

## • 基础论著 •

## 厄贝沙坦对大鼠急性胰腺炎局部微循环改变的实验研究

汪国宾 何若冲 刘忠保 韩建立

**【摘要】** 目的 探讨血管紧张素受体拮抗剂对大鼠急性胰腺炎(AP)的保护作用。方法 40只Wistar大鼠随机分为对照组和AP组,AP组分为模型组和高中低剂量组。测定血浆血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)、淀粉酶(AMY)水平,观察胰腺组织病理学改变;采用异硫氰酸荧光素标记红细胞(FITC-RBC)技术及微循环观测系统观察大鼠胰腺微循环血液流速。结果 随着病变的进展,AP组胰腺炎病理由水肿向出血坏死发展,AngⅡ、AMY同步上升,胰腺局部组织血液流速降低。中剂量厄贝沙坦干预组则胰腺炎病理改变减轻,胰腺局部组织血液流速改善,且血浆AngⅡ、AMY水平低于模型组,其他剂量组之间各指标差异无统计学意义。结论 血管紧张素受体拮抗剂对AP时胰腺微循环有明显的改善作用。

**【关键词】** 厄贝沙坦; 胰腺炎; 微循环; 血管紧张素Ⅱ

**Experiments of local microcirculation change of Irbesartan on rats with acute pancreatitis** WANG Guo-bin, HE Ruo-chong, LIU Zhong-bao, HAN Jian-li. Graduate School, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China  
Corresponding author: HE Ruo-chong, Email: bill0415@sohu.com

**【Abstract】 Objective** To explore the angiotensin receptor antagonist protective effect on rat acute pancreatitis (AP). **Methods** Forty Wistar rats were randomly divided into control group and group with AP, AP group was divided into model group and high school low-dose group. Determination of plasma angiotensin Ⅱ (Ang Ⅱ), amylase (AMY) levels were observed histopathological changes of the pancreas; fluorescein isothiocyanate-labeled red blood cells (FITC-RBC) technology and micro-circulation observing system observed in rat pancreatic microcirculation blood flow. **Results** As the lesions progress, in AP groups pancreatitis disease grounds edema to hemorrhage and necrosis development, Ang Ⅱ, AMY had been rising, pancreatic tissue blood flow rate decreases. Dose irbesartan intervention group pancreatitis alleviate the pathological changes of pancreatic tissue blood flow improved, and plasma Ang Ⅱ, AMY level lower than the model group, each index showed no significant difference between the other dose groups. **Conclusions** Angiotensin receptor antagonist significantly improve pancreatic microcirculation in AP.

**【Key words】** Irbesartan; Pancreatitis; Microcirculation; Angiotensin Ⅱ

近年研究发现,肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)不是循环系统所特有。其中,胰腺RAAS最近已被确定,并可能在病程转归中发挥重要的作用,抑制其活性可能对胰腺有保护效果<sup>[1]</sup>。胰腺的微循环障碍目前被认为在急性胰腺炎(AP)的发生发展中起着重要作用<sup>[2]</sup>。本研究通过探究血管紧张素Ⅱ受体阻滞剂(ARB)——厄贝沙坦对AP时胰腺组织的保护作用及对胰腺微循环障碍的影响,为临床治疗AP提供新的应

用前景。

## 材料与方 法

### 一、材料

雨蛙肽(caerulein)、异硫氰酸荧光素(FITC)由美国Sigma公司提供;厄贝沙坦购自扬子江药业集团有限公司;血淀粉酶(AMY)试剂盒购自南京建成生物工程研究所;血管紧张素(AngⅡ)ELISA试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司;微循环观测仪BI-2000A由成都泰盟科技有限公司提供。

### 二、实验动物及分组

选用Wistar大鼠40只,体重(180±7.42)g,雌雄不限(购于山西医科大学实验动物中心),随机数字表法分为5组,每组8只。实验前禁食不禁水12h。

DOI:10.3877/ema.j.issn.1674-0785.2013.03.041

基金项目:山西省卫生厅科技攻关项目基金(200808)

作者单位:030001太原,山西医科大学研究生院(汪国宾);山西医学科学院山西大医院普外科(何若冲、韩建立);山西医科大学国家重点生理实验室(刘忠保)

通讯作者:何若冲,Email:bill0415@sohu.com

1. AP 动物模型的复制: AP 组大鼠腹腔注射雨蛙肽 40 μg/kg, 共 2 次, 每次间隔 30 min, 诱导 AP 模型<sup>[1]</sup>; 对照组相同时刻注射 0.9% 生理盐水。模型组灌注生理盐水, 研究组分别给予厄贝沙坦为 3 mg/kg、5 mg/kg 和 8 mg/kg 灌胃(剂量参考李琨等<sup>[3]</sup>、李国东等<sup>[4]</sup>), 对照组无特殊处理。

2. 荧光标记红细胞制备: 尾静脉采血 1 ml, 摇匀于室温下离心 2000 × g 7 min, 去上清后得到红细胞以磷酸盐缓冲液洗涤红细胞反复 3 次, 之后加入含 1 mg/ml FITC 的磷酸盐缓冲液室温下孵化 3 h 后, 用 PBS 液洗涤红细胞 4 次去除未结合的 FITC, 加入等渗盐水配制成红细胞压积为 50% 的红细胞悬液, 置于 4 °C 冰箱保存, 24 h 内使用。

### 三、指标检测

ELISA 法测定用药后 12 h 血浆 Ang II、血浆 AMY 水平。

异硫氰酸荧光素标记红细胞(RBC-FITC)回输到小鼠体内, 活体微循环观测系统观察大鼠胰腺微循环血液流速。

建模成功后剖杀大鼠, 取胰尾部胰腺组织用 10% 甲醛溶液固定; 石蜡包埋、切片; HE 染色; 光镜观察胰腺病理损伤程度。

### 四、统计学分析

所有数据均采用 SPSS 13.0 进行统计描述与分析, 定量资料符合正态分布用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 进行描述, 多组间比较用单因素方差分析, 不符合正态分布数据组间比较用秩和检验,  $P < 0.05$  认为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、各组大鼠胰腺组织的形态、病理学改变

1. 肉眼观察: 对照组 12 h 后胰腺组织无水腫、出血、坏死, 胰腺组织外观正常。模型组胰腺组织弥漫性水肿, 除了见大量血性腹水外, 胰腺质地变硬, 见大片的皂化和坏死灶。高剂量组胰腺组织可见轻度的水肿、散在出血点、少量坏死灶, 腹腔有少量血性腹水。中剂量组胰腺组织轻度水肿极少量散在的出血点。12 h 穿刺点附近, 量逐渐增多。低剂量组胰腺组织可见轻度的水肿、散在出血点、少量皂化和坏死灶, 腹腔有大量血性腹水。

2. 显微镜观察: 对照组胰腺组织可见部分间质水肿, 极少量的炎性细胞浸润, 无腺泡细胞坏死、脂肪坏死及炎症等情况。模型组可见胰腺组织明显小叶间水肿, 少量炎性细胞浸润, 高剂量可见明显小叶间水肿, 片状出血, 炎性细胞浸润, 腺泡细胞变性坏死; 中剂量

组仅见轻度水肿, 偶见炎性细胞浸润, 未见出血和腺泡细胞坏死。低剂量组可见大量炎性细胞浸润, 胰腺小叶结构破坏, 大量腺泡细胞坏死。见图 1。

### 二、Ang II、AMY 水平, 胰腺微循环情况

AP 组与对照组相比, AMY ( $F = 64.76, P < 0.01$ )、Ang II ( $F = 26.17, P < 0.01$ )、RBC-FITC 流速 ( $F = 107.38, P < 0.01$ ) 差异均有统计学意义。高中低剂量组与模型组比较差异均有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.05$ ), 高剂量组与低剂量组差异无统计学意义 ( $P$  均  $> 0.05$ ), 中剂量组高于其他各组 ( $P$  均  $< 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组 Ang II、AMY 水平, RBC-FITC 流速比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	AMY (U/L)	Ang II (ng/L)	RBC-FITC 流速 (μm/s)
对照组	8	1048 ± 149	236.9 ± 89.4	515.22 ± 172.77
模型组	8	5635 ± 189 <sup>a</sup>	586.1 ± 126.7 <sup>a</sup>	287.35 ± 168.21 <sup>a</sup>
高剂量组	8	4281 ± 217 <sup>abc</sup>	384.7 ± 121.8 <sup>abc</sup>	398.77 ± 162.89 <sup>abc</sup>
中剂量组	8	3321 ± 196 <sup>ab</sup>	261.9 ± 90.6 <sup>ab</sup>	498.37 ± 182.89 <sup>ab</sup>
低剂量组	8	4094 ± 235 <sup>abc</sup>	395.1 ± 124.5 <sup>abc</sup>	396.44 ± 170.91 <sup>abc</sup>

注: 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与中剂量组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

## 讨 论

20 世纪末人们开始探讨胰腺中 RAAS 的存在和作用, 相继在动物、人胰腺细胞, 动物、人离体胰岛细胞, 动物或人胰腺中其他细胞(如星状细胞等)及各类培养细胞系中, 通过免疫细胞化学、蛋白质印迹法、定量或半定量聚合酶链反应、试管内放射自显影或结合研究、高性能液态层析仪或放射性免疫测定法等证实胰腺中 RAAS 各组分的存在<sup>[5-6]</sup>。但对其在胰腺炎病理生理变化中的作用目前尚不完全明了。本研究发现, AP 早期 6 h 内大鼠胰腺 Ang II 水平显著升高, 证实 AP 时存在循环或局部 RAAS 的激活。目前已经发现人的胰腺组织也存在 RAS, 且研究表明 AP 时局部胰腺的 RAS 的表达上调<sup>[3,7]</sup>。研究组与模型组之间比较说明 ARB 能降低血 Ang II 水平。从病理切片结果可以看出中等剂量的厄贝沙坦使大鼠 AP 时局部改变明显。其他剂量对胰腺局部改变不是特别明显。说明合理剂量的 Ang 受体拮抗剂能明显地降低胰腺的病理损伤, 余莉等<sup>[8-9]</sup>研究 Ang II 受体拮抗剂对 AP 影响发现其能减轻胰腺水肿程度、降低血 AMY, 减轻胰腺组织病理学评分, 明显减轻胰腺的炎症和损伤。据此我们推测, 这可能与高剂量 ARB 加重胰腺的渗出而较低剂量尚不能对胰腺组织起作用有关。从微循环观测仪也可看出, 中等剂量的厄贝沙坦可以明显改善大鼠 AP 时局部微循环。其他剂量对胰腺局部微循环改变不是特别明显, 且差

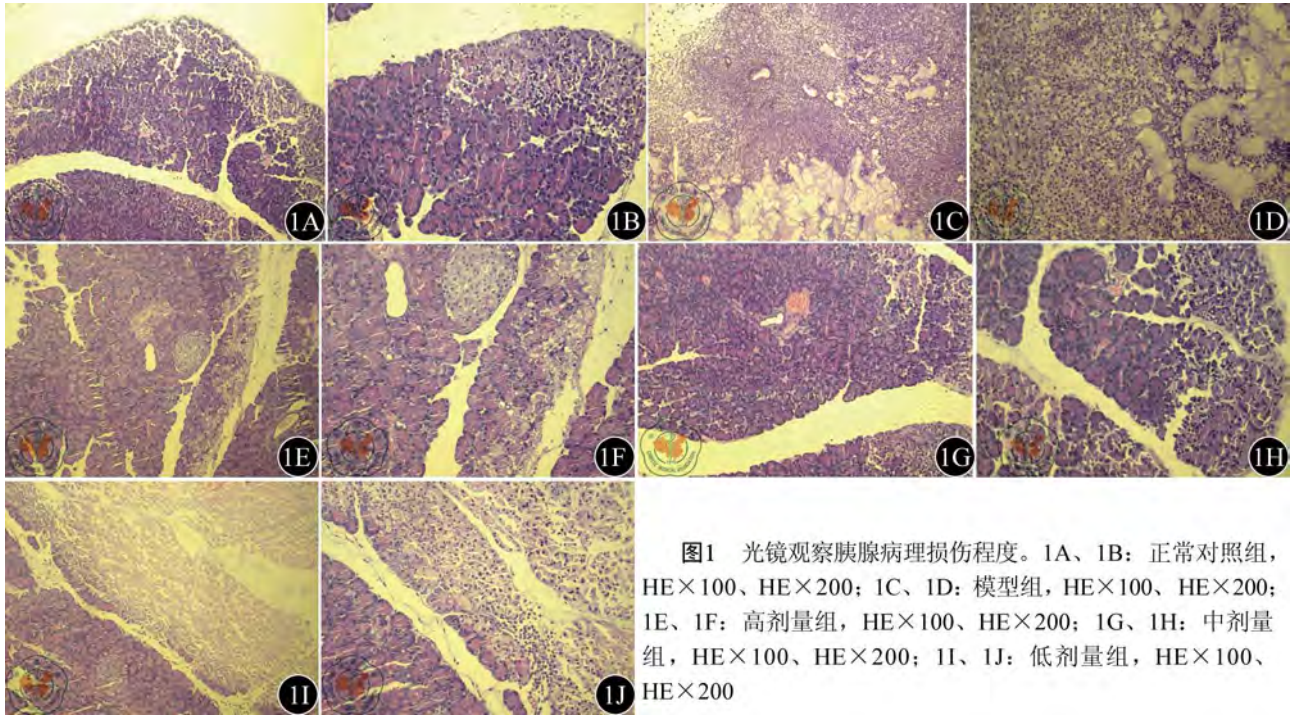


图1 光镜观察胰腺病理损伤程度。1A、1B: 正常对照组, HE×100、HE×200; 1C、1D: 模型组, HE×100、HE×200; 1E、1F: 高剂量组, HE×100、HE×200; 1G、1H: 中剂量组, HE×100、HE×200; 1I、1J: 低剂量组, HE×100、HE×200

异无统计学意义( $P>0.05$ )。对于血 AMY 研究组明显低于模型组,说明 ARB 能降低 AP 时血 AMY 的水平。高低剂量组水平比较虽有所降低,但两组之间没达到统计学意义( $P>0.05$ )。

目前认识到有关 AP 的病理生理机制主要包括胰酶的自身消化、炎症调控失衡、胰腺微循环障碍、免疫调节失衡、氧自由基作用和前列腺素平衡失调、细胞凋亡及钙离子内流等<sup>[10]</sup>,大多数研究也从这几个方面阐述。血液微循环障碍是 AP 的特征之一,本研究的结果亦提示 Ang II 参与了胰腺微循环障碍的发生发展过程,据此我们推测局部 RAAS 的激活可能是 AP 时血液循环障碍的因素之一。

总之,本实验的研究结果提示:(1)合理剂量的 ARB 对大鼠 AP 时胰腺组织有保护作用。(2)大鼠 AP 时局部 RAS 的激活参与胰腺局部组织微循环障碍。对于胰腺局部 RAS 的激活可能是 AP 时血液循环障碍的因素有待进一步研究证实,但是进一步的临床应用还仍需大量的相关资料加以论证。

#### 参 考 文 献

[1] Yamaguchi H, Kimura T, Mimura K, et al. Activation of proteases in

cerulean-induced pancreatitis. *Pancreas*, 1989, 4:565-571.

[2] Chan WP, Fung ML, Nobilung R, et al. Activation of local rennin-angiotensin system by chronic hypoxia in rat pancreas. *Mol Cell Endocrinol*, 2000, 160:107.

[3] 李琨,张训臣. Ang II 受体拮抗剂对急性胰腺炎影响的研究. *中国医师杂志*, 2005, 7:28-30.

[4] 李国东,吴德全,姚磊,等. 血管紧张素 II 受体拮抗剂早期干预大鼠急性胰腺炎的疗效. *肝胆胰外科杂志*, 2006, 2:89-91.

[5] Leung PS, Chan WP, Nobilung R. Regulated expression of Pancreatic rennin-angiotensin system in experimental pancreatitis. *Mol Cell Endocrinol*, 2000, 166:121.

[6] Leung PS. The physiology of a local renin-angiotensin system in the pancreas. *J Physiol*, 2007, 580:31-37.

[7] Guzman EA, Rudnicki M. Intricacies of host response in acute pancreatitis. *J Am Coll Surg*, 2006, 202:509-519.

[8] 余莉,李锐,沈世强. 缬沙坦对大鼠急性胰腺炎的治疗作用. *腹部外科*, 2007, 20:180-181.

[9] 芦波,钱家鸣. 肠内外营养在重症急性胰腺炎的应用[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2011, 5:3401-3404.

[10] Ceppa EP, Lyo V, Grady EF, et al. Serine proteases mediate inflammatory pain in acute pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011, 300:G1033-1042.

(收稿日期:2012-10-23)

(本文编辑:马超)