

# 不同胆道引流方式对梗阻性黄疸大鼠肠屏障功能的影响

李秋, 彭燕, 邹玲, 付文广

## ■背景资料

梗阻性黄疸时, 肝脏功能受到明显损伤, 表现为血清胆红素、转氨酶等生化指标的升高, 随着梗阻时间的延长进一步出现凝血功能异常、蛋白合成降低、免疫功能障碍等改变。解除胆道梗阻是恢复肝脏功能最直接有效的办法。

李秋, 彭燕, 邹玲, 付文广, 泸州医学院附属医院肝胆外科 四川省泸州市 646000

李秋, 主要从事肝胆外科方面的研究。

四川省卫生厅科研基金资助项目, No. 080195

作者贡献分布: 本文由李秋完成; 彭燕、邹玲及付文广协助完成部分实验。

通讯作者: 李秋, 646000, 四川省泸州市太平街25号, 泸州医学院附属医院肝胆外科。liqiu646@163.com

收稿日期: 2012-10-11 修回日期: 2012-11-15

接受日期: 2012-11-16 在线出版日期: 2012-11-28

## Effect of different biliary drainage methods on intestinal barrier function in rats with obstructive jaundice

Qiu Li, Yan Peng, Ling Zou, Wen-Guang Fu

Qiu Li, Yan Peng, Ling Zou, Wen-Guang Fu, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China  
Supported by: the Scientific Research Project of Department of Health of Sichuan Province, No. 080195

Correspondence to: Qiu Li, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. liqiu646@163.com  
Received: 2012-10-11 Revised: 2012-11-15  
Accepted: 2012-11-16 Published online: 2012-11-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of different biliary drainage methods on intestinal barrier function in rats with obstructive jaundice.

**METHODS:** Sixty healthy SD rats were divided into four groups: sham-operation (SO) group, obstructive jaundice (OJ) group, internal drainage (ID) group, and external drainage (ED) group. One week after surgery, specimens from the rats of the SO and OJ groups were collected. Biliary drainage was performed using different methods in the ID and ED groups, and the specimens were harvested seven days after drainage. The levels of alanine aminotransferase (ALT), total bilirubin (TBIL), direct bilirubin (DBIL), and total bile acids (TBA) in serum, and sIgA in intestine mucus were determined and compared between different groups.

**RESULTS:** Serum levels of ALT, TBIL, DBIL,

and TBA were significantly higher in the OJ group than in the SO, ID, and ED groups. The levels of sIgA in intestine mucus were significantly higher in the ID group than in the OJ and ED groups ( $0.272 \pm 0.182$  vs  $0.160 \pm 0.150$ ,  $0.191 \pm 0.113$ , both  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Both ID and ED effectively relieve biliary obstruction and improve liver function. ID significantly increases intestinal mucus sIgA. The effect of ID on intestinal barrier function is better than that of ED.

**Key Words:** Biliary drainage; Obstructive jaundice; Intestinal mucosal barrier; Intestine mucus sIgA

Li Q, Peng Y, Zou L, Fu WG. Effect of different biliary drainage methods on intestinal barrier function in rats with obstructive jaundice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(33): 3248-3251

## 摘要

**目的:** 探讨不同胆道引流方式对梗阻性黄疸大鼠肠屏障功能的影响。

**方法:** 60只SD大鼠随机分为假手术组(sham operation, SO组)、梗阻性黄疸组(obstructive jaundice, OJ组)、内引流组(internal biliary drainage, ID组)和外引流组(external biliary drainage, ED组)。制备OJ模型, SO组、OJ组在术后第7天处死大鼠并采集标本, ID组、ED组则行不同引流手术, 在引流术后第7天处死大鼠并采集标本。检测血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)、胆汁酸(total bile acids, TBA)及小肠黏液sIgA含量, 并对结果进行统计学分析。

**结果:** OJ组较SO组血清ALT、TBIL、DBIL、TBA均明显升高, 小肠黏液sIgA含量( $0.160 \pm 0.150$ )明显减少。ED、ID组血清中ALT、TBIL、DBIL、TBA明显低于OJ组; ID组小肠黏液sIgA含量明显高于OJ组及ED组( $0.272 \pm 0.182$  vs  $0.160 \pm 0.150$ ,  $0.191 \pm 0.113$ , 均  $P < 0.05$ )。

## ■同行评议者

巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外科

**结论:**胆道内、外引流均能有效解除胆道梗阻,改善肝功能。但内引流可明显增加肠道黏液sIgA,其改善肠道屏障功能的效果优于外引流。

**关键词:**胆道引流;梗阻性黄疸;肠屏障;小肠黏液sIgA

李秋,彭燕,邹玲,付文广.不同胆道引流方式对梗阻性黄疸大鼠肠屏障功能的影响.世界华人消化杂志 2012; 20(33): 3248-3251

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/3248.asp>

## 0 引言

梗阻性黄疸(obstructive jaundice, OJ)是常见的临床综合征。OJ的病理生理改变主要与肠道细菌易位造成的肠源性内毒素血症和多脏器损伤密切相关,而肠屏障功能(intestinal barrier function, IBF)受损是内毒素血症和细菌易位形成的主要原因<sup>[1]</sup>。通过引流解除胆道梗阻是治疗OJ的根本方法。但OJ时肠道功能的改变及机制目前尚不十分清楚,本实验通过观察OJ时肠屏障功能的改变和内、外引流后肠屏障功能的变化,为临床选择治疗方法提供更好的理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康♂SD大鼠60只,体质量200-250 g,由泸州医学院动物科提供,遵守实验动物使用及管理原则。术前禁食12 h,不禁水。肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF)- $\alpha$ 放射免疫试剂盒购自北京北方生物技术研究所;sIgA的ELISA试剂盒购自上海西塘生物科技有限公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组:** (1)假手术组(shame operation, SO组),大鼠上腹部正中切口开腹后,暴露肝门,游离胆总管后关腹; (2)梗阻性黄疸组(obstructive jaundice, OJ组),游离胆总管后在两处不同的部位分别用5-0缝合线结扎,致胆总管完全梗阻; (3)胆道内引流组(internal biliary drainage, ID组),胆总管结扎7 d后在扩张的胆总管内置入一长约5 cm的细硬膜外导管,带线结扎固定,导管一端置幽门下方2 cm的十二指肠内,缝合固定; (4)胆道外引流组(external biliary drainage, ED组),胆总管结扎7 d后在扩张的胆总管内置入一长约5 cm的细硬膜外导管,将胆汁经皮引出体外,带线结扎固定。

**1.2.2 标本采取:** SH组和OJ组在手术后第7天处死大鼠并采集标本, ID组和ED组在行引流术后

第7天处死大鼠并采集标本。大鼠于取材前禁食12 h,以0.3%戊巴比妥钠1 mL/100 g腹腔注射麻醉。固定大鼠于手术板,备皮后常规消毒铺巾。心脏穿刺采血3 mL,室温静置30 min,离心3 000 r/min $\times$ 10 min,收集血清-70 ℃保存,用于检测肝功能。经上腹正中切口逐层开腹,无菌操作取近端空肠10 cm,用冷蒸馏水和磷酸盐缓冲液(PBS)交替冲洗后平铺于滤纸上,纵向剪开,暴露黏膜面,4 ℃ PBS冲洗,用清洁载玻片轻轻刮取肠黏膜表面黏液,用微量注射器收集刮取物0.5 mL,然后用1.0 mL PBS稀释并小心搅拌,使其完全溶解,恒低温离心5 min,收集上清液,4 ℃贮存备用。

**1.2.3 检测指标:** 用免疫酶联吸附实验检测小肠黏液sIgA。用全自动生化分析仪检测大鼠丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)、胆汁酸(total bile acids, TBA)。集距回盲部2 cm末段回肠组织做病理学检查。

**统计学处理** 结果用SPSS13.0统计软件分析,各组数据以mean $\pm$ SD表示,多组样本均数之间比较当方差齐时采用单因素方差分析,方差不齐时采用秩和检验。 $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

各种原因导致实验动物死亡7只,其中OJ组2只, ID组2只, ED组3只。其余均存活并采集相应标本进行预定指标的检测,结果如下。

**2.1 肝功能检测** OJ组肝功能受损严重, OJ组所有肝功能指标均显著高于SH组( $P<0.05$ );引流术后肝功能明显恢复, ID组、ED组全部4项肝功能指标均显著低于OJ组( $P<0.05$ ); ED组血清ALT高于ID组,但差异不具有统计学意义( $P>0.05$ ); ED组血清TB与ID组之间差异不具有统计学意义( $P>0.05$ ); ED组血清DBIL与ID组之间差异不具有统计学意义( $P>0.05$ ); ED组血清TBA与ID组之间差异不具有统计学意义( $P>0.05$ ,表1)。

**2.2 各组大鼠小肠黏液sIgA结果** OJ组小肠黏液sIgA含量较SH组显著降低( $0.160\pm 0.150$  vs  $0.345\pm 0.010$ ,  $P<0.05$ ); ID组( $0.272\pm 0.182$ )及ED组( $0.191\pm 0.113$ )小肠黏液sIgA含量较OJ组显著增高( $P<0.05$ ); ID组小肠黏液sIgA含量明显高于ED组( $P<0.05$ )。

**2.3 回肠组织病理学** SO组黏膜完整无损,绒毛排列整齐,组织结构完整,无炎性细胞浸润。OJ组黏膜萎缩,绒毛稀疏、凌乱、脱落、腺体断

**■应用要点**  
通过引流解除胆道梗阻是治疗梗阻性黄疸的根本方法。

## ■相关报道

Kurude等结扎大鼠胆总管后发现大鼠盲肠中G-肠道杆菌的数量增加了100倍,大肠埃希菌及需氧菌的水平较对照组明显升高。

表 1 各组大鼠肝功能检测结果 (mean ± SD)

分组	ALT(U/L)	TB (μmol/L)	DB(μmol/L)	TBA(μmol/L)
SH组	75.01 ± 19.87	1.04 ± 0.49	0.43 ± 0.24	6.53 ± 2.65
OJ组	560.23 ± 103.65	157.14 ± 51.43	137.49 ± 45.37	113.91 ± 17.67
ID组	128.53 ± 17.66	1.24 ± 0.78	0.46 ± 0.41	8.06 ± 2.16
ED组	137.23 ± 23.74	1.34 ± 0.35	0.64 ± 0.68	7.47 ± 3.04

ALT: 丙氨酸氨基转移酶; TB: 总胆红素; DB: 直接胆红素; TBA: 胆汁酸。

裂,上皮的连续性破坏,炎性细胞浸润明显。ID组黏膜完整无损,绒毛稍稀疏,上皮的连续性好,更接近SH组,无炎性细胞浸润。ED组黏膜完整性略恢复,绒毛稀疏有破坏,上皮的连续性略恢复,有炎性细胞浸润。其结果显示OJ组肠黏膜机械屏障损伤明显, ID组肠黏膜机械屏障较ED组改善更明显。

### 3 讨论

梗阻性黄疸时,肝脏功能受到明显损伤,表现为血清胆红素、转氨酶等生化指标的升高,随着梗阻时间的延长进一步出现凝血功能异常、蛋白合成降低、免疫功能障碍等改变。解除胆道梗阻是恢复肝脏功能最直接有效的办法,从本组数据看, OJ后ALT、TBIL、DBIL、TBA均出现数以倍计的急剧上升,一旦施行引流术后便迅速下降。

OJ时肠屏障功能会发生以下改变: (1)化学屏障改变:胆汁是肠黏膜化学屏障的重要组成部分,对人体有多重保护作用,而OJ时胆汁进入肠道受阻导致肠黏膜化学屏障受损。胆汁酸缺乏,肠道菌群大量繁殖和黏附,直接造成肠黏膜屏障损伤并可发生细菌易位诱发机体炎症反应,加重肠壁损伤<sup>[2]</sup>而且可能造成肠源性内毒素血症<sup>[3,4]</sup>; (2)机械屏障改变:本实验OJ组回肠组织病理学显示黏膜萎缩,绒毛稀疏、凌乱、脱落、腺体断裂,上皮的连续性破坏,炎性细胞浸润明显。这可能是因为胆盐缺乏,肠道细胞凋亡增加、细胞增殖受到抑制,肠壁细胞之间的紧密连接复合体被破坏最终导致小肠通透性增高,肠黏膜机械屏障受损。有其他实验也得出类似结果<sup>[5]</sup>; (3)生物屏障改变: Kuru等<sup>[6]</sup>结扎大鼠胆总管后发现大鼠盲肠中G-肠道杆菌的数量增加了100倍,大肠埃希菌及需氧菌的水平较对照组明显升高; (4)免疫屏障改变:肠道免疫系统中起核心作用的是分泌型IgA(sIgA), sIgA来自于胆

汁和肠黏膜固有层内产IgA细胞。是肠道分泌物中含量最丰富的免疫球蛋白,是人类黏膜免疫的主要抗体,能中和酶、毒素、病菌和其他生物活性抗原,并刺激肠道黏液的分泌。由于胆道梗阻胆汁不能进入肠道,故本实验中OJ组肠道sIgA分泌量较SO组明显减少,国内其他研究<sup>[7,8]</sup>也有相似结果。此外OJ时肝脏损伤后合成蛋白能力下降、肝脏Kupffer细胞功能受损、肝硬化等均可影响肠道免疫屏障功能。

胆汁外引流后,缓解了梗阻时增高的胆盐对肝脏造成的损伤,改善了肝脏功能,但胆汁的丢失导致脂肪、维生素等多种营养物质吸收不良,同时伴随一些免疫物质的丢失及水电解质紊乱<sup>[9-11]</sup>,降低了机体抵抗力,机体养障碍可直接破坏肠道上皮细胞;胆汁外引流,肠道缺乏胆盐进入,肠道内微生态平衡受到破坏,细菌的过度繁殖产生大量内毒素,这些内毒素没有胆盐结合难以形成复合物,容易穿过肠黏膜屏障进入门静脉循环,从而造成IBF障碍<sup>[12-16]</sup>。

内引流后胆道梗阻解除,肝脏Kupffer细胞功能得以恢复,内毒素灭活增多;内引流后胆汁重新进入肠道,胆汁对机体的诸多有利作用得以发挥,内引流保持着正常的肠肝循环。本组实验显示:尽管胆道内、外引流均能很好解除胆道梗阻,改善大鼠肝功能。与外引流相比,内引流能更好的保护和恢复肠黏膜机械屏障,而且能使小肠黏液sIgA明显增加维护肠道免疫屏障,其改善肠屏障功能的效果优于外引流。

### 4 参考文献

- 1 Yamaguchi J, Toledo A, Bass BL, Celeste FA, Rao JN, Wang JY, Strauch ED. Taurodeoxycholate increases intestinal epithelial cell proliferation through c-myc expression. *Surgery* 2004; 135: 215-221
- 2 Schmitz H, Fromm M, Bentzel CJ, Scholz P, Detjen K, Mankertz J, Bode H, Eppe HJ, Riecken EO, Schulzke JD. Tumor necrosis factor-alpha (TNFalpha) regulates the epithelial barrier in the human intestinal cell line HT-29/B6. *J Cell Sci* 1999; 112 (Pt 1): 137-146

- 3 孙秀凤, 单若冰. 梗阻性黄疸与细菌/内毒素移位的关系及微生态制剂干预. 中国微生态学杂志 2008; 20: 95-96
- 4 沈顺利, 彭宝岗. 胆道恶性肿瘤多学科综合诊治. 中国实用内科杂志 2012; 32: 171-174
- 5 Assimakopoulos SF, Scopa CD, Zervoudakis G, Mylonas PG, Georgiou C, Nikolopoulou V, Vagianos CE. Bombesin and neurotensin reduce endotoxemia, intestinal oxidative stress, and apoptosis in experimental obstructive jaundice. *Ann Surg* 2005; 241: 159-167
- 6 Kuru B, Dinc S, Altinok G, Aksoz T, Camlibel M, Gulcelik MA, Alagol H. Effect of different enteral nutrients on bacterial translocation in experimental obstructive jaundice. *Eur Surg Res* 2004; 36: 45-52
- 7 姜旭, 李哲浩, 翟晓芳, 崔凤奎. 梗阻性黄疸大鼠小肠组织IgA及白介素-6表达减少. 基础医学与临床 2008; 28: 196-197
- 8 蒋唯松, 龚彪, 别里克. 良性胆管狭窄治疗进展. 中国实用内科杂志 2011; 31: 956-958
- 9 Sano T, Ajiki T, Takeyama Y, Kuroda Y. Internal biliary drainage improves decreased number of gut mucosal T lymphocytes and MAdCAM-1 expression in jaundiced rats. *Surgery* 2004; 136: 693-699
- 10 侯森林, 乔占英, 康建省, 吕海涛, 李玉英, 高永平. 支架与手术引流对梗阻性黄疸患者免疫功能的影响. 中华消化内镜杂志 2005; 22: 46-47
- 11 劳敏曦, 锦辉, 陈洁, 王淑冰, 陈湖. 肝淀粉样变性合并重度淤胆及角膜K-F环1例报告并文献复习. 中国实用内科杂志 2012; 32: 721-723
- 12 曹阳, 赵闯, 徐锋, 戴朝六. 白介素-10对梗阻性黄疸大鼠肝组织转化生长因子 $\beta$ 1表达和肝细胞凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1773-1779
- 13 余水平, 李坚, 侯冰宗, 苏永辉, 李培平, 张百萌. 急慢性大鼠梗阻性黄疸模型的建立. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1285-1289
- 14 Lalisang TJ, Sjamsuhidajat R, Siregar NC, Taher A. Profile of hepatocyte apoptosis and bile lakes before and after bile duct decompression in severe obstructive jaundice patients. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010; 9: 520-523
- 15 Crespo S, Raimondo M. The long term use of covered metal stents in managing malignant biliary obstruction. Are we changing outcomes? *Dig Liver Dis* 2010; 42: 765-766

#### ■同行评价

本文通过动物实验探讨不同胆道引流方式对梗阻性黄疸大鼠肠屏障功能的影响, 所述内容条理清楚, 思路清晰, 分析全面。

编辑 李军亮 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

**本刊讯** 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (编辑部主任: 李军亮 2012-03-08)。