

尿激酶对大鼠重症急性胰腺炎肠道微循环障碍的作用

耿东华¹, 李胜军², 刘金钢^{1△}, 杨福全¹, 李航宇¹, 刘源¹

(1. 中国医科大学附属盛京医院第二微创胆道外科, 辽宁 沈阳 110004; 2. 基础医学院免疫学教研室)

[摘要] 目的:观察重症急性胰腺炎(SAP)时肠道微循环血流量和白细胞介素 1β(IL-1β)的变化以及尿激酶的作用。方法:雄性 Wistar 大鼠 192 只,随机分成对照组、SAP 组和治疗组。以 5%牛磺胆酸钠胰腺逆行胰胆管注射复制 SAP 模型,治疗组经颈静脉注射尿激酶。采用放射生物微球技术在制模后 2,6,12,24 h 分别测定肠组织微循环血流量,同时检测血清 IL-1β 水平,并观察肠黏膜病理改变。结果:SAP 组在制模后各时段肠组织血流量较对照组明显减少($P < 0.01$),血清 IL-1β 活性较对照组明显升高($P < 0.01$),肠黏膜损伤程度较对照组明显加重($P < 0.01$);治疗组 2,6,12 h 肠组织血流量与 SAP 组比较升高($P < 0.01$),24 h 变化不明显,血清 IL-1β 活性各时段与 SAP 组比较减少($P < 0.01$),肠黏膜损伤程度较 SAP 组明显改善($P < 0.01$)。结论:SAP 时肠组织血流量减少同时伴有炎性介质 IL-1β 的升高,尿激酶能改善微循环,减轻肠道损伤。

[关键词] 重症急性胰腺炎;肠道微循环;白细胞介素 1β;尿激酶

[中图分类号] R576 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-4646(2007)05-0542-03

Effect of urokinase on intestinal microcirculatory dysfunction in rats with severe acute pancreatitis

GENG Dong-hua¹, LI Sheng-jun², LIU Jin-gang^{1△}, YANG Fu-quan¹, LI Hang-yu¹, LIU Yuan¹

(1. Department of Minimally Invasive Surgery for Biliary Tract, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China; 2. Department of Immunology, College of Basic Medical Sciences)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of urokinase on intestinal microcirculatory blood flow and interleukin-1β (IL-1β) in rats with severe acute pancreatitis (SAP). **Methods:** A total of 192 male Wistar rats were randomly divided into control group, SAP group, and treatment group. The rat model of SAP was established by intravenous injection of 5% sodium taurocholate into the pancreaticobiliary duct. The rats in treatment group were injected with urokinase via the cervical vein. Radioactive biomicrosphere technique was performed to measure the intestinal blood flow after 2, 6, 12, and 24 hours. The level of IL-1β was detected by radioimmunoassay, and the pathological changes in intestinal mucosa were observed. **Results:** Compared with control group, in SAP group, the intestinal blood flow significantly decreased ($P < 0.01$) at each time point; the level of IL-1β significantly increased at each time point ($P < 0.01$); and the intestinal mucosal injury was more severe ($P < 0.01$). Compared with SAP group, in treatment group, the intestines blood flow significant increased at 2, 6, and 12 hours ($P < 0.01$), but the increase was not significant at 24 hours; the level of IL-1β significantly decreased at each time point ($P < 0.01$); and the pathological changes in intestinal mucosa was significantly improved ($P < 0.01$). **Conclusion:** In SAP rats, the intestinal blood flow decreases and the level of IL-1β increases. Urokinase could improve intestinal microcirculation and alleviate intestinal injuries in SAP rats.

[Key words] severe acute pancreatitis; intestinal microcirculation; interleukin-1β; urokinase

重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 患者的死因主要由于肠源性细菌感染及与感染相关的器官衰竭^[1]。肠源性细菌感染的病理生理学基础,是肠黏膜屏障功能障碍,肠道微循环障碍起主导的作用^[2]。因此,可通过治疗肠道微循环障碍,达到治疗胰腺炎的目的,本文通过动物实验探讨尿激酶(urokinase, UK)对 SAP 肠道微循环的作用。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验动物:雄性 Wistar 大鼠 192 只,体质量

220~250 g(由附属盛京医院实验动物中心提供)。随机分为 3 组,对照组、SAP 组、治疗组,每组各 64 只;每组又分为 A、B 两亚组,A 亚组 32 只用于肠道血流量测定,B 亚组 32 只用于抽取血样及组织学观察;各亚组又按模型制备后 2,6,12,24 h 时段分为 4 个小组,每小组 8 只。

1.1.2 实验试剂:IL-1β 放免药盒 (301 医院东亚免疫技术研究所),^{99m}Tc (中国原子能科学研究院),5% 牛磺胆酸钠(美国 Sigma 公司),UK1 000 u/100 g(南大制药厂)。

1.2 方 法

1.2.1 模型制备:B 亚组大鼠制备 SAP 模型,经胰胆管十二指肠开口逆行注入 5% 牛磺胆酸钠 0.1 ml/100 g,胰腺出现充血、水肿、局灶性坏死后关腹。对

[作者简介] 耿东华(1976 -),男,讲师,硕士。

△ Corresponding Author's E-mail: liujg51347@hotmail.com

照组开腹后仅翻动十二指肠后关腹。治疗组在模型制成后 30 min 给 UK(10 u/g),经颈静脉置管注射。

1.2.2 标本收集: 各组 B 亚组大鼠模型制成后在 2,6,12,24 h 时段由下腔静脉抽血 4 ml,离心 10 min(3 000 r/min),取上清,-70 °C 保存备用,同时取大鼠回肠组织放入 10%福尔马林中保存备用。

1.2.3 肠道组织血流量:参照文献 [3,4]方法,^{99m}Tc 标记蟾蜍红细胞制成放射性生物微球。于各实验时段点经左颈总动脉插管匀速注入 1 ml ^{99m}Tc 标记的生物微球,在注入生物微球的同时从左股动脉插管抽取参考血标本。然后迅速处死动物,切取回肠组织,吸干称重。测胰腺组织和参考血样的每分钟放射计数(cpm),按下列公式计算肠道组织血流量:

$$\text{血流量}(\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}) = \frac{\text{参考样本血流量}(\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}) \times \text{脏器放射性计数}(\text{cpm})}{\text{参考血样放射性计数}(\text{cpm}) \times \text{脏器重量}(\text{g})}$$

1.2.4 血浆 IL-1 β 的测定: 放免法按 IL-1 β 产品试剂盒说明书进行操作。

1.2.5 肠道组织学检查: 肠道组织 HE 染色后观察病理学改变。肠黏膜损伤参照 CHIU^[5]分级标准,病理改变由轻到重分为 0~V 级。

1.3 数据处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS11.5 统计软件包对计量资料进行统计分析。

2 结果

2.1 肠道组织血流量

与对照组相比,SAP 组各时相肠道组织血流量均明显降低($P < 0.01$)。治疗组各时相肠道组织血流量也明显降低($P < 0.01$)。与 SAP 组相比,治疗组 2,6,12 h 组肠道组织血流量明显增加 ($P < 0.01$),24 h 组肠道组织血流量增加不明显(表 1)。

表 1 3 组肠道组织血流量比较($\bar{x} \pm s, \text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)

Tab.1 The comparison of intestinal blood flow in three group ($\bar{x} \pm s, \text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)

组别	2 h(n=8)	6 h(n=8)	12 h(n=8)	24 h(n=8)
对照组	0.6691 \pm 0.0696	0.7005 \pm 0.1111	0.6405 \pm 0.0642	0.7331 \pm 0.1382
SAP 组	0.2502 \pm 0.0273 ¹⁾	0.2010 \pm 0.0402 ¹⁾	0.1571 \pm 0.0106 ¹⁾	0.1130 \pm 0.0251 ¹⁾
治疗组	0.5375 \pm 0.0260 ²⁾	0.4962 \pm 0.0531 ²⁾	0.2174 \pm 0.0351 ²⁾	0.1234 \pm 0.0244

注:1)与同时点对照组比较, $P < 0.01$;2)与同时点 SAP 组比较, $P < 0.01$

2.2 IL-1 β 水平 与对照组相比,SAP 组各时点 IL-1 β 均明显升高($P < 0.01$),治疗组各时点 IL-1 β 也

升高($P < 0.01$)。与 SAP 组相比,治疗组各时点 IL-1 β 水平均降低 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 3 组血清 IL-1 β 活性比较($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/ml}$)

Tab.2 The comparison of IL-1 β in three group($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/ml}$)

组别	2 h(n=8)	6 h(n=8)	12 h(n=8)	24 h(n=8)
对照组	0.0748 \pm 0.4129	0.0788 \pm 0.0299	0.0781 \pm 0.0366	0.0831 \pm 0.3337
SAP 组	0.1950 \pm 0.0163 ¹⁾	0.2269 \pm 0.0136 ¹⁾	0.3438 \pm 0.0523 ¹⁾	0.2100 \pm 0.0200 ¹⁾
治疗组	0.1119 \pm 0.0339 ^{1),2)}	0.1525 \pm 0.0826 ^{1),2)}	0.1956 \pm 0.0159 ^{1),2)}	0.1123 \pm 0.0370 ^{1),2)}

注:1)与同时点对照组比较, $P < 0.01$;2)与同时点 SAP 组比较, $P < 0.01$

2.3 病理学检查

对照组部分大鼠肠道组织可见轻度水肿、炎性浸润,SAP 各组可见肠黏膜绒毛上皮细胞脱落、毛细血管充血、中性粒细胞浸润,且随着时间的延长而

加重;与 SAP 组相比,治疗组病理改变与同时段 SAP 组大鼠肠道组织相比,上述病理情况均得到改善;与对照组相比,治疗组肠道组织病理改变轻微(表 3)。

表 3 各组大鼠肠黏膜损伤情况(例)

Tab.3 The comparison of intestinal tissues injury in three group(case)

组别	2 h(n=8)					6 h(n=8)					12 h(n=8)					24 h(n=8)								
	0	I	II	III	IV V	0	I	II	III	IV V	0	I	II	III	IV V	0	I	II	III	IV V				
对照组	8	0	0	0	0	7	1	0	0	0	6	1	0	0	1	0	6	2	0	0	0			
SAP 组	0	0	2	4	2	0 ¹⁾	0	0	1	3	4	0 ¹⁾	0	0	0	2	3	3 ¹⁾	0	0	1	0	2	5 ¹⁾
治疗组	0	4	2	2	0	0 ²⁾	0	3	3	2	0	0 ²⁾	0	2	4	2	0	0 ²⁾	0	0	4	3	1	0 ²⁾

注:1)与同时点对照组比较, $P < 0.01$;2)与同时点 SAP 组比较, $P < 0.01$

3 讨论

3.1 急性胰腺炎时肠黏膜损伤与肠道微循环障碍及细胞因子

SAP时的微循环障碍是胰腺及胰外器官损害的重要原因之一^[6]。本实验显示,在SAP制模后2h肠血流量即较对照组显著减少,同时已发生肠黏膜组织学损害,这可能由于胰腺坏死及炎性介质释放,使机体处于严重应激状态。此时神经内分泌系统发生一系列变化而造成内脏血流重新分布,引起肠血流量急剧下降所致。肠黏膜是对缺血缺氧极为敏感的组织之一,随着病程的进展,由于循环血量的进一步减少以及炎性介质的过度激活,24h肠血流量更为下降,同时肠黏膜损伤进一步恶化。由此可见,微循环障碍可能是造成SAP早期肠黏膜损伤的重要原因之一。

SAP时炎性介质的过度释放可能是引起肠黏膜损伤的又一重要原因^[7]。本实验结果显示,在诱导SAP后2~24h,作为SAP时引起全身多器官损害的重要炎性介质IL-1 β 均较对照组显著增高。IL-1 β 作为一种重要的促炎性细胞因子,在SAP病情加重及胰腺远隔器官损害的机制中,通过促进白细胞在血管内皮细胞表面黏附和聚集以及激活其他炎性介质而发挥作用。

本研究发现,SAP大鼠肠血流量减少与血清IL-1 β 的升高同步发生。IL-1 β 通过其所调控的炎性介质而造成血管痉挛、白细胞与血小板聚集、血栓形成以及损伤血管内皮细胞而加重肠缺血^[6]。肠缺血和随之而来的再灌注损伤又可导致组织细胞损害而释放包括IL-1 β 在内的炎性介质,如此互相影响,互为因果,最终导致急性肠黏膜损伤,肠黏膜通透性增高,屏障功能减弱或消失,造成内毒素和细菌移位。

3.2 尿激酶对肠道微循环可能的治疗作用

UK的主要作用是直接激活纤维蛋白溶酶原,使其转化为纤维蛋白溶酶,溶解血栓,改善微循环。本实验中,与SAP组相比,治疗组使用UK(10 u/g)后,发现UK能增加肠道组织的血流量,特别是在2,6,12h时段血流量增加明显。原因可能为本次实验中UK的使用是于SAP模型制备后30min单次静脉给药引起的,因此治疗效果较短暂,结果24h时段血流量增加不明显。提示如能改用连续静脉

给药或多次静脉给药,可能提高治疗效果。对照组各时段肠道病理改变较轻;而SAP组各时段病理改变明显,出现肠道出血、坏死、炎性浸润、腹腔大量皂化斑及血性腹水。使用UK的治疗组也出现明显病理改变,但较SAP组有明显改善,提示UK的溶栓作用可以改善肠道微循环,减轻肠道屏障功能的损伤,具有一定治疗作用。

SAP时存在器官出血及其他脏器微循环改变,关于使用UK是否会加重器官出血的问题,目前未见报道。在本实验中治疗组各时段的肠道病理改变与SAP组比较,并无明显的出血增加。临床上,脾功能亢进行脾切除术后有使用UK的治疗经验,并没有导致明显的出血。因此,UK是有可能用于急性胰腺炎的,但尚需进一步实验证实。

UK并无直接对炎性介质的作用,本实验应用UK后治疗组各时段IL-1 β 的水平较SAP组各时段水平明显降低,可能为UK改善肠道微循环及全身微循环,减轻组织或器官损伤,使炎性反应减弱而间接引起的IL-1 β 的改变。

总之,通过本研究可以发现,SAP时肠道血流量减少,肠黏膜屏障功能受损,同时并伴有炎性介质IL-1 β 的升高,两者之间互为因果。UK能够改善微循环,减轻肠道损伤,但能否应用于临床仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] 王兴鹏.现代胃肠病学高级进修教程[M].1版,上海:上海科技文献出版社,2001:90-108.
- [2] KLER E, WEERNER J. New pathophysiologic knowledge about acute pancreatitis [J]. Chirur, 2000, 71(3):253-264.
- [3] 李龙, 张建新, 毛朝阳. ^{99m}Tc 生物微球测定急性坏死性胰腺炎肺肾微循环变化[J].中华核医学杂志, 2003, 23(2):126.
- [4] 包广洁, 乐进秋, 陈智.放射性生物微技术在犬牙髓血流量测定中的应用[J].口腔医学纵横杂志, 1998, 14(1):7-10.
- [5] CHIU CJ, MARDLE AH, BROWN R, et al. Intestinal muscol lesion in low-flow state [J]. Arch Surg, 1970, 101(4):478-483.
- [6] SCHWARZ M, THOMSEN J, MEYER H, et al. Frequency and time course of pancreatic and extra-pancreatic bacterial infection in experiment acute pancreatitis in rats [J]. Surgery, 2000, 127(4):427-432.
- [7] CICALESE L, SAHAI A, SILERI P, et al. Acute pancreatitis and bacterial translocation [J]. Surgery, 2001, 127(5):1127-1132.

[收稿日期] 2005-09-14