

不同时机启动肠内营养对 SAP 大鼠模型胰腺和肠道病理学的影响

肖 帅,孙鑫国,刘龙飞,李 峰,彭秀达

(南华大学附属南华医院普外科,湖南 衡阳 421002)

摘要: **目的** 观察不同时机启动肠内营养(EN)对重症急性胰腺炎(SAP)大鼠模型胰腺和肠道的病理学影响并初步探讨机制。**方法** 将84只SD大鼠建立SAP模型,随机分为肠外营养组(PN组)21只和肠内营养组(EN组)63只。其中PN组21只大鼠采用肠外营养支持治疗;EN组63只大鼠采用肠内营养治疗,根据EN启动时间不同分为EN I组(第2天)、EN II组(第4天)和EN III组(第6天)三组;比较各组不同时间胰腺病理学评分和肠道病理学改变。**结果** 治疗后EN组胰腺病理评分显著低于PN组($P < 0.01$),EN组内各组之间评分差异也有显著性($P < 0.05$);EN比PN能更好地保护胰腺组织和肠道黏膜,EN启动越早效果越好。**结论** EN可以改善SAP大鼠模型胰腺和肠道病理学状况,EN启动越早恢复越快。

关键词: 肠内营养; 重症急性胰腺炎; 病理学

中图分类号:R657.51 文献标识码:A

Pathological Effect and Mechanism of Enteral Nutrition at Different Time on Pancreas and Intestinal Tract of Rats with Severe Acute Pancreatitis

XIAO Shuai, SUN Xinguo, LIU Longfei, et al

(Department of General Surgery, Affiliated Nanhua Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan 421002, China)

Abstract: **Objective** To explore the pathological effect and mechanism of enteral nutrition at different time on pancreas and intestinal tract of rats with severe acute pancreatitis. **Methods** 84 rats were used to establish SAP model, and divided into two groups, the PN group (21 cases) received routine treatment by parenteral nutrition, the EN group was randomly divided into 3 subgroups (21 cases in each group), received EN at different time (the second day, the fourth day, the sixth day), to compare the pathological score of pancreas and intestinal tract. **Results** Compared with the PN group, the pathological score in EN group is lower ($P < 0.01$), and it is also different in the EN subgroups ($P < 0.05$); the EN is in favor of the intestinal tract, more earlier more better. **Conclusion** The enteral nutrition can improve the pathological situation of pancreas and intestinal tract, more earlier more sooner.

Key words: enteral nutrition; severe acute pancreatitis; pathobiology

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是普外科临床常见危重急症之一,具有并发症多,病死率高等特点,且多伴有其它器官功能障碍,近年来

SAP导致的胃肠道功能障碍越来越受到重视。SAP患者一旦合并有腹胀、肛门停止排气排便、麻痹性肠梗阻等胃肠道功能障碍时,临床上往往提示预后不佳;而胃肠道功能障碍又进一步加重了全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和后期的多器官功能障碍综合征(multiple organs dysfunction syndrome, MODS)等严重并发症发生的概率,严重时可导致死亡^[1],因此如何有效治疗SAP患者的胃肠道功能障碍显得十分重要。由

收稿日期:2013-03-13

基金项目:湖南省教育厅医学科研项目资助(09C848),衡阳市科技局资助项目(2011KJ51)。

作者简介:肖帅,硕士,主治医师,研究方向:急性胰腺炎及消化道肿瘤基础与临床研究, E-mail: doctor_x. s@ hotmail. com.

于肠内营养 (enteral nutrition, EN) 较肠外营养 (parenteral nutrition, PN) 更接近胃肠道生理情况,近几年在临床上应用越来越广泛。然而目前关于 EN 治疗 SAP 的启动时机仍有较大分歧,国外多主张入院 2~3 天内启动 EN 支持治疗^[2],但是国内相对较保守,认为需在患者胃肠道各项指标恢复正常后再启动 EN,且已有的研究多注重于 EN 对血浆中细胞因子和激素影响,而对胃肠道病理学影响的研究较少。因此本文拟通过建立 SAP 大鼠模型,观察在不同时间点启动不同营养支持模式,对大鼠胰腺和肠道病理学的影响,并初步探讨其机制,从而为临床上 SAP 患者的营养支持治疗提供更加全面的数据支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

雄性 SD 大鼠 84 只, 23 ± 20 g, 购于湖南省长沙市东创实验动物科技服务部。造模所用的牛磺胆酸钠由 Sigma 公司提供, ELISA 试剂盒购于厦门慧嘉生物科技有限公司, 百普力购于荷兰纽迪希亚公司产品。

1.2 大鼠分组及模型制备

SD 大鼠先适应性喂养 1 周, 将其随机分为肠外营养组 (PN 组) 21 只与肠内营养组 (EN 组) 63 只。EN 组根据启动时间不同又分为 3 组 (每组 21 只大鼠): EN I 组术后第 2 天启动, EN II 组术后第 4 天启动, EN III 组术后第 6 天启动。SD 大鼠 10% 水合氯醛腹腔内注射麻醉后固定于无菌手术台上, 常规备皮消毒, 取上腹正中切口进腹, 先暴露胃, 顺势向下在十二指肠部找到透明的胰腺组织, 胰腺中间可见白色胰管, 开口于十二指肠降部, 在对侧缘用 5 号注射器针头刺穿肠壁后拔出, 用直径 0.8~0.9 mm 的硬膜外置管顺此穿刺孔进入后通过十二指肠乳头进入胰管, 用力轻柔均匀, 切勿穿透胰管。用预先准备好的小血管夹夹闭胰管两端, 以防止牛磺胆酸钠进入肝脏和肠管。缓慢注入 3.5% 牛磺胆酸钠 (0.1 mL/100 g), 速度要慢, 否则可能会导致 SD 大鼠呼吸抑制而死。当胰腺局部发生水肿渗出时拔出导管后缝合刺孔, 造模后 EN 组施行空肠造瘘置管, PN 组采用颈外静脉插管。

1.3 营养支持实施方法

1.3.1 EN 组营养实施 SD 大鼠术中行空肠造瘘

置管术, 在幽门处预置荷包缝合线, 在荷包内戳洞, 插入直径 1.0~1.2 mm 的无菌硅胶管, 远端到达空肠屈氏韧带以下 3~5 cm 左右, 收紧荷包缝合线固定硅胶管, 经皮下隧道引出后缝合固定于背部皮肤, 硅胶管外套软质弹簧以防止老鼠咬断, 但是不限制老鼠活动。硅胶管远端连接 EN 输注泵, EN 营养液主要为百普力, 将 125 g 百普力用温开水溶解成 500 mL 的溶液, 待 SD 大鼠清醒 6~8 h 后给予 2 mL 生理盐水缓慢冲洗肠管, 然后分别于术后第 2 天、4 天、6 天起在肠内间歇注入 EN 营养液 (4~5 mL/1.5 h), 量逐渐增加至 50 mL/24 h, 能量达到每天 250 kcal/kg, 然后采用 EN 输注泵维持泵入。注意观察 SD 大鼠, 如果有不良反应则减少用量和/或速度。

1.3.2 PN 组营养实施

SD 大鼠术中行颈外静脉插管术, 首先钝性分离出右侧颈静脉, 结扎远心端。结扎处近心端 1.0~1.5 cm 处剪一小口, 其下预置结扎线, 用直径 0.8~1.0 mm 细硅胶管插管, 进管 2~3 cm 后结扎下端预置线固定作为静脉营养管输入通路, 每天肝素生理盐水 (25 U/mL) 封管。PN 营养液每 100 mL 中含: 57 mL 的复方氨基酸 (华瑞制药)、19.5 mL 的脂肪乳剂 (华瑞制药)、22 mL 的葡萄糖溶液和安达美、水乐维他、维他利匹特各 0.5 mL。PN 营养液要保证每 100 mL 所含非蛋白热卡及含氮量与 EN 营养液基本一致。PN 组术后给予平衡液, 通过 PN 微量输液泵维持泵入, 8 h 后给予 TPN, 速度由 1 mL/h 逐渐缓慢增至 50 mL/24 h, 能量达到每天 250 kcal/kg, 各组的总液体入量相等。

1.4 实验指标观测

于建模后第 3、第 5、第 7 天 3 个时间点分别处死大鼠 (每时间点各组均处死大鼠 7 只), 取胰腺和肠道组织用 4% 中性甲醛固定 24 h 后, 石蜡包埋、切片, 进行常规 HE 染色。切片经常规 HE 染色后, 在光学显微镜下观察胰腺、肠道组织病理学变化阅片并评分。胰腺评分采用改良的 Schmidt 等的评分标准^[3], 从水肿、腺泡坏死、出血、炎症四方面对大鼠胰腺组织损伤进行定量评估, 以上述四项之和为胰腺损伤评分值。每张切片随机计数 5 个视野, 取其平均分作为该切片的病理损伤评分, 代表其损伤程度。观察肠道组织的肠黏膜的完整性、肠绒毛和炎症细胞浸润情况等。

1.5 统计学方法

使用 SPSS 17.0 统计软件包进行统计分析, 计量资料采用均数 ± 标准差表示, 组间比较采用单因素分差分析和 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肠道病理学变化

各组 SD 大鼠肠道病理切片 HE 染色检查显示: PN 组肠黏膜水肿, 损伤较严重, 黏膜层可见部分中性粒细胞浸润。肠绒毛排列紊乱稀疏, 变短、畸形, 部分肠绒毛完全脱落上皮破溃, 甚至基底膜损害。EN 组整体病变较轻, 其中 EN III 组可见黏膜较薄, 毛细血管增生, 有少量中性粒细胞浸润; 绒毛少许脱落, 绒毛部分结构被破坏; EN II 组黏膜炎症反应较轻, 绒毛排列尚整齐, 病变程度较 PN 组和 EN III 组轻; EN I 组较其它组病变最轻, 黏膜结构基本完整, 少见中性粒细胞浸润, 绒毛大部分结构完整, 只有少许绒毛变短脱落(图 1)。早期 EN 相对于 PN 来讲更有利于肠道黏膜的保护, 可以帮助恢复正常的胃肠道功能。

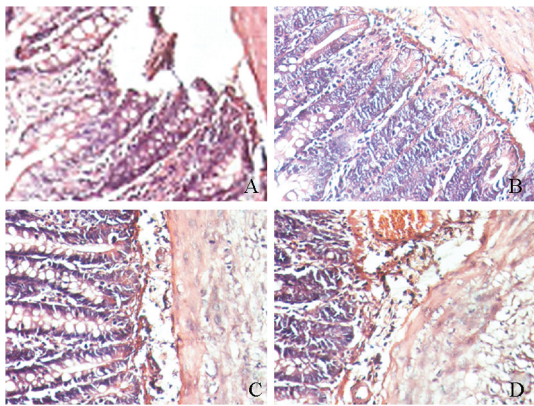


图 1 各组 SD 大鼠肠道病理学变化(HE 染色 ×400 倍)
A: PN 组; B: EN I 组; C: EN II 组; D: EN III 组

2.2 各组 SD 大鼠胰腺组织病理学评分

治疗后各组 SD 大鼠胰腺病理学评分都有所下降, 但是 EN 组要比 PN 组下降快, EN 组中启动时间越早评分下降越快。同时, EN 组胰腺病理评分显著低于 PN 组($P < 0.01$), EN 组内各组之间评分差异均有显著性($P < 0.05$, 表 1)。可见 EN 较 PN 更能够控制 SAP 病情, 且 EN 启动越早越有利于 SAP 恢复。

表 1 各组 SD 大鼠不同时间胰腺病理学评分比较($n = 21$, 分)

组别	第 3 天	第 5 天	第 7 天
PN 组	15.65 ± 1.09	13.92 ± 1.15	12.29 ± 1.04
EN I 组	8.31 ± 1.01 ^a	5.05 ± 0.92 ^{ac}	2.12 ± 0.64 ^{ac}
EN II 组	11.89 ± 1.26 ^{ab}	9.03 ± 1.23 ^{ab}	5.20 ± 0.96 ^{ab}
EN III 组	12.11 ± 1.17 ^{ab}	10.25 ± 1.07 ^{abc}	8.02 ± 1.04 ^{abc}

与 PN 组比较, a: $P < 0.01$; 与 EN I 组比较, b: $P < 0.01$; 与 EN II 组比较, c: $P < 0.05$

3 讨 论

SAP 是一种普外科临床常见的危急重症病, 据报道病死率可达 20% ~ 30%。临床上很多 SAP 患者早期就会有胃肠功能障碍的表现, 一般表现为十二指肠运动迟缓和麻痹性肠梗阻等症状的出现^[4]。由于 SAP 患者一旦合并有胃肠功能障碍就会大大增加患者的死亡率, 所以如何有效地改善和治愈胃肠功能障碍成为近年 SAP 的新研究方向, 而营养支持治疗上从 PN 为主到以 EN 为主的改变就是其中一个有效的途径。EN 相对于 PN 有许多优势, 如价格低廉、符合生理情况、可长期使用等, 因此已逐渐取代 PN 而成为不能经口饮食患者的主要营养支持方式^[5]。目前 EN 在 SAP 治疗中的作用研究越来越多, 但是大部分关注于临床应用方法, 而对 SAP 患者胃肠道的病理学影响及机制的研究较少, 本实验通过建立 SAP 大鼠模型, 研究不同营养支持方式对 SAP 大鼠模型的肠道病理学的影响, 为临床上 EN 的科学合理应用提供数据支持。

结合国内外最新研究结果, 本研究 EN 组不同时间(建模后 2、4、6 天)启动 EN 治疗, 分为 EN I、EN II 和 EN III 三组及 PN 组, 分析比较不同时期启动 EN 对 SAP 大鼠模型胰腺和肠道病理学的影响。肠道病理学改变方面, PN 组肠道黏膜和绒毛情况比 EN 组差很多: 黏膜层可见中性粒细胞浸润, 肠绒毛紊乱稀疏, 部分肠绒毛完全脱落, 基底膜有损害。EN 组整体病变较轻, 其中 EN III 组改变最严重: 黏膜变薄、毛细血管增生、中性粒细胞浸润和绒毛结构被破坏等。EN II 组病变程度较 PN 组和 EN III 组轻, EN I 组病变最轻。胰腺病理学改变和评分方面, 治疗后各组 SD 大鼠胰腺病理学评分整体有所下降, 但是 EN 组要比 PN 组下降幅度大, EN 组中启动时间越早评分下降越快。EN 组胰腺病理评分显著低于 PN 组($P < 0.01$), EN 组内各组之间评分也有显著差异($P < 0.05$)。综合以上说明早期 EN 可以控

制 SAP 病情,明显改善 SAP 的胰腺和肠道病理学状况。因此临床上在病人病情允许的情况下越早启动 EN 则可能病情恢复越快,肠道功能越不容易受损,预后越好,这与以往的文献报道一致^[6-8]。

本实验发现的早期 EN 可以改善 SAP 大鼠模型的胰腺和肠道病理学,综合目前国内外文献,考虑其保护胰腺和肠道的机制主要包括以下几个方面:①长时间使用 PN 提供营养可以导致肠道功能紊乱,而早期 EN 符合正常肠道生理情况,可以维持正常肠道功能,有利于营养吸收;②早期 EN 通过肠道微循环提供营养,有利于纠正营养物质代谢紊乱,改善肠道营养学状况^[9],避免了原有营养物质的额外分解,保护肠屏障功能的完整性;③病理结果可见早期 EN 可以保护肠黏膜和绒毛的完整性,从而维持了肠道黏膜屏障功能正常运行的结构基础,减少了肠道内部正常菌群的移位,减少了 SIRS 和 MODS 发生的概率,改善了 SAP 的预后。

本实验说明在治疗 SAP 时,EN 较 PN 具有一定优势:可以明显改善 SAP 病理学状况,减轻胰腺炎症程度,利于病情恢复,维持正常肠道功能,降低肠源性感染的发生率。临床上在患者病情允许的情况下要尽早启动 EN,本实验的最佳启动时间是 24 h。但在临床实际应用时也不可以盲目地过早启动 EN,必须在有效纠正液体复苏后才进行 EN,以免耽误其他更为严重的并发症的处理或导致病情“反跳”。由于该研究为动物实验,所以临床上 EN 的启动时机、实施方式和 EN 营养液的配制等都需要进一步的临床实验进行确定。

参考文献:

- [1] Liu Q, Djuricin G, Nathan C, et al. The effect of epidermal growth factor on the septic complications of acute pancreatitis[J]. J Surg Res, 1997, 69(1): 171-177.
- [2] McClave SA. Nutrition support in acute pancreatitis[J]. Gastroenterol Clin North Am, 2007, 36(1): 65-74.
- [3] Schafers M, Marziniak M, Sorkin LS, et al. Cyclooxygenase inhibition in nerve-injury-and TNF-induced hyperalgesia in the rat[J]. Exp Neurol, 2004, 185(1): 160-168.
- [4] Wang X, Gong Z, Wu K, et al. Gastrointestinal dysmotility in patients with acute pancreatitis[J]. Gastroenterol Hepatol, 2003, 18(1): 57-62.
- [5] Mossner J, Teich N. Nutrition in acute pancreatitis[J]. Z Gastroenterol, 2008, 46(8): 784-789.
- [6] Quan H, Wang F, Guo C, et al. A meta-analysis of enteral nutrition and total parenteral nutrition in patients with acute pancreatitis[J]. Gastroenterol Res Pract, 2011, 32(4): 57-62.
- [7] Stanescu D, Mihalache D, Nistor A, et al. Importance of enteral nutrition support in necrotic hemorrhagic pancreatitis[J]. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi, 2010, 114(1): 91-94.
- [8] Bakker OJ, van Santvoort HC, van Brunschot S. Pancreatitis, very early compared with normal start of enteral feeding (PYTHON trial): design and rationale of a randomised controlled multicenter trial[J]. Trials, 2011, 12(1): 73-79.
- [9] Piccinni G, Testini M, Angrisano A, et al. Nutritional support in patients with acute pancreatitis[J]. Front Biosci (Elite Ed), 2012, 4(1): 1999-2006.

(此文编辑:蒋湘莲)