

· 基础研究 ·

CO₂ 气腹及肠道牵拉引起大鼠应激反应的实验研究

吴 钢 蔡 端

(复旦大学附属华山医院外科,上海 200040)

【摘要】目的 研究 CO₂ 气腹及肠道牵拉对 SD 大鼠血浆 β -内啡肽(β -endorphin, β -EP)的影响,探讨 CO₂ 气腹及肠道牵拉对大鼠围手术期应激反应的影响。方法 选取 SPF 级雄性 SD 大鼠 120 只,随机分为 4 组,每组 30 只。A 组:CO₂ 气腹组;B 组:切口组;C 组:切口并肠道牵拉组;D 组:对照组。测定 A、B 和 C 组大鼠切皮后血浆 10 min、20 min 和 40 min 的血浆 β -EP 浓度,比较 CO₂ 气腹及肠道牵拉对应激反应的影响。结果 CO₂ 气腹组术后 10 min、20 min 和 40 min 的血浆 β -EP 浓度分别为(274.7 ± 66.6)pg/dl、(157.3 ± 63.8)pg/dl 和(163.9 ± 74.5)pg/dl,与对照组比较有非常显著升高($P < 0.01$)。切口并肠道牵拉组术后 10 min、20 min 和 40 min 的 β -EP 浓度分别为(376.9 ± 50.8)pg/dl、(298.8 ± 70.0)pg/dl 和(266.9 ± 53.7)pg/dl,与气腹组比较两组术后 10 min、20 min β -EP 有非常显著差异($P < 0.01$),术后 40 min 有显著差异($P < 0.05$)。切口并肠道牵拉组与切口组比较两组术后 10 min、20 min 和 40 min β -EP 均有非常显著差异($P < 0.01$)。结论 CO₂ 气腹及肠道牵拉为重要的刺激因素,均可以引起大鼠的应激反应,肠道牵拉可加重应激反应的程度。

【关键词】应激反应; β -内啡肽; 皮质醇

中图分类号 R-332

文献标识 A

文章编号 1009-6604(2005)02-0151-02

Effect of carbon dioxide pneumoperitoneum and enteric disturbance on stress responses in rats: An experimental study Wu Gang, Cai Duan. Department of Surgery, Huashan Hospital of Fudan University, Shanghai 200040, China

【Abstract】Objective To study the effect of CO₂ pneumoperitoneum and enteric disturbance on serum β -endorphin (β -EP) in SD rats, in order to investigate their influence on peri-operative stress responses in SD rats. Methods A total of 120 SPF-grade male SD rats were randomly divided into four groups with 30 rats in each group. The four groups received CO₂ pneumoperitoneum (Group A), a 5 cm abdominal incision (Group B), a 5 cm abdominal incision with gastroenteric disturbance (Group C), and intraperitoneal anesthesia (Group D or Control Group), respectively. Concentrations of serum β -EP of these groups were measured 10 min, 20 min, and 40 min after the beginning of surgery, respectively. Results Concentrations of serum β -EP in the Group A 10 min, 20 min, and 40 min after the beginning of surgery were 274.7 ± 66.6 pg/dl, 157.3 ± 63.8 pg/dl, and 163.9 ± 74.5 pg/dl, respectively, which were all extremely significantly higher than those in the Control Group ($P < 0.01$). Serum β -EP levels 10 min, 20 min, and 40 min after the beginning of surgery in the Group C were 376.9 ± 50.8 pg/dl, 298.8 ± 70.0 pg/dl, and 266.9 ± 53.7 pg/dl, respectively, with extremely significant differences ($P < 0.01$) 10 min and 20 min postoperatively and significant differences ($P < 0.05$) 40 min postoperatively, compared with the Group A. There were extremely significant differences ($P < 0.01$) on β -EP levels 10 min, 20 min, and 40 min after the beginning of surgery between the Group C and the Group B. Conclusions Both CO₂ pneumoperitoneum and enteric disturbance, as important stimulus factors, may result in stress responses in rats. Gastroenteric disturbance may accentuate the severity of stress responses.

【Key Words】Stress responses; β -endorphin; Cortisol

β -内啡肽(β -endorphin, β -EP)是内啡肽家族中的主要成员,是具有镇痛活性的内源性阿片物质,由 31 个氨基酸组成的肽类物质。 β -EP 升高的程度与手术创伤大小的程度有关, β -EP 作为应激指标,用于衡量应激反应程度的大小、麻醉程度的深浅或对内稳态干扰程度的轻重。2002 年 5 月~2003 年 5 月,我们通过研究 CO₂ 气腹及肠道牵拉对大鼠血浆 β -内啡肽的影响,探讨腹腔镜手术的微创机制。

1 材料与方法

1.1 材料

实验动物为 SPF 级、雄性、SD 大鼠 120 只,体重 190~220 g,购自中科院上海实验动物中心。实验

室设定温度为 23℃,相对湿度 48%。试剂:大鼠血浆 β -内啡肽试剂盒购自第二军医大学神经生物教研室。主要设备:STORZ 26020S 气腹机,DL-8R 冷冻离心机(上海市离心机机械研究所)和 SN-695 型智能放免 γ 测量仪。

1.2 动物分组方法

120 只 SD 大鼠,随机编号 1~120,按除以 4 的余数分为 4 组,各组再按除以 3 的余数分为 3 小组,共 12 组,每组 10 只。1% 硫贲妥钠(0.5 ml/100 g)腹腔麻醉。气腹组(A 组):12 号注射用针头于右下腹穿刺腹腔,连接于 CO₂ 气腹机,建立气腹,压力为 1.0 kPa。5 cm 切口组(B 组):取 5 cm 腹部正中切口,切口并牵拉组(C 组):取 5 cm 腹部正中切口,用神经拉钩一端牵拉大鼠小肠,另一端经滑轮牵拉 50

g 的砝码(拉力器测得拉力为 5 N)。实验条件下分别于 10 min、20 min 和 40 min 取大鼠 10 只准确采集全血 2 ml。对照组(D 组)腹腔麻醉后 10 min、20 min 和 40 min 采血,测血浆 β-内啡肽参考值并作空白对照。

1.3 实验条件的设定

根据文献报道^[1]应激因素作用于大鼠引起血浆 β-内啡肽的升高,其峰值出现在应激因素持续作用 5~10 min 随后逐渐下降。实验中采血时间设定为切皮或 CO₂ 气腹建立后 10 min、20 min 和 40 min。开腹并牵拉组牵拉小肠的力量以既要显露右肝下解剖,又不造成对切口的牵拉,经过预实验设置拉力为 5 N。

1.4 大鼠血浆 β-内啡肽的测定

参考管小滨等方法^[2]。实验条件下准确采集大鼠全血 2 ml,加入预冷的、加有 0.3 mol/L EDTA-2Na(20 mg/L)和抑肽酶(500 U/ml)的塑料试管中,混匀,迅速低温离心(4℃下离心 20 min, 3 000 r/min)取血浆, -20℃保存,统一待测。样本的测定顺序饱和和样本加样, 4℃孵育 24 h,加入 ¹²⁵I-β-内啡肽孵育 24 h,室温放置 45 min, 4 000 r/min 离心 20 min,弃上清,加分离剂,测定沉淀的 cpm 值,换算成浓度单位 pg/dl,同时绘制标准曲线两条。

2 结果

各组 β-内啡肽测定值见表 1。

表 1 各组 β-内啡肽测定值($\bar{x} \pm s$) pg/dl

| | 10 min (n=10) | 20 min (n=10) | 40 min (n=10) |
|---------------------|------------------|------------------|------------------|
| 对照组 | 61.1 ± 35.0 | 65.4 ± 42.2 | 63.6 ± 37.8 |
| CO ₂ 气腹组 | 274.7 ± 66.6 | 157.3 ± 63.8 | 163.9 ± 74.5 |
| 5 cm 切口组 | 253.1 ± 86.0 | 145.7 ± 105.0 | 134.0 ± 142.9 |
| 切口 + 牵拉组 | 376.9 ± 50.8 | 298.8 ± 70.0 | 266.9 ± 53.7 |
| F 值 | 44.44 | 17.29 | 9.41 |
| P 值 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

气腹组、切口组和切口并牵拉组术后 10 min、20 min、40 min 血浆 β-内啡肽均显著升高,与对照组均有非常显著差异($P=0.000$)。

气腹组和切口组术后 10 min、20 min、40 min 血浆 β-内啡肽均无显著差异($q=1.09, 0.76, 1.09$; $P>0.05$)。

切口组与切口并牵拉组术后 10 min、20 min 和 40 min 血浆 β-内啡肽值两组均有非常显著差异($q=6.26, 6.43, 4.85$; $P<0.01$)。

气腹组与切口并牵拉组术后 10 min 和 20 min 血浆 β-内啡肽值两组有非常显著差异($q=5.17, 5.66$; $P<0.01$) , 40 min β-内啡肽值两组有显著差异($q=3.76$, $P<0.05$)。

3 讨论

Guillemin 首先报道大鼠应激状态下, β-EP

从垂体释放入血,各种应激原均能刺激中枢引起血浆 β-EP 浓度升高,其分泌也受下丘脑控制,主要由腺垂体合成,其前体物质为前阿黑皮质素原(POMC)。应激可使内阿片肽水平升高,同时促肾上腺皮质激素(ACTH)亦相应增加,两者完全平行。应激时 β-EP 升高的意义可能在于对应激强度的调控作用, β-EP 能够抑制交感-肾上腺髓质系统的活性,抑制 ACTH 和糖皮质激素的分泌,并抑制血管加压素、维产素、促性腺激素的分泌。β-EP 的增多与应激时痛阈升高亦有密切关系。围手术期 β-EP 的变化对 LC 和 OC 围手术期应激反应的机制研究十分重要^[3~5]。

许多文献^[6]推测肠道牵拉可以影响应激反应的程度和持续时间,肠道对温度变化及牵拉作用敏感,肠道牵拉是手术创伤的一部分。对肠道牵拉干扰较小可能是小切口胆囊切除术和腹腔镜胆囊切除术(LC)等手术的微创机制之一。CO₂ 气腹及肠道牵拉可以引起大鼠的应激反应,CO₂ 气腹及肠道牵拉通过中枢神经系统刺激下丘脑释放促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)继而刺激垂体引起 β-EP 升高。

5 cm 腹部切口或 CO₂ 气腹、压力 1.0 kPa 时 CO₂ 气腹组术后 β-内啡肽均显著升高,提示上述两种实验条件均可引起大鼠的应激反应。两组 β-内啡肽值无统计学意义($P>0.05$),提示实验条件下两组对大鼠的应激反应无明显差异。5 cm 腹部切口 + 肠道牵拉(5 N)组和 5 cm 腹部切口组术后 10 min 和 20 min β-内啡肽值两组有非常显著差异,40 min β-内啡肽值两组有显著差异,提示实验条件下肠道牵拉可以加重应激反应的程度。

本研究通过动物实验探讨肠道牵拉对大鼠血浆 β-内啡肽的影响,确立了肠道牵拉作为一个独立的应激原,可以加重应激反应的程度,延长应激反应的持续时间,即加重创伤的程度。因此,推测腹腔镜术中无肠道牵拉或肠道干扰较小,可能是其重要的微创机制之一,因而术中减少对肠道的牵拉,可减轻围手术期的应激反应的程度,缩短应激反应的持续时间,减小创伤,促进病人康复。

参考文献

- 1 钱燕宁,林桂芳. 应激时 β-内啡肽与糖代谢. 国外医学麻醉与复苏分册,1989,5:319-321.
- 2 管小滨,林葆城,祝元祥,等. 大鼠血浆 β-内啡肽放免测定. 动物学报,1989,4:440-441.
- 3 Aloisi AM, Bianchi M, Lupo C, et al. Neuroendocrine and behavioral effects of CRH blockade stress in male rats. Physiol Behav, 1999, 66: 523-528.
- 4 Yao S, Cai W, Dai X. Neuroendocrine mechanisms of impact by experimental stress on plasma glucose level in STZ KM mice. Zhonghua YiXueZaZhi, 1999, 79: 332-334.
- 5 苑晓玲,王蕴红,邹延艾. 运动对大鼠下丘脑 GnRH 和 β-EP 含量的影响. 中国运动医学杂志, 2000, 19: 270-272.
- 6 路长林,主编. 神经肽基础与临床试验. 上海:第二军医大学出版社, 2000. 205-376.

(收稿日期 2003-05-21)
(修回日期 2003-09-09)