

• 论著 •

黄芩甙和奥曲肽对重症急性胰腺炎大鼠 心脏损伤保护作用的比较

张喜平¹, 张玲², 陈汉卿³, 程琪辉¹, 陆贝¹, 居同法¹, 方欣¹, 沈海萍¹

(1. 杭州市第一人民医院, 浙江 杭州 310006; 2. 山西医科大学, 山西 太原 030001;

3. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310006)

【摘要】 目的: 比较黄芩甙和奥曲肽对重症急性胰腺炎(SAP)大鼠心脏损伤的保护作用及其机制。方法: 采用改良 Aho 法制备 SAP 大鼠模型。术后 3、6 和 12 h 腹主动脉取血, 观察各组大鼠血中淀粉酶、内毒素、一氧化氮(NO)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、磷脂酶 A₂(PLA₂)、内皮素-1(ET-1)变化并计算大鼠死亡率, 应用组织微阵列技术制备心肌组织切片观察心肌组织病理变化和心肌组织核转录因子- κ B(NF- κ B)、Bax、Bcl-2 蛋白的表达。结果: ①假手术组全部存活; 模型组 12 h 死亡率为 33.33%; 治疗组为 0。②两个治疗组血中淀粉酶、内毒素、NO、MDA、TNF- α 、PLA₂、ET-1 含量均较模型组降低, SOD 活性升高; 其中黄芩甙组内毒素、PLA₂ 和 MDA 含量下低较明显, 奥曲肽组 TNF- α 和 ET-1 含量降低较为明显($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。3 h 和 6 h 模型组心肌组织 Bax 蛋白有表达, 6 h 奥曲肽和黄芩甙组心肌组织 Bcl-2 蛋白有表达; 除奥曲肽组 6 h 有 1 只大鼠出现心肌细胞凋亡(凋亡率 20%)外, 其余均为阴性; 不同时间点各组 NF- κ B 蛋白表达均为阴性。③两个治疗组心肌组织病理改变均较模型组减轻, 且奥曲肽组疗效更好。结论: 黄芩甙和奥曲肽对 SAP 大鼠心脏损伤具有保护作用, 其机制与抑制炎症介质有关, 但两药疗效与凋亡间的关系不明确。组织微阵列技术用于组织病理学研究效率高、成本低、代表性好。

【关键词】 胰腺炎, 急性, 重症; 黄芩甙; 奥曲肽; 组织微阵列; 心脏; 细胞因子

中图分类号: R285.5; R278 文献标识码: A 文章编号: 1008-9691(2007)02-0114-06

Study of protecting effects of baicalin (黄芩甙) and octreotide on heart injury in rats with severe acute pancreatitis ZHANG Xi-ping¹, ZHANG Ling², CHEN Han-qing³, CHENG Qi-hui¹, LU Bei¹, JU Tong-fa¹, FANG Xin¹, SHEN Hai-ping¹. 1. Hangzhou First People's Hospital, Hangzhou 310006, Zhejiang, China; 2. Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China; 3. Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310006, Zhejiang, China

【Abstract】 **Objective:** To compare the protecting effects and mechanisms of baicalin (黄芩甙) and octreotide on heart injury in rats with severe acute pancreatitis (SAP). **Methods:** SAP model was replicated by improved Aho method. The contents of amylase, endotoxin, nitric oxide (NO), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), tumor necrosis factor- α (TNF- α), phospholipase A₂ (PLA₂) and endothelin-1 (ET-1) were determined at 3, 6 and 12 hours after operation, and the mortality was calculated. The technique of tissue microarrays in pathological examination was used to prepare myocardial tissue section, and the changes of pathology and myocardial nuclear factor- κ B (NF- κ B), Bax, Bcl-2 protein expression levels were observed. **Results:** ①All animals in sham operation group were survived. The mortality of model group was 33.33%, while were both 0 in treatment groups at 12 hours. ②The contents of amylase, endotoxin, NO, MDA, PLA₂, ET-1 and TNF- α of two treatment groups were lower, while the SOD activity was higher than those of the model group at different time points. The endotoxin, PLA₂ and MDA in baicalin treatment group, while TNF- α and ET-1 in octreotide treatment group were more significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The Bax protein expressions of myocardial tissues were observed at 3 and 6 hours in model group. The Bcl-2 protein expressions of myocardial tissues were observed at 6 hours in two treatment groups. There was only one rat with myocardial cell apoptosis in octreotide treatment group at 6 hours (apoptosis rate 20%), and no apoptosis was seen in the other groups. The NF- κ B protein expression was negative at all time points in all groups. ③The pathological myocardial changes were milder in treatment groups than those in model group, and the therapeutic effects were better in octreotide treatment group. **Conclusion:** Baicalin and octreotide have protecting effects on heart injury of rats with SAP, and the mechanisms are related to their inhibition of inflammatory mediators. The relation between their therapeutic effects and apoptosis is unknown. The advantages of tissue microarrays in pathological examination include energy saving, highly efficient and representative.

【Key words】 severe acute pancreatitis; baicalin; octreotide; tissue microarrays; heart; cytokine

重症急性胰腺炎(SAP)发病急骤、病势凶险,易引起胰腺外多器官损伤,导致多器官功能障碍综合征(MODS)。其中心脏损害、心血管失代偿是使病死率升高的并发症之一,单纯西药治疗效果较差。清胰汤作为中药治疗 SAP 的代表方剂,对轻、中、重型胰腺炎均有较好的疗效^[1,2]。而黄芩为清胰汤中的一味要药,黄芩甙(baicalin)单体又是它的主要有效成分,可静脉给药,能克服清胰汤用药不便的缺点,且价格非常低廉。本研究中通过建立 SAP 大鼠模型,借助组织微阵列技术^[3]探讨黄芩甙对 SAP 大鼠心脏损伤的保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料:清洁级健康雄性 SD 大鼠 180 只,体重 250~300 g,浙江大学医学院实验动物中心提供。血浆内毒素鲎试剂盒购自上海伊华医学科技有限公司,血清一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒购自晶美生物工程公司,磷脂酶 A₂(PLA₂)试剂盒购自 R&D 公司,内皮素-1(ET-1)购自 Cayman 公司,核转录因子- κ B(NF- κ B)、Bax、Bcl-2 抗体均购自 Santa Cruz 公司,末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记法(TUNEL)试剂盒购自 Takara 公司。组织微阵列片制作机由 Beecher Instruments(USA)公司生产。

1.2 动物模型制备及分组:按随机数字表法将大鼠分为假手术组、模型组、黄芩甙组和奥曲肽组,各组再分为 3、6 和 12 h 3 个时间点,每个时间点 15 只。术前禁食 12 h、不禁水,用质量分数为 2%的戊巴比妥钠(2.5 ml/kg)腹腔注射麻醉,建立右颈外静脉输液通道,微量输液泵持续输液(10 ml·kg⁻¹·h⁻¹),采用改良 Aho 法^[4]制备 SAP 模型。假手术组仅行剖腹探查,翻动胰腺和十二指肠后关腹。

1.3 给药剂量与方法:制模成功后 10 min 经颈外静脉通道首次推注相应药物,然后再以微量输液泵静脉维持给药。黄芩甙组给予质量分数为 5%的黄芩甙注射液,首次剂量为 100 mg/kg,微量输液泵为

100 mg·kg⁻¹·h⁻¹;奥曲肽组首次剂量为 2 μ g/kg,微量输液泵为 2 μ g·kg⁻¹·h⁻¹。假手术组和模型组于相应时间点注入等量生理盐水。

1.4 观察指标及方法

1.4.1 死亡率:于各时间点观察大鼠死亡情况。

1.4.2 血中淀粉酶、内毒素、NO、SOD、MDA、TNF- α 、PLA₂、ET-1 含量:经心脏采血,应用全自动生化分析仪测定血浆淀粉酶水平;各指标检测均按试剂盒说明书要求操作。内毒素结果用内毒素单位(EU)表示。

1.4.3 NF- κ B、Bax、Bcl-2 蛋白表达:于各时间点处死大鼠,观察心肌大体病理变化;制备心肌组织标本,苏木素-伊红(HE)染色,观察心肌组织病理学变化;应用组织微阵列技术制作心肌组织微阵列切片,每个点直径 2 mm。采用链霉卵白素过氧化物酶(SP)法进行免疫组化染色,3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色,操作按免疫组化检测试剂盒说明书进行。光镜下分别观察心肌组织 NF- κ B、Bax、Bcl-2 蛋白的表达,根据阳性细胞的百分率进行综合判定:阳性细胞数<10%为-、10%~20%为+、20%~50%为++、>50%为+++。

1.4.4 凋亡指数(AI):应用组织微阵列技术制作微阵列切片,TUNEL 染色,在高倍镜(400 倍)下观察凋亡细胞分布,每张切片随机选择 5~10 个高倍视野,每个视野计数 1 000 个以上细胞中的凋亡细胞数,用百分数表示。

$$AI(\%) = \frac{\text{凋亡细胞数}}{\text{总细胞数}} \times 100\%$$

1.5 统计学方法:采用 SPSS11.5 软件进行统计分析,各组间比较用 Kruskal-Wallis 检验或方差分析,两两比较用 Bonferroni 检验,率的比较用似然比 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组死亡率比较:模型组 3、6 和 12 h 的死亡率分别为 0(0/15 只)、13.33%(2/15 只)和 33.33%(5/15 只)。假手术组、黄芩甙组和奥曲肽组各时间点死亡率均为 0,与模型组 12 h 比较,差异均有显著性(P 均 < 0.05)。

2.2 血中各指标结果

2.2.1 各组血浆淀粉酶含量比较(表 1):与假手术组各时间点比较,模型组及两个治疗组血浆淀粉酶含量均明显升高(P 均 < 0.01);两治疗组各时间点比较差异均无显著性(P 均 > 0.05);虽然各时间点黄芩甙组比模型组低,但仅 3 h 差异有显著性($P < 0.05$);奥曲肽组 6 h 明显低于模型组($P < 0.05$)。

基金项目:浙江省中医药科技计划基金资助项目(2003C130, 2004C142);浙江省医药卫生科技计划基金资助项目(2003B134);杭州市重大科技发展计划基金资助项目(2003123B19);浙江省杭州市医药卫生科技基金资助重点项目(2004Z006);浙江省杭州市科技计划项目(2005224);浙江省杭州市医药卫生科技基金资助项目(2003A004)

作者简介:张喜平(1969-),男(汉族),山西省人,医学博士,副主任医师。

表 1 各组血浆淀粉酶含量的比较 [M(Q_R)]

Table 1 Comparison of plasma amylase content in each group [M(Q_R)] kU/L

组别	3 h	6 h	12 h
假手术组	1.58(0.28)	1.77(0.36)	1.62(0.30)
模型组	5.30(1.37)**	6.28(1.03)**	7.54(2.93)**
黄芩苈组	4.34(1.50)**#	5.13(1.59)**	5.57(2.31)**
奥曲肽组	5.42(1.67)**	5.06(1.31)**#	6.53(2.28)**

注:与假手术组比较:**P<0.01;与模型组比较:#P<0.05

2.2.2 各组血浆内毒素含量比较(表 2):与假手术组各时间点比较,模型组及两个治疗组血浆内毒素水平均明显升高(P 均<0.01),与模型组各时间点比较,两个治疗组内毒素含量均显著降低(P<0.05 或 P<0.01);3 h 时黄芩苈组内毒素含量明显低于奥曲肽组(P<0.01),而 6 h 和 12 h 黄芩苈组与奥曲肽组比较差异均无显著性(P 均>0.05)。

表 2 各组血浆内毒素含量的比较 [M(Q_R)]

Table 2 Comparison of plasma endotoxin content in each group [M(Q_R)] EU/L

组别	3 h	6 h	12 h
假手术组	16.0(5.0)	16.0(10.0)	14.0(15.0)
模型组	53.0(29.0)**	59.0(37.0)**	60.0(22.3)**
黄芩苈组	27.0(5.0)**##	39.0(19.0)**#	34.0(15.0)**##
奥曲肽组	33.0(6.0)**##△△	31.0(10.0)**##	42.0(14.0)**##

注:与假手术组比较:**P<0.01;与模型组比较:#P<0.05, ##P<0.01;与黄芩苈组比较:△△P<0.01

2.2.3 各组血清 NO 含量比较(表 3):与假手术组各时间点比较,模型组及两个治疗组 NO 含量均明显升高(P 均<0.01);3 h 和 12 h 黄芩苈组与奥曲肽组 NO 含量均明显低于模型组(P<0.05 或 P<0.01);两个治疗组各时间点间比较差异却无显著性(P 均>0.05)。

表 3 各组血清 NO 含量的比较 [M(Q_R)]

Table 3 Comparison of serum NO content in each group [M(Q_R)] μmol/L

组别	3 h	6 h	12 h
假手术组	7.5(5.0)	7.5(5.0)	10.0(5.0)
模型组	65.0(7.5)**	62.5(38.8)**	74.1(26.2)**
黄芩苈组	57.5(22.5)**#	47.5(37.5)**	57.5(27.5)**#
奥曲肽组	52.5(15.0)**##	57.5(15.0)**	45.0(12.5)**##

注:与假手术组比较:**P<0.01;与模型组比较:#P<0.05, ##P<0.01

2.2.4 各组血清 MDA 含量比较(表 4):与假手术组各时间点比较,模型组及两个治疗组 MDA 含量均明显升高(P 均<0.05);与模型组比较,黄芩苈组各时间点及奥曲肽组 6 h 和 12 h MDA 含量均显著降低(P<0.05 或 P<0.01);12 h 黄芩苈组 MDA

含量明显低于奥曲肽组(P<0.05)。

表 4 各组血清 MDA 含量的比较 [M(Q_R)]

Table 4 Comparison of serum MDA content in each group [M(Q_R)] μmol/L

组别	3 h	6 h	12 h
假手术组	9.9(9.9)	16.5(13.2)	16.5(13.2)
模型组	36.3(13.4)*	39.7(9.9)*	54.4(19.0)*
黄芩苈组	21.9(13.5)**##	23.8(14.6)**##	36.0(11.6)**##
奥曲肽组	29.6(18.6)*	33.0(9.9)*#	40.3(16.8)*#△

注:与假手术组比较:*P<0.05;与模型组比较:#P<0.05,

**P<0.01;与黄芩苈组比较:△P<0.05

2.2.5 各组血清 SOD 活性比较(表 5):与假手术组各时间点比较,模型组及两个治疗组 SOD 活性均明显降低(P 均<0.01);与模型组比较,奥曲肽组各时间点及黄芩苈组 6 h 和 12 h SOD 活性均明显升高(P 均<0.01);6 h 和 12 h 奥曲肽组 SOD 活性均明显高于黄芩苈组(P 均<0.01)。

表 5 各组血清 SOD 活性的比较 [M(Q_R)]

Table 5 Comparison of serum SOD activity in each group [M(Q_R)] kU/L

组别	3 h	6 h	12 h
假手术组	103.6(8.5)	107.7(4.2)	109.6(7.1)
模型组	81.9(8.9)**	70.8(12.7)**	70.0(14.3)**
黄芩苈组	86.6(25.4)**	82.7(16.9)**##	80.0(15.8)**##
奥曲肽组	89.8(16.9)**##	99.2(8.6)**##△△	95.0(12.8)**##△△

注:与假手术组比较:**P<0.01;与模型组比较:#P<0.01;与黄芩苈组比较:△△P<0.01

2.2.6 各组血清 TNF-α 含量比较(表 6):与假手术组各时间点比较,模型组及两个治疗组 TNF-α 含量均显著升高(P 均<0.01);3 h 和 12 h,模型组、黄芩苈组和奥曲肽组间 TNF-α 含量比较差异均无显著性(P 均>0.05);6 h 两个治疗组均显著低于模型组(P 均<0.01),且奥曲肽组明显低于黄芩苈组(P<0.01)。

表 6 各组血清 TNF-α 含量的比较 [M(Q_R)]

Table 6 Comparison of serum TNF-α content in each group [M(Q_R)] ng/L

组别	3 h	6 h	12 h
假手术组	3.9(3.2)	4.0(1.7)	5.3(3.0)
模型组	41.4(37.7)**	92.2(23.1)**	65.0(26.8)**
黄芩苈组	44.9(45.8)**	65.1(27.5)**##	47.7(25.5)**
奥曲肽组	39.3(30.6)**	47.6(16.5)**##△△	54.5(41.4)**

注:与假手术组比较:**P<0.01;与模型组比较:#P<0.01;与黄芩苈组比较:△△P<0.01

2.2.7 各组血清 PLA₂ 含量比较(表 7):与假手术组各时间点比较,模型组及两个治疗组 PLA₂ 含量均显著升高(P 均<0.01);黄芩苈组各时间点明显

低于模型组 (P 均 < 0.01); 3 h 奥曲肽组与模型组 PLA_2 含量比较差异无显著性 ($P > 0.05$), 6 h 和 12 h 奥曲肽组明显低于模型组 (P 均 < 0.01); 3 h 和 12 h 奥曲肽组与黄芩甙组 PLA_2 含量比较差异均有显著性 (P 均 < 0.01).

表 7 各组血清 PLA_2 含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 7 Comparison of serum PLA_2 content

in each group ($\bar{x} \pm s$)		kU/L	
组别	3 h	6 h	12 h
假手术组	14.6 ± 3.0	17.5 ± 3.8	19.0 ± 5.1
模型组	76.1 ± 16.7**	101.5 ± 14.7**	105.3 ± 18.1**
黄芩甙组	56.2 ± 22.4***#	67.9 ± 20.6***#	66.9 ± 22.1***#
奥曲肽组	74.4 ± 19.9*△△	63.1 ± 26.3***#	53.6 ± 12.3***#△△

注: 与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.01$; 与黄芩甙组比较: △△ $P < 0.01$

2.2.8 各组血清 ET-1 含量比较 (表 8): 模型组各时间点血清 ET-1 含量明显高于假手术组 (P 均 < 0.01); 3 h 和 12 h 黄芩甙组 ET-1 含量明显高于假手术组 (P 均 < 0.01), 6 h 两组差异无显著性 ($P > 0.05$); 而奥曲肽组各时间点与假手术组比较差异均无显著性; 与模型组各时间点比较, 黄芩甙组和奥曲肽组 ET-1 含量均显著降低 (P 均 < 0.01); 3 h 和 12 h 奥曲肽组 ET-1 含量明显低于黄芩甙组 (P 均 < 0.01).

表 8 各组血清 ET-1 含量的比较 [$M(Q_R)$]

Table 8 Comparison of serum ET-1 content

in each group [$M(Q_R)$]		ng/L	
组别	3 h	6 h	12 h
假手术组	15.3(4.2)	16.3(3.2)	14.2(2.6)
模型组	24.7(1.0)**	25.6(8.0)**	24.7(3.8)**
黄芩甙组	19.6(6.1)***#	16.2(3.2)##	18.6(5.8)***#
奥曲肽组	16.8(3.8)##△△	14.9(5.7)##	15.2(1.8)##△△

注: 与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.01$; 与黄芩甙组比较: △△ $P < 0.01$

2.3 心肌组织中各指标结果

2.3.1 心肌组织病理学改变: 各组大鼠心脏大体表现正常, 外观未见明显改变。光镜下观察: 假手术组心肌纤维正常, 其他各组大多数心肌纤维无异常; 模型组 3、6 和 12 h 分别有 2、1 和 1 只大鼠心肌纤维出现肌浆凝聚呈颗粒状或溶解, 6 h 有 2 只心肌细胞间质少量炎性细胞浸润, 12 h 有 1 只出现心外膜少数炎性细胞浸润; 黄芩甙组 12 h 有 2 只出现肌浆凝聚, 3、6 和 12 h 分别有 1、1 和 2 只大鼠心肌间质出现少量炎性细胞浸润; 奥曲肽组 12 h 有 1 只出现肌浆凝聚, 并且 3、6 和 12 h 各有 1 只心肌间质有少量炎性细胞浸润。与模型组相比, 黄芩甙组、奥曲肽

组心肌病理改变减轻, 且奥曲肽组疗效更好。

2.3.2 各组心肌组织 NF- κ B 蛋白表达水平比较 (彩色插页图 1): 不同时间点各组 NF- κ B 蛋白表达均为阴性。

2.3.3 各组心肌组织 Bax 蛋白表达水平的比较 (彩色插页图 2, 图 3, 表 9, 表 10): 3 h 和 6 h 模型组心肌组织 Bax 蛋白表达水平明显高于假手术组 (P 均 < 0.05), 6 h 模型组 Bax 蛋白表达水平明显高于奥曲肽组 ($P < 0.05$), 其余无差别。

表 9 各组心肌组织不同病理分级 Bax 和

Bcl-2 蛋白表达水平的变化

Table 9 Change of Bax and Bcl-2 protein expression in different pathology degrees of myocardial

tissues in each group		只							
组别	动物数	Bax 蛋白表达水平				Bcl-2 蛋白表达水平			
		(-)	(+)	(++)	(+++)	(-)	(+)	(++)	(+++)
假手术组	3 h 15	15				15			
	6 h 15	15				15			
	12 h 15	15				15			
模型组	3 h 15	10	1	4		13	1	1	
	6 h 13	8	2	3		12	1	2	
	12 h 10	10				10			
黄芩甙组	3 h 15	14		1		14		1	
	6 h 15	14			1	14		1	
	12 h 15	15				15			
奥曲肽组	3 h 15	14	1			8	5	2	
	6 h 15	14	1			11	2	1	1
	12 h 15	15				15			

表 10 各组心肌组织 Bax 和 Bcl-2 蛋白

表达水平的比较 [$M(Q_R)$]

Table 10 Comparison of Bax and Bcl-2 protein expression of myocardial tissues in each group [$M(Q_R)$]

组别	Bax 蛋白表达			Bcl-2 蛋白表达		
	3 h	6 h	12 h	3 h	6 h	12 h
假手术组	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
模型组	0(2)*	0(2)*	0(0)	0(0)	0(1)	0(0)
黄芩甙组	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(1)	0(0)
奥曲肽组	0(0)#	0(0)	0(0)	0(0)	0(1)**	0(0)

注: 与假手术组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$

2.3.4 各组心肌组织 Bcl-2 蛋白表达水平比较 (彩色插页图 4, 表 9, 表 10): 6 h 奥曲肽组心肌组织 Bcl-2 蛋白表达水平明显高于假手术组 ($P < 0.01$), 其余各时间点无差别。

2.3.5 各组心肌组织 AI 比较 (彩色插页图 5, 图 6): 除奥曲肽组 6 h 时有 1 只出现心肌细胞凋亡 (凋亡率 20%) 外, 其余均为阴性, 不同时间点各組间比较差异无显著性 ($P > 0.05$).

2.4 相关性分析:模型组 3 h TNF- α 与淀粉酶呈显著正相关($P < 0.01$), 12 h TNF- α 与 PLA₂ 呈显著正相关($P < 0.05$); 黄芩组 3 h TNF- α 与淀粉酶呈显著正相关($P < 0.05$), TNF- α 与 PLA₂ 呈显著正相关($P < 0.01$)。

3 讨论

内毒素、PLA₂、TNF- α 、MDA、ET、NO 等炎症介质在 SAP 发病机制中发挥了极为重要的作用^[5]。内毒素可激活心血管的内皮细胞, 促进内皮细胞释放大量细胞因子, 导致心肌细胞内能量代谢紊乱, 心肌脂质过氧化和氧自由基产生增多, 引起心血管内皮细胞、心肌细胞的功能和结构损伤^[6,7]。PLA₂ 是介导胰腺炎后胰腺组织和胰腺外器官损伤的重要介质, 其升高可使心肌组织的超微结构改变^[8], 抑制心肌质膜的钙泵, 使心肌细胞内钙离子浓度降低, 造成心肌细胞功能下降^[9]。SAP 时 NO 的大量产生可引起持续性血管扩张, 造成顽固性低血压, 使心肌缺血、缺氧或参与心肌缺血/再灌注损伤^[10]。TNF- α 可通过改变细胞内外 Ca²⁺ 的平衡, 引起心肌收缩力降低, 诱导 NO 产生, 损害心脏的功能^[11]。MDA 是机体通过酶系统和非酶系统产生的氧自由基, 可间接反应机体细胞受氧自由基攻击的严重程度。而 SOD 能清除超氧阴离子自由基, 其活性的高低能间接反映机体清除氧自由基的能力。自由基可以使细胞膜的葡萄糖与脂质过氧化, 蛋白质变性, 酶失活, 并使细胞内的 DNA 链断裂, 从而诱导细胞凋亡, 造成心脏损伤^[12]。ET 可导致心肌缺血、坏死^[13], 或通过其缩血管作用引起心脏结构和功能的变化^[14,15], 并可造成心脏缺血、缺氧, 甚至发生栓塞。

本研究结果表明, 用黄芩和奥曲肽均可降低 SAP 大鼠血中淀粉酶、内毒素、NO、MDA、TNF- α 、PLA₂、ET-1 含量, 而 SOD 活性则升高。各时间点黄芩组内毒素、PLA₂ 和 MDA 的含量降低较明显, 奥曲肽组 TNF- α 和 ET-1 含量降低较明显。不同时间点各组心肌组织 NF- κ B 蛋白表达均为阴性; Bax 蛋白仅模型组 3 h 和 6 h 时有表达, 其余各组均为 0; Bcl-2 蛋白表达水平治疗组和模型组均相同, 仅在 6 h 时有表达, 说明黄芩与奥曲肽具有同样的治疗 SAP 的作用^[16]。另外, 除奥曲肽组 6 h 时有 1 只大鼠出现心肌细胞凋亡外, 其余均为阴性, 推测细胞凋亡在心脏损伤中作用有限, 且似乎仅为有害的因素。

综上所述: 黄芩注射液可有效降低炎症介质水平, 对 SAP 大鼠心脏有保护作用。运用组织微阵

列技术, 利用其高通量、多样本、经济省时、降低误差、便于设计实验对照、可与其他生物技术相结合、用途广泛等优点, 大大降低了研究成本。

参考文献:

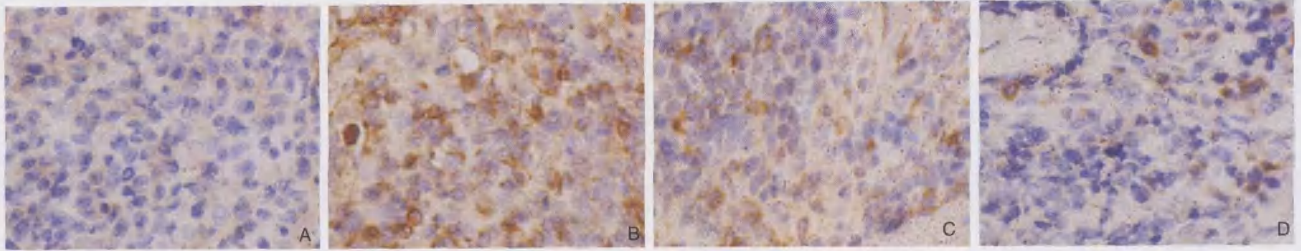
- [1] 吴孝勇. 清胰汤加减治疗急性胰腺炎 105 例临床验证[J]. 中国中西医结合急救杂志, 1997, 4(1): 17.
- [2] 吴福宁, 巩延忠, 姚旺. 中药清胰汤治疗急性胰腺炎 71 例[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8(3): 181.
- [3] Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens[J]. Nat Med, 1998, (7): 844-847.
- [4] Aho H J, Suonpaa K, Ahola R A, et al. Experimental pancreatitis in the rat, ductal factors in sodium taurocholate-induced acute pancreatitis[J]. Exp Pathol, 1984, 25(2): 73-79.
- [5] 王自法, 潘承恩, 刘绍诰. 炎症介质在重症急性胰腺炎发病机制中的作用[J]. 中国危重病急救医学, 1999, 11(5): 312-313.
- [6] Geisler F, Algul H, Riemann M, et al. Questioning current concepts in acute pancreatitis: endotoxin contamination of porcine pancreatic elastase is responsible for experimental pancreatitis associated distant organ failure[J]. J Immunol, 2005, 174(10): 6431-6439.
- [7] Pitcher J M, Tsai B M, Wang M, et al. Sexual dimorphism in myocardial tumor necrosis factor- α and cardiac function during endotoxin tolerance[J]. Surgery, 2005, 138(2): 223-228.
- [8] De Windt L J, Willems J, Roemen T H, et al. Ischemic-reperfusion isolated working mouse hearts: membrane damage and type I A phospholipase A₂ [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001, 280(6): H2572-2580.
- [9] Xiao Y F, Zeind A J, Kaushik V, et al. Mechanism of suppression of cardiac L-type Ca²⁺ currents by the phospholipase A₂ inhibitor mepacrine[J]. Eur J Pharmacol, 2000, 399(2-3): 107-116.
- [10] Di Napoli P, Taccardi A A, Grilli A, et al. Chronic treatment with rosuvastatin modulates nitric oxide synthase expression and reduces ischemia-reperfusion injury in rat hearts [J]. Cardiovasc Res, 2005, 66(3): 462-471.
- [11] Ferdinandy P, Danial H, Ambrus I, et al. Peroxynitrite is a major contributor to cytokine-induced myocardial contractile failure [J]. Circ Res, 2000, 87(3): 241-247.
- [12] von Harsdorf R, Li P F, Dietz R. Signaling pathways in reactive oxygen species-induced cardiomyocyte apoptosis [J]. Circulation, 1999, 99(22): 2934-2941.
- [13] Goodwin A T, Amrani M, Gray C C, et al. Differential effects of endothelin-1 on isolated working rat hearts before and after ischaemia and reperfusion [J]. Clin Sci (Lond), 2002, 103 (Suppl 48): S189-S193.
- [14] Sugden P H, Clerk A. Endothelin signalling in the cardiac myocyte and its pathophysiological relevance [J]. Curr Vasc Pharmacol, 2005, 3(4): 343-351.
- [15] Wainwright C L, McCabe C, Kane K A. Endothelin and the ischaemic heart [J]. Curr Vasc Pharmacol, 2005, 3(4): 333-341.
- [16] 任爱东, 薛恒, 钱秉贵, 等. 奥曲肽治疗急性胰腺炎的临床分析 [J]. 中国危重病急救医学, 1998, 10(3): 185-186.

(收稿日期: 2006-09-04 修回日期: 2006-10-05)

(本文编辑: 李银平)

血必净注射液对脓毒症大鼠血清内毒素及脾脏特异性免疫功能的影响

(正文见91页)



A:假手术组; B:模型组; C:左氧氟沙星组; D:血必净组

图1 24 h各组脾淋巴细胞caspase-3表达情况(DAB, × 400)

Figure 1 Expression of caspase-3 in spleen lymphocyte at 24 hours in each group (DAB, × 400)

黄芩甙和奥曲肽对重症急性胰腺炎大鼠心脏损伤保护作用的比较

(正文见114页)

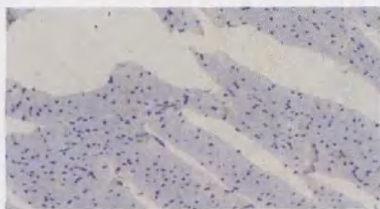


图1 黄芩甙治疗组12 h NF-κB 阴性表达
Figure 1 Negative expression of NF-κB at 12 hours in baicalin treatment group

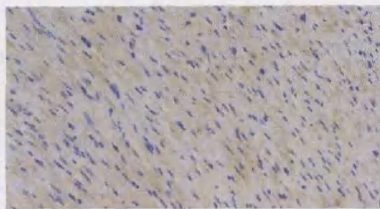


图2 模型组6 h Bax 阳性表达
Figure 2 Positive expression of Bax at 6 hours in model group

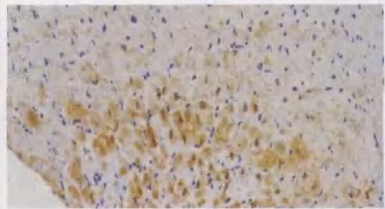


图3 黄芩甙治疗组3 h Bax 阳性表达
Figure 3 Positive expression of Bax at 3 hours in baicalin treatment group

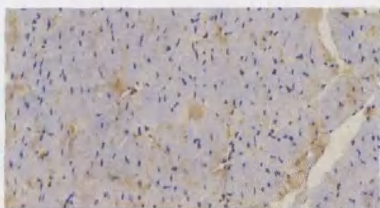


图4 黄芩甙治疗组3 h Bcl-2 阳性表达
Figure 4 Positive expression of Bcl-2 at 3 hours in baicalin treatment group

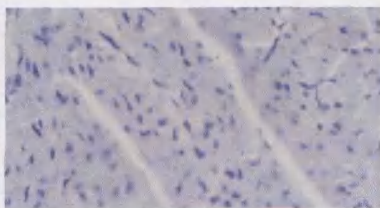


图5 黄芩甙治疗组3 h 无细胞凋亡
Figure 5 No apoptosis at 3 hours in baicalin treatment group

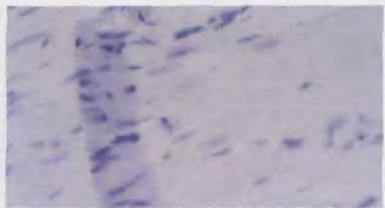


图6 奥曲肽治疗组6 h 见细胞凋亡
Figure 6 Apoptosis at 6 hours in octreotide treatment group

血必净注射液治疗百草枯中毒的临床观察

(正文见122页)

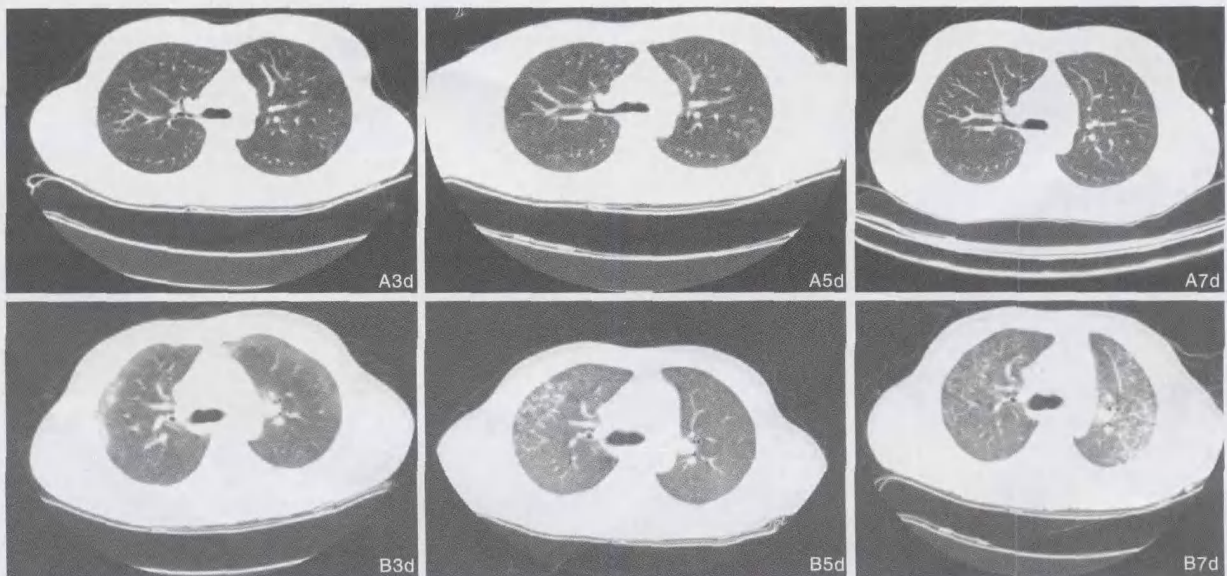


图1 血必净治疗组(A)与常规治疗对照组(B)不同时间点肺CT变化

Figure 1 Change of CT in lung at different time points in Xuebijing treatment group(A) and routine treatment group(B)