

刘倩,鲁华,郭更新,等. 连续性血液透析滤过联合依那普利对急性重症胰腺炎大鼠肾功能及肠功能的改善作用[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(6): 805-811.

Liu Q, Lu H, Guo GX, et al. Continuous hemodiafiltration combined with enalapril improves renal and intestinal function in rats with severe acute pancreatitis [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(6): 805-811.

Doi:10. 3969/j.issn.1005-4847. 2020. 06. 010

连续性血液透析滤过联合依那普利对急性重症胰腺炎大鼠肾功能及肠功能的改善作用

刘倩^{1*}, 鲁华¹, 郭更新¹, 刘静¹, 李娜²

(1. 邢台市人民医院肾内科,河北 邢台 054001; 2. 邢台市人民医院产科,河北 邢台 054001)

【摘要】 目的 探究连续性血液透析滤过联合依那普利对急性重症胰腺炎大鼠肾功能及肠功能的改善作用。**方法** 60 只 SD 大鼠随机分为 5 组:对照组、模型组、连续性血液透析滤过组、依那普利组及连续性血液透析滤过联合依那普利组,除对照组外均采用牛黄胆酸钠诱导急性重症胰腺炎大鼠模型,连续性血液透析滤过组造模后给予连续性血液透析滤过 12 h;依那普利组术前 7 d 灌胃 10 mg/(kg·d) 的依那普利,每天 1 次;连续性血液透析滤过联合依那普利组作相应的联合处理。采用 HE 染色观察大鼠胰腺、肾及肠粘膜组织病理变化,检测血浆内毒素(ET)、D-乳酸(D-LC)、血清淀粉酶(AMY)、尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)水平,FITC-Dextran 通透实验检测肠道通透性,Western Blot 检测大鼠 α -血管平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、E 钙黏素(E-cadherin)、高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)及闭合蛋白(occludin)的表达。**结果** 与模型组相比,连续性血液透析滤过联合依那普利可有效减轻急性重症胰腺炎大鼠胰腺、肾及肠粘膜组织损伤,显著降低大鼠肠粘膜通透性、血清 AMY、BUN、Cr、血浆 ET、D-LC 水平、组织 α -SMA 及 HMGB1 的表达,显著提高 E-cadherin 和 Occludin 的表达,且作用效果优于单项处理。**结论** 连续性血液透析滤过联合依那普利可明显改善急性重症胰腺炎所致的肾及肠组织损伤,有助于肾功能及肠功能的恢复。

【关键词】 连续性血液透析滤过;依那普利;急性重症胰腺炎;肾功能;肠功能

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020) 06-0805-07

Continuous hemodiafiltration combined with enalapril improves renal and intestinal function in rats with severe acute pancreatitis

LIU Qian^{1*}, LU Hua¹, GUO Gengxin¹, LIU Jing¹, LI Na²

(1. Department of Nephrology, Xingtai People's Hospital, Xingtai 054001, China.
2. Obstetrics Department, Xingtai People's Hospital, Xingtai 054001)

Corresponding author: LIU Qian. E-mail: maozoua@163.com

【Abstract】 Objective To explore the beneficial effects of continuous hemodiafiltration (CHDF) combined with enalapril on renal and intestinal function in rats with severe acute pancreatitis (SAP). **Methods** Sixty Sprague-Dawley rats were randomly divided into a control group and four treatment groups: SAP model, CHDF, enalapril, and CHDF + enalapril. Rats in the treatment groups were induced with SAP using sodium taurocholate. After modeling, the CHDF group was given CHDF for 12 h, and the enalapril group was given enalapril 10 mg/kg/d by gavage, for 1 day. The CHDF + enalapril group was given both treatments simultaneously. Histopathological changes in the pancreas, kidney and intestinal

[基金项目] 河北省科技攻关项目(201724412547)。
Funded by Scientific and Technological Brainstorm Project in Hebei(201724412547).

[通信作者] 刘倩(1984—),女,硕士,副主任医师,研究方向:血液透析、血液灌流、透析滤过、血浆置换、腹膜透析等。
Email: maozoua@163.com

mucosa were observed by hematoxylin and eosin staining. The plasma levels of endotoxin (ET) and D-lactic acid (D-LC), and serum levels of amylase (AMY), blood urea nitrogen (BUN) and creatinine (Cr) were measured. A fluorescein isothiocyanate-dextran permeability test was used to examine intestinal permeability. Western blotting was used to detect expression of α -vascular smooth muscle actin (α -SMA), E-cadherin, high mobility group box protein 1 (HMGB1) and occludin. **Results** Compared with the model, CHDF + enalapril had the following effects in rats with SAP: effectively alleviated damage to the pancreas, kidney and intestinal mucosal tissues; significantly reduced intestinal mucosal permeability, the levels of serum AMY, BUN and Cr and plasma ET and D-LC, and expression of α -SMA and HMGB1 in tissues; and significantly increased expression of E-cadherin and occludin. The combined action effect was better than that of either single treatment. **Conclusions** CHDF combined with enalapril significantly improved renal and intestinal tissue damage caused by SAP, which contributed to the recovery of renal and intestinal function.

[Keywords] continuous hemodiafiltration; enalapril; severe acute pancreatitis; renal function; intestinal function

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

急性重症胰腺炎具有发病急、进展快、病情重的临床特点,常伴有多器官功能的改变,如肺、肾、肠道等,急性重症胰腺炎引起的多器官功能衰竭是急性重症胰腺炎患者死亡的主要原因^[1-2]。因此,及早的防治器官衰竭有重要的临床意义。目前,针对急性重症胰腺炎合并多器官功能障碍尚无特效疗法。王锋等^[3]研究发现,连续性血液透析滤过能够有效改善急性重症胰腺炎大鼠的肠功能障碍。依那普利是常用的降压药,对于肾有一定的保护作用^[4]。但连续性血液透析滤过联合依那普利用于急性重症胰腺炎的研究较少,依那普利(enalapril)是属于血管紧张素转换酶抑制类降压药,具有扩张血管作用,主要用于高血压、心理衰竭等疾病^[5]。故本研究联合连续性血液透析滤过和依那普利,探讨其对急性重症胰腺炎大鼠肾功能和肠功能的影响,并初步分析其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

60 只 6~8 周龄清洁级雄性的 SD 大鼠,体重 200~240 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,动物许可证号【SCXK(京)2019-0002】,动物实验实验室的使用许可证号【SYXK(冀)2019-0003】,实验动物福利伦理(审批号 2019A005 号)。饲养条件:温度 20~24℃,湿度 40%~60%,每 12 h 昼夜交错。

1.1.2 主要试剂与仪器

依那普利,纯度为 97%,购自上海源叶生物科技有限公司;苏木素、伊红购自上海恒斐生物科技有限公司;ET 试剂盒购自上海钰博生物科技有限公司;ELISA 试剂盒购自武汉菲恩生物科技有限公司;FITC-Dextran 购自美国 MCE 公司;BCA 试剂盒购自美国 Thermo Fisher 公司;蛋白一抗购自美国 Life

Technologies 公司;标记二抗辣根过氧化物酶兔抗蛋白购自上海优予生物科技有限公司。iMark 酶标仪购自美国 Bio-Rad, F-4600 型荧光分光光度计购自日本日立。

1.2 方法

1.2.1 动物模型

腹腔注射戊巴比妥钠麻醉大鼠,于上腹部正中作切口,小心分离胆胰管,夹闭肝门处胰胆管,由十二指肠肠前壁进针,向胰胆管注入 3% 牛磺胆酸钠(流速为 0.1 mL/kg)。待见胰腺出现水肿出血时,提示急性重症胰腺炎大鼠模型复制成功^[6]。松开血管夹,逐层缝合、关腹。术后注意保温,大鼠均自由摄食饮水。

1.2.2 分组及干预

60 只 SD 大鼠随机分为 5 组:对照组、模型组、连续性血液透析滤过组、依那普利组及连续性血液透析滤过联合依那普利组,除对照组外均采用牛磺胆酸钠诱导急性重症胰腺炎大鼠模型,对照组处理:手术后进翻动肠道和胆胰管,注射等量生理盐水。术前 7 d 灌胃 10 mg/(kg·d)的依那普利,每天 1 次。建模成功后立即连续性血液透析滤过 4 h,具体操作如下:(1)腹腔注射戊巴比妥钠麻醉大鼠,后续操作中每 1~2 h 追加剂量(首次剂量的 1/4),维持麻醉状态;(2)建立静脉通路,于颈部作切口,分离右侧颈动脉,结扎颈动脉远心端,并临时夹闭近心端,缓慢插入 PE50 导管,连接三通阀后松开动脉夹,缓慢注入肝素生理盐水(预防凝血),参照上述方法分离左侧颈静脉插管;(3)连续性血液透析滤过,以右侧颈动脉为体外循环的流出通路,左侧颈静脉为流入通路,连接瑞典金宝 AK100 透析机,参数设置:置换液流速 0.4~0.5 mL/h,血流速度 0.8~1.0 mL/min,过程中予以肝素抗凝。对照组和模型组分别皮下注射生理盐水,并以等量生理盐水灌胃。

1.2.3 观察指标

透析处理后,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉大鼠,取腹主动脉血 4~5 mL,分别置于 EDTA 抗凝管和普通采血管中;采集大鼠胰腺、肾及肠粘膜组织,部分固定于 4% 甲醛中,剩余冻存于液氮罐中。

(1) 组织 HE 染色

于 4% 甲醛中取出大鼠组织,脱水后行常规石蜡包埋,切片厚度为 4 μm ,进行苏木素-伊红染色后,光镜下观察大鼠胰腺、肾及肠粘膜组织的病理变化。参照 Shmidt 评分^[7],以水肿、坏死、出血及炎症细胞浸润评价胰腺组织损伤程度,各项评分 0~4 分,最终评分为各项目评分之和的四分之一。参照肾病理损害标准进行评估^[8],具体为:0 分为肾小球、肾小管结构正常;1 分为肾小球结构正常,肾小管上皮水肿;2 分为肾小球瘀血或缺血性改变,肾小管上皮变性,细胞界限模糊,管腔出现变窄、闭塞或水肿;3 分为在 2 分的基础上,成片出现肾小管上皮坏死。参照 Chiu 肠粘膜损伤评分^[9],具体为:0 分为肠粘膜绒毛正常;1 分为绒毛顶端出现间隙,伴有充血;2 分为上皮间间隙扩大,伴有水肿、乳糜管扩张等;3 分为水肿明显,上皮细胞变性、坏死或少数绒毛脱落;4 分为上皮细胞变性、坏死、脱落或部分绒毛脱落,固有层裸露,血管扩张、充血;5 分为绒毛脱落、固有层崩解,出血或形成溃疡。

(2) 血指标检测

EDTA 抗凝管中血液经离心沉淀后,取上层血浆检测内毒素 (ET)、D-乳酸 (D-LC) 的含量;普通采血管中血液经离心沉淀后,取上层血清检测淀粉酶 (AMY)、尿素氮 (BUN) 和肌酐 (Cr) 的含量。ET 检测为终点显色法鲎试剂^[10],梯度配制 ET 标准溶液,取无热原试管加入 100 μL ET 检查用水、标准溶液和样本,再混入 100 μL 鲎试剂,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 min,加入 100 μL 显色基质,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 min,分别加入 500 μL 偶氮化试剂,混匀后静置 5 min,于 545 nm 处检测各孔吸光值,绘制标准品浓度-吸光值曲线,计算 ET 的含量。其余指标检测均为 ELISA 法^[11],梯度配制标准溶液,将标准溶液和样本 (每孔 100 μL) 加入孔板中,封孔后 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 90 min,加入生物素化抗体工作液 (每孔 100 μL),封孔后 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 60 min,加入酶结合物工作液 (每孔 100 μL),封孔后 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30 min,加入显色剂 (每孔 100 μL),避光处 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 10 min,加入终止液 (每孔 100 μL),于 450 nm 处检测各孔吸光值,绘制标准品浓度-吸光值曲线,计算相应因子的含量。

(3) 肠道粘膜通透性检测

采用改良 Chen 法^[12],腹腔注入 FITC-Dextran 溶

液 (25 mg/mL) 0.2 mL,灌注 30 min 后取门静脉血 100 μL ,加入 Tris 缓冲液补至 2 mL,以 4230 r/min 离心 10 min,取上清液应用荧光分光光度计检测吸光值,绘制标准品浓度-吸光值曲线,计算 FITC-Dextran 的含量。

(4) 蛋白的检测

取适量组织 (约 200 mg) 置于新鲜、预冷的蛋白裂解液中匀浆,冰上裂解 40 min;以 12 000 r/min 离心 10 min,分离上清液,按 1:50 配制 BCA 试剂盒中 A、B 工作液,并梯度稀释标准品蛋白液,于 96 孔板中分别添加标准品蛋白液、样品 (每孔 20 μL),再快速混入 180 μL 工作液,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30 min,应用酶标仪在 570 nm 处检测各孔吸光值,绘制标准品浓度-吸光值曲线,计算样品蛋白浓度;配制 10% SDS-PAGE 凝胶,点样 50 μg 变性蛋白在 110 V 电压 (约 1.5 h) 下进行电泳;待蛋白完全分离时,以 300 mA 恒定电流电转 100 min,将凝胶上的蛋白条带转移至 PVDF 膜;取出 PVDF 膜置于封闭液中,室温下孵育 2 h;取出 PVDF 膜清洗后,加入一抗蛋白,4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜;取出 PVDF 膜清洗后,加入标记二抗辣根过氧化物酶兔抗蛋白,37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 1 h;最后滴加化学发光剂进行显影^[13]。以 β 肌动蛋白 (β -actin) 为内参,半定量分析肾及肠道中 α 血管平滑肌肌动蛋白 (α -Vascular smooth muscle actin, α -SMA)、高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box protein 1, HMGB1)、E 钙黏素 (E-cadherin) 及闭合蛋白 (occludin) 的表达。

1.3 统计学分析

采取软件 SPSS 18.0 对数据进行统计学处理,数据以平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 Students *t* 检验或 ANOVA 分析, $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果

2.1 各组大鼠胰腺、肾和肠粘膜组织病理改变

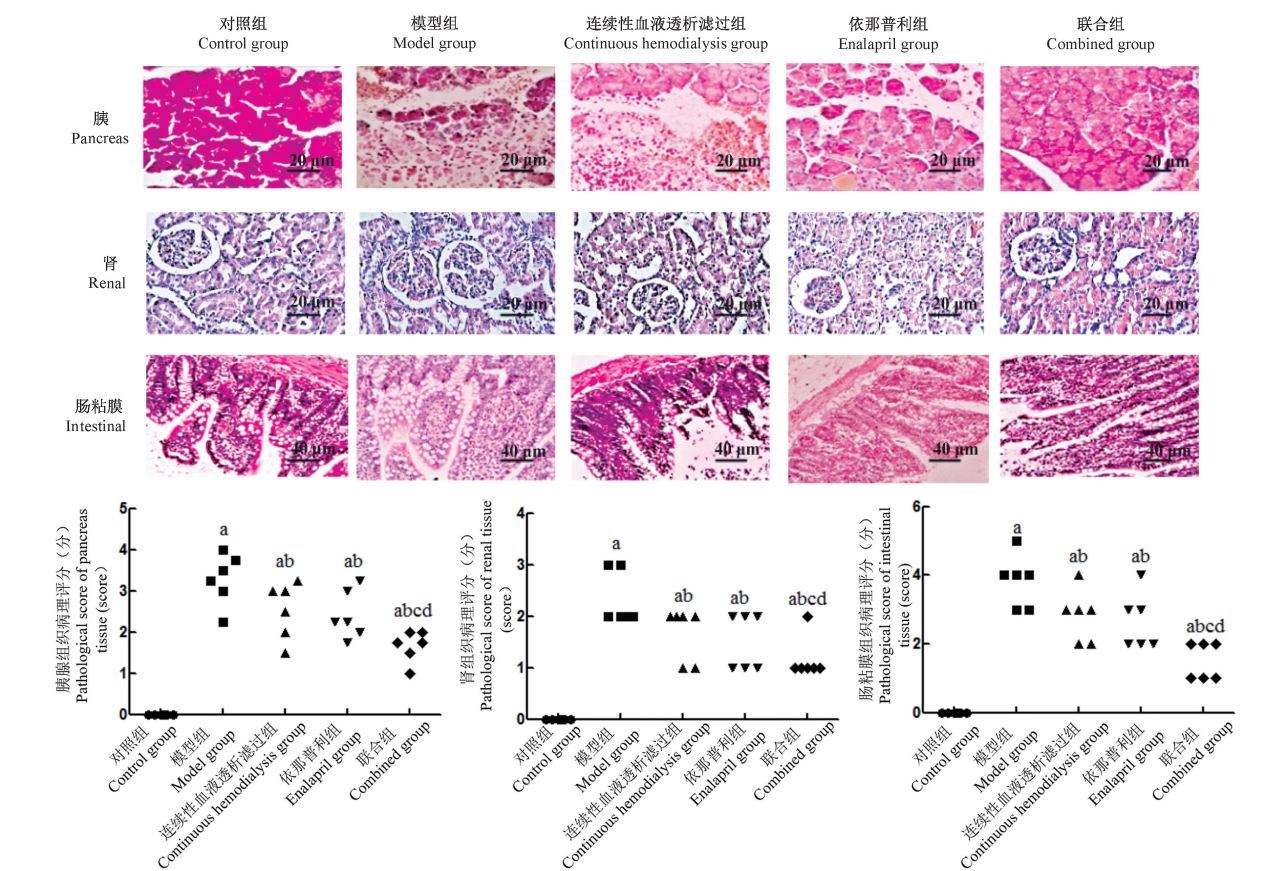
如图 1,对照组胰腺、肾和肠粘膜组织结构清晰,未见损伤。模型组胰腺组织结构紊乱,间质水肿、出血明显,大量细胞坏死和炎性浸润;肾组织出现不用程度的肾小管上皮水肿,肾小球出血或缺血性改变,间质出血、水肿严重,大量上皮细胞坏死;肠粘膜上皮细胞出现坏死、脱落、水肿及充血。与对照组比较,模型组各组织病理评分显著增加 ($P < 0.05$);与模型组比较,经血液透析滤过、依那普利处理后,大鼠胰腺、肾和肠粘膜组织损伤明显减轻,病理评分降低,且联合处理组效果最好 ($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠肾功能指标水平的比较

如图 2,与对照组相比,模型组血清 AMY、BUN、Cr 水平显著上升($P<0.05$);与模型组比,血液透析滤过、依那普利处理后显著降低 AMY、BUN、Cr 水平($P<0.05$),且联合处理组下降作用更显著($P<0.05$)。

2.3 各组大鼠肠功能指标水平的比较

如图 3,与对照组相比,模型组血浆 ET、D-LC 水平显著上升($P<0.05$);与模型组相比,血液透析滤过、依那普利处理后显著降低 ET、D-LC 水平($P<0.05$),且联合处理组下降作用更显著($P<0.05$)。



注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与连续性血液透析滤过组比较,^c $P<0.05$;与依那普利组比较,^d $P<0.05$ 。(下图同)

图 1 各组大鼠胰腺、肾和肠粘膜组织病理改变

Note. Compared with control group, ^a $P<0.05$. Compared with model group, ^b $P<0.05$. Compared with CHDF group, ^c $P<0.05$. Compared with enalapril group, ^d $P<0.05$. (The same in the following figures)

Figure 1 Pathological changes of pancreas, kidney and intestinal mucosa tissues of rats in each group

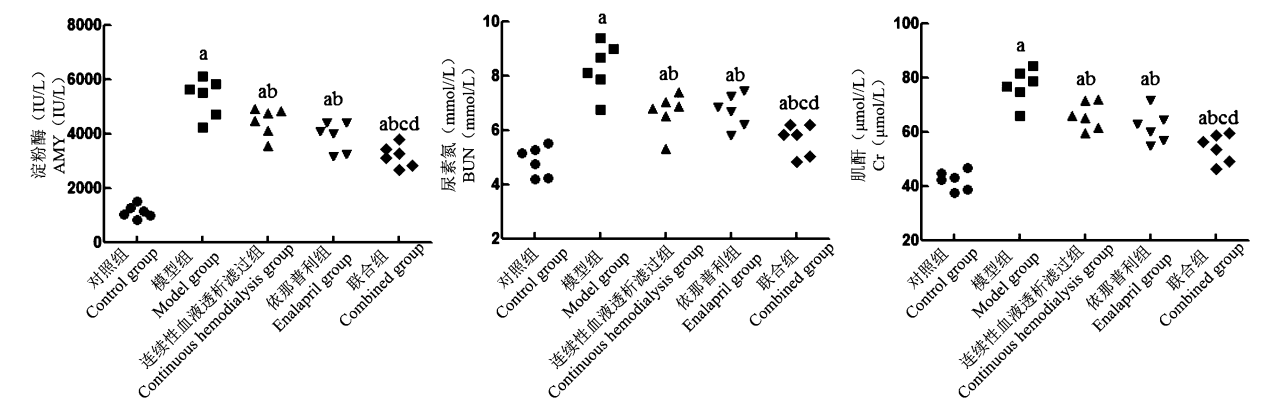


图 2 各组大鼠肾功能指标水平的比较

Figure 2 Comparison on the levels of renal function indexes among all groups

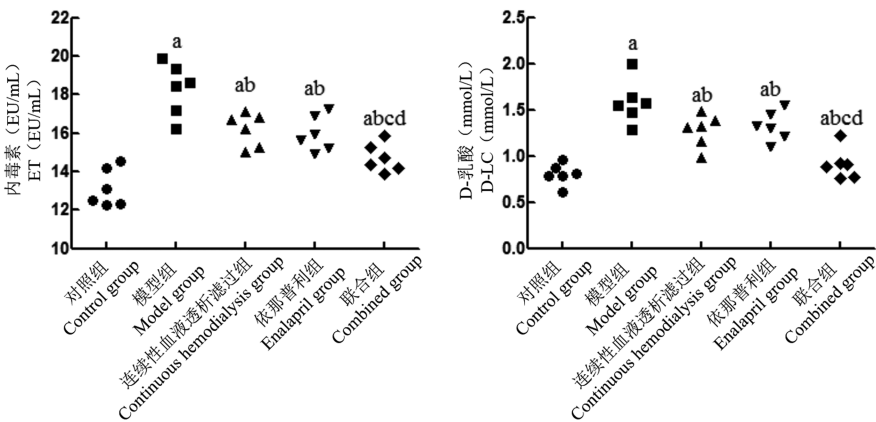


图 3 各组大鼠肠功能指标水平的比较
Figure 3 Comparison on the levels of intestinal function indexes among all groups

2.4 各组大鼠肠粘膜屏障功能的比较

如图 4,与对照组比,模型组肠道通透性明显增加($P < 0.05$);与模型组比,血液透析滤过、依那普利处理后大鼠肠道通透性明显降低($P < 0.05$),且联合处理组降低更明显($P < 0.05$)。

2.5 各组大鼠相关蛋白水平的比较

如图 5,与对照组比较,模型组大鼠肾组织中 α -SMA 的表达显著上调, E-cadherin 的表达显著下调,肠组织中 HMGB1 的表达显著上调, Occludin 的表达显著下调($P < 0.05$);与模型组相比,血液透析滤过、依那普利处理后 α -SMA 及 HMGB1 的表达显著下调, E-cadherin 和 Occludin 的表达显著上调,且联合作用效果更好($P < 0.05$)。

3 讨论

本研究采用牛磺胆酸钠诱导大鼠,胰腺组织出现明显水肿、出血症状,光镜下观察到胰腺组织不同程度的充血、水肿、坏死及炎性浸润;同时,急性重症胰腺炎发生过程中,由于炎症介质“瀑布样”释放,造成“二次打击”,容易导致多器官组织损伤和功能障碍,本研究中模型大鼠肾和肠道也出现明显损伤,表明急性重症胰腺炎大鼠模型构建成功。相关动物研究证实,依那普利在多种因素引起的肾病中,对大鼠肾功能均具有保护作用,可能介导肾素-血管紧张素系统,抑制足细胞凋亡,从而减轻肾细胞损伤^[14]。另外, Dahlgren 等^[15]研究发现,依那普利可通过抑制血管紧张素转换酶,增强大鼠肠道的防御作用。

肾是身体的主要排泄、内分泌器官,具有排泄代谢废物、调节代谢平衡及分泌激素等功能,有助于机体维持内环境的稳定^[16]。研究发现,急性重症胰腺炎会引起有效循环血容量相对或绝对的不足,降低肾小球滤过率,引起血清 AMY、BUN、Cr 水平上升^[17]。本研究发现,连续性血液透析滤过联合依那普利可明显改善模型大鼠肾组织损伤,降低血清 AMY、BUN、Cr 的水平,与 Chen 等^[18]研究结果相似。表明连续性血液透析滤过联合依那普利可有效保护模型大鼠肾功能的作用。当肾组织出现损伤时,往往伴随着肾小管间质纤维化,其中肾小管细胞上皮间质转化是其主要生理基础; E-cadherin 是细胞间维持粘附作用的主要蛋白,而 α -SMA 是间质细胞中的标志蛋白^[19-20]。因此,肾出现损伤时, E-cadherin 表达会下调,而 α -SMA 会上调。本研究

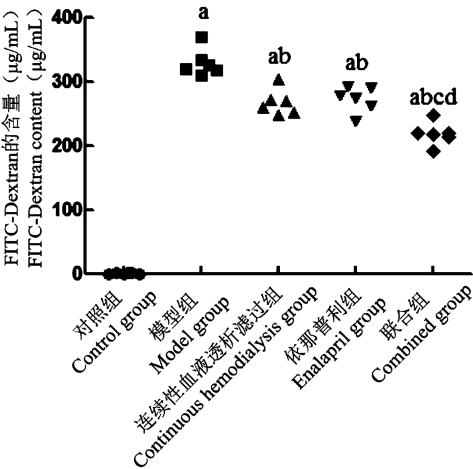


图 4 各组大鼠肠粘膜屏障功能的比较
Figure 4 Comparison of intestinal mucosal barrier function among all groups

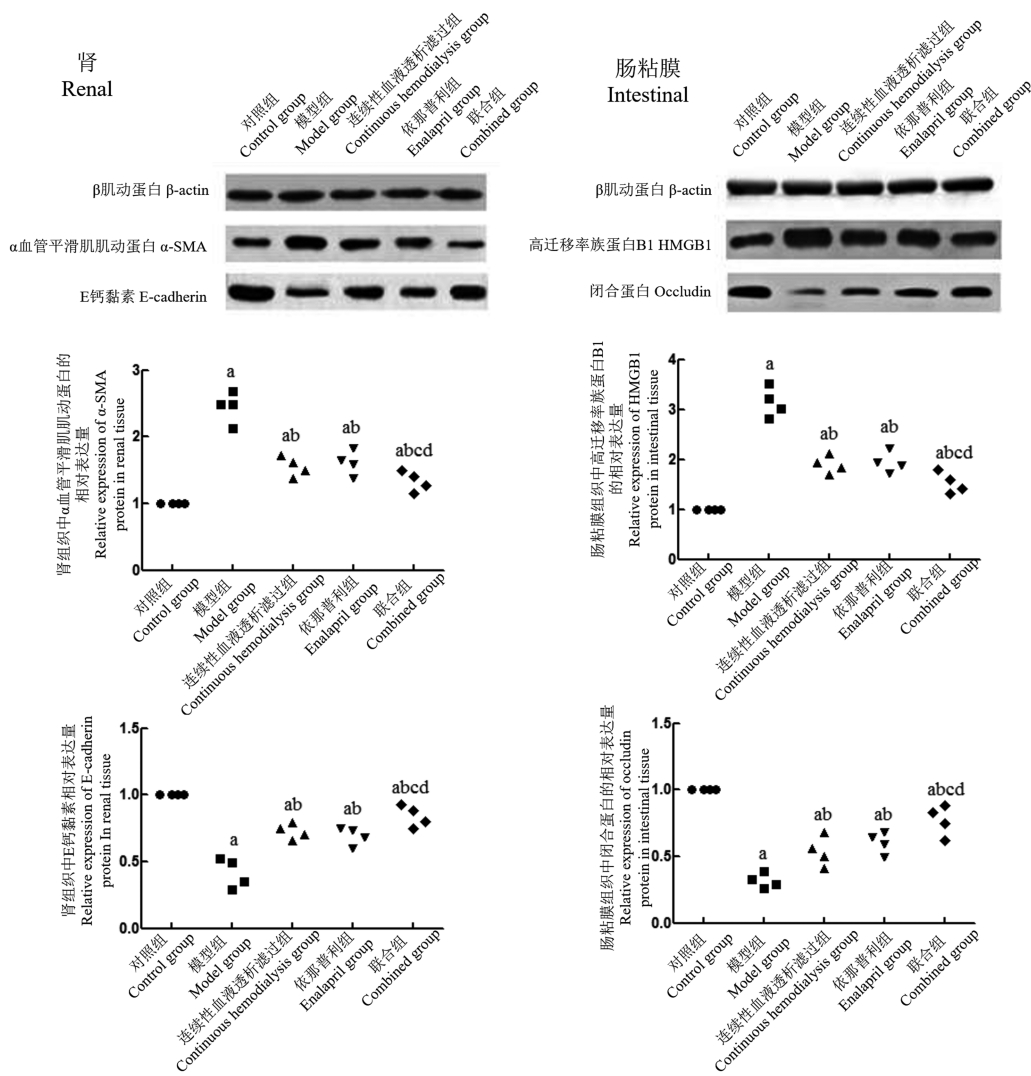


图 5 各组大鼠相关蛋白的表达

Figure 5 Expression of related proteins in each group

结果显示,连续性血液透析滤过联合依那普利可显著上调模型大鼠肾中 E-cadherin 的表达,下调 α -SMA 的表达,提示连续性血液透析滤过联合依那普利可能通过抑制肾小管上皮间质转化,减轻肾组织损伤,从而起到保护急性重症胰腺炎肾功能的作用。

研究证实,大量炎症因子的释放会损伤肠道屏障功能,增加其通透性,导致机体易继发感染^[21],因此,急性重症胰腺炎患者往往伴随着肠道功能的损害。肠道通透性增加诱发细菌易位,使细菌及其代谢产物进入体循环,进一步活化单核-巨噬细胞,再次放大炎症信号,造成全身性炎症损伤^[22]。ET 是革兰氏阴性菌细胞壁的主要成分,是炎症反应的主要触发因素;而 D-LC 是细菌发酵的代谢产物,体内 D-乳酸主要来源于肠道^[23]。本研究发现,连续性血液透析滤过联合依那普利可明显改善模型大鼠肠

粘膜损伤,降低大鼠肠粘膜通透性,下调血清 ET、D-LC 的水平,与 Kang 等^[24]研究结果相似。表明连续性血液透析滤过联合依那普利可有效保护模型大鼠肠道功能的作用。HMGB1 属于炎症介质,可介导肠黏膜屏障损伤,导致其通透性增加^[25]。Occludin 是细胞膜紧密连接蛋白,对维持肠粘膜屏障功能有着重要的作用^[26]。本研究发现,连续性血液透析滤过联合依那普利可显著上调模型大鼠肠粘膜组织中 Occludin 的表达,下调 HMGB1 的表达,提示连续性血液透析滤过联合依那普利可能通过维持肠粘膜上皮的连接,并下调炎症介质,起到保护急性重症胰腺炎肠功能的作用。

综上所述,连续性血液透析滤过联合依那普利能够有效改善急性重症胰腺炎大鼠肾功能及肠功能,可能与下调 α -SMA、HMGB1 的表达,上调 E-

cadherin 和 Occludin 的表达有关,为连续性血液透析滤过联合依那普利临床用于急性重症胰腺炎的治疗提供了理论基础。

参 考 文 献(References)

- [1] Portelli M, Jones CD. Severe acute pancreatitis: pathogenesis, diagnosis and surgical management [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2017, 16(2): 155-159.
- [2] Yan Y, Lu B, Li P, et al. NOD receptor and TLR9 modulation in severe acute pancreatitis-induced intestinal injury [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(6): 8471-8476.
- [3] 王锋, 刘杰, 黄仲俊. 连续性血液透析滤过对急性重症胰腺炎大鼠肠上皮细胞凋亡和肠功能障碍的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(18): 35-37.
Wang F, Liu J, Huang ZJ. Effects of continuous hemodiafiltration on intestinal epithelial cell apoptosis and intestinal dysfunction in rats with severe acute pancreatitis [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2018, 27(18): 35-37.
- [4] Yim HE, Yoo KH, Bae IS, et al. Early treatment with enalapril and later renal injury in programmed obese adult rats [J]. J Cell Physiol, 2016, 232(2): 447-455.
- [5] Ayaz SI, Sharkey CM, Kwiatkowski GM, et al. Intravenous enalaprilat for treatment of acute hypertensive heart failure in the emergency department [J]. Int J Emerg Med, 2016, 9(1): 28.
- [6] Qi H, Lu Q, Yin C, et al. Exogenous leptin protects rat models of sodium taurocholate-induced severe acute pancreatitis through endocrinal and immunological pathways [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(5): 6306-6312.
- [7] Schmidt J, Lewandrowski K, Warsaw AL, et al. Morphometric characteristics and homogeneity of a new model of acute pancreatitis in the rat [J]. Int J Pancreatol, 1992, 12(1): 41-51.
- [8] Seekamp A, Jochum M, Ziegler M, et al. Cytokines and adhesion molecules in elective and accidental trauma-related ischemia/reperfusion [J]. J Trauma, 1998, 44(5): 874-882.
- [9] Chiu CJ, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. II. The protective effect of intraluminal glucose as energy substrate [J]. Arch Surg, 1970, 101(4): 484-488.
- [10] Yano S, Hotta Y, Takahashi S. Determination of endotoxin in injectable antibiotic preparations by the chromogenic assay method using a Limulus reagent (Tachypleus hemocyte lysate) and a chromogenic substrate [J]. J Clin Microbiol, 1986, 23(1): 11-16.
- [11] Butler JE. Enzyme-linked immunosorbent assay [J]. J Immunoassay, 2000, 21(2-3): 165-209.
- [12] Atchison CR, West AB, Balakumaran A, et al. Drug enterocyte adducts: possible causal factor for diclofenac enteropathy in rats [J]. Gastroenterology, 2000, 119(6): 1537-1547.
- [13] Dressler F, Whalen JA, Steere RAC. Western blotting in the serodiagnosis of lyme disease [J]. J Infect Dis, 1993, 167(2): 392-400.
- [14] 侯建同, 鄢高亮, 王栋, 等. 马来酸依那普利叶酸片对糖尿病大鼠发生对比剂肾病的影响及初步机制研究 [J]. 中国循环杂志, 2019, 34(1): 96-101.
- [15] Dahlgren D, Sjöblom M, Hedeland M, et al. The *in vivo* effect of transcellular permeation enhancers on the intestinal permeability of two peptide drugs enalaprilat and hexarelin [J]. Pharmaceuticals, 2020, 12(2): 99.
- [16] Zhu S, Zhang C, Weng Q, et al. Curcumin protects against acute renal injury by suppressing JAK2/STAT3 pathway in severe acute pancreatitis in rats [J]. Exp Ther Med, 2017, 14(2): 1669-1674.
- [17] Li H, Liu J, Wang W, et al. Matrix metalloproteinase 9 and vasodilator-stimulated phosphoprotein related to acute kidney injury in severe acute pancreatitis rats [J]. Digest Dis Sci, 2015, 60(12): 3647-3655.
- [18] Chen QJ, Yang ZY, Wang CY, et al. Hydroxyethyl starch resuscitation downregulate pro-inflammatory cytokines in the early phase of severe acute pancreatitis: a retrospective study [J]. Exp Ther Med, 2016, 12(5): 3213-3220.
- [19] Romi MM, Arfian N, Tranggono U, et al. Uric acid causes kidney injury through inducing fibroblast expansion, Endothelin-1 expression, and inflammation [J]. BMC Nephrol, 2017, 18(1): 326-333.
- [20] Chen SJ, Wu P, Sun LJ, et al. MiR-204 regulates epithelial-mesenchymal transition by targeting SP1 in the tubular epithelial cells after acute kidney injury induced by ischemia-reperfusion [J]. Oncol Rep, 2017, 37(2): 1148-1158.
- [21] Huang L, Jiang Y, Sun Z, et al. Autophagy strengthens intestinal mucosal barrier by attenuating oxidative stress in severe acute pancreatitis [J]. Digest Dis Sci, 2018, 63(4): 910-919.
- [22] Sun Y, He Y, Wang F, et al. Low-methoxyl lemon pectin attenuates inflammatory responses and improves intestinal barrier integrity in caerulein-induced experimental acute pancreatitis [J]. Mol Nutr Food Res, 2017, 61(4): 1600885.
- [23] Hu J, Chen L, Zheng W, et al. Lactobacillus frumenti facilitates intestinal epithelial barrier function maintenance in early-weaned piglets [J]. Front Microbiol, 2018, 9: 897.
- [24] Kang X, Lu XG, Zhan LB, et al. Dai-Huang-Fu-Zi-Tang alleviates pulmonary and intestinal injury with severe acute pancreatitis via regulating aquaporins in rats [J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17(1): 288.
- [25] Chen X, Zhao HX, Bai C, et al. Blockade of high-mobility group box 1 attenuates intestinal mucosal barrier dysfunction in experimental acute pancreatitis [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 6799.
- [26] Wang L, Cui YL, Zhang Z, et al. Rhubarb monomers protect intestinal mucosal barrier in sepsis via junction proteins [J]. Chin Med J, 2017, 130(10): 1218-1225.