

结肠途径治疗对高温中暑狗肝脏的保护作用

姚欣, 冯子坛, 白启轩, 吉丽, 贾昭, 吴颖, 刘文格, 孙蓉

■背景资料

肝脏是中暑患者最易损伤的部位之一, 目前中暑肝损伤尚无有效的治疗方法。临床上治疗中暑肝损伤主要是降温、支持、对症治疗, 但死亡率仍高。

姚欣, 冯子坛, 白启轩, 吉丽, 贾昭, 吴颖, 刘文格, 孙蓉, 白求恩国际和平医院消化内科 河北省石家庄市 050082
通讯作者: 姚欣, 050082, 河北省石家庄市中山西路398号, 白求恩国际和平医院消化内科. xinyaoyongpeng@126.com
收稿日期: 2006-09-24 接受日期: 2006-10-26

Effects of colon hydrotherapy on liver injury induced by hyperthermia in dogs

Xin Yao, Zi-Tan Feng, Qi-Xuan Bai, Li Ji, Zhao Jia, Ying Wu, Wen-Ge Liu, Rong Sun

Xin Yao, Zi-Tan Feng, Qi-Xuan Bai, Li Ji, Zhao Jia, Ying Wu, Wen-Ge Liu, Rong Sun, Department of Gastroenterology, Bethune International Peace Hospital, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China

Correspondence to: Xin Yao, Department of Gastroenterology, Bethune International Peace Hospital, 398 Zhongshan West Road, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China. xinyaoyongpeng@126.com

Received: 2006-09-24 Accepted: 2006-10-26

Abstract

AIM: To investigate the effect of colon hydrotherapy on the liver injury induced by hyperthermia in dogs.

METHODS: After the dog models of heat stroke were set up, the dogs were randomly divided into two groups, receiving colon hydrotherapy and conventional therapy, respectively. Cooling time as well as serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) levels before heat stroke, 6, 24 and 48 h after heat stroke were determined. The dogs were sacrificed 48 h after heat stroke. The contents of liver MDA and SOD were also measured and pathological changes were observed by light and electron microscopy.

RESULTS: In compared with those in conventional therapy group, the cooling time of dogs in colon hydrotherapy group was decreased ($t = 5.39, P < 0.01$), accompanied with reduced ALT, AST, MDA and elevated SOD at the 24th ($t = 3.46, P < 0.01; t = 3.74, P < 0.01; t = 2.43, P < 0.05; t = 2.44, P < 0.05$) and 48th ($t = 3.33, P < 0.01;$

$t = 2.97, P < 0.05; t = 3.32, P < 0.01; t = 4.34, P < 0.01$) after heat stroke. The content of liver MDA was decreased ($t = 4.08, P < 0.01$) while that of SOD was increased ($t = 6.52, P < 0.01$) in colon hydrotherapy group. The values of LDH were similar between the two groups ($P > 0.05$). Light microscopy showed that hepatocellular cholestasis, fatty changes and focal necrosis were lessened, accompanied by lessened congestion of sinus hepaticus and decreased inflammatory cells in colon hydrotherapy group. In addition, ultrastructural observation showed that fusion of mitochondrial cristae and degranulation of rough endoplasmic reticulum were decreased in colon hydrotherapy group.

CONCLUSION: Colon hydrotherapy is a more rapid cooling technique than conventional therapy, and it can promote the decrease of serum enzymes and relieve the hepatic injury induced by lipid peroxidation and pathological lesion.

Key Words: Colon hydrotherapy; Dogs; Hyperthermia; Liver disease

Yao X, Feng ZT, Bai QX, Ji L, Jia Z, Wu Y, Liu WG, Sun R. Effects of colon hydrotherapy on liver injury induced by hyperthermia in dogs. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(1):64-68

摘要

目的: 探讨结肠途径治疗对高温中暑狗肝脏的保护作用。

方法: 建立高温中暑狗的动物模型, 将狗随机分为两组(肠疗组、常规组), 比较两组的降温时间, 测定两组中暑前、中暑后6, 24, 48 h的血谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)水平。中暑后48 h处死狗, 测定肝脏MDA和SOD含量, 并行肝脏光镜和电镜病理学检查。

结果: 与常规组相比, 肠疗组降温时间明显缩短($t = 5.39, P < 0.01$); 血ALT, AST, MDA在中暑后24 h ($t = 3.46, P < 0.01; t = 3.74, P < 0.01;$

$t = 2.43, P < 0.05$)和48 h ($t = 3.33, P < 0.01$; $t = 2.97, P < 0.05$; $t = 3.32, P < 0.01$)均明显降低, 血SOD在中暑后24 h ($t = 2.44, P < 0.05$)和48 h ($t = 4.34, P < 0.01$)明显增高; 肝脏MDA明显下降($t = 4.08, P < 0.01$), SOD明显升高($t = 6.52, P < 0.01$). 两组血LDH各时间点均无显著性差异. 病理学检查光镜下可见肠疗组肝细胞淤胆、脂肪变性、坏死等损害较常规组明显减轻, 肝窦充血减轻, 炎细胞浸润较少. 电镜下见肠疗组线粒体嵴融合及粗面内质网脱颗粒现象较常规组减轻.

结论: 结肠途径治疗可加快高温中暑狗降温速度, 促进血清酶恢复, 减轻肝脏脂质过氧化损伤和病理损害, 对高温中暑狗肝脏具有保护作用.

关键词: 结肠途径治疗; 狗; 高温; 肝脏疾病

姚欣, 冯子坛, 白启轩, 吉丽, 贾昭, 吴颖, 刘文格, 孙蓉. 结肠途径治疗对高温中暑狗肝脏的保护作用. 世界华人消化杂志 2007;15(1):64-68

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/64.asp>

0 引言

中暑是环境高温和/或剧烈体力活动时, 因热作用而引起的一种急性热致疾病. 重症中暑可导致多器官、系统的功能不全或衰竭, 死亡率可高达10%-75%^[1]. 其中, 肝脏是中暑患者最易损伤的部位之一, 几乎所有的中暑患者都有肝组织损伤^[1]. 近年研究表明, 中暑时多器官功能损伤与高热的细胞毒作用、细胞因子过度释放、内毒素血症、凝血异常等因素复杂的交互作用有关^[2-9]. 实验及临床研究证明, 结肠途径治疗可以降温, 清除肠腔病原体及其毒素, 清除促炎因子, 减轻内毒素血症^[10-12], 而其对高温中暑的治疗作用尚未见报道. 本实验旨在探讨结肠途径治疗对高温中暑狗肝脏是否具有保护作用, 以期为其应用于临床提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 普通级杂种狗由白求恩国际和平医院实验动物中心提供, 体质量13-16 kg, 雌雄不限. 8803型电子测温仪, 购自台湾衡欣科技股份有限公司. Clean Master型结肠途径治疗机, 购自北京智立医学仪器公司. 丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒购自南京建成生物工程研究所. 谷丙转氨酶、谷草转氨酶、乳酸脱氢酶测定试剂盒购自北京九强公司.

1.2 方法

1.2.1 建立中暑动物模型 参照White *et al*^[13]方法并加以改进, 14只杂种狗动物随机分为2组: 中暑结肠途径治疗组(肠疗组)7只, 中暑常规治疗组(常规组)7只. 在本实验室常温下饲养1 wk后开始实验. 术前12 h禁食, 自由饮水. 2组狗以20 g/L的硫喷妥钠15-20 mg/kg静脉麻醉后, 行气管插管, 呼吸机辅助呼吸, 将狗置于恒温恒湿箱中(本实验室自制), 箱内气象条件: 温度42℃, 湿度60%-70%, 并同时应用电子测温仪监测深部鼻腔温度, 以此反映动物脑的温度^[14]. 待狗深部鼻腔温度达43℃后, 降低箱内温度, 使此温度维持43℃达10 min. 之后将狗取出.

1.2.2 降温方法 2组狗均置于温度23℃, 湿度65%的室温下降温, 常规组给予冰袋置于大动脉处(颈部两侧、两侧腋窝、腹股沟)降温, 肠疗组应用进行结肠途径治疗降温. 结肠途径治疗液组成: 甘露醇200 g, 葡萄糖100 g, 加去离子水至20 000 mL, 液体温度经结肠治疗系统控制在37-38℃之间. 将探头插入直肠10 cm, 进水管缓慢插入60 cm至升结肠, 调节注水速度为200 mL/min. 2组狗从恒温恒湿箱中取出后立即行冰袋降温或结肠途径治疗, 待狗体温下降至38℃时降温结束. 分别记录2组的降温时间. 2组狗麻醉清醒后, 均解除外固定, 自由饮用50 g/L葡萄糖水, 每日观察并记录一般情况. 肠疗组第一次结肠途径治疗后间隔24, 48 h行第2, 3次治疗, 每次治疗时间为100 min. 2组狗中暑前(0 h)及中暑后6, 24, 48 h采集静脉血5 mL, 并于第3次结肠途径治疗结束后处死. 定位切取狗肝右叶组织标本, 部分肝脏标本放入10 g/L甲醛固定用于普通光镜检查, 部分肝脏标本放入40 g/L戊二醛固定用于电镜检查, 部分肝脏标本以无菌生理盐水漂洗后-20℃保存, 用于MDA和SOD测定.

1.2.3 血清学指标的测定 血液凝固后, 1000 r/min离心10 min, 分离血清于-20℃保存. 采用全自动生化分析仪测定ALT, AST, LDH. 应用黄嘌呤氧化酶法测定SOD活力, 硫代巴比妥酸法测定MDA活力, 具体操作参照试剂盒说明书进行.

1.2.4 肝脏MDA, SOD测定 取冻存肝组织, 称质量、剪碎、匀浆, 测定方法同前, 具体操作参照试剂盒说明书进行.

1.2.5 组织病理学检测 将部分肝组织标本, 剪成大小约0.5 cm×1 cm×1 cm, 放入10 g/L甲醛, 固定24-48 h, 然后脱水、透明、石蜡包埋, 切片, 切成约5 μm厚, HE染色. 将部分肝组织标本, 以

■创新盘点

文献报道结肠途径治疗可降温和改善肝功能, 但未见治疗中暑的报道. 本文研究结肠途径治疗对高温中暑肝脏是否具有保护作用.

■应用要点

结肠途径治疗不仅可降温,而且对高温中暑肝脏具有保护作用;操作简便,无副作用,适合临床推广应用。

表 1 肠疗组和常规组降温速度的比较(mean ± SD)

分组	造模前温度(°C)	降温时间(min)	降温速度(°C/min)
肠疗组	37.60 ± 0.72	92.88 ± 9.50 ^b	0.049 ± 0.005 ^b
常规组	37.53 ± 0.44	123.43 ± 11.60	0.037 ± 0.003

^b $P < 0.01$ vs 常规组。

快刀切成大小约0.1 cm × 0.1 cm × 0.1 cm, 放入40 g/L戊二醛中, 固定72 h, 送透射电镜检查。

统计学处理 应用SPSS11.0统计软件进行统计学分析, 计量资料以mean ± SD表示, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况比较 中暑后观察48 h, 2组狗均无死亡。中暑后24 h, 2组狗均有不同程度的精神萎靡、懒动、反应迟钝、不思饮水现象, 中暑后48 h, 肠疗组大部分(5/7)基本恢复正常, 常规组部分(2/7)基本恢复。常规组1例出现四肢肌张力增高, 去大脑强直, 给予对症治疗后未恢复, 余动物未出现明显神经系统异常。

2.2 降温速度的比较 与常规组相比, 肠疗组降温时间缩短, 降温速度加快, 差异有统计学意义($P < 0.01$)(表1)。

2.3 血清学指标的比较 狗高温中暑后, ALT, AST, LDH, MDA均较中暑前升高, SOD下降。与常规组相比, 肠疗组24和48 h ALT, AST, MDA均明显降低($P < 0.05$), 血SOD明显增高($P < 0.05$), 2组LDH各时间点均无显著性差异($P > 0.05$)(表2)。

2.4 肝脏MDA, SOD比较 与常规组相比, 肠疗组肝脏MDA明显下降($1.680 \pm 0.129 \mu\text{mol/g}$ 蛋白 vs $2.269 \pm 0.359 \mu\text{mol/g}$ 蛋白), SOD明显升高($8724.23 \pm 907.96 \mu\text{kat/g}$ 蛋白 vs $6659.05 \pm 1386.91 \mu\text{kat/g}$ 蛋白), 差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.5 肝脏病理 肉眼观常规组中3只狗肝脏出现散在黄色变性与暗红色淤血, 呈红黄相间改变, 肝脏大小、质地正常。肠疗组肝脏颜色、质地、大小正常。光镜下见常规组肝小叶结构正常存在, 肝细胞肿胀, 弥漫性脂肪变性, 部分肝细胞胞质疏松, 染色浅淡, 呈水样变性, 部分肝细胞出现淤胆, 并可见少数肝细胞凝固性坏死。肝窦明显充血, 炎细胞浸润, 部分毛细胆管及小胆管可见淤胆。肠疗组仅有肝细胞轻度肿胀, 少数肝细胞出现淤胆、脂肪变性, 未见坏死。肝窦充血

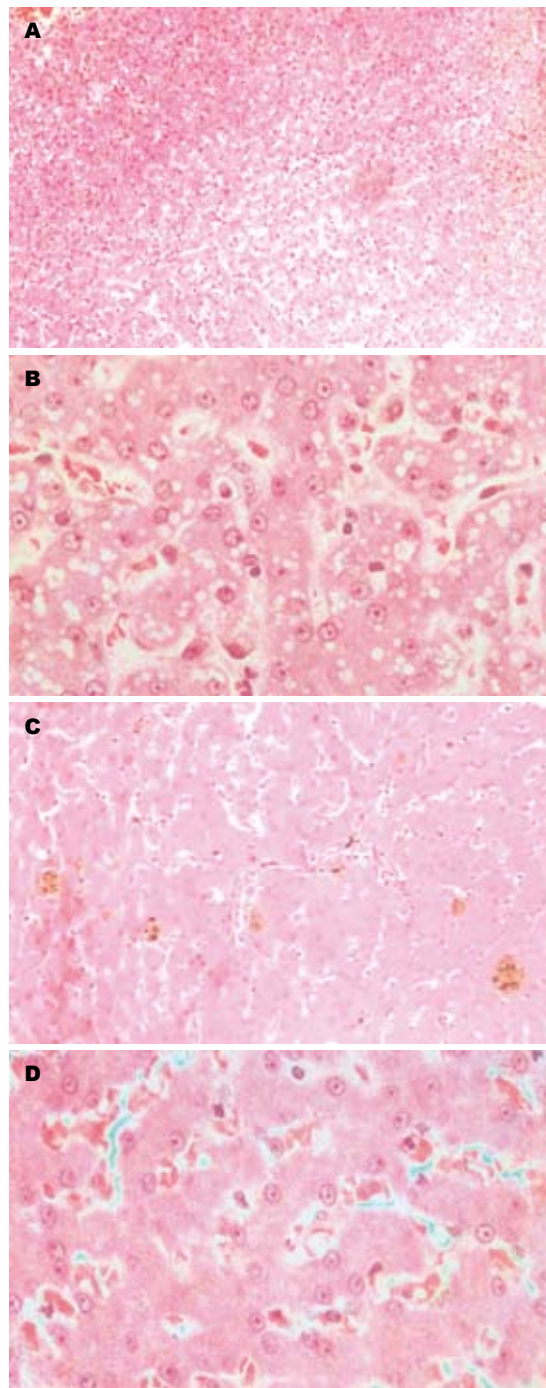


图 1 肝组织光镜下病理变化(HE)。A: 模型组(×100); B: 模型组(×200); C: 治疗组(×100); D: 治疗组(×200)。

减轻, 炎细胞浸润较少(图1)。电镜下可见常规组线粒体肿胀, 嵴几乎全部融合、消失, 变成均质物质, 粗面内质网有重度脱颗粒现象。肠疗组线粒体仍呈肿胀状态, 部分嵴融合, 粗面内质网存在轻度脱颗粒现象(图2)。

3 讨论

中暑是一种以高热、意识障碍为特点的常见的临床急症, 可能导致多器官、系统的功能不全

表 2 肠疗组和常规组ALT, AST, LDH, MDA, SOD的比较(mean \pm SD)

项目	分组	0 h	6 h	24 h	48 h
ALT	肠疗组	978.70 \pm 136.03	3462.53 \pm 683.97	2445.66 \pm 552.78 ^b	2695.71 \pm 641.96 ^b
(nkat/L)	常规组	874.01 \pm 193.71	3486.36 \pm 752.98	5608.29 \pm 2353.8	6051.21 \pm 2588.85
AST	肠疗组	807.33 \pm 112.52	3519.7 \pm 1094.72	2931.59 \pm 723.14 ^b	4334.2 \pm 1321.93 ^a
(nkat/L)	常规组	936.31 \pm 292.89	3767.42 \pm 1138.73	5308.23 \pm 1518.64	7727.71 \pm 2721.54
LDH	肠疗组	2702.87 \pm 733.65	6308.43 \pm 2093.25	4360.37 \pm 1498.47	5008.17 \pm 1148.29
(nkat/L)	常规组	2731.55 \pm 791.83	7172.93 \pm 1927.22	5517.77 \pm 488.43	6675.17 \pm 1829.87
MDA	肠疗组	6.45 \pm 0.64	7.27 \pm 0.54	7.00 \pm 1.19 ^a	6.53 \pm 0.83 ^b
(μ mol/L)	常规组	6.48 \pm 0.69	8.12 \pm 1.14	8.36 \pm 0.89	8.02 \pm 0.86
SOD	肠疗组	1214.24 \pm 161.87	1146.56 \pm 97.35	1154.06 \pm 68.35 ^a	1218.24 \pm 114.52 ^b
(μ kat/L)	常规组	1207.57 \pm 126.53	1007.03 \pm 146.86	1010.87 \pm 139.03	988.36 \pm 80.52

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 常规组.

或衰竭. 肝脏是中暑患者最易损伤的部位之一, 在重症中暑中后期, 肝损伤常给患者带来致命性打击^[15-16]. 中暑肝损伤的病理机制目前尚不清楚, 但高温的直接损伤、缺血、缺氧、宿主的炎症反应等因素引起一系列恶性事件可能起到关键作用^[14,16-17]. 临床上治疗中暑肝损伤主要是快速降温和支持、对症治疗^[1]. 快速、有效的降温对降低中暑死亡率非常重要^[13]. 本研究发现, 与常规治疗相比, 结肠途径治疗可使高温中暑狗降温时间明显缩短, 降温速度明显加快, 改善动物一般情况. 同时, 与灌胃、腹腔内灌洗、静脉快速输液等其他中心降温方法相比, 操作简便、无副作用、患者无不适感, 因此, 更适用于临床.

血清酶ALT, AST和LDH的升高是中暑的主要临床特征之一, 又是临床判断肝功能及中暑患者预后的重要指标^[1,18-19]. 本研究发现, 狗高温中暑后, 血ALT, AST, LDH较中暑前明显升高, 肠疗组24和48 h ALT, AST均较常规组明显降低($P < 0.05$). Aizeer *et al*^[19]研究发现, 最有用的判断预后的指标是LDH, 在死亡组和较快恢复组差异最显著. 本研究中肠疗组和常规组LDH各时间点均无显著性差异, 48 h观察2组全部存活, 表明2组在预后上无明显差异, 与Aizeer *et al*研究结果一致. SOD活力及MDA含量的测定, 可间接反映氧自由基的产生和他所引起的组织细胞损伤程度. 2002年Yang *et al*^[20]首次报道了中暑后机体存在氧化应激损伤, 其原因亦与氧化系统和抗氧化系统失衡有关, 并发现大鼠中暑后脑、肝和心脏组织脂质超氧阴离子产生增加, 总SOD量减少. 本研究发现, 狗高温中暑后, 血

同行评价

本研究立意较新颖, 思路清晰, 以观察结肠途径对高温中暑狗肝脏是否具有保护作用为主要目的, 有一定创新.

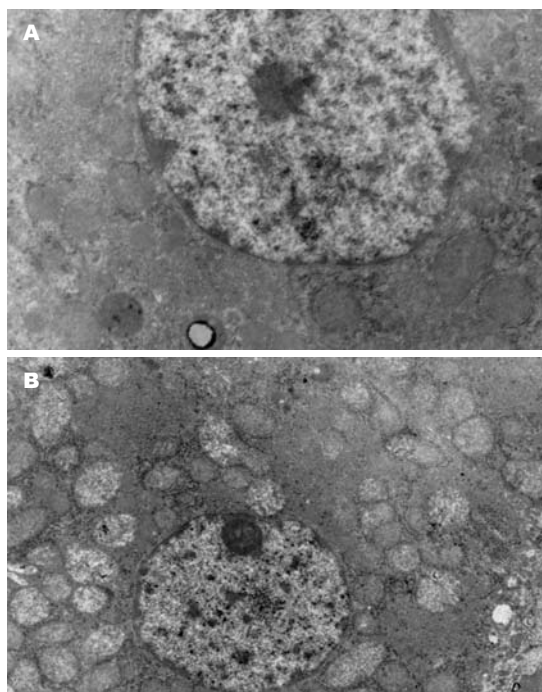


图 2 肝组织电镜下病理变化. A: 模型组; B: 治疗组.

MDA亦出现升高, SOD下降. 与常规组相比, 肠疗组24和48 h血和肝脏MDA均明显升高, SOD明显下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 病理组织学检查光镜下可见肠疗组肝细胞淤胆、脂肪变性、坏死等损害较常规组明显减轻, 肝窦充血减轻, 炎细胞浸润较少. 电镜下亦见肠疗组线粒体嵴融合及粗面内质网脱颗粒现象较常规组减轻. 结肠途径治疗可加快高温中暑狗降温速度, 清除肠腔病原体及其毒素, 清除促炎因子, 减轻内毒素血症^[10-12], 促进血清酶恢复, 减轻肝脏脂质过氧化损伤和病理损害, 对高温中暑狗肝脏具有保护作用.

致谢: 本文承白求恩医学院基础部生理教研室刘卫老师指导, 在此表示感谢.

4 参考文献

- 1 Hassanein T, Razack A, Gavalier JS, Van Thiel DH. Heatstroke: its clinical and pathological presentation, with particular attention to the liver. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 1382-1389
- 2 Bouchama A, al-Sedairy S, Siddiqui S, Shail E, Rezeig M. Elevated pyrogenic cytokines in heatstroke. *Chest* 1993; 104: 1498-1502
- 3 Bouchama A, Hammami MM, Al Shail E, De Vol E. Differential effects of *in vitro* and *in vivo* hyperthermia on the production of interleukin-10. *Intensive Care Med* 2000; 26: 1646-1651
- 4 Suzuki K, Yamada M, Kurakake S, Okamura N, Yamaya K, Liu Q, Kudoh S, Kowatari K, Nakaji S, Sugawara K. Circulating cytokines and hormones with immunosuppressive but neutrophil-priming potentials rise after endurance exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* 2000; 81: 281-287
- 5 Hall DM, Buettner GR, Oberley LW, Xu L, Matthes RD, Gisolfi CV. Mechanisms of circulatory and intestinal barrier dysfunction during whole body hyperthermia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: H509-521
- 6 Moldoveanu AI, Shephard RJ, Shek PN. Exercise elevates plasma levels but not gene expression of IL-1beta, IL-6, and TNF-alpha in blood mononuclear cells. *J Appl Physiol* 2000; 89: 1499-1504
- 7 李晓芳. 严重烧伤后胃肠道功能障碍的机制和防治. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 888-893
- 8 Song Y, Shi Y, Ao LH, Harken AH, Meng XZ. TLR4 mediates LPS-induced HO-1 expression in mouse liver: role of TNF-alpha and IL-1beta. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1799-1803
- 9 Fan N, Yang GS, Lu JH, Yang N, Zhang HB. Oral administration of geranylgeranylacetone plus local somatothermal stimulation: a simple, effective, safe and operable preconditioning combination for conferring tolerance against ischemia-reperfusion injury in rat livers. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 5725-5731
- 10 吉丽, 冯子坛, 白启轩, 于兰. 结肠清洁联合善宁治疗重症急性胰腺炎时促炎因子的变化. *胰腺病学* 2006; 6: 30-32
- 11 于兰, 冯子坛, 吉丽, 白启轩. 结肠灌洗联合善宁治疗重症急性胰腺炎犬对血浆内毒素水平及肠道细菌易位的影响. *胰腺病学* 2006; 6: 112-113
- 12 刘玉翠, 孙迪, 刘祥忠, 杨景云. 结肠途径治疗机辅助治疗急性黄疸性肝炎的临床研究. *中国微生态学杂志* 2004; 16: 226-227
- 13 White JD, Kamath R, Nucci R, Johnson C, Shepherd S. Evaporation versus iced peritoneal lavage treatment of heatstroke: comparative efficacy in a canine model. *Am J Emerg Med* 1993; 11: 1-3
- 14 茅志成, 郭堂春. 现代中暑诊断治疗学. 第1版. 北京: 人民军医出版社, 2000: 136-140
- 15 Hadad E, Ben-Ari Z, Heled Y, Moran DS, Shani Y, Epstein Y. Liver transplantation in exertional heat stroke: a medical dilemma. *Intensive Care Med* 2004; 30: 1474-1478
- 16 Lubanda H, Novak F, Trunecka P, Urbanek P, Onderkova R, Zak A. Acute liver failure related to the syndrome of exertional heatstroke. *Cas Lek Cesk* 2004; 143: 336-338
- 17 Seferova RI, Manenkova ID, Avetisova NL. Intracellular oxidative-reductive processes in tissues in hyperthermia. *Patol Fiziol Eksp Ter* 1993; 25-27
- 18 程鲁京, 王沐沂, 韦学义, 王卉. 中暑患者血清中酶的变化及其对病情的诊断价值. *中国急救医学* 2000; 20: 720-721
- 19 Alzeer AH, el-Hazmi MA, Warsy AS, Ansari ZA, Yrkendi MS. Serum enzymes in heat stroke: prognostic implication. *Clin Chem* 1997; 43: 1182-1187
- 20 Yang CY, Lin MT. Oxidative stress in rats with heatstroke-induced cerebral ischemia. *Stroke* 2002; 33: 790-794

电编 张敏 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

世界华人消化杂志关于作者署名的声明

本刊讯 世界华人消化杂志要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 第一方面是直接参与, 包括: (1)酝酿和设计实验; (2)采集数据; (3)分析/解释数据. 第二方面是文章撰写, 包括: (1)起草文章; (2)对文章的知识性内容作批评性审阅. 第三方面是工作支持, 包括: (1)统计分析; (2)获取研究经费; (3)行政、技术或材料支持; (4)指导; (5)支持性贡献. 每个人必须在第一至第三方面至少具备一条, 才能成为文章的署名作者. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者. (世界胃肠病学杂志社2007-01-08)