

文章编号:1005-6947(2006)11-0831-05

· 基础研究 ·

甘遂和低分子量肝素联合应用治疗重症急性胰腺炎的实验研究

潘小季¹, 吕新生², 段炼², 陈善正², 任学群², 陈俭云², 李宜雄²

(1. 湖南省浏阳市人民医院 普通外科, 湖南 浏阳 410300; 2. 中南大学湘雅医院 普通外科, 湖南 长沙 410008)

摘要:目的 探讨甘遂和低分子量肝素联合应用对重症急性胰腺炎治疗是否有协同作用。方法 分析比较假手术组(A组)、重症急性胰腺炎组(B组)、重症急性胰腺炎甘遂治疗组(C组)、重症急性胰腺炎低分子量肝素治疗组(D组)、重症急性胰腺炎甘遂和低分子量肝素联合治疗组(E组)各组血清 TNF- α 、IL-6 水平和胰腺组织的 TXB2/6-keto-PGF1 α 比值以及组织学检查结果。结果 C、D、E 3 个治疗组血清 TNF- α 、IL-6 水平和胰腺组织的 TXB2/6-keto-PGF1 α 比值在 6、12、24 h 各时点的值较 B 组低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而 C、D、E 3 个治疗组在各时间点无显著差异。组织学检查结果显示, A 组胰腺的形态学正常; C、D、E 3 组胰腺病理学改变轻于 B 组。结论 联合应用甘遂和低分子量肝素治疗 SAP 有效, 但尚未发现甘遂和低分子量肝素的协同作用, 亦未发现不利影响。

关键词: 胰腺炎/药物疗法; 甘遂/治疗应用; 肝素, 低分子量/治疗应用

中图分类号: R657.5; R576

文献标识码: A

Experimental study of kansui root and LMWH combined therapy for severe acute pancreatitis

PAN Xiao-ji¹, LU Xin-sheng², DUAN Lian², CHEN Shan-zheng², REN Xue-qun², CHEN Jian-yun², LI Yi-xiong²

(1. Department of General Surgery, the People's Hospital of Liuyang City, Liuyang, Hunan 410300, China; 2. Department of General Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

Abstract: Objective To investigate if there is a synergism of kansui root and low molecular weight heparin (LMWH) in combined treatment of SAP in rats. **Methods** SD rats were randomly divided into 5 groups: Sham group (A group), severe acute pancreatitis group (B group), kansui root treatment group (C group), LMWH treatment group (D group), combined treatment group (E group). The serum TNF- α , IL-6 level and the ratio of TXB2/6-keto-PGF1 α in pancreatic tissue, and the histological examination were evaluated.

Results The values of TNF- α , IL-6 and the ratio of TXB2/6-keto-PGF1 α in C, D, E group were significantly lower than those in B group at the time point of 6, 12, 24 h. But there were no significant differences in C, D, E group at all the time points. The histological examination showed that the pancreas was normal in group A; the pathological changes were milder in C, D, E group than that in B group. **Conclusions**

Combined treatment of kansui root and LMWH was effective in SAP, but there was no synergism, and also no side effects.

Key words: Pancreatitis/drug ther; Kansui/ther use; Heparin, Low Molecular Weight/ther use

CLC number: R657.5; R576

Document code: A

重症急性胰腺炎(SAP)起病急,病情重,其病死率高达20%~30%,其发病机制与炎症介质的

过度释放^[1]和微循环的紊乱有关^[2]。近年来,我们就甘遂和低分子量肝素(LMWH)治疗SAP进行过实验和临床研究^[3-5],分别证明了甘遂和低分子量肝素对SAP治疗有效,并能起到对胰外器官如肺、肝、肾的保护作用。本研究在以上此基础上,探讨甘遂和低分子量肝素联合应用对治疗SAP的作用。

收稿日期:2006-05-20; 修订日期:2006-10-01。

作者简介:潘小季,男,湖南浏阳人,湖南省浏阳市人民医院副主任医师,主要从事肝胆胰外科方面的研究。

通讯作者:吕新生 E-mail:jcgxxy@126.com。

1 材料和方法

1.1 材料和分组

150只SD大鼠,雌性普通级,体重(300±50)g,由中南大学湘雅医学院动物学部提供。随机分成5组,每组30只:(1)假手术组(A组);(2)重症急性胰腺炎组(B组);(3)重症急性胰腺炎甘遂治疗组(C组);(4)重症急性胰腺炎低分子量肝素治疗组(D组);(5)重症急性胰腺炎甘遂和低分子量联合治疗组(E组)。

1.2 实验方法

A组仅行开腹术;B、C、D、E组均参照Banerjee^[6]介绍的方法制成重症急性胰腺炎动物模型,模型建成关腹后,B组不作任何处理;C组立即给予甘遂灌胃[200mg/(kg·8h)]^[3],用生理盐水配成1mL混悬液;D组立即给予低分子量肝素肌肉注射(100IU/12h^[5]);E组按上述方法联合给予甘遂和低分子量肝素治疗,各组在手术后2,6,12,24h分别采集血标本和组织标本待测。

1.3 检测项目及方法

1.3.1 血清TNF- α 及IL-6水平 TNF- α 及IL-6检测采用双抗体夹心ELISA法检测,试剂盒购自上海森雄科技实业有限公司,按说明书操作。

1.3.2 血清血栓素B2(TXB2)和6-酮-前列腺

素Fla比值测定(T/6-K) TXB2和6-Keto-PGF1采用放射免疫法(RIA)检测,试剂盒购自北京科美东雅生物技术有限公司,按说明书操作。

1.3.3 胰腺组织核转录因子KappaB(NF- κ B)和/环氧合酶-2(COX-2)测定 COX-2采用免疫组化测定,试剂盒及COX-2兔大鼠多克隆抗体均购自北京中山生物有限公司。NF- κ B/p65采用免疫组化检测,p65蛋白免疫组化试剂盒及兔大鼠单克隆抗体均购自美国Santa Cruz公司,HPR标记的羊抗兔二抗购自Sigma公司。按说明操作。试剂均以PBS代替一抗作阴性对照,用已知阳性切片作阳性对照。

1.3.4 判断标准 参考裴红红等的标准^[6]修改如下:高倍镜下($\times 400$)随机观察3个视野,以阳性细胞所占百分比数和染色强度为判定标准。阴性表达(无阳性细胞)记(-);明显阳性细胞数<25%或大多数细胞轻度阳性记(+);明显阳性细胞数25%~50%记(++);强阳性细胞>50%记(+++)。

1.4 组织学检查

1.4.1 胰腺组织损伤评分 采用改良Grewal等的方法对SAP大鼠胰腺组织损伤进行定量评估,由两位病理科医师进行。评分标准见表1。

表1 SAP胰腺病变严重程度评分标准

组织病变	评分标准				
	0	1	2	3	4
水肿	无	轻度叶间隙增宽	宽重度叶间隙增宽	腺泡间隙增宽	细胞间隙增宽
坏死	无	坏死面积1%~10%	坏死面积11%~20%	坏死面积21%~30%	坏死面积>30%
出血	无	有出血	-	-	-

1.4.2 胰腺超量微结构检查 采用日产H-600透视电镜。

1.5 72h死亡率

各组均随机选留6只观察72h死亡率。

1.6 统计学处理

所有计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,成组设计的多个样本均数比较采用ANOVA分析,其两两之间均数用 q 检验,LSD检验。 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 认为统计学上有显著意义。全部资料的统计学分析均采用SPSS 13.0 for windows统计软件在

计算机上分析完成。

2 结果

2.1 血清TNF- α 水平

与A组比较,B、C、D组2h有显著升高,24h达峰值($P < 0.05$);C、D、E组与B组比较,除2h外,其余各时间点均有显著降低($P < 0.05$),但仍高于A组($P < 0.01$),C、D、E3个治疗组在各时间点无显著差异(表2)。

表2 各组各时间点血清 TNF-α 水平 (pg/mL) ($\bar{x} \pm s$)

组别	2h	6h	12h	24h
A组	22.1±3.7	23.5±4.6	23.8±5.1	24.1±5.3
B组	112.6±17.4 ¹⁾	205.8±22.0 ¹⁾	220.8±33.4 ¹⁾	228.6±35.4 ¹⁾
C组	98.2±16.3 ²⁾	126.9±18.7 ^{2),3)}	103.7±12.9 ^{2),3)}	97.6±13.6 ^{2),3)}
D组	112.1±13.6 ²⁾	136.7±17.6 ^{2),3)}	99.5±13.9 ^{2),3)}	89.2±10.4 ^{2),3)}
E组	102.3±15.0 ²⁾	143.8±13.9 ^{2),3)}	110.0±16.0 ^{2),3)}	106.4±12.9 ^{2),3)}

注:1)与A组比较, $P < 0.01$; 2)与A组比较, $P < 0.05$; 3)与B组比较, $P < 0.05$

2.2 血清 IL-6 水平

与A组比较, B, C, D, E组2h就有显著升高, 12h达高峰, 并持续至24h ($P < 0.01$); 3个治疗组与B组比较, 除2h外, 其余各时间点均有显著降低 ($P < 0.05$), 但仍高于A组 ($P < 0.05$)。C, D, E3个治疗组间无显著差异(表3)。

表3 各组各时间点 IL-6 水平 (pg/mL) ($\bar{x} \pm s$)

组别	2h	6h	12h	24h
A组	149.2±42.0	180.0±33.0	160.8±38.0	155.0±34.0
B组	632.2±143.4 ¹⁾	850.5±49.1 ²⁾	832.0±57.3 ²⁾	799.6±60.5 ²⁾
C组	601.8±83.7 ¹⁾	701.7±132.4 ^{1),3)}	625.9±51.9 ^{1),3)}	611.5±80.7 ^{1),3)}
D组	582.9±79.2 ¹⁾	734.6±110.9 ^{1),3)}	651.2±46.1 ^{1),3)}	628.1±80.7 ^{1),3)}
E组	611.6±111.7 ¹⁾	742.0±101.2 ^{1),3)}	735.6±70.5 ^{1),3)}	640.0±141.1 ^{1),3)}

注:1)与A组比较, $P < 0.05$; 2)与A组比较, $P < 0.01$; 3)与B组比较, $P < 0.05$

2.3 胰腺组织 TXB2/6-keto-PGF1α 比值

与A组比较, B, C, D, E各组TXB2/6-keto-PGF1α比值2h就有显著升高, 6h达高峰, 以后仍维持较高水平 ($P < 0.01$)。与B组比较, C组仅在24h时间点有显著降低 ($P < 0.05$)。D组在12, 24h时间点有显著降低 ($P < 0.05$); 而E组在6, 12, 24h都有显著降低 ($P < 0.05$) (表4)。

表4 胰腺组织 TXB2/6-keto-PGF1α 比值变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	2h	6h	12h	24h
A组	1.5±0.1	1.5±0.4	1.2±0.3	1.3±0.3
B组	3.6±0.7 ¹⁾	5.5±0.5 ¹⁾	4.5±0.7 ¹⁾	3.5±0.8 ¹⁾
C组	3.3±0.6 ¹⁾	3.6±0.2 ¹⁾	3.0±0.6 ¹⁾	2.4±0.2 ^{1),2)}
D组	2.9±0.5 ¹⁾	3.4±0.7 ¹⁾	2.6±0.5 ^{1),2)}	2.0±0.2 ^{1),2)}
E组	3.5±0.5 ¹⁾	3.9±0.4 ^{1),2)}	3.2±0.7 ^{1),2)}	2.6±0.3 ^{1),2)}

注:1)与A组比较, $P < 0.01$; 3)与B组比较, $P < 0.05$

2.4 胰腺组织形态学

2.4.1 光镜检查 A组胰腺组织、腺泡细胞结构正常; B组可见胰腺间质明显充血水肿, 间质增宽, 有渗出物, 腺泡细胞结构模糊, 间质及腺泡有大量炎症细胞浸润及出血, 有微血栓形成, 胰腺组织大片坏死(图1)。与A组比较, B组病理损害评分在2h就显著增高, 以后仍维持在较高水平; C, D, E3个治疗组的胰腺组织小片坏死, 出血、坏死及炎性细胞浸润程度较B组6, 12, 24h时间点有显著降低 ($P < 0.05$), 但仍高于A组 ($P < 0.001$)。C, D, E3组之间无显著差异(表5)。

表5 大鼠胰腺组织病理损害评分 ($\bar{x} \pm s$)

组别	2h	6h	12h	24h
A组	0.2±0.1	0.5±0.2	0.4±0.1	0.3±0.1
B组	6.8±0.7 ¹⁾	8.6±0.6 ¹⁾	10.7±0.7 ¹⁾	12.6±0.6 ¹⁾
C组	6.5±0.6 ¹⁾	7.6±0.6 ¹⁾	8.5±0.7 ^{1),2)}	9.3±0.6 ^{1),2)}
D组	7.1±0.5 ¹⁾	7.8±0.5 ¹⁾	8.6±0.6 ^{1),2)}	9.5±0.5 ^{1),2)}
E组	6.3±0.3 ¹⁾	8.1±0.6 ¹⁾	9.0±0.7 ^{1),2)}	10.1±0.7 ^{1),2)}

注:1)与A组比较, $P < 0.01$; 3)与B组比较, $P < 0.05$

2.4.2 胰腺组织电镜检查 A组胰腺组织腺泡结构正常; B组超微结构破坏, 线粒体空泡化, 内质网排列紊乱, 核固缩变形, 微血管内有大量血栓形成; C, D, E组与B组比较, 各亚细胞结构损害均有减轻, 微血管内血栓少见(图2)。

B组

C组

D组

E组

图1 24时光镜下胰腺组织形态学改变 (HE × 400)

B 组

C 组

D 组

E 组

F 组

图2 电镜下胰腺组织形态学改变

2.5 3d 存活率

A 组 3d 存活率为 100% ; B 组 3d 存活率为 16.7% ; C, D, E 组 3d 存活率分别为 50% , 66.7% , 66.7% 。 B 组第 3 天存活率显著低于 A, C, D, E 组 ($P < 0.05$) C, D, E 3 组间无显著性差异 (均 $P > 0.05$)。

3 讨论

SAP 是临床常见急重症,病情严重,发展迅速。尽管近年来在 SAP 的发病机制研究和诊断治疗技术方面均有较大进展,但目前其病死率仍居高不下。由于其发病机制尚未完全明了,它的治疗仍在不断研究探索中。我科的研究^[3-5]证实,甘遂和 LMWH 治疗 SAP 都有确切疗效。但两者合用对 SAP 的治疗效果如何是本研究拟待解决的问题。

SAP 时,机体释放大量的炎症介质和细胞因子进入血循环,触发炎症介质瀑布样级联反应,促成了全身炎症反应综合征 (SIRS) 和多器官功能不全综合征 (MODS),因此炎症介质在 SAP 的发生发展中起着关键作用。TNF- α 是介导其他多种炎症介质释放的始动因子,起着扳机样作用^[7]。在 SAP 中 TNF- α 主要通过以下机制产生作用:上调中性粒细胞的功能,激活炎症细胞释放大量炎症介质;上调黏附分子对血管内皮的作用,促进白细胞黏附和渗出,毛细血管渗漏及组织损害;激活凝血系统促进微循环和血栓形成;诱导细胞凋亡等。再者,研究^[8]表明,微循环障碍在急性胰腺炎早期就开始出现,并在胰腺、结肠、肝脏、肺脏持续 48h 甚至更久。血栓素 A₂ (TXA₂) 和前列环素 (PGI₂) 是一对重要的缩/舒血管物质,在调节胰腺微循环方面起着重要作用。TXA₂ 有强效的收缩血管和促进血小板聚集作用,而 PGI₂ 有很强的扩血管和抑制血小板聚集的作用。正常情况下, TXA₂ 和 PGI₂ 的产生和释放处于动态平衡,急性胰腺炎时两者之间的平衡被

打破,引起微血管痉挛收缩、血小板聚集和血栓形成,造成微循环障碍,使 SAP 病情加重^[9]。而纠正 TXA₂ 和 PGI₂ 之间的平衡可以改善胰腺组织损害,减轻 SAP 病情,降低死亡率^[10]。由于 TXA₂ 和 PGI₂ 在体内代谢较快,常通过检测其各自稳定代谢物 TXB₂ 和 6-keto-PGF, 来反映它们的水平。

本组实验结果表明, B 组各时间点 TNF- α , IL-6 水平明显高于假手术组 (A 组) ($P < 0.01$), B 组的血 TNF- α , IL-6 水平随时间延长逐渐增高,持续上升至 24h,各时间点的值与假手术组的值相比有显著差异,说明 TNF- α , IL-6 在 SAP 发展中起主要作用。经甘遂、低分子量肝素及两者联合治疗后, TNF- α , IL-6 在 6, 12, 24h 各时间点的值较对照组低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。表明经甘遂、低分子量肝素及两者联合治疗均可下调炎症介质水平,达到治疗 SAP 的目的。但两者的联合应用并未显示效应增强的协同作用。本实验 B 组的血浆 TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1 α} 含量在 6, 12, 24h 时点的值均较 A 组高,但 TXB₂ 升高幅度远大于 6-keto-PGF_{1 α} , 造成两者比例失调。给予甘遂、低分子量肝素及两者联合治疗后,其 6-keto-PGF_{1 α} 比值在 C, D, E 组各时点均有不同程度的下降。甘遂和低分子量肝素可能通过调节 TXB₂/6-keto-PGF_{1 α} 之间的平衡,使 TXB₂/6-keto-PGF_{1 α} 比值降低,从而改善胰腺微循环,改善胰腺缺血,减轻胰腺炎的严重程度。C, D, E 3 组在降低 TXB₂/6-keto-PGF_{1 α} 比值、改善胰腺微循环方面的作用无显著差别。

本实验结果表明,联合应用甘遂和低分子量肝素治疗 SAP,在减轻炎症程度、改善胰腺微循环等方面起到了较好的作用,但未发现甘遂和低分子量肝素合用的协同作用,亦未发现合用的不利影响,至于联合应用是否可能会有某些潜在的优势,尚需进一步扩大样本数,观察疗效。

参考文献:

- [1] Bhatia M, Neoptolemos JP, Slacin J. Inflammatory Mediators as therapeutic targets in acute pancreatitis [J]. *Curr Opin investing Drugs*, 2001, 2(4):496-501.
- [2] Foitzik T, Eibl Q, Hotz HQ, *et al.* Endothelin receptor blockade in severe acute pancreatitis leads to systemic enhancement of microcirculation, stabilization of capillary permeability, and improved survival rates [J]. *Surgery*, 2000, 128(3):399-407.
- [3] 吕新生, 张翼, 李宜雄, 等. 甘遂治疗重症急性胰腺炎 [J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(6):401-404.
- [4] 邱毓, 吕新生, 李宜雄. 低分子量肝素治疗重症急性胰腺炎的前瞻性临床研究 [J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(10):721-726.
- [5] 范钦桥, 吕新生, 范立伟. 低分子量肝素预防 ERCP 后急性胰腺炎的实验研究 [J]. *中国普通外科杂志*, 2002, 11(3):175-177.
- [6] 裴红红, 杨正安, 秦兆寅, 等. 核因子- κ B 在两种实验性胰腺炎时表达的意义 [J]. *中国急救医学*, 2002, 22(2):72-73.
- [7] Huges CB, Grewal HP, Gaber LW, *et al.* Anti-TNF- α therapy improves survival and ameliorates the pathophysiologic sequelae in acute pancreatitis in the rat [J]. *Am J Surg*, 1996, 171(2):274-280.
- [8] Foitzik T, Eibl Q, Hotz HQ, *et al.* Endothelin receptor blockade in severe acute pancreatitis leads to systemic enhancement of microcirculation, stabilization of capillary permeability, and improved survival rates [J]. *Surgery*, 2000, 128(3):399-407.
- [9] Ethridge RT, Hashimoto K, Chung DH, *et al.* Selective inhibition of F- κ B attenuates the severity of cerulean-induced acute pancreatitis [J]. *J Am Coll Surg*, 2002, 195(4):497-505.
- [10] Mithofer K, Fernandez-del Castillo C, Frick TW, *et al.* Increased intrapancreatic trypsinogen activation in ischemia-induced experimental pancreatitis [J]. *Ann Surg*, 1995, 221(4):364-371.

文章编号:1005-6947(2006)11-0835-01

· 病例报告 ·

原发性乳腺恶性淋巴瘤 1 例

杨学伟, 闫朝岐, 杨松林, 汪立鑫

(哈尔滨医科大学附属第二医院 普通外科, 黑龙江 哈尔滨 150086)

关键词:乳腺肿瘤; 淋巴瘤, B 细胞; 病例报告

中图分类号:R733.41 文献标识码:D

患者 女, 33 岁。发现左乳无痛性肿块入院。体查:左乳内上象限可触及 4.0 cm × 3.0 cm 大小, 质韧, 表面不平, 边界欠清, 活动度尚可, 无触压痛肿块, 左腋区未触及肿大淋巴结。超声检查:左乳内上象限探及一 3.7 cm × 2.6 cm, 内部回声不均匀, 边界欠清晰, 无完整包膜, 周边见血流信号肿

块。诊断为左乳肿块。入院 2 d 后, 于硬膜外麻醉下行手术治疗, 发现左乳腺结节切面灰红、湿润, 均匀一致鱼肉样断面, 有菲薄的包膜。术中冷冻病理切片诊断:左乳腺非何杰金恶性淋巴瘤(弥漫性小 B 细胞型); 腋区淋巴结阴性。免疫组化:CD20(+), CD79A(+), CD3(-) 和 CD43 部分细胞(+)。术后 1 周配合 CHOP 方案化疗, 放疗。随访 21 个月, 患者情况良好, 无复发或转移。

讨论 原发性乳腺恶性淋巴瘤(PBL)占乳腺恶性肿瘤的 0.04%~0.74%, 占结外恶性淋巴瘤的 2%左右。多数报道以 B 细胞型为主, T 细胞

型则罕见。

本例诊断为弥漫性小 B 细胞性淋巴瘤, 未伴有胃肠道恶性淋巴瘤。PBL 主要表现为单侧或双侧乳房无痛性肿块, 生长较迅速。单发肿块的临床或影像学表现缺乏特征, 在术前很难与乳腺其它良、恶性肿瘤鉴别, 容易引起误诊。影像学检查, 包括 B 超、X 线和 CT 等对 PBL 的诊断缺少特异性。PBL 的预后主要取决于能否早期发现, 并与临床分期及细胞类型有关。手术治疗主要目的是切除病灶, 明确诊断, 术后辅以正规化疗和放疗是取得长期生存的重要措施。

收稿日期:2006-09-18。

作者简介:杨学伟, 男, 黑龙江双城人, 哈尔滨医科大学附属第二医院主任医师, 主要从事胃肠乳腺方面的研究。

通讯作者:杨学伟 E-mail:yangxw1185@163.com。