护肝脏功能和减轻损伤、保护肠粘膜屏障的作用。

[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 - 0041 - 04

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

GUO Feng¹⁾, HU Min²⁾, HE Jian - ping³⁾, GU Ling³⁾, CHU Ping - kun⁴⁾

(1) Clinical Skill Training Center of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650031; 2) Medical College of Kunming College, Kunming Yunnan 650214; 3) Dept. of Hepatobiliary Surgery, of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032; 4) Dept. of General Surgery, Chenggong District People's Hospital, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the injury of intestinal mucosa barrier, the metabolic abnormalities of thyroid hormone, and the protective effect of exogenous thyroid hormone on intestinal mucosa barrier in rats with acute hepatic failure. **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). TH was administered intraperitoneally to correct the low TH syndrome of AHF rats. The blood in inferior vena cava was collected to detect the level of thyroid hormone and liver function, the blood in portal vein was collected to detect the level of endotoxin, and the liver was sampled to observe the pathological structure by HE staining, the length of intestinal villi was determined by image analysis system. **Results** Compared with AHF group, the liver function of rats in AHF+TH group was significantly improved ($P < 0.05$), the blood levels of endotoxin were decreased and the length of intestinal villi was extended ($P < 0.05$). **Conclusion** The supplement of exogenous thyroid hormone can protect intestinal mucosa barrier and the function of liver, and alleviate the injure of intestinal mucosa barrier in rats with acute hepatic failure.

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

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (81060361); 云南省应用基础研究基金资助项目 (2010zc169)

[作者简介] 郭峰 (1983 ~), 男, 辽宁朝阳市人, 医学硕士, 助教, 主要从事外科临床基础的教学与科研工作。胡敏和郭峰对本文有同等贡献

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

外科应激下肠道屏障作用出现异常并伴有一定程度甲状腺病态综合征的现象日益引起学界的广泛关注,笔者以硫代乙酰胺诱导大鼠发生急性肝衰竭,观察应激状态下补充外源性甲状腺激素人为纠正甲状腺病态综合征对大鼠急性肝衰竭时肝功能和肠粘膜屏障的影响,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 分组与动物模型

健康清洁 SD 大白鼠 34 只,体重约 220 ~ 250 g,雌雄不限,由昆明医科大学动物科提供。随机分为 3 组:正常组 (sham operation, SO 组) $n = 10$;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) $n = 12$ 。SO 组未予任何人为干预。根据 AHF 的诊断标准^[1-3]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 3 次。麻醉,固定,无菌条件下开腹取材,开腹前 12 h 禁食,自由饮水。

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

2.1 一般情况

SO 组动物无不良状况出现。AHF 组出现不同程度的精神萎靡,活动减少,进食减少,腹部高度膨隆 (中毒性鼓肠) 等。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。

肝功变化见表 2。DFM-96 型多管放射免疫计数器测定甲状腺素结果见表 3。偶氮显色法测门静

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 | 10 | 0(0) | 0(0) |
| AHF | 12 | 25%(3/12) | 91.67%(11/12) |
| AHF+TH | 12 | 17%(2/12) | 75%(9/12) |

表 2 各组大鼠肝功能检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 The liver function test result ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | ALT (U/L) | AST (U/L) | TB ($\mu\text{mol/L}$) |
|----------|----|------------------------------|------------------------------|----------------------------|
| SO 组 | 10 | 23.19 \pm 4.47 | 44.23 \pm 5.97 | 7.95 \pm 1.78 |
| AHF | 9 | 818.69 \pm 50.58* | 819.82 \pm 44.27* | 52.88 \pm 3.46* |
| AHF+TH 组 | 10 | 755.16 \pm 42.00* Δ | 764.63 \pm 42.61* Δ | 47.37 \pm 2.95* Δ |

与 SO 组相比, * $P < 0.01$; 与 AHF 组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

表 3 血清甲状腺素测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 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 | 10 | 3.360 \pm 0.753 | 4.856 \pm 0.347 | 0.127 \pm 0.019 | 0.267 \pm 0.023 |
| AHF | 9 | 1.362 \pm 0.436* | 2.933 \pm 0.250* | 0.128 \pm 0.035 | 0.496 \pm 0.012* |
| AHF+TH | 10 | 1.876 \pm 0.232* $\#$ | 4.255 \pm 0.275* Δ | 0.113 \pm 0.032 | 0.415 \pm 0.029* Δ |

与 SO 组相比, * $P < 0.01$; 与 AHF 组比较, $\Delta P < 0.01$; 与 AHF 组比较, $\#P < 0.05$ 。

脉血浆内毒素水平,见表 4。

2.2 光镜下肝脏组织病理学变化结果

SO 组肝细胞形态正常,胞浆丰富 (见图 1 图 2)。AHF 组大鼠肝组织呈片状坏死,肝细胞高度

肿胀,体积变大,部分细胞空泡变性,或见肝细胞脂肪样变性。可见肝细胞核碎裂,炎性细胞明显浸润,肝小叶尚清晰,肝索排列不整齐 (见图 3 图 4)。AHF+TH 组大鼠肝脏病理改变较急性肝功能衰

竭组均有所减轻, 肝细胞坏死面积减少, 仍有炎性细胞浸润 (见图 5 图 6).

HMIAS-2000 高清晰度彩色医学图文分析系统

表 4 各组门静脉血浆内毒素水平测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 The serum levels of endotoxin in portal vein of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

| 组 别 | n | 门静脉内毒素含量 (Eu/mL) |
|----------|----|------------------|
| SO 组 | 10 | 0.064 ± 0.011 |
| AHF 组 | 9 | 0.549 ± 0.052* |
| AHF+TH 组 | 10 | 0.502 ± 0.060* |

与 SO 组相比, * $P < 0.01$.

表 5 小肠粘膜肠绒毛长度统计结果 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 5 length of intestinal villi ($\bar{x} \pm s$)

| 组 别 | n | 肠绒毛长度 (μm) |
|--------|----|-----------------------------|
| SO | 10 | 1063.78 ± 47.45 |
| AHF | 9 | 600.89 ± 61.32* |
| AHF+TH | 10 | 678.47 ± 80.52 [△] |

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

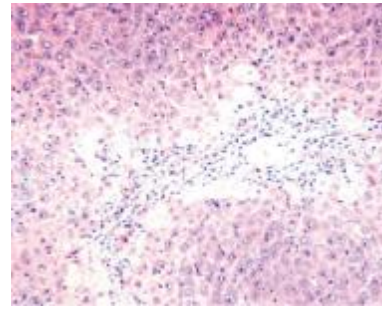


图 3 AHF 组肝组织 ($\times 200$)

Fig. 3 Liver tissue of AHF group ($\times 200$)

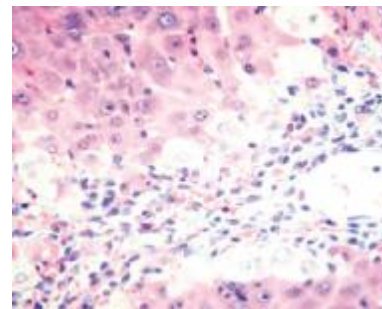


图 4 AHF 组肝组织 ($\times 400$)

Fig. 4 Liver tissue of AHF group ($\times 400$)

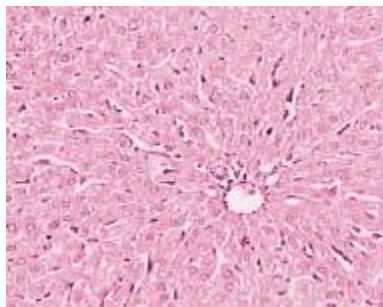


图 1 SO 组正常肝组织 ($\times 100$)

Fig. 1 Normal liver tissue of SO group ($\times 100$)

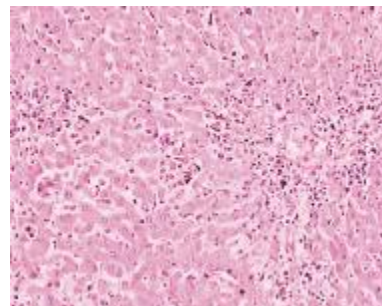


图 5 AHF+TH 组肝组织 ($\times 200$)

Fig. 5 Liver tissue of AHF+TH group ($\times 200$)

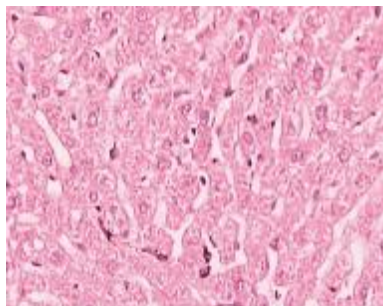


图 2 SO 组正常肝组织 ($\times 200$)

Fig. 2 Normal liver tissue of SO group ($\times 200$)

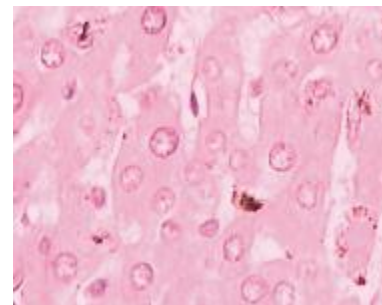


图 6 AHF+TH 组肝组织 ($\times 400$)

Fig. 6 Liver tissue of AHF+TH group ($\times 400$)

测肠粘膜绒毛高度结果见表 5.

3 讨论

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(IETM)与肝病的关系日益受到重视,二者互为因果,从而对肝病的发生发展产生重要影响^[5].特别是内毒素作用于肝脏后,引起多种细胞因子的分泌和释放,可导致肝内微循环障碍,肝损害的进一步加重,甚至出现黄疸、出血、肾功能衰竭与肝性脑病等肝功能衰竭临床综合征. TH 是维持机体生长、发育与代谢功能的重要激素,具有多种的生物学效应. TH 经血循环作用于全身多种组织细胞,主要是促进细胞的物质和能量代谢,以及与代谢有关的生长和发育过程^[6],提示补充外源性 TH 纠正低 FT3 状态可能具有改善代谢和保护脏器的功能. 近年的研究表明,补充外源性 TH 对外科重症时的器官有保护作用,这已在心、肺、器官移植中得到初步证实^[7,8]. 但甲状腺激素对肠屏障是否具有保护作用尚少见报道.

本实验采用建立大鼠 AHF 模型,显示 AHF 时大鼠发生了正常甲状腺的病态综合症(euthyroid sick syndrome, ESS)^[9]. 通过腹腔注射 TH 可以基本纠正这些大鼠所发生的 ESS. 通过相关检测指标观察到 AHF 组肠粘膜机械性屏障明显受损, AHF+TH 组肠粘膜屏障受损的程度明显减轻. 结果提示甲状腺激素对 AHF 时肠粘膜屏障具有明显的保护作用. 此外,笔者还观察到 AHF+TH 组大鼠脓毒症表现较 AHF 组明显减轻,肝功能有所改善. 以上实验结果提示,适时补充外源性甲状腺

激素可以改善 AHF 时肝功能,延缓恶化,减轻了肠粘膜机械性屏障的损伤和肠源性内毒素血症,预防或减缓 MODS 的发生,从而改善预后. 其对临床在重症的治疗上有一定应用价值,且因为其价格便宜在未来的实际应用中有很大的优势.

[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]. Hepatol, 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] 金德, 刘军桂. 甲状腺素对肠缺血-再灌注肠粘膜屏障功能的保护作用 [J]. 中国临床医学, 2006, 13(4): 606 - 607.
- [5] 朱旭阳, 戴昌华, 王丹凤, 等. 甲状腺素对重症急性胰腺炎肠黏膜屏障功能的保护作用 [J]. 实用临床医药杂志, 2010, 14(9): 102 - 103.
- [6] 石慧琳. 应激对肠道屏障功能影响的研究进展 [J]. 国外医学(消化系疾病分册), 2003, 23(3): 164 - 167.
- [7] CHIEVELEY-WILLIMAS, HAMILTON-DVAIES C. The role of the gut in major surgical post-operative morbidity [J]. Int Anesthesiol Clin, 1999, 37(2): 81 - 110.
- [8] 叶任高, 陆再英. 内科学 [M]. 第 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 730 - 731.
- [9] 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, 202: 114 - 118.

(2012 - 03 - 10 收稿)