

·论著·

# 髓过氧化物酶在腹腔灌洗治疗重症急性胰腺炎急性肺损伤中的作用

赫曼 柴琛 曹农 刘永永 王斌生 俞永江

**【摘要】** 目的 探讨髓过氧化物酶(MPO)在腹腔灌洗治疗重症急性胰腺炎(SAP)急性肺损伤中的作用。方法 成年Wistar大鼠60只,随机分为4组:①阴性对照组(C组):开腹后仅翻动胰腺;②SAP组(S组):采用3.5%牛磺胆酸钠胰胆管逆行注射制成SAP模型;③腹腔灌洗组(W组):复制SAP模型成功后于胰腺被膜外放置灌洗管,于下腹部留置引流管,0.9%生理盐水行腹腔持续灌洗;④腹腔注射组(E组):取S组大鼠胰腺匀浆及腹水,于正常大鼠腹腔内注射。于造模后3、6和12h分批处死大鼠,采下腔静脉血2ml行淀粉酶测定;取左肺下叶组织行MPO检测;对胰腺及肺组织进行病理评分。结果 S组及E组肺泡间质水肿、出血,并有中性粒细胞、巨噬细胞浸润。在不同时间点,S组、W组和E组血清胰淀粉酶、肺MPO均高于C组( $P<0.01$ ),W组升高的程度小于S组。结论 SAP相关性腹水可以导致急性肺损伤,肺组织中MPO表达升高,提示其参与了急性肺损伤的发生过程,其原因可能与相关性腹水激活了粒细胞有关。早期腹腔灌洗将SAP相关性腹水进行稀释并引出体外,减少了腹膜巨噬细胞的活化,下调了MPO水平,减轻了肺损伤的程度,具有较好的治疗作用。

**【关键词】** 髓过氧化物酶;重症急性胰腺炎相关性腹水;急性肺损伤;腹腔灌洗

**Role of myeloperoxidase in the treatment of acute lung injury associated with severe acute pancreatitis by peritoneal lavage** HE Man, CHAI Chen, CAO Nong, LIU Yong-yong, WANG Bin-sheng, YU Yong-jiang. Department of Anesthesiology, Gansu People's Hospital, Lanzhou 730000, China

Corresponding author: CHAI Chen, Email: chasechai@gmail.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the role of myeloperoxidase (MPO) in the treatment of acute lungs injury associated with severe acute pancreatitis (SAP) by peritoneal lavage. **Methods** Sixty adult wistar rats were randomly divided into four groups ( $n=15$ ): negative control group (group C), SAP group (group S), peritoneal lavage group (group W), and peritoneal injection group (group E). Rats in group C received laparotomy only. In group S, 3.5% sodium taurocholate was injected retrogradely into biliopancreatic duct to establish SAPmodel. Thereafter pancreatic homogenate and ascites from group S were injected into abdominal cavity of rats in group E. Rats in group W were given continuous

基金项目:甘肃省科技攻关计划(0709TCYA057)

作者单位:730000 兰州,甘肃省人民医院麻醉科(赫曼);兰州大学第一医院普外科(柴琛、曹农、王斌生、俞永江);兰州大学第二医院普外科(刘永永)

通讯作者:柴琛,Email: chasechai@gmail.com

peritoneal lavage with 0.9% physiological saline through the drainage tube of hypogastric zone after SAP model replicating. All the rats were killed at 3, 6 and 12 h after SAP model established respectively. The vena cava inferior blood was obtained for amylase determination. The tissue of left lower lobe was taken for MPO detection, and pathology of pancreas and lungs was scored. **Results** Pulmonary interstitial edema, hemorrhage and infiltration of neutrophilic granulocyte and macrophage were observed in the group S and E. At different time points, the levels of blood amylase and MPO in the group S and E were significantly higher than the group C ( $P < 0.01$ ), and the increased degree in group W were milder than the group S. **Conclusions** Acute lungs injury can be induced by SAP associated ascetic fluid. The MOP expression is elevated, indicating its important role in the process of acute lungs injury, and that may be related to activation of granulocyte by ascetic fluid. Early peritoneal lavage can dilute and elicit ascetic fluid from abdominal cavity, decrease activation of peritoneal macrophages, down-regulate MOP level, reduce lung injury, and thereby achieve a better therapeutic effect.

**【Key words】** Myeloperoxidase; Severe acute pancreatitis associated ascetic fluid; Acute lung injury; Peritoneal lavage

急性肺损伤是重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)时常见的并发症,是患者早期死亡的主要原因。髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)是中性粒细胞的功能标志和激活标志,其水平及活性变化代表着嗜中性多形核白细胞的功能和活性状态<sup>[1]</sup>,而肺泡粒细胞活化可能是急性胰腺炎肺损伤的重要原因<sup>[2]</sup>。腹腔灌洗治疗在临床上常能取得较好疗效<sup>[3]</sup>,但其分子生物学机制并不清楚。本文就腹腔灌洗治疗 SAP 相关性腹水致急性肺损伤过程中 MPO 的表达变化进行了探讨。

## 1 材料

### 1.1 实验动物分组

成年 Wistar 大鼠 60 只,体质量 250~300 g,清洁级,将其随机分为阴性对照组、SAP 组、腹腔灌洗组、腹腔注射组,每组 15 只,雌雄不限。

### 1.2 主要实验试剂与仪器

牛磺胆酸钠(美国 Sigma 公司),MPO 试剂盒(南京建成生物工程公司),Bio-Rod Model 550 酶标仪(美国伯乐公司)。

## 2 方法

### 2.1 模型复制

2.1.1 阴性对照组(C组) 开腹后仅翻动胰腺组织。

2.1.2 SAP 组(S组) 3.5%牛磺胆酸钠胰胆管逆行注射制造 SAP 模型。

2.1.3 腹腔灌洗组(W组) 复制 SAP 模型成功后于胰腺被膜外放置灌洗管,于下腹部留置引流管,0.9%生理盐水行腹腔持续灌洗。

2.1.4 腹腔注射组(E组) 取 SAP 模型大鼠胰腺组织匀浆及腹水,于正常大鼠腹腔内注射。

## 2.2 标本采集

于造模后 3、6 和 12 h 分批处死大鼠,取左肺下叶组织放置于-80℃冰箱保存,待做 MPO 检测。胰腺及肺组织行病理检查。采下腔静脉血 2 ml 行淀粉酶测定。

## 2.3 血清淀粉酶的测定

所取下腔静脉血用全自动生化分析仪行淀粉酶含量检测。

## 2.4 肺组织 MPO 测定

肺组织在玻璃匀浆器中匀浆,MPO 活性测定按试剂盒说明进行。标本混匀后,60℃水浴 10 min,在 460 nm 处采用全自动酶标仪测定各管 OD 值。

## 2.5 统计学处理

计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,应用 SPSS 15.0 统计包进行统计学分析,采用 *t* 检验, $P<0.05$  为有显著性差异。

## 3 结果

### 3.1 各组动物死亡率和造模成功率

C 组大鼠无死亡;S 组死亡 1 例(6.7%),按 Schmidt 评分标准<sup>[4]</sup>,SAP13 例(86.7%),符合肺损伤评分标准 12 例<sup>[5]</sup>(80.0%);W 组死亡 1 例(6.7%),SAP 12 例(80.0%),符合肺损伤评分标准 11 例(3.3%);E 组大鼠无死亡,SAP 5 例(33.3%),肺损伤 11 例(73.3%)。S 组大鼠胰腺在镜下表现为灶性出血、坏死;E 组表现为充血、水肿,罕见出血;S 组、W 组及 E 组肺泡间质水肿、出血,并有中性粒细胞、巨噬细胞浸润。

### 3.2 血清淀粉酶的变化

在不同时间点,S 组、W 组和 E 组血清淀粉酶均高于 C 组;W 组血清淀粉酶低于 S 组,见表 1。

表 1 各组血清淀粉酶变化(U/L,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	3 h	6 h	12 h
C 组	1550.2±145.5 <sup>a</sup>	1625.5±135.2 <sup>a</sup>	1520.4±160.5 <sup>a</sup>
S 组	9962.7±856.3	13658.8±756.5	20564.6±842.6
W 组	6527.4±359.4 <sup>b</sup>	7005.1±526.5 <sup>b</sup>	12065.9±436.2 <sup>b</sup>
E 组	4231.3±329.3	5537.7±124.8	5879.3±284.6

注:S 组、W 组、E 组分别与 C 组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;W 组与 S 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$

### 3.3 肺组织 MPO 表达水平

在不同时间点,S 组、W 组及 E 组大鼠肺组织 MPO 活性较 C 组相比均有明显升高;W 组 MPO 活性低于 S 组,见表 2。

表 2 肺组织不同时间 MPO 表达水平变化(U/g,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	3 h	6 h	12 h
C 组	1.2±0.42 <sup>a</sup>	1.6±0.21 <sup>a</sup>	1.3±0.41 <sup>a</sup>
S 组	4.32±0.43	8.6±0.54	14.5±1.22
W 组	2.5±0.36 <sup>b</sup>	5.3±0.62	8.4±0.90 <sup>b</sup>
E 组	5.8±0.56	8.3±0.75	13.1±0.55

注:S 组、W 组及 E 组分别与 C 组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;W 组与 S 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$

## 4 讨论

SAP时常伴有含大量胰酶和细胞因子的血性腹水,经腹膜吸收后发生一系列反应,导致急性肺损伤及急性呼吸窘迫征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)。临床上利用腹腔灌洗以减少血性腹水的吸收,可以减轻器官损害,本文旨在探讨MPO在腹腔灌洗治疗SAP相关性腹水致肺损伤中的作用机制。

### 4.1 胰腺炎相关性腹水(pancreatitis associated ascetic fluid, PAAF)诱导肺损伤模型的建立

PAAF经腹膜吸收后可以诱发全身多脏器损害<sup>[6]</sup>。本实验中,SAP组胰腺存在不同程度的间质水肿、炎性细胞浸润、胰腺组织灶性或片状出血坏死及皂化斑的形成,伴有血性腹水,呈典型的SAP病理改变<sup>[7]</sup>。大鼠腹腔注射PAAF后,肺脏表现为间质充血、肺泡间隔增宽,肺间质中大量中性粒细胞浸润,其病理改变与相关报道一致<sup>[8]</sup>。

### 4.2 重症急性胰腺炎相关性肺损伤(severe acute pancreatitis associated lung injury, SAPALI)发生机制

#### 4.2.1 胰酶在APALI中的作用

本研究发现:大鼠腹腔注射PAAF后诱发了胰腺炎和肺损伤,血清胰淀粉酶升高。通过腹腔灌洗后,血清胰淀粉酶有所下降,但仍高于对照组。因此,含有大量胰淀粉酶的PAAF通过腹膜吸收是造成肺损伤的原因之一。有证据表明磷脂酶A2通过诱导花生四烯酸、血栓素、细胞分裂素和血小板激活因子的释放而导致肺损伤<sup>[9-11]</sup>,应用磷脂酶A2的阻滞剂可改善SAPALI<sup>[12]</sup>。弹力蛋白酶或胰蛋白酶的升高与肺损伤过程中核因子 $\kappa$ B的激活以及随后的TNF- $\alpha$ 基因的表达有关<sup>[13]</sup>。Norman等<sup>[14]</sup>发现胰蛋白酶对相应靶器官的损伤作用是通过刺激巨噬细胞产生细胞因子而实现的。因此,SAP时释放的各种胰酶,直接或间接地参与了肺损伤的发生过程。

#### 4.2.2 MPO在SAPALI中的作用

MPO是一种重要的含铁溶酶体,存在于髓系细胞(主要是中性粒细胞和单核细胞)的嗜苯胺蓝颗粒中,是髓细胞的特异性标志。MPO是由中性粒细胞、单核细胞和某些组织的巨噬细胞分泌的含血红素辅基的血红素蛋白酶,以3种亚形存在于髓系细胞中<sup>[17]</sup>,是血红素过氧化物酶超家族成员之一<sup>[15]</sup>。MPO的表达水平代表着嗜中性多形核白细胞的功能和活性状态<sup>[16]</sup>。MPO的主要功能是在吞噬细胞内杀灭微生物,但在特定条件下,MPO催化反应生成过量的氧化剂会导致氧化性组织损伤<sup>[18]</sup>。

本研究结果显示:随着SAP的发生,肺组织MPO活性逐渐升高;腹腔灌洗后,MPO表达下降,肺损伤程度减轻,提示中性粒细胞在肺内趋附浸润减少。中性粒细胞在肺循环内聚集、黏附及激活,继而产生活化氧及弹力蛋白酶直接损伤肺组织<sup>[19]</sup>。Bhatia等<sup>[20]</sup>发现,趋化因子抗体通过抑制中性粒细胞的趋化作用对SAPALI起保护作用。Werner等<sup>[21]</sup>利用闪烁扫描法测定白细胞上的糖类似物分解产物,表明白细胞代谢功能激活导致了SAPALI。因此,循环中激活的中性粒细胞是引起不同形式肺损伤的中心环节。

### 4.3 腹腔灌洗的治疗作用

SAP相关性腹水含有胰酶等大量的毒性物质、血管活性物质及蛋白分解产物,通过腹膜不断吸收,过度激活炎性细胞,释放大量的细胞因子及炎性介质<sup>[22]</sup>,促使全身炎症反应综合征的发生。因此,在早期进行持续腹腔灌洗阻断炎性因子经腹膜吸收途径,可以降低病死率,减少并发症的发生<sup>[23,24]</sup>。本研究发现:经过腹腔灌洗后,血清中胰淀粉酶和肺组织MPO水平下降,减轻

了肺损伤。Ranson<sup>[25]</sup>在1990年的随机对照研究中认为,腹腔灌洗不仅可以减少肺部的并发症,而且可以降低胰腺坏死组织感染的并发症及相关的病死率。

综上所述,SAP相关性腹水经腹膜吸收后可以导致肺损伤,MPO表达升高,提示其参与了急性肺损伤的发生过程,其原因可能与相关性腹水激活了粒细胞有关。早期腹腔灌洗将SAP相关性腹水进行稀释并引出体外,减少了腹膜巨噬细胞的活化,下调了MPO水平,减轻了肺损伤的程度,具有较好的治疗作用。

## 参 考 文 献

- 1 Mori T, Town T, Tan J, et al. Modulation of astrocytic activation by arundic acid (ONO22506) mitigates detrimental effects of the apolipoprotein E4 isoform after permanent focal ischemia in apolipoprotein E knock-in mice. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2005, 25 (6): 748-762.
- 2 程石, 何三光. 肺泡巨噬细胞活化在急性坏死性胰腺炎大鼠肺损伤中的作用. *中华外科杂志*, 2002, 40 (8): 609-612.
- 3 郭贵海, 朱萱, 黄群, 等. 腹腔灌洗治疗重症急性胰腺炎. *实用临床医学(江西)*, 2003, 4 (5): 5-6.
- 4 Schmidt J, Rattner DW, Lewandrowski K, et al. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy. *Ann Surg*, 1992, 215 (1): 44-56.
- 5 Derks CM, Jacobovitz-Derks D. Embolic pneumopathy induced by oleic acid. A systematic morphologic study. *Am J Pathol*, 1977, 87 (1): 143-158.
- 6 程若川, 赵海剑, 方向, 等. 胰腺炎相关性腹水诱导大鼠肺损伤的实验研究. *肝胆胰外科杂志*, 2005, 17 (4): 282-284, 288.
- 7 Slavin J, Ghaneh P, Sutton R, et al. Management of necrotizing pancreatitis. *World J Gastroenterol*, 2001, 7 (4): 476-481.
- 8 闻庆平, 陈海龙, 关风林, 等. 大鼠重症急性胰腺炎时急性肺损伤的实验研究. *中华急诊医学杂志*, 2003, 12 (10): 673-675.
- 9 Jaffray C, Yang J, Carter G, et al. Pancreatic elastase activates pulmonary nuclear factor B and inhibitory B, mimicking pancreatitis-associated adult respiratory distress syndrome. *Surgery*, 2000, 128 (2): 225-231.
- 10 Closa D, Bardají M, Hotter G, et al. Hepatic involvement in pancreatitis-induced lung damage. *Am J Physiol*, 1996, 270 (1 Pt 1): G6-G13.
- 11 Wilson C, Imrie CW. Changing patterns of incidence and mortality from acute pancreatitis in Scotland, 1961-1985. *Br J Surg*, 1990, 77 (7): 731-734.
- 12 Sandler RS, Everhart JE, Donowitz M, et al. The burden of selected digestive diseases in the United States. *Gastroenterology*, 2002, 122 (5): 1500-1511.
- 13 Norman JG, Fink GW, Franz MG. Acute pancreatitis induces intrapancreatic tumor necrosis factor gene expression. *Arch Surg*, 1995, 130 (9): 996-970.
- 14 Andersson R, Deng XM, Wang XD. Role of macrophage overactivation in the development of acute pancreatic injury in rats. *Br J Surg*, 1997, 84 (6): 775-780.
- 15 O'Brien PJ. Peroxidases. *Chem Biol Interact*, 2000, 129 (1-2): 113-139.
- 16 Podrez EA, Poliakov E, Shen Z, et al. A novel family of atherogenic oxidized phospholipids promotes macrophage foam cell formation via the scavenger receptor CD36 and is enriched in atherosclerotic lesions. *J Biol Chem*, 2002, 277 (41): 38517-38523.
- 17 李惠, 包宗明. 髓过氧化物酶及其多态性与冠状动脉疾病的研究进展. *中国心血管病研究杂志*, 2007, 5

(1): 70-72.

- 18 Trush MA, Kensler TW. An overview of the relationship between oxidative stress and chemical carcinogenesis. *Free Radic Biol Med*, 1991, 10 (3-4): 201-209.
- 19 Kimura Y, Hirota M, Okabe A, et al. Dynamic aspects of granulocyte activation in rat severe acute pancreatitis. *Pancreas*, 2003, 27 (2): 127-132.
- 20 Bhatia M, Brady M, Zagorski J, et al. Treatment with neutralising antibody against cytokine induced neutrophil chemoattractant (CINC) protects rats against acute pancreatitis associated lung injury. *Gut*, 2000, 47 (6): 838-844.
- 21 Werner H, Edward AC, Ramon EJ, et al. Neutrophil metabolic activity but not neutrophil sequestration reflects the development of pancreatitis associated lung injury. *Crit Care Med*, 2002, 30 (9): 2075-2082.
- 22 张圣道, 雷若庆. 重症急性胰腺炎的诊治方案及发展趋势. *中华肝胆外科杂志*, 2004, 10(4): 219-220.
- 23 Farkas G, Marton J, Mandi Y, et al. Surgical strategy and management of infected pancreatic necrosis. *Br J Surg*, 1996, 83 (7): 930-933.
- 24 廖素清, 江东, 胡俊川. 早期微创腹腔置管灌洗治疗重症急性胰腺炎 46 例分析. *重庆医学*, 2009, 38 (13): 1632-1633.
- 25 Ranson JH, Berman RS. Long peritoneal lavage decreases pancreatic sepsis in acute pancreatitis. *Ann Surg*, 1990, 211 (6): 716-718.

(收稿日期: 2010-01-04)

(本文编辑: 王思师)

赫曼, 柴琛, 曹农, 等. 髓过氧化物酶在腹腔灌洗治疗重症急性胰腺炎急性肺损伤中的作用 [J/CD]. *中华危重症医学杂志: 电子版*, 2010, 3 (1): 06-11.