

卡巴胆碱联合膳食纤维对烫伤休克大鼠肠屏障的保护作用

赵春香,王瑞刚,张磊,贺瑞新,冯凯,张红梅,李冬梅

[摘要] **目的:**探讨卡巴胆碱联合膳食纤维对烫伤休克大鼠肠屏障的保护作用。**方法:**以 30% 总体表面积Ⅲ度烫伤 Wistar 大鼠 80 只为动物实验模型,随机分为 0.9% 氯化钠注射液对照组(A 组)、膳食纤维治疗组(B 组)、卡巴胆碱治疗组(C 组)和膳食纤维 + 卡巴胆碱治疗组(D 组)各 20 只,各组分别在伤后 6、12、24、48、72 h 处死大鼠 4 只。另设正常对照组(N 组,4 只)。取小肠在光镜下观察各组病理形态变化,取门静脉血测血浆内毒素变化,取腹主动脉血测血浆 D-乳酸变化。**结果:**各烫伤组大鼠肠组织受损明显,血浆内毒素、D-乳酸水平均明显高于 N 组($P < 0.01$),伤后 12 ~ 24 h 最显著,至 72 h 仍不能恢复;联合应用或单用卡巴胆碱与膳食纤维,均可降低大鼠血浆内毒素和 D-乳酸水平($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。**结论:**早期联用卡巴胆碱与膳食纤维对烫伤后大鼠肠屏障道有明显保护作用,一定程度上优于单用卡巴胆碱或膳食纤维的治疗效果。

[关键词] 烧伤;卡巴胆碱;内毒素;D-乳酸;肠屏障;膳食纤维

[中图分类号] R 644 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2016.05.002

The protective effect of carbachol combined with dietary fiber on the intestinal barrier in rats with burn shock

ZHAO Chun-xiang, WANG Rui-gang, ZHANG Lei, HE Rui-xin, FENG Kai, ZHANG Hong-mei, LI Dong-mei

(Department of NICU, The Affiliated Hospital of North China University of Technology, Tangshan Hebei 063000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the protective effects of carbachol combined with dietary fiber on the intestinal barrier in rats with burn shock. **Methods:** The animal model of 80 Wistar rats with 30% TBSA Ⅲ° burn were established, and randomly divided into the saline injection group (group A), dietary fiber treatment group (B group), carbachol treatment group (group C) and carbachol combined with dietary fiber treatment group (group D) (20 rats each group). The 4 rats in each group were sacrificed at 6, 12, 24, 48 and 72 hours after injury, respectively. The 4 normal rats were set as the control group (group N). The pathomorphological change of small intestine was observed under light microscope, the plasma levels of endotoxin in portal vein and D-lactic acid in abdominal aorta were detected. **Results:** The damage of the intestinal tissue in each burn group was significant. The plasma levels of endotoxin and D-lactic acid in all burn rats were significantly higher than those in group N, which arrived at peak at 12 to 24 hours after injury, and did not recover until 72 hours after injury. The treatment of the carbachol combined with dietary fiber of single carbachol or dietary fiber could significantly decrease the levels of the plasma endotoxin and D-lactic acid ($P < 0.05$ to $P < 0.01$). **Conclusions:** The early application of carbachol combined with dietary fiber has markedly protective effect on intestinal barrier in burn rats, the treatment effect of which is better than that in single treatment of carbachol or dietary fiber to some extent.

[Key words] burn; carbachol; endotoxin; D-lactic acid; intestinal barrier; dietary fiber

胃肠道是人的主要消化器官,也是最大的细菌储存器官,容纳细菌数量高达 10^{12} 个^[1]。正常生理情况下,肠道有着重要的屏障作用,称之为肠屏障,由机械屏障、化学屏障、微生物屏障和免疫屏障等组成。严重创伤、烧(烫)伤等可造成肠黏膜屏障的损伤、萎缩,使肠通透性增加,肠菌群失调,造成肠屏障破坏或功能障碍,从而导致细菌和/或内毒素易位,炎症因子释放,并可诱发和加重全身炎症反应和

多器官功能障碍(MODS)^[2-3]。随着相应研究和临床实践的深入,肠屏障保护越来越受到重视。我们制备 30% 总体表面积(TBSA)Ⅲ度烫伤大鼠模型,探讨卡巴胆碱联合膳食纤维对肠屏障的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及材料 清洁级成年雄性 Wistar 大鼠 84 只,购自中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所动物实验中心,体质量 300 g (± 20 g)。复合膳食纤维购于 Nutricia (荷兰)制药有限公司,不可溶性膳食纤维(耐消化淀粉:纤维素 = 1:1)与可溶性膳食纤维(菊粉:低聚果糖:阿拉伯胶 = 1:1:1)比例为 3:1,加水配成 200 g/L 的液体。卡巴胆碱购于美国 Sigma 公司。0.9% 氯化钠

[收稿日期] 2014-12-17

[基金项目] 河北省卫计委指令性课题(ZL20140187)

[作者单位] 华北理工大学附属医院 NICU,河北唐山 063000

[作者简介] 赵春香(1976-),女,硕士,主管护师。

[通信作者] 王瑞刚,主任医师,副教授。E-mail:18632511199@163.com

注射液购于石家庄四药集团。

1.2 方法 80 只大鼠制备 30% TBSA Ⅲ度烫伤动物模型,随机分为 0.9% 氯化钠注射液对照组(A 组)、膳食纤维治疗组(B 组)、卡巴胆碱治疗组(C 组)和膳食纤维+卡巴胆碱治疗组(D 组)各 20 只,各组再分为 6、12、24、48、72 h 5 个时间点,每个时间点各处死 4 只大鼠,另设正常对照组(N 组)4 只。均于术前 12 h 禁食,不禁水。A、B、C、D 4 组 10% 水合氯醛溶液(300 mg/kg)腹腔注射麻醉后,6% 硫化钠脱去大鼠肩部至髁部 30% TBSA 毛发^[4],置入 97~99 °C 沸水 25 s,制备 30% TBSA Ⅲ度烫伤大鼠模型^[5-6],伤后立即按 Parkland 公式补液,24 h 总量按每 1% TBSA 补液 4 mL/kg 给予,前 8 h 给予 1/2 量,剩余 1/2 量在后 16 h 以输液泵匀速泵入。伤后 2 h,C、D 组大鼠腹腔注射卡巴胆碱 30 μg/kg。伤后 3 h,A 组予 0.9% 氯化钠注射液灌胃,B、D 组予复合膳食纤维灌胃,每天 125 mg/kg,均匀分 6 次给予(每 4 h 1 次),直至处死。N 组大鼠不作处理。期间各组大鼠自由饮水。

1.3 检测指标

1.3.1 肠道损伤情况 取回盲部小肠组织,体积分数 10% 的中性甲醛溶液固定,常规制片,苏木精伊红染色后进行组织学检查,并对小肠损伤情况进行评价^[7]:0 分,无异常改变;0.5 分,肠黏膜水肿、充血,无坏死性病变;1 分,病变局限,肠黏膜有散在性出血点;2 分,坏死累及表浅黏膜,黏膜中有多区域出血;3 分,全层坏死并伴肠腔出血。

1.3.2 血浆 LPS 测定 所用物品均经去热源处理。严格按无菌操作规程取门静脉血 1.5 mL,5 000 r/min 离心 5 min 取上层血清,置入 -80 °C 冰箱保存备检。按照大鼠血浆 LPS ELISA 试剂盒(购于 Bio Swamp 公司)使用说明书检测。

1.3.3 血浆 D-乳酸测定 穿刺腹主动脉,取血 4~5 mL,5 000 r/min 离心 5 min,取上层血清,置入

-80 °C 冰箱保存备检。按照大鼠血浆 D-乳酸 Elisa 试剂盒(购于 Bio Swamp 公司)使用说明书检测。

1.4 统计学方法 采用方差分析和 *q* 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠小肠病理学标本观察和小肠损伤评分比较 烫伤后,各组大鼠的小肠黏膜出现固有层水肿,中性粒细胞及淋巴细胞浸润,部分黏膜上皮细胞变性、坏死、脱落;肠绒毛横径增宽,高度缩短。各烫伤组烫伤后 6、12、48 和 72 h 小肠损伤评分差异均无统计学意义($P > 0.05$);各烫伤组烫伤后 24 h,A 组小肠损伤评分均高于其他烫伤组($P < 0.05$),而 B、C 和 D 组小肠损伤评分差异均无统计学意义($P > 0.05$)(见表 1)。

表 1 各组大鼠烫伤后小肠损伤评分比较($n_i = 4; \bar{x} \pm s; \text{分}$)

分组	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
A 组	0.750 ± 0.289	2.000 ± 0.817	1.500 ± 0.574	1.125 ± 0.629	0.750 ± 0.289
B 组	0.625 ± 0.250	1.250 ± 0.500	0.750 ± 0.289 *	0.500 ± 0.408	0.250 ± 0.289
C 组	0.750 ± 0.287	1.250 ± 0.500	0.750 ± 0.289 *	0.375 ± 0.250	0.250 ± 0.289
D 组	0.750 ± 0.289	1.125 ± 0.629	0.750 ± 0.289 *	0.375 ± 0.250	0.250 ± 0.289
<i>F</i>	0.20	1.64	3.88	3.00	2.99
<i>P</i>	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05
<i>MS</i> _{组内}	0.078	0.391	0.145	0.172	0.084

q 检验:与 A 组比较 * $P < 0.05$

2.2 N 组和烫伤组大鼠烫伤后不同时点血浆 LPS 比较 烫伤后 6~72 h,各烫伤组大鼠血浆 LPS 水平均明显高于 N 组($P < 0.01$)。各烫伤组烫伤后 6 h 和 12 h 血浆 LPS 水平差异均无统计学意义($P > 0.05$);各烫伤组烫伤后 24 h 和 48 h 血浆 LPS 水平均低于 A 组($P < 0.05 \sim P < 0.01$);B 组和 C 组 24 h 和 72 h 血浆 LPS 水平均高于 D 组($P < 0.05$);C 组和 D 组烫伤后 72 h 血浆 LPS 水平均低于 A 组($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)(见表 2)。

表 2 N 组和各烫伤组大鼠烫伤后不同时间 LPS 水平比较($n_i = 4; \bar{x} \pm s; \text{EU/L}$)

分组	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
N 组	0.028 ± 0.011	0.028 ± 0.011	0.028 ± 0.011	0.028 ± 0.011	0.028 ± 0.011
A 组	0.091 ± 0.009 **	0.534 ± 0.016 **	0.706 ± 0.083 **	0.368 ± 0.104 **	0.136 ± 0.021 **
B 组	0.098 ± 0.021 **	0.518 ± 0.024 **	0.602 ± 0.033 ** _{##} △	0.276 ± 0.028 ** _{##}	0.107 ± 0.019 ** _{##} △
C 组	0.086 ± 0.007 **	0.511 ± 0.026 **	0.599 ± 0.028 ** _{##} △	0.266 ± 0.013 ** _{##}	0.110 ± 0.008 ** _{##} △
D 组	0.093 ± 0.018 **	0.493 ± 0.021 **	0.516 ± 0.032 ** _{##}	0.226 ± 0.020 ** _{##}	0.073 ± 0.020 ** _{##}
<i>F</i>	16.49	458.51	143.94	25.73	25.00
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
<i>MS</i> _{组内}	0.000 2	0.000 4	0.002 0	0.002 5	0.000 3

q 检验:与 N 组比较 ** $P < 0.01$;与 A 组比较 # $P < 0.05$,## $P < 0.01$;与 D 组比较 △ $P < 0.05$

2.3 N 组和烫伤组大鼠烫伤后不同时点血浆 D-乳酸测定结果比较 烫伤后 6、12 和 72 h,各烫伤组大鼠血浆 D-乳酸水平均明显高于 N 组 ($P < 0.01$),但各烫伤组大鼠血浆 D-乳酸水平差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。D 组烫伤 24 h 和 48 h 后 D-乳酸水

平均低于 A 组 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$),但 A、B 和 C 组差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。D 组烫伤后 24 h 血浆 D-乳酸水平明显低于 B 组和 C 组 ($P < 0.01$) (见表 3)。

表 3 N 组和各烫伤组大鼠烫伤后不同时间血浆 D-乳酸水平比较 ($n_i = 4; \bar{x} \pm s; \mu\text{g/L}$)

分组	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
N 组	22.210 ± 5.008	22.210 ± 5.008	22.210 ± 5.008	22.210 ± 5.008	22.210 ± 5.008
A 组	111.863 ± 20.191 **	162.108 ± 11.601 **	131.567 ± 8.124 **	88.218 ± 4.959 **	70.485 ± 6.730 **
B 组	119.745 ± 19.406 **	148.316 ± 17.476 **	123.686 ± 4.959 $\Delta\Delta$	80.337 ± 10.364 **	51.766 ± 3.218 **
C 组	120.730 ± 10.426 **	139.449 ± 25.208 **	122.700 ± 8.513 $\Delta\Delta$	78.366 ± 13.021 **	51.766 ± 3.218 **
D 组	103.982 ± 15.557 **	134.523 ± 8.513 **	103.982 ± 13.412 $\#\#$	64.574 ± 13.021 $\#\#\#$	46.840 ± 3.773 **
F	29.87	54.18	110.30	27.86	56.47
P	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01
MS _{组内}	232.176	234.759	73.766	99.397	21.225

q 检验:与 N 组比较 * $P < 0.01$;与 A 组比较 $\#P < 0.05$, $\#\#P < 0.01$;与 D 组比较 $\Delta\Delta P < 0.01$

3 讨论

肠缺血-再灌注是烧/烫伤后最常见的病理生理过程。肠上皮细胞是肠屏障的重要组成部分,对缺血、缺氧十分敏感。缺血、缺氧可引起肠上皮细胞结构、功能的改变,导致肠屏障功能障碍,引起细菌和内毒素的移位,与脓毒症和 MODS 的发生有密切关系,是机体遭受“二次打击”的来源^[8-9]。如何减轻机体创伤后肠屏障的损害,减少细菌和内毒素移位,一直是防治脓毒症和 MODS 研究的重要课题。

膳食纤维是指能抗人体小肠消化吸收而能在大肠部分或全部发酵的可食用植物性成分、碳水化合物及其类似物质^[10-11]。研究^[12-16]证实,膳食纤维是消化过程中所需要的重要营养素,能够促进肠蠕动,抑制肠道细菌的生长,调节肠道菌群的生态平衡,有助于维护肠黏膜结构的完整性,降低肠道通透性,对肠黏膜有明显营养和保护作用。而卡巴胆碱是一种胆碱能受体激动药,能同时兴奋胆碱能 M 受体和 N 受体,其兴奋 M 受体可促进胃肠动力,扩张血管;兴奋 N 受体与胆碱能抗炎通路有关。相关研究^[17-20]表明,卡巴胆碱既能改善肠道微循环,扩张血管增加肠黏膜血流量,又能够显著降低肠缺血-再灌注损伤后肠组织炎症反应,减少炎症因子释放,减轻肠缺血-再灌注时肠上皮细胞的损害,从而起到保护肠屏障功能。

我们以 30% TBSA III 度烫伤 Wistar 大鼠为动物模型,研究烧伤早期联合应用复合膳食纤维与卡巴胆碱对肠屏障的保护作用,并与单独应用卡巴胆碱

或膳食纤维时相比较。目前有多种检测肠屏障损伤的指标,本研究中我们选择的是光镜下的肠结构变化和血浆 LPS、D-乳酸水平变化。实验结果显示,烫伤后 24 h, B、C 和 D 组小肠损伤评分均低于 A 组 ($P < 0.05$)。烫伤后 24 h 和 48 h, B、C 和 D 组血浆 LPS 水平均低于 A 组 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$);烫伤后 24 h 和 72 h, D 组血浆 LPS 水平均低于 B 组和 C 组 ($P < 0.05$);烫伤后 72 h, C 组和 D 组血浆 LPS 水平均低于 A 组 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。烫伤后 24 h 和 48 h D 组 D-乳酸水平均低于 A 组 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$),但 A、B 和 C 组差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);烫伤后 24 h, D 组血浆 D-乳酸水平明显低于 B 组和 C 组 ($P < 0.01$)。提示单用或者联合应用卡巴胆碱和膳食纤维均对肠屏障有明显保护作用,且联合应用对肠道的保护要优于单用。

综上,联合应用卡巴胆碱与膳食纤维对烫伤后大鼠肠屏障道有保护作用,启动时间较早,一定程度上优于单用卡巴胆碱或膳食纤维。文献检索发现,国内外尚未见有与本研究相似的研究报道,但本研究仅是初步研究,样本量较小,仍需进一步的动物试验和临床研究。

[参 考 文 献]

- [1] 黎鳌,杨宗城. 烧伤学[M]. 上海:上海科技出版社,2001:11.
- [2] 中华医学会消化病学分会. 肠屏障功能障碍临床诊治建议[J]. 中华消化杂志,2006,26(9):620.
- [3] MOORE FA. The role of the gastrointestinal tract in postinjury multiple organ failure[J]. Am J Surg,1999,178(6):449.
- [4] 铁茹,刘利兵,李旭波,等. 硫化钠脱毛剂最佳脱毛浓度的探讨[J]. 陕西医学杂志,2009,38(10):1283.
- [5] 任鹏,官大威,赵锐,等. 小鼠皮肤烫伤模型的建立[J]. 法医

- 学杂志,2012,28(2):92.
- [6] 张宪发,梁自乾,宗守凯,等.应用表皮生长因子治疗深Ⅱ度烧伤创面疗效的 Meta 分析[J].中国组织工程研究与临床康复,2011,15(41):7779.
- [7] SCHLAG G, REDL H, VAN VUUREN CJ, *et al.* Hyperdynamic sepsis in baboons II: relation of organ damage to severity of sepsis evaluated by a newly developed morphological scoring system [J]. *Circ Shock*, 1992, 38(4):253.
- [8] MOLE DJ, TAYLOR MA, MCFERRAN NV, *et al.* The isolated perfused liver response to a second hit of Portal endotoxin during sever acute pancreatitis [J]. *Pancreatoloy*, 2005, 5(4):475.
- [9] CLOSA D, FOLCH-PUY E. Oxygen free radicals and the systemic inflammatory response [J]. *IUBMB Life*, 2004, 56(4):185.
- [10] 邹玉红,高登征,吕英海,等.膳食纤维对疾病防治作用的研究 [J]. *食品科技营养保健*, 2008, 33(8):254.
- [11] 张鑫毅,孔建琴.膳食纤维与健康 [J]. *国外医学:卫生学分册*, 2007, 34(3):169.
- [12] 王瑞刚,邱方,邱涵坤,等.膳食纤维对弥漫性脑损伤大鼠肠黏膜屏障的保护作用 [J]. *肠外与肠内营养*, 2012, 19(3):164.
- [13] 夏萍,王瑞刚,蒲国华,等.不同膳食纤维对颅脑损伤大鼠肠屏障的保护作用 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2006, 26(2):187.
- [14] ICHIKAWA H, SHINEHA R, SATOMI S, *et al.* Gastric or rectal instillation of short-chain fatty acids stimulates epithelial cell proliferation of small and large intestine in rats [J]. *Dig Dis Sci*, 2002, 47(5):1141.
- [15] SATOH H, HARA T, MURAKAWA D, *et al.* Soluble dietary fiber protects against nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced damage to the small intestine in cats [J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55(5):1264.
- [16] 贺瑞新,邱方,王瑞刚,等.早期饲喂纯膳食纤维对大鼠肠屏障的保护作用研究 [J]. *中国医药*, 2007, 2(8):464
- [17] 邹晓防,林凯,吕艺,等.缺血-再灌注时卡巴胆碱对大鼠肠上皮细胞的保护作用 [J]. *世界华人消化杂志*, 2007, 15(6):625.
- [18] 李玉,姚树桐,刘秀华,等.卡巴胆碱对烧伤大鼠肠系膜微循环的影响 [A]//国际血瘀证及活血化瘀研究学术大会.中西医结合防治循环系统疾病高层论坛论文集 [C].北京:中国中西医结合学会,2007:3.
- [19] 胡森,曹卫红,孙丹,等.卡巴胆碱对肠部分缺血-再灌注损伤所致全身炎症反应和多器官功能障碍的影响 [J]. *中国危重病急救医学*, 2005, 17(1):49.
- [20] 程爱斌.卡巴胆碱对胃肠功能障碍的保护作用 [D].天津:天津医科大学,2013.
- [21] 黎君友,吕艺,付小兵,等.二胺氧化酶在创伤后肠道损伤中变化及意义 [J]. *中国危重病急救医学*, 2000, 12(8):482.

(本文编辑 卢玉清)

(上接第 562 页)

研究采用的 3D-Doctor 软件是由美国 Able Software 公司研发的一个先进的三维处理软件,同时也被美国食品与药品管理局认证^[5]。该软件重建速度快,操作简易,硬件要求低,可以广泛应用,还可以进行三维图像分割、表面渲染、翻转、透明化、半透明化、测量等处理技术^[6]。图像分割简单来说就是对感兴趣区域进行分割处理,提取感兴趣区域。本实验采用手动分割方法,剔除颅骨影响对额上沟形态进行探讨。

额上沟位于两侧大脑靠近大脑镰方向,前后走行,额上沟位于脑表面在性别和侧别以及年龄上存在很大程度上的变异。额上沟在健康成年人以及与病理状态下对比更能发现其变异的情况,这更加增加对额上沟认识和理解的困难。三维可视化模型可以看出额上沟走行较为扭曲,侧脑室呈“C”形,侧脑室体部与额上沟中断呈近似平行的走行。额叶是脑外伤及肿瘤的好发区域。目前对于侧脑室手术的选择公认的有经额部皮质和经胼胝体入路^[7]。所以认识额上沟整体观对指导额叶手术具有重要意义。RHOTON^[8]指出额极属于脑手术入路的解剖标志,同时额上沟也是侧脑室手术入路之一。近来,利用 VR 技术实现了额叶脑沟重建状态下的手术设计和

量化^[9]。所以建立额上沟的三维可视化模型对了解额上沟的解剖结构及指导额叶手术具有重要意义。

[参 考 文 献]

- [1] 唐雷.数字医学技术与精准外科手术 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2012, 28(1):7.
- [2] 陈春林,段慧.数字化三维影像学于子宫肌瘤子宫动脉栓塞治疗 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2016(2):139.
- [3] 王震寰.计算医学-应对大数据的挑战向临床转化 [J]. *蚌埠医学院学报*, 2014, 39(1):1.
- [4] 吴义根,李可. SPM 软件包数据处理原理简介-第二部分:应用于 PET 及 fMRI [J]. *中国医学影像技术*, 2004, 20(11):1772.
- [5] NI Y, SHA Y, DAI P, *et al.* Quantitative morphology of facial nerve based on three-dimensional reconstruction of temporal bone [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2008, 138(1):23.
- [6] 江贵平,秦文健,周寿军,等.医学图像分割及其发展现状 [J]. *计算机学报*, 2015, 38(6):1222.
- [7] 王延召,杜建新,单永治,等.巨大侧脑室体部肿瘤显微外科手术入路的选择 [J/CD]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2013(12):196.
- [8] RHOTON AL. RHOTON·颅脑解剖及手术入路 [M].北京:中国科学技术出版社,2010:29.
- [9] 汤可,鲍圣德,周敬安,等.虚拟现实技术量化经额入路显露海绵窦区显微解剖研究 [J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2011, 11(6):590.

(本文编辑 刘璐)