

文章编号:1005-6947(2005)01-0040-04

· 实验研究 ·

# 腹部术后疲劳综合征大鼠模型的建立及其评价

杨建新<sup>1</sup>, 杨明<sup>2</sup>

(1. 广东药学院临床医学系 普通外科, 广东 广州 510224; 2. 广州中医药大学二附院 外科, 广东 广州 510120)

**摘要:**目的 建立和评价腹部术后疲劳综合征大鼠模型。方法 采用手术切除大鼠部分肝脏, 术后观察动物的一般情况、鼠尾悬挂实验、负重游泳力竭实验, 血清蛋白、转铁蛋白、血清铁, 小肠黏膜损伤病理评价, 肝脏白蛋白基因表达等指标。结果 70% 肝切除实验大鼠一般情况差、体力耐力下降, 有一定程度的抑郁表现, 并在营养学指标、小肠黏膜应激反应损伤和肝清蛋白基因表达等方面发生明显改变。结论 切除70% 肝脏制作大鼠动物模型, 具有临床术后疲劳综合征的基本特征, 可作为研究腹部手术后疲劳综合征实验动物模型。

**关键词:**腹部/外科学; 疲劳综合征; 肝切除术; 疾病模型, 动物

**中图分类号:** R657.3; R363

**文献标识码:** A

## Establishment and assessment of a model of abdominal postoperative fatigue syndrome in rats

YANG Jian-xin<sup>1</sup>, YANG Ming<sup>2</sup>

(1. Department of General Surgery, Clinical Medicine Faculty, Pharmaceutical College of Guangdong, Guangzhou 510224, China; 2. The Second Affiliated Hospital, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China)

**Abstract: Objective** To establish and assess a model of abdominal postoperative fatigue syndrome (POFS) in rats. **Methods** After 70% hepatectomy was performed, the following observations of the animals were made: general condition, rat tail suspension test, weight-carrying swim fatigue test, serum levels of albumin, ferritin, and iron, pathologic assessment of injury of small intestinal mucosa and hepatic albumin gene expression. **Results** After 70% hepatectomy of the rats, their general condition was poor, the level of physical tolerance decreased, they showed a certain amount of depression, and marked changes were found in nutritional index, stress injury of small intestinal mucosa and hepatic albumin gene expression. **Conclusions** A 70% hepatectomy rat model has the basic characteristics of clinical abdominal POFS, and can be used as an experimental animal model for the study of abdominal POFS.

**Key words:** ABDOMEN/surg; POSTOPERATIVE FATIGUE SYNDROME; HEPATECTOMY; DISEASE MODELS, ANIMAL

**CLC number:** R657.3; R363

**Document code:** A

手术后疲劳综合征(POFS)是外科手术后的一个普遍存在的综合征,是患者恢复期的主要并发症之一<sup>[1]</sup>。其病因是多源性的,与手术创伤、术后营养及代谢状态恶化、骨骼肌收缩力和耐力下降等因素

有关<sup>[2,3]</sup>。肝部分切除术动物模型是由 Higgin 首先创建的<sup>[4]</sup>,几十年来一直作为研究肝细胞再生的经典模型。在此基础上,笔者选择合适的切肝量,即达到合适的刺激强度,导致 POFS 的生发。腹部 POFS 动物模型的建立以及评价系统的不断完善,对临床研究 POFS 具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SD 大鼠 48 只,清洁级,体重 260 ~ 300 g,雌雄

**基金项目:**广东省中医药管理局科研资助项目(099511)。

**收稿日期:**2004-08-27; **修订日期:**2004-12-10。

**作者简介:**杨建新(1957-),男,湖北武汉人,广东药学院临床医学系副教授,博士,主要从事外科围手术期基础与临床方面的研究。

**通讯作者:**杨建新 电话:020-34226391(O),13710539081(手机); E-mail:YangJX20@21cn.com。

各半,由广州第一军医大学实验动物中心提供(粤检证字:2001A051号)。

## 1.2 造模方法

大鼠在饲养室适应5d,编号称重,按切肝量的0%,30%,50%和70%随机分为:A,B,C,D4组,各组大鼠以10%水合氯醛按0.3mL/100g体重腹腔注射麻醉,背位固定,备皮消毒后,沿腹白线开腹,参照Higgin方法,按预定肝切量用双极射频电凝器切除肝脏。A组切开腹腔,牵拉肝脏,不切肝。B组按0.81g肝重/100g体重比例切肝(占全肝的30%);C组切肝比例为1.35g(占全肝的50%);D组切肝比例为1.9g,切除肝脏的左叶和中叶,切除量占全肝70%<sup>[5,6]</sup>。所有模型制作在上午8时~9时进行。术毕腹腔内注射5%葡萄糖5mL,伤口缝合处涂少量的金霉素眼膏。大鼠自由进食、饮水。B组1只大鼠因手术后出血当天死亡,其余大鼠全部存活。

## 1.3 检测指标及方法

1.3.1 一般观察项目 造模后观察并详细记录各组大鼠一般情况,第3天和第5天进行鼠尾悬挂实验<sup>[7]</sup>,第4天和第6天进行负重游泳力竭实验<sup>[8]</sup>。

1.3.2 血液检测项目 第二次负重力竭游泳实验(造模后6d)结束后,所有动物行心脏穿刺采血,然后将实验动物脱颈椎处死,取材检测:(1)转铁蛋白含量测定(免疫比浊法),试剂采用上海太阳生物技术经营部提供的专用试剂盒;(2)血清铁测定,采用干片生化分析法,用美国强生干生化分析仪250进行检测;(3)小肠黏膜损伤病理评价,按照Muller<sup>[9]</sup>评分标准;(4)肝脏清蛋白基因表达,采用异硫氰酸胍一步法<sup>[10]</sup>提取、分离实验大鼠肝总RNA。逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)方法测定。

## 1.4 统计学方法

用SPSS统计软件包,数据通过One-way ANOVA处理,组间差异采用F检验。

## 2 结果

### 2.1 手术后大鼠活动情况

术后D组30%动物活动明显下降,且随着手术结束时间的延长,不能活动发生率逐渐提高,至实验结束时仍未见明显好转。而B,C组也有部分大鼠出现类似活动减少的表现,发生率约为10%~30%,比同期D组大鼠不能活动有明显差异( $P < 0.01$ ),实验后期B,C两组大鼠不能活动减少。A组大鼠术后变化不明显(图1)。

图1 切肝后各组大鼠不能活动发生情况

### 2.2 手术后鼠尾悬挂实验及挣扎幅度的变化

D组大鼠悬尾不动时间明显延长,与同期A,B,C组比较差异有显著性( $P < 0.05$ );B,C组与A组比较差异无显著性( $P > 0.05$ );随着手术结束后时间的延长,各组动物悬尾挣扎不动时间逐渐缩短。D组有90%的大鼠最大挣扎幅度在中低位,仅有10%能达到高位,与A,B,C组比较差异有极显著性( $P < 0.01$ );B,C组和A组有60%以上的大鼠最大挣扎幅度主要出现在高位,高位出现频率大小依次为B组>A组>C组(表1)。

表1 肝部分切除大鼠悬尾不动时间及挣扎幅度的变化( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	悬尾不动时间(s)		挣扎幅度(%)		
		3d	5d	低位	中位	高位
A	10	30 ± 12 <sup>1)</sup>	18 ± 8 <sup>1)</sup>	-	15.0 <sup>2)</sup>	85.0 <sup>2)</sup>
B	9	31 ± 11 <sup>1)</sup>	22 ± 8 <sup>1)</sup>	-	11.1 <sup>2)</sup>	89.0 <sup>2)</sup>
C	10	40 ± 13 <sup>1)</sup>	18 ± 7 <sup>1)</sup>	-	40.0 <sup>2)</sup>	60.0 <sup>2)</sup>
D	10	65 ± 12	40 ± 9	10.0	80.0	10.0

注:与D组比较;1)  $P < 0.05$ , 2)  $P < 0.01$ ;

### 2.3 手术后大鼠负重游泳力竭实验体力耐受情况

D, C组大鼠负重游泳力竭时间明显缩短, 与同时点A, B组比较, 差异有显著意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); D组与同时点C组比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ ), B组与同时点A组比较差异无显著意义 ( $P > 0.05$ ) (表2)。

表2 肝部分切除术后大鼠负重游泳力竭时间的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	2d	6d
A	10	6.8 ± 1.3 <sup>1),2)</sup>	6.5 ± 0.9 <sup>1),2)</sup>
B	9	7.1 ± 1.1 <sup>1),2)</sup>	6.4 ± 1.2 <sup>1),2)</sup>
C	10	4.6 ± 1.2	4.8 ± 1.1
D	10	3.7 ± 1.0	3.8 ± 0.7

注:1)与C组比较,  $P < 0.05$ , 2)与D组比较,  $P < 0.01$

### 2.4 各组大鼠小肠黏膜损伤病理评价

小肠黏膜病理读片结果显示, D组大鼠的小肠黏膜上皮损伤按照Muller评分标准, 评为2分(5/10), 3分(5/10)的各占50.0%。C组分布较分散, 0分10.0%(1/10), 1分50.0%(5/10), 2分20.0%(2/10); 3分20.0%(2/10)。B组大鼠小肠黏膜评为0分, 1分, 2分的比率分别为45.0% 4/9, 45.0% 4/9和10.0% 1/9, 未见3分者; A组大鼠小肠黏膜变化0分占60.0%(6/10), 1分40.0%(4/10), 未见2分和3分(图2)。

表3 大鼠血清蛋白、血清铁和血浆转铁蛋白含量的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	总蛋白(g/L)	清蛋白(g/L)	球蛋白(g/L)	血清铁( $\mu\text{mol/L}$ )	血浆转铁蛋白(g/L)
A	10	55.91 ± 2.1	25.2 ± 2.1	30.7 ± 4.0	27.9 ± 4.3	0.64 ± 0.10
B	9	53.1 ± 7.0	25.4 ± 0.6	27.7 ± 6.9	29.3 ± 10.3	0.70 ± 0.30
C	10	50.9 ± 4.0 <sup>1)</sup>	24.2 ± 1.2	27.1 ± 3.9	18.6 ± 3.0 <sup>2)</sup>	0.40 ± 0.20 <sup>1)</sup>
D	10	48.5 ± 5.5 <sup>2)</sup>	23.4 ± 3.1	26.0 ± 4.0 <sup>1)</sup>	14.3 ± 2.4 <sup>2)</sup>	0.48 ± 0.20 <sup>1)</sup>

注:与A组比较:1)  $P < 0.05$ ; 2)  $P < 0.01$

### 2.6 手术后大鼠肝脏清蛋白基因表达

与A组比较, D组大鼠肝清蛋白表达(为A组的27.0% ± 11.3%)明显减弱, 差异有显著性 ( $P < 0.01$ ); C组大鼠肝清蛋白表达亦有减弱(为A组的62.8% ± 13.9%), 与A组比较差异有显著性 ( $P < 0.05$ ); 而B组肝清蛋白表达减弱不明显(为A组的91.7% ± 15.6%), 与A组比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ ) (图3)。

图2 大鼠小肠黏膜病理改变

### 2.5 大鼠血清蛋白以及血清铁和血浆转铁蛋白含量的变化

B, C, D 3组大鼠的血清总蛋白、清蛋白和球蛋白含量均有不同程度的下降。其中, 以D组大鼠变化最明显, 与A组比较, 总蛋白、球蛋白显著降低 ( $P < 0.05$ ), 清蛋白变化不明显。C组总蛋白明显低于A组 ( $P < 0.05$ ), 但清蛋白、球蛋白含量变化不明显。B组各项指标与A组比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。C, D组大鼠血清铁及血浆转铁蛋白明显低于A组 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 而B组大鼠血清铁含量和血浆转铁蛋白含量有增高趋势, 与A组比较无明显差异 ( $P > 0.05$ ) (表3)。

图3 各组大鼠肝清蛋白基因表达

### 3 讨论

手术后疲劳发生的根本原因是手术创伤所致的应激反应。当手术创伤达到一定程度时,会引起机体某些器官或系统的功能紊乱,导致手术后疲劳的发生发展。制作 POFS 大鼠动物模型的关键是找到这个创伤的适度,以及如何观察和评价它。本研究采用观测以下指标,并作评价。

(1)一般观察 D组大鼠表现肌肉寒战、四肢冰冷,并有眯眼、活动减少、体力不支、毛发枯槁、对刺激不敏感、自我洁净能力下降等现象。

(2)体力情绪 鼠尾悬挂实验的间断不动时间一定程度上能反映动物肌无力以及抑郁倾向,表现为“失望”。力竭游泳时间是反映动物体力及衡量其是否疲劳的经典指标。D组大鼠悬尾不动时间明显延长,负重游泳力竭时间短,挣扎幅度小;B,C组大鼠悬尾不动时间较D组明显缩短,游泳时间长,并有较大的挣扎幅度。提示,70%肝切后大鼠明显体力不支,并在一定程度上出现抑郁倾向。

(3)血清总蛋白、清蛋白、球蛋白含量变化 D组大鼠肝总蛋白和球蛋白含量明显下降。蛋白的丢失可能是造成手术后疲劳的原因之一,但清蛋白变化不明显,因为清蛋白并非灵敏的营养指标,其在血中的半衰期达18~21d。选择急性反应蛋白(PA,TFN,RBP,等)可能会增加敏感性<sup>[11]</sup>。肝部分切后,大鼠血清总蛋白和球蛋白含量变化程度与手术切肝量大小有关,切肝量越大变化越明显,这与临床上患者术后营养学指标变化相似<sup>[12]</sup>。

(4)大鼠血清铁和血浆转铁蛋白含量的变化 D组因肝切量较大,导致肝脏合成转铁蛋白明显受抑制,短期内不足以补偿手术带来的血浆转铁蛋白丢失;B组因只切除小部分肝脏(30%切肝),肝功能正常,反馈性刺激肝脏大量合成转铁蛋白,增加机体血清铁的含量。

(5)大鼠小肠黏膜损伤 肝部分切除术后,小肠黏膜广泛充血、水肿、大部分绒毛脱落甚至坏死,造成小肠营养吸收障碍,这是机体营养不良的重要原因,导致术后疲劳综合征的发生。本组结果显示D组肠黏膜损伤明显重于B,C组。

(6)肝清蛋白基因表达的比较 本组结果显示,D组动物肝清蛋白表达明显抑制,可造成机体

清蛋白合成障碍,也是引起术后疲劳综合征的重要原因。

综上所述,70%肝切实验大鼠一般情况表现差、体力耐受力下降,出现一定程度的抑郁表现,并在营养学指标、小肠黏膜应激反应损伤和肝清蛋白基因表达等方面发生明显改变,具有临床术后疲劳综合征的基本特征;笔者认为,以70%的比例对大鼠进行肝部分切除所制成的大鼠实验动物模型,可作为腹部 POFS 研究实验动物模型。

#### 参考文献:

- [1] Rubin GJ, Hotopf M. Systematic review and meta-analysis of interventions for postoperative fatigue [J]. *Br J Surg*, 2002, 89(8):971-984.
- [2] Christensen T, Hougaard F, Kehlet H. Influence of pre- and intra-operative factors on the occurrence of postoperative fatigue [J]. *Br J Surg*, 1985, 72(1):63-68.
- [3] Christensen T, Kehlet H. Postoperative fatigue [J]. *World J Surg*, 1993, 17(2):220-224.
- [4] Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver [J]. *Arch Pathol*, 1931, 12:186-191.
- [5] 陈长勋,金若敏,李仪奎,等.正常SD大鼠的部分生物数据测定[J].*动物学杂志*,1996,31(4):19-22.
- [6] 陈平,李昆,董家鸿.肝硬变大鼠肝部分切除术动物模型的制作方法[J].*第三军医大学学报*,2002,24(4):488-490.
- [7] 王天芳,陈易新,季绍良,等.慢性束缚致慢性疲劳动物模型的研制及其行为学观察[J].*中国中医基础医学杂志*,1999,5(5):25-29.
- [8] 艾华.力竭性游泳对大鼠睾丸金属结合蛋白的诱导及其与睾酮和锌的关系[J].*中国应用生理学杂志*,1994,10(2):117-120.
- [9] Muller AR, Langrehr JM, Malesenik, et al. Mucosal glutaminase activity and histology as parameters of small bowel preservation injury [J]. *J Surg Res*, 1994, 56(3):207-215.
- [10] Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction [J]. *Analytical Biochemistry*, 1987, 162(1):156-159.
- [11] 毛争春,陈如坤,赵琳.重组人生长激素对心脏手术后疲劳综合征的影响[J].*中华医学杂志*,2002,82(11):262-265.
- [12] 李雅慧,贾汝梅,王景顺,等.1002例普通外科择期手术住院患者营养状态评价[J].*中国临床营养杂志*,2002,3(1):4-6.