

文章编号:1005-6947(2004)04-0306-03

· 简要论著 ·

乙酰半胱氨酸在大鼠急性坏死性胰腺炎中的作用

王文军¹, 李永国², 杨竹林²

(1. 湖南省长沙市第三医院 普外科, 湖南 长沙 410007; 2. 中南大学湘雅二医院 肝胆实验室, 湖南 长沙 410011)

摘要:为探讨乙酰半胱氨酸(NAC)处理对急性坏死性胰腺炎(ANP)的保护作用。笔者将SD大鼠随机分成假手术(S)组, ANP组和NAC组, 每组15只。建立ANP模型后观察术后1, 3, 5h时腹腔内组织大体情况, 胰腺病理学改变, 测定血浆IL-2和TNF- α 浓度以及胰腺组织IL-2Ra和TNFR1原位杂交表达。结果显示:(1)胰腺病理学评分ANP组明显高于NAC组($P < 0.05$), NAC组明显高于S组($P < 0.05$); (2)血浆IL-2浓度ANP, NAC组均明显高于S组($P < 0.05$), NAC组明显高于ANP组($P < 0.05$); (3)血浆TNF- α 浓度ANP和NAC组均明显高于S组($P < 0.05$), NAC组明显低于ANP组($P < 0.05$); (4)IL-2Ra评分S组3h及5h点比ANP和NAC组明显降低($P < 0.05$), ANP组1h点明显高于NAC组($P < 0.05$); (5)TNFR1评分ANP组各点、NAC组5h点均明显高于S组($P < 0.05$), NAC组除5h点外均明显低于ANP组($P < 0.05$)。提示使用NAC可使主要抗炎因子与促炎因子的失衡趋于好转, 降低胰腺炎严重性, 故值得进一步探讨。

关键词:胰腺炎/药物疗法; 乙酰半胱氨酸/治疗应用; 疾病模型, 动物

中图分类号:R576; R977.4 **文献标识码:**B

重症急性胰腺炎(SAP)临床表现凶险, 且并发症多, 死亡率平均约为20%~30%^[1]而成为当今医学的难题之一。Dabrowski等^[2]提出了氧自由基引起的损伤是各种病因导致急性坏死性胰腺炎(ANP)的共同环节。笔者应用大鼠ANP动物模型, 探寻乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)^[3,4]在SAP综合治疗体系中的治疗价值及作用机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

牛磺胆酸钠购自深圳赛泰克公司。NAC购自sigma公司。大鼠IL-10/TNF- α 定量ELISA试剂盒由上海森雄公司提供。IL-2Ra/TNFR1原位杂交试剂盒购自武汉博士德公司。

1.2 动物模型与分组

健康的SD大鼠45只, 雌雄不限, 体重300~

326g(由中南大学湘雅二医院实验动物中心提供), 术前禁食12h, 麻醉, 先行颈静脉插管。随机分成3组, 每组15只:(1)假手术(S)组。术中仅翻动胰腺, 未作其他处理, 然后经颈静脉注入生理盐水, 总量达每小时0.2ml/100g。(2)ANP组。制模采用逆行穿刺胰胆管并注射5%牛磺胆酸钠0.1ml/100g, 0.2ml/min, 注毕用无损伤血管夹夹闭穿刺处, 证实ANP动物模型成立后, 移去血管夹, 然后经颈静脉仅补充生理盐水每小时0.2ml/100g。(3)NAC组。成模后即经颈静脉注入2.5%NAC溶液每小时0.1ml/100g^[5]和生理盐水每小时0.1ml/100g。各组用药途径、补液总量及速度均相同。各组均于术后1, 3, 5h抽血, 随之处死动物留取胰腺标本。

1.3 检测项目

1.3.1 大体观察 处死前开腹观察整个腹腔内有无腹水、量、颜色, 胃肠是否扩张, 胃肠大网膜表面是否有皂化斑, 胰腺充血、水肿、出血、坏死情况。

收稿日期:2004-01-12; 修订日期:2004-03-08。

作者简介:王文军(1968-), 男, 湖南益阳人, 湖南省长沙市三医院主治医师, 博士, 主要从事肝胆外科方面的研究。

1.3.2 血浆 IL-2/TNF- α 测定 按试剂盒说明进行。

1.3.3 胰腺组织 HE 染色和原位杂交染色 切取整个胰腺,石蜡包埋切片,光镜下观察其组织形态学变化,评分标准按 Spormann 等^[6]的方法,对水肿、空泡形成、间质白细胞浸润、腺泡坏死及局灶性坏死 5 个项目分别给予 0~4 分,并计算其总和;IL-2Ra/TNFR1 测定按原位杂交试剂盒说明进行,光镜下细胞膜或(和)细胞浆含棕黄色颗粒者为阳性细胞,根据原位杂交着色强度评分和阳性细胞率评分之和为该病例评分值。

1.4 统计分析

所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析,检验水准 $\alpha = 0.05$,采用 SPSS10.0 软件进行。

2 结果

2.1 大体观察及胰腺病理学评分

S 组腹腔未见明显异常;ANP 组胰腺有广泛的出血坏死,胃肠明显扩张伴众多皂化斑和大量深红色血性腹水等;NAC 组各项较 ANP 组则有不同程度

的减轻。胰腺病理学评分 ANP 组 (13.3 ± 1.01) 和 NAC 组 (9.3 ± 0.89) 均明显高于 S 组 (3.1 ± 1.81) ($P < 0.05$); NAC 组明显低于 ANP 组 ($P < 0.05$)。

2.2 血浆中 IL-2 和 TNF- α 水平

血浆 IL-2 浓度:ANP, NAC 组各时点均明显高于 S 组 ($P < 0.05$),在观察时间内逐渐升高,NAC 组明显高于 ANP 组 ($P < 0.05$)。血浆 TNF- α 水平:S 组术后 1h 后逐渐增高,至后期趋于稳定,而 ANP, NAC 组术后观察时间内逐渐上升,未见明显下降和稳定迹象,ANP, NAC 组在同时点均明显高于 S 组 ($P < 0.05$),NAC 组在同时点均明显低于 ANP 组 ($P < 0.05$) (表 1)。

2.3 胰腺组织中 IL-2Ra 和 TNFR1 表达评分

IL-2Ra 评分:S 组在各时点均明显低于 ANP 组 ($P < 0.05$),S 组 3,5h 点均明显低于 NAC 组 ($P < 0.05$),ANP 组 1h 点值明显高于 NAC 组 ($P < 0.05$);TNFR1 评分:ANP 组各点、NAC 组 5h 点均明显高于 S 组 ($P < 0.05$),NAC 组 1,3h 点均明显低于 ANP 组 ($P < 0.05$) (表 2)。

表 1 不同组术后 1,3,5h 血浆 IL-2 和 TNF- α ($\bar{x} \pm s$) (pg/ml)

组别	n	血浆 IL-2			血浆 TNF- α		
		术后 1h	术后 3h	术后 5h	术后 1h	术后 3h	术后 5h
S	15	3.76 \pm 3.83	5.89 \pm 1.69	9.64 \pm 2.19	15.24 \pm 2.41	38.67 \pm 1.75	42.23 \pm 7.24
ANP	15	8.40 \pm 1.92 ¹⁾	9.68 \pm 2.47 ¹⁾	14.14 \pm 3.18 ¹⁾	129.21 \pm 12.24 ¹⁾	150.12 \pm 20.41 ¹⁾	216.68 \pm 13.57 ¹⁾
NAC	15	13.23 \pm 2.66 ¹⁾²⁾	16.26 \pm 3.36 ¹⁾²⁾	24.80 \pm 7.89 ¹⁾²⁾	63.47 \pm 8.13 ¹⁾²⁾	95.45 \pm 4.45 ¹⁾²⁾	120.26 \pm 4.06 ¹⁾²⁾

注:1)与 S 组相比较, $P < 0.05$; 2)与 ANP 组比较, $P < 0.05$

表 2 不同组胰腺组织术后 1,3,5h IL-2Ra 和 TNFR1 表达评分 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-2Ra			TNFR1		
		术后 1h	术后 3h	术后 5h	术后 1h	术后 3h	术后 5h
S	15	0.20 \pm 0.45	0 \pm 0	1.20 \pm 1.30	0.20 \pm 0.45	0.60 \pm 0.55	0.60 \pm 0.89
ANP	15	3.40 \pm 0.55 ¹⁾	3.00 \pm 0.71 ¹⁾	3.00 \pm 0.71 ¹⁾	3.00 \pm 0.71 ¹⁾	3.60 \pm 0.55 ¹⁾	4.00 \pm 1.22 ¹⁾
NAC	15	1.60 \pm 1.14 ²⁾	3.80 \pm 0.84 ¹⁾	4.40 \pm 0.71 ¹⁾	1.60 \pm 0.89 ²⁾	1.60 \pm 0.55 ²⁾	3.60 \pm 1.14 ¹⁾

注:1)与 S 组相比较, $P < 0.05$; 2)与 ANP 组比较, $P < 0.05$

3 讨论

SAP 时有大量的氧自由基产生,氧化应激在其早期就扮演重要角色,NAC 可抑制多种氧应激损伤。生理状态下,氧自由基被体内强大的抗氧化系统清除和失活,但在病理状态,因体内抗氧化能力的不足或相对不足而无法及时清除氧自由基(即使是正常产量的氧自由基),然后引发一系列氧化爆发反应,发生脂质过氧化反应,通过多种途径造成病理损伤,提示氧自由基与急性胰腺炎的发病以及胰腺炎时胰腺局部和全身各脏器的损伤均有密切关系。NAC 是一种含还原巯基(-SH)的小分子化合物,巯基性质十分活跃,组织巯基库及其相关的谷胱甘肽氧化还原循环是机体重要的内源性抗自由基防御机制,另外,NAC 本身也是一种直接的抗氧化物质,保护生物大分子的活性,使细胞膜和膜蛋白的功能得以维持,可减轻肺损伤,增强心肌细胞的抗氧化能力,使心肌功能更易恢复,对缺血再灌注损伤心肌有明显的保护作用,而多器官功能衰竭正是 SAP 导致死亡常见的并发症。

急性胰腺炎(AP)释放大量的炎性介质和细胞因子,TNF- α 是胰腺炎最早升高的因子,起核心作用,Bhatia^[7]认为 TNF- α 是多种细胞因子释放的启动因子之一,能起扳机样效应,AP 时 TNF- α 大量释放,在由局部病变发展到全身性病损过程中起着主要作用,其水平与其严重程度、病死率和预后呈明显正相关^[8];而 IL-2 是一重要的免疫增强因子,并具有抗炎作用。本实验发现,NAC 组大鼠 5h 时,腹腔内病理改变较 ANP 组减轻,胰腺组织病理评分显著性降低;血浆 IL-2, TNF- α 浓度也与 ANP 组有统计学差异,NAC 组的 IL-2 水平较高, TNF- α 则明显

降低;胰腺组织内 TNFR1 阳性表达评分, NAC 组在 1, 3h 点均较 ANP 组显著降低。

本研究中说明 NAC 处理后可使胰腺炎大鼠中主要抗炎因子与促炎因子的失衡趋于好转,胰腺病变程度减轻。因此,NAC 可能为急性胰腺炎的治疗提供新的途径。

参考文献:

- [1] McKay CJ, Evans S, Sindair M, *et al.* High early mortality rate from acute pancreatitis [J]. *Br J Surg*, 2000, 87 (3): 379 - 382.
- [2] Dabrowski A, Konturek TS. Role of oxidative stress in the pathogenesis of caerulein - induced acute pancreatitis [J]. *Eur J Pharmacol*, 1999, 377 (1): 1 - 11.
- [3] Demols A, Van Laethem JL, Quertinmont E, *et al.* N - acetylcysteine decreases severity of acute pancreatitis in mice [J]. *Pancreas*, 2000, 20 (2): 161 - 169.
- [4] Bhatia M, Brady M, Kang YK, *et al.* MCP - 1 but not CINC synthesis is increased in rat pancreatic acini in response to cerulein hyperstimulation [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 282 (1): G77 - 85.
- [5] Eva V, Ilya G, Vjekoslav Z, *et al.* Localized pancreatic NF - κ B activation and inflammatory response in taurocholate - induced pancreatitis [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2001, 280 (6): G1197 - 1280.
- [6] Spormann H, Sokolowski A, Letko G. Effect of temporary ischemia upon development and histological patterns of acute pancreatitis in the rat [J]. *Pathol Res Pract*, 1989, 184 (5): 507 - 513.
- [7] Bhatia M, Brady M. Inflammatory mediators in acute pancreatitis [J]. *J Pathol*, 2000, 190 (2): 117 - 125.
- [8] Norman J, Franz M, Messina J, *et al.* Interleukin - 1 receptor antagonist decreases severity of experimental acute pancreatitis [J]. *Surgery*, 1995, 117 (6): 648 - 655.