维普资讯 http://www.cqvip.com

局解手术学杂志 2003年第12卷第3期
J Regional Anat & Operative Surg, 2003, Vol.12, No.3

急性胰腺炎胰腺组织中一氧化氮合成酶的表达

赵 平

【摘 要】 **目的** 探讨急性胰腺炎(AP)胰腺组织中内皮型一氧化氮合成酶(NOS)的表达与炎症发生发展的关系。**方法** 采用免疫组化方法结合全自动图像分析仪,测定NOS在24例不同炎症程度急性胰腺炎的大鼠胰腺中及8例正常胰腺中的表达,并分析其与炎症程度的关系。**结果** 正常胰腺组织NOS表达呈弱阳性,随着炎症程度的加重,NOS表达逐渐升高,尤以出血坏死型胰腺炎胰腺组织中表达最为明显。**结论** 急性胰腺炎中胰腺组织高度表达NOS,检测NOS可能作为判断急性胰腺炎疾病严重程度的一个指标。

【关键词】急性胰腺炎;胰腺;一氧化氮合成酶
【中图分类号】R657.5;Q559.1 【文献标识码】A 【文章编号】1672-5042(2003)030-0196-02

Nitrate oxide synthase in pancreas in acute pancreatitis

ZHAO Ping. Department of Postgraduates, Training, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

【**Abstract**】 **Objective** To study the relationship between nitrate oxide synthase(NOS) and advance of inflammation in pancreas in acute pancreatitis(AP). **Methods** Immunohistochemical location of NOS was measured in 24 pancreas samples of rats with AP and 8 normal pancreas ones. The relationship between the NOS and inflammation was analysized. **Results** NOS was slightly postive in the normal pancreas. It gradually rose along with advance of inflammation, especially in the pancreas with acute hemorrhagic and necrozing pancreatitis(AHNP). **Conclusion** Enhanced NOS is found in the pancreas with AP. NOS may be a marker of judging the severity of AP.

【**Key words**】 acute pancreatitis; pancreas; nitrate oxide synthase

近年来,有关NOS在炎症反应过程中引起多器官衰竭时的过度表达及其在炎症局部损害和全身损害之间的关系已成为研究的热点。急性胰腺炎是一种外科常见病,其病理特点是早期病变局限病死率很低,但在疾病发展过程中易诱发多器官衰竭病死率明显升高[1]。本研究旨在通过应用免疫组织化学方法,结合全自动图像分析检测急性胰腺炎不同炎症程度胰腺组织中NOS的表达,以探讨NOS在急性胰腺炎中表达与炎症程度的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料及分组

成年Wistar大鼠32只,雌雄不拘,随机分为4组。参照许春芳、蒋文平[2]等方法用不同浓度牛胆酸钠溶液逆行注射胰胆管制作急性胰腺炎系列动物模型。所取胰腺标本均石蜡包埋,连续切片,片厚4 μm,作HE染色和NOS免疫组化染色。

1.2 免疫组织化学检查

采用ABC[3]法,NOS多克隆抗体由Santa Cruz Biotechnology Inc公司生产,武汉博士德公司分装为即用型抗体。结果采用Mias多媒体图像分析系统处理,40×10倍光镜下每一切片观察10个视野(待测组织须充满整个视野),测定积分光密度值(Integral Optical Density, IOD),以IOD表示NOS表达的相对强度。

1.3 统计学分析

实验数据以"$\bar{x} \pm s$"表示,组间数据差异用t检验。

2 结果

2.1 胰腺组织中NOS的分布与表达

NOS蛋白阳性产物定位于血管内皮细胞的胞浆上,以小、微血管为主,正常对照组胰腺组织中仅低水平表达,在炎症加重的过程中,其表达逐渐升高,至出血坏死组时表达最高。相邻组间为非常显著性改变。结果见表1。

2.2 胰腺组织炎症程度变化

正常对照组胰腺组织血管周围只有少许炎症细胞渗出;轻度水肿组胰腺腺泡水肿,周围炎症细胞浸润;重度水肿组水肿明显,炎症细胞浸润增多,一些腺泡不完整、破裂;出血坏死组周围满布浸润的炎症细胞,腺泡破裂,夹有成团的红细胞;相邻组间为非常显著性改变。结果见表2。

作者单位:第三军医大学训练部研究生处,重庆 400038

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 各胰腺组织中NOS含量

分组	例数	NOS含量
正常对照组	8	1420.6755 ± 2984.3586*
轻度水肿组	8	1849.4353 ± 36.0911*
重度水肿组	8	2057.1381 ± 35.5189*
出血坏死组	8	2371.8177 ± 179.8904*

注：与正常组比较，* $P<0.01$

表2 胰腺组织炎症程度变化

分组	例数	胰腺组织
正常对照组	8	0.00 ± 0.00
轻度水肿组	8	0.68 ± 0.04*
重度水肿组	8	1.96 ± 0.07*
出血坏死组	8	2.47 ± 0.09*

注：与正常组比较，* $P<0.01$

3 讨论

体内合成NO的主要场所是血管内皮细胞，在催产素、加压素、内毒素、细胞因子等激活剂作用下，细胞内的一氧化氮合成酶，以L-精氨酸为底物合成和释放一氧化氮(NO)[4]。NO产生后通过细胞膜扩散到邻近的平滑肌细胞中使水溶性鸟苷酸环化酶(cyclic guanosine monophophate cGMP)活化，而使平滑肌舒张，NO起第二信使的作用[5]。一氧化氮合成酶有两种形式：一种是诱导型(iNOS)，需还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷磷酸(NADPH)作为辅酶才能发挥作用，对钙无依赖性，可被细胞因子诱导产生，特点是引起长时间的NO合成和释放，释出的NO具有杀伤活细胞的作用[6]；另一种是结构型(cNOS)，依赖于Ca^{++}/钙调蛋白，也具有NADPH依赖性，通过受体导致Ca^{++}浓度增加而兴奋，特点是使NO合成增加并呈脉冲式释放[7]。Xavier等[8]发现低剂量的硝普钠(SNP，NO产生剂)能明显减轻胰腺的水肿，而Ng-甲酯-L-精氨酸(L-NAME，NO拮抗剂)却明显增加白细胞的活性，认为一方面NO可通过维持血管的整体性，降低微血管渗透性[9]；另一方面又可通过清除氧自由基的方式在急性胰腺炎时对胰腺起保护作用，可以认为是机体对伤害的一种应激反应[8]。在我们的实验中，随着炎症的逐渐加重，NOS的表达越来越高，可作为判断急性胰腺炎炎症程度的一个指标，也为急性胰腺炎的治疗提供了一条新思路。

【参考文献】

[1] Wilson PG, Manji M, Neoptolemos JP. Acute pancreatitis as a model of sepsis[J]. J Antimicr Chemother, 1998, 41(1): 51 - 63.
[2] 许春芳，蒋文平，蔡衍郎，等. 牛胆酸钠诱导大鼠急性胰腺炎系列模型的研究[J]. 新消化医学杂志，1995，3(3)：139 - 141.
[3] 蔡文琴，王伯纶. 实用免疫化学与核酸分子杂交技术[M]. 成都：四川科学技术出版社，1994. 121 - 124.
[4] Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells [J]. FASEB J, 1992, 6(12): 3051 - 3064.
[5] 松小君，顾正中. 一氧化氮对脑血流的调节[J]. 生理科学进展，1995，26(1)：35 - 37.
[6] Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine[J]. Lancet, 1994, 343(8907): 1199 - 1206.
[7] Dinerman JL, Lowenstein CJ, Snyder SH. Molecular mechanisms of nitric oxide regulation[J]. Circ Res, 1993, 73(2): 217 - 222.
[8] Molero X, Guarner F, Salas A, et al. Nitric oxide modulates pancreatic basal secretion and response to cerulein in the rat: effects in acute pancreatitis[J]. Gastroenterology, 1995, 108(6): 1855 - 1862.
[9] Hutcheson IR, Whittle BJ, Boughton-Smith NK. Role of nitric oxide in maintaining vascular integrity in endotoxin-induced acute intestinal damage in the rat[J]. Br J Pharmacol, 1990, 101(4): 815 - 820.

(收稿日期：2003 - 07 - 01) (编辑：王 林)

(上接195)

1.3 统计学处理

治疗前、后评分以(均数 ± 标准差)表示，并经t检验。

2 结果

氟西汀治疗前、后Zung量表自评结果，分别为30.01 ± 8.63，6.72 ± 3.24，t检验，$P<0.05$。

3 讨论

脑卒中后抑郁已引起人们普遍关注，病因不清，可能与病灶部位、病程、遗传等有关。其发病机制亦存在两种观点：一种观点认为，脑卒中后抑郁的发生与大脑损害有关，包括神经生物学改变及脑低灌注，并且认为脑卒中后抑郁与大脑损害引起的去甲肾上腺素和5-羟色胺之间的平衡失调有关。另一种观点认为，家庭、社会、生理等多因素导致病后生理、心理障碍，从而导致脑卒中后抑郁。氟西汀为特异性、选择性5-羟色胺再摄取抑制剂，可选择性作用于突触前膜受体，从而阻止再摄取，使脑组织中浓度增加；还可增加突触间递质水平并具有激活突触后受体功能，从而阻断抑郁的发生。抑制5-羟色胺摄取比抑制去甲肾上腺素或多巴胺强100倍。对各递质受体的亲和力低，对受体既无激动作用又无拮抗作用。因此，抗胆碱能作用、抗肾上腺能副作用少而轻。氟西汀的半衰期为7 h，稳态时间达35 d。

本组观察结果显示应用氟西汀治疗脑卒中后抑郁效果良好。除3例患者有轻度头晕、口干症状外，无其他并发症发生。

(收稿日期：2003 - 03 - 02) (编辑：蒋登金)