

• 研究报告 •

# 急性胰腺炎大鼠磷脂酶 A<sub>2</sub> 来源的实验研究

么改琦 朱曦 林英

【关键词】 胰腺炎,急性; 磷脂酶 A<sub>2</sub>; 肠; 肺

大量的临床观察表明,早期或晚期出现多器官功能障碍综合征(MODS)是重症急性胰腺炎的主要死亡原因。从体外研究中我们已证实,过度激活的中性粒细胞(PMN)释放产物能够直接损伤血管内皮细胞<sup>[1]</sup>。本研究准备从组织器官水平探讨大鼠急性坏死性胰腺炎(ANP)时肠、肺功能损伤的机制。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物与分组:健康 Wistar 大鼠 150 只,体重 180~220 g,雌雄各半,按随机数字表法分为假手术组(SHAM 组)、2%模型组(AEP 组)、5%模型组(ANP 组),每组 50 只。

1.2 动物模型制备:实验前动物禁食 12 h,不禁水,戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(60 mg/kg),无菌操作,上腹正中切口开腹。找到游离的十二指肠及其系膜内的胰胆管,在十二指肠乳头对侧缘十二指肠壁上用 4 号针头穿孔,顺穿孔处将直径 0.8 mm 硅胶管插入胰胆管,分别用小动脉夹及丝线暂时阻断胰胆管出肝门端及入肠端,AEP 组和 ANP 组分别经胰胆管内逆行注射质量分数为 2%和 5%牛磺胆酸钠 1 ml·min<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup>,注射充毕后 10 min 去除结扎丝线及动脉夹,关腹。SHAM 组开腹后,仅翻动胰腺数次,关腹。

1.3 观察指标及方法:于制模后 24 h 和 72 h 进行指标测定。

1.3.1 支气管肺泡灌洗液(BALF)中白细胞计数(WBC):取左下肺,用 100 ml 冷生理盐水反复灌洗 6 次,将灌洗液以 1 000 r/min(离心半径 14.5 cm)离心 5 min,沉渣涂片,改良巴氏染色,计算各种有核细胞数。

1.3.2 磷脂酶 A<sub>2</sub> 活性(CA-PLA<sub>2</sub>)测定:①血浆 CA-PLA<sub>2</sub> 测定:采用陈思

基金项目:北京市科技计划重大项目资助(H020420020031)

作者单位:100083 北京大学第三医院危重医学科

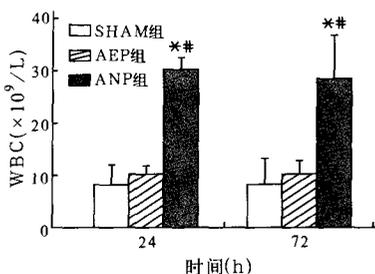
作者简介:么改琦(1964-),女(汉族),河北省人,医学博士,副主任医师。

锋等<sup>[2]</sup>建立的微量酸滴定法。②组织 CA-PLA<sub>2</sub> 测定:取肺、肠组织各 1 g,加 4 ml 稀释液,进行匀浆至细胞完全破碎为止,测定方法同血浆 CA-PLA<sub>2</sub> 测定,以 37℃下每克组织每分钟消耗 1 mol HCl 定为 1 个 CA-PLA<sub>2</sub> 单位(U)。③胰腺来源 PLA<sub>2</sub>(Pan-PLA<sub>2</sub>)测定:采用放射免疫分析法。

1.4 统计学分析:多组数据间采用方差分析,两组数据间采用 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

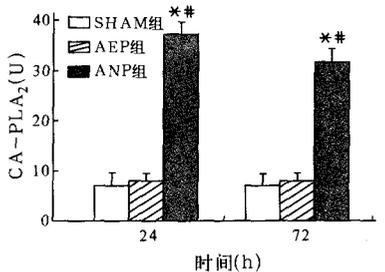
2.1 BALF 中 WBC 变化(图 1):制模后 24 h 和 72 h ANP 组 WBC 明显高于 SHAM 组和 AEP 组(*P* 均<0.01)。



注:与 SHAM 组比较: \**P*<0.01; 与 AEP 组比较: #*P*<0.01

图 1 各组 BALF 中 WBC 的比较

2.2 血清 CA-PLA<sub>2</sub> 变化(图 2):制模后 24 h 和 72 h ANP 组 CA-PLA<sub>2</sub> 明显高于 SHAM 组和 AEP 组(*P* 均<0.01)。

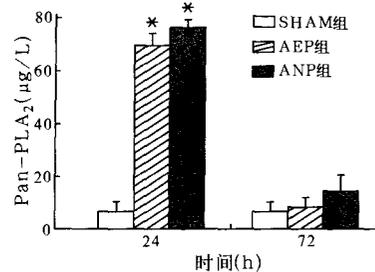


注:与 SHAM 组比较: \**P*<0.01; 与 AEP 组比较: #*P*<0.01

图 2 各组血清 CA-PLA<sub>2</sub> 的比较

2.3 血清 Pan-PLA<sub>2</sub> 变化(图 3):制模后 24 h ANP 和 AEP 组 Pan-PLA<sub>2</sub> 均显著高于 SHAM 组(*P* 均<0.01),但两

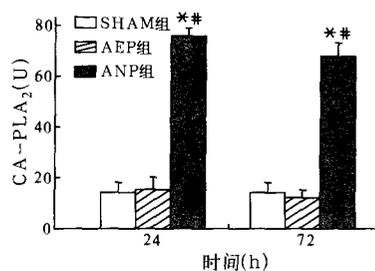
组间差异无显著性;而在制模后 72 h 各组 Pan-PLA<sub>2</sub> 均降至正常水平。



注:与 SHAM 组比较: \**P*<0.01

图 3 各组血清 Pan-PLA<sub>2</sub> 的比较

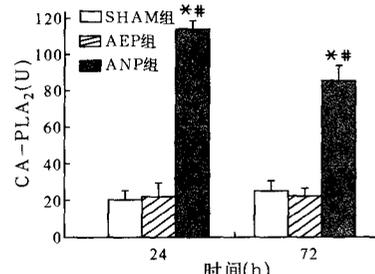
2.4 肺组织 CA-PLA<sub>2</sub> 变化(图 4):制模后 24 h 和 72 h ANP 组肺组织 CA-PLA<sub>2</sub> 明显高于 SHAM 组和 AEP 组(*P* 均<0.01),其升高的幅度大于血清 CA-PLA<sub>2</sub> 升高幅度(*P*<0.05)。



注:与 SHAM 组比较: \**P*<0.01; 与 AEP 组比较: #*P*<0.01

图 4 各组肺组织中 CA-PLA<sub>2</sub> 的比较

2.5 肠组织 CA-PLA<sub>2</sub> 变化(图 5):制模后 24 h 和 72 h ANP 组肠组织 CA-PLA<sub>2</sub> 明显高于 SHAM 组和 AEP 组(*P* 均<0.01),其升高的幅度大于血清 CA-PLA<sub>2</sub> 升高幅度(*P*<0.05)。



注:与 SHAM 组比较: \**P*<0.01; 与 AEP 组比较: #*P*<0.01

图 5 各组肠组织中 CA-PLA<sub>2</sub> 的比较

2.6 胰腺、肺、小肠组织 Pan-PLA<sub>2</sub>: 在胰腺、肺、小肠组织中均未测到 Pan-PLA<sub>2</sub>。

### 3 讨论

3.1 肺、肠损害在 ANP 病理生理学中的作用: 肺损害在重症急性胰腺炎时极为常见, 当出现 MODS 时肺损害发生最早, 多表现为急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)<sup>[2]</sup>。本实验结果表明, 注射 5% 牛磺胆酸钠后, 肺组织发生明显的病理改变, 在 ANP 后期的主要死亡原因是胰腺感染、脓毒症, 细菌培养后发现, 这种感染的细菌 75% 源于肠道, 说明 ANP 时存在肠道细菌移位。本实验表明, 注入 5% 牛磺胆酸钠后, 肠黏膜出现病理性改变, 表现为水肿充血、大片肠微绒毛脱落, 大量炎性细胞浸润, 表明 ANP 大鼠肠黏膜屏障功能衰退, 为肠道细菌移位引起肠源性感染提供了形态学基础。

3.2 PLA<sub>2</sub> 的来源与作用: PLA<sub>2</sub> 是人体组织细胞中广泛存在的一种磷脂水解酶, 以甘油磷脂类为底物可将其水解成花生四烯酸 (AA)、溶血性卵磷脂、游离脂肪酸等, 其中大部分是 AA。鉴于这些水解物、水解物的代谢产物和 PLA<sub>2</sub> 均具有强烈的生物学活性, PLA<sub>2</sub> 在疾病的发生发展过程中所起的作用不容忽视<sup>[3]</sup>。血栓素 A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) 与前列环素 I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) 是 AA 代谢产物。业已证明, TXA<sub>2</sub> 和 PGI<sub>2</sub> 均由细胞膜磷脂转化而成, 而细胞膜磷脂的代谢及 TXA<sub>2</sub> 和 PGI<sub>2</sub> 的合成直接受 PLA<sub>2</sub> 活性影响。TXA<sub>2</sub> 具有很强的血小板聚集和血管收缩作用, 而 PGI<sub>2</sub> 则有抑制血小板聚集和

舒血管作用。生理状态下循环血中 CA-PLA<sub>2</sub> 较低, 且 TXA<sub>2</sub> 与 PGI<sub>2</sub> 含量处于相对平衡状态是机体内环境稳定的重要因素。当 CA-PLA<sub>2</sub> 升高, TXA<sub>2</sub> 与 PGI<sub>2</sub> 间平衡失调时可引起血小板在血管内聚集、血管痉挛性收缩和(或)血栓形成等多种病理生理改变。

在急性胰腺炎时, CA-PLA<sub>2</sub> 升高是较为公认的事实<sup>[4]</sup>。本研究结果表明, 注射 5% 牛磺胆酸钠造成 ANP 模型, 不仅大鼠血清 CA-PLA<sub>2</sub> 明显升高, 肠、肺组织中 CA-PLA<sub>2</sub> 也较 SHAM 组明显升高, 而且肠、肺组织中 CA-PLA<sub>2</sub> 升高的幅度大于血清 CA-PLA<sub>2</sub> 升高幅度。在肠、肺组织中高浓度的 PLA<sub>2</sub> 可以直接损伤组织, 还可以趋化 PMN 向组织浸润, 促进氧自由基 (OFR) 产生, 进一步加重组织损害。

本实验还表明, 通过放射免疫分析方法测定, 血中 Pan-PLA<sub>2</sub> 水平在制模后 24 h 升高, 72 h 已降至正常水平, 在肠、肺组织中也未测得 Pan-PLA<sub>2</sub>, 这与 Hietaranta 等<sup>[6]</sup>的实验结果相类似。他们采用免疫组化方法仅在胰腺和肾远曲小管内发现有 Pan-PLA<sub>2</sub>, 肺和肾组织中未发现 Pan-PLA<sub>2</sub>。这些结果都表明造成肺、肠损伤的 PLA<sub>2</sub> 是非胰源性的<sup>[5]</sup>。本实验还发现, ANP 时, 外周血 WBC 明显升高, 主要为 PMN, 因此过度激活的 PMN 及巨噬细胞释放的溶酶体和粗面内质网内的 PLA<sub>2</sub> 可能是 CA-PLA<sub>2</sub> 升高的重要来源; BALF 中巨噬细胞和 PMN 数量也明显增加, 肠、肺组织中 PMN 也明显升高, 而且肠、肺组织

CA-PLA<sub>2</sub> 升高幅度大于血清中 CA-PLA<sub>2</sub> 升高的幅度, 提示肠、肺组织 PLA<sub>2</sub> 除来自血液外, 还可能来自肠、肺组织内的吞噬细胞。

### 参考文献:

- 1 么改琦, 吴咸中. 多形核粒细胞体外介导内皮细胞损伤的机制 [J]. 中华实验外科杂志, 1999, 16(1): 36-37.
- 2 陈思锋, 吴中立. 体液和组织磷脂酶 A<sub>2</sub> 简便快速测定法 [J]. 第二军医大学学报, 1989, 10(3): 254-256.
- 3 虞文魁, 李维勤, 李宁, 等. 急性胰腺炎并发急性肺损伤的影响因素及临床意义 [J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16(2): 100-102.
- 4 Uhl W, Schrag H J, Schmitter N, et al. Pathophysiological role of secretory type I and II phospholipase A<sub>2</sub> in acute pancreatitis: an experimental study in rats [J]. Gut, 1997, 40(3): 386-392.
- 5 张震环, 李维勤, 王浩, 等. 重症急性胰腺炎血流动力学和氧化代谢变化的实验研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16(12): 715-718.
- 6 Hietaranta A J, Aho H J, Nevalainen T J. Pancreatic phospholipase A<sub>2</sub> in cerulein-induced acute pancreatitis in the rat [J]. Int J Pancreatol, 1993, 14(3): 261-267.
- 7 Qin S, Pande A H, Nemecek K N, et al. The N-terminal  $\alpha$ -helix of pancreatic phospholipase A<sub>2</sub> determines productive-mode orientation of the enzyme at the membrane surface [J]. J Mol Biol, 2004, 344(1): 71-89.

(收稿日期: 2007-06-10)

(本文编辑: 李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

## 欢迎订阅《中国中西医结合急救杂志》

《中国中西医结合急救杂志》系中国中西医结合学会主办、天津市天和医院承办的全国性科技期刊(为中国中西医结合学会系列杂志之一, 由《中西医结合实用临床急救》杂志更名), 是我国中西医结合急救医学界权威性学术期刊, 已进入国内外多家权威性检索系统。本刊为双月刊, 64 页, 国际通用 16 开大版本, 80 克双胶纸印刷。欢迎广大读者到当地邮局办理订阅手续, 邮发代号: 6-93, 定价: 每期 7.6 元, 全年 45.6 元。

《中国中西医结合急救杂志》已经进入美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、“中国期刊网”、“中国学术期刊(光盘版)”、“万方数据网络系统(China Info)”、“中文科技期刊数据库”、“em120.com 危重病急救在线”以及国家中医药管理局“中国传统医药信息网”(http://www.Medicine China.com)。投本刊论文作者需对本刊以上述方式使用论文无异议, 并由全部作者或由第一作者全权代表其他作者在版权转让协议和校稿上签字同意。稿酬已在本刊付酬时一次付清, 不同意者论文可不投本刊。

《中国中西医结合急救杂志》开设有述评、专题讨论、博士论坛、论著、研究报告、经验交流、病例报告、治则·方剂·针灸、基层园地、临床病理(病例)讨论、消息、读者·作者·编者等栏目, 欢迎广大作者踊跃投稿。同时, 本刊倡导学术争鸣, 对所投稿件将予以重视, 优先考虑。

(期刊编辑部)