DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.05.015

急性胰腺炎大鼠血浆 ET/NO比值的变化及其与胰腺血流量的关系

任晓葆* 何振平 冯华芳** 段恒春 (第三军医大学附属西南医院肝胆外科中心) 重庆, 400038

提 要 目的: 探讨急性胰腺炎 (AP)大鼠血浆 ET/NO比值变化及其与胰腺血循环间的关系。方法: 用 5%牛磺胆酸钠溶液胆胰管注入,诱发大鼠急性出血坏死性胰腺炎 (AHNP)模型。动态观察大鼠血浆内皮素 (ET)水平、一氧化氮 (NO)含量变化,及其与胰腺血流量 (PBF)、病理改变间内在联系。结果: AHNP大鼠早期存在显著胰腺缺血和血浆 ET、NO的显著升高, ET/NO比值持续增加。结论: 血浆 ET、NO的改变及 ET/NO比值增加,可能介导 AHNP大鼠血循环紊乱发病过程。

关键词 急性胰腺炎;内皮素;一氧化氮;大鼠
中图法分类号 R331.37; R576

急性胰腺炎 (Acute pancreatitis, AP)早期存在着显著胰腺血循环的障碍,研究证实,前列环素、血栓素、激肽、缓激肽系统失平衡参与了 AP胰腺血循紊乱[1]。内皮素 (Endothin, ET)作为强有力的血管收缩因子,参与了 AP胰腺血循环的紊乱[2];一氧化氮 (NO)是一种主要的内皮依赖性舒血管物质,具有强烈的血管舒张作用及抗血小板聚集、粘附功能[3]。正常状态下 ET、NO在体内保持相对稳定。本实验通过观察急性出血坏死性胰腺炎 (Actue hemorrhagic necrotizing pancreatitis, AHNP)大鼠血浆水平 ET、NO及 ET/NO比值变化,探讨其与胰腺血循环紊乱的内在机制。

1 材料与方法

1.1 动物分组

成年健康 Wastar大鼠 48只,体重 180~250 g,随机分组,正常对照组 (n = 8只),模型组 (n = 40只)。

1.2 模型制备

大鼠术前禁食 12 h, 2.5%戊巴比妥钠溶液腹腔内注射麻醉 (0.1 ml/100 g),腹壁正中切口入腹, 5号头皮针经肠壁从十二指肠乳头插入胆胰管约 1 cm深,用无损伤血管钳钳夹固定针头进入十二指肠乳头处,近肝门处用动脉夹阻断胆总管,注入 5%牛磺胆酸钠溶液 0.01 ml·g^{-1}·min^{-1} (Sodium taurocholate, Na-Tc, Sigma),去掉血管钳及动脉夹,双层缝合腹壁,术毕于背部皮下注射生理盐水 4 ml,以补充术中丢失的液体。于 0.5、1、6、12、24 h,在麻醉下测胰腺血流量,下腔静脉入膈处抽静脉血,活杀动物取胰腺组织备检。对照组仅做开腹手术。

1.3 观察指标和方法

1.3.1 血浆 ET测定 各时相点下腔静脉采血 2 ml,置于 10% EDTA二钠 30 mg和 400IU (40μl)抑肽酶的试管中,混匀, 4℃ 3000 r/min离心 10 min,分离血浆, -20℃保存待测。测定方法按 301医院东亚免疫技术研究所提供的放免药盒说明书进行。

1.3.2 血浆 NO测定 血浆制备同上,测定时取血浆 0.5 ml加入 4 mol/L过氯酸 0.1 ml,混匀后离心 2000 r/min, 15 min,取全部上清加 0.1% Rivanol 200μl及 12 mol盐酸 400μl,加双蒸水致总体积 2 ml, 520 nm测定吸光度,根据标准曲线计算样本 NO含量 (μg/ml)。

1.3.3 胰腺血流量 (PBF)测定 采用氢气清除法,用组织末梢血流测定仪 (PHG-300,日本松下通信株式会社)进行测定,测胰头、体、尾部,取均值。

1.3.4 胰腺含水量 (PW)测定 取胰腺组织准确称重, 80℃烘干 72 h致重量不再改变,称干重,计算每克组织含水量。

$$\text{含水量} = \frac{\text{胰湿重} - \text{胰干重}}{\text{胰干重}}$$

1.3.5 胰腺病理观察 取胰腺组织固定于 10%福尔马林液中,石蜡包埋,制片后 HE染色,光镜下观察。

1.4 数据处理

数据以 $\bar{x} \pm s$表示,组间数据比较采用两样本均数 t检验,有关数据作相关分析。

2 结果

血浆 ET、NO及 ET/NO比值变化,见表 1, AHNP大鼠血浆 ET、NO早期明显升高, 6 h达最高值, 24 h虽有所下降但仍显著高于对照组; ET/NO值持续升高。

大鼠胰腺血流量变化,见表 2, AHNP大鼠血流量 0.5 h明显下降 ($P < 0.05$), 12 h达最低值, 24 h有所升高,但显著低于对照组。其变化与血浆 ET及 ET/NO呈显著负相关 (r = -0.93, -0.96, $P < 0.01$)。

胰腺含水量变化,见表 2, AHNP大鼠胰腺含水量逐渐增加, 1 h达显著水平 ($P < 0.05$), 24 h达最高值。其变化与血浆 ET及 ET/NO比值显著正相关 (r = 0.93, 0.99, $P < 0.01$)。

胰腺组织光镜观察: AHNP大鼠, 0.5 h可见胰腺小叶部分坏死及少量红细胞渗出。 1 h可见坏死区波及整个小叶,有小片状出血,少量白细胞浸润。 6 h可见多数小叶大片坏死,血管壁坏死,片状出血,大量白细胞浸润。 12 h见大片胰腺小叶溶解性坏死,大片状出血,大量白细胞浸润,但胰腺小叶轮廓清晰。 24 h见大片小叶溶解性坏死伴严重出血,间质中有大片脂肪坏死及脂肪酸钙形成,大量白细胞浸润,小叶轮廓不清。

* 任晓葆,男, 33岁,主治医师,讲师,硕士研究生
** 内分泌实验室

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　大鼠血浆 ET、NO含量及 ET/NO比值变化 (n= 8, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Changes of content of plasma ET, NO and ET/NO ratio in rats(n= 8, $\bar{x}\pm s$)

	Control	Post-AHNP				
		0.5 h	1 h	6 h	12 h	24 h
ET(ng/L)	56.60± 13.02	69.58± 14.60	112.68± 27.74**	236.45± 50.89**	215.40± 48.02**	190.12± 31.85**
NO(ng 10^5/L)	1.96± 0.52	2.54± 0.55*	2.77± 0.58*	5.01± 0.96**	3.92± 0.63**	3.27± 0.60*
ET/NO(10^{-6})	23.76± 5.41	30.88± 6.28*	41.69± 8.23**	47.12± 9.17**	53.71± 11.26**	55.65± 12.74**

*: P < 0.05, **: P < 0.01 *vs* control

表 2　大鼠胰腺组织 PBF、PW变化 (n= 8, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Changes of PBF, PW in rats(n= 8, $\bar{x}\pm s$)

	Control	Post-AHNP				
		0.5 h	1 h	6 h	12 h	24 h
PBF(ml s^{-1} 100 g^{-1})	94.20± 12.77	81.53± 9.90*	61.68± 7.70**	49.74± 8.61**	42.33± 5.21**	51.83± 11.90**
PW(ml/g)	3.14± 0.31	3.31± 0.37	3.58± 0.49*	3.91± 0.45**	4.05± 0.52**	4.12± 0.47**

*: P < 0.05, **: P < 0.01 *vs* control

3　讨论

内皮素(ET)主要由血管内皮细胞分泌释放的缩血管活性多肽,具有强烈缩血管作用,目前已证实它参与了心血管疾病、休克等发病过程。内皮素对机体器官具有广泛生物学效应。Takaori等[4]通过给正常狗注入 ET后,发现胰腺血流较其它器官(肝)血流下降更明显。AP时 ET的变化及其在发病机制中的作用也得到广泛研究[2,5],目前认为:① 内皮素致胰腺小动脉痉挛,胰腺供血不足,胰腺组织缺血。② 内皮素通过胰腺腺泡内皮素受体,促进"钙超载",致胰腺组织细胞损伤。③ 内皮素致冠状动脉收缩,心肌缺血,心肌收缩减弱,心脏射血减少,致胰腺供血减少。然而,一定浓度的内皮素可刺激产生 NO增加,NO是一种主要的内皮依赖性舒血管物质,具有强烈的血管舒张作用,并可抑制血小板和白细胞粘附、聚集[3]。因此,急性胰腺炎时产生的 NO,通过对抗 ET缩血管作用改善胰腺微循环,更多的是作为一种保护性因子。但张群华等[6]研究认为急性胰腺炎 NO作为一种炎性介质具有对胰腺细胞的直接毒性作用。Sotoh等[7]认为 NO可以引起难治性血管扩张而产生胰腺血流的低灌注,加重胰腺的缺血。因此,急性胰腺炎时 NO的作用存在不同的结论[8]。

本实验通过测定 AHNP大鼠血浆 ET、NO的变化,发现其水平渐渐增加。我们将其作为一个舒缩血管的整体分析,发现 ET/NO与 PBF呈显著负相关与 PW呈显著正相关。生理状态下 ET和 NO之间存在着负反馈调节作用,ET通过其 B受体而促进 NO释放,而 NO则经过 cGMP途径抑制 ET产生,ET与 NO的合成释放处于动态平衡,其比值保持在一个较稳定水平以维持胰腺血流的相对恒定。AP时不仅存在着 ET、NO水平增加,而且存在着 NO增强的相对不足,ET/NO比值失平衡参与胰腺血循环的紊乱,我们认为 AP时不仅存在前列环素、血栓素、激肽、缓激肽等系统失平衡,机体内 NO与 ET的平衡机制在 AP血循环紊乱的发病中也可能起着重要的作用。

因此,AP时如何增加内源性 NO产生以调节 ET/NO的相对稳定,从而改善胰腺炎后血循环紊乱,应成为进一步研究的一个方向。

参考文献

1 袁耀宗,徐家裕,吴裕亲,等.前列腺素 E_1对狗急性胰腺炎治疗作用.中华消化杂志,1993,13(3):152

2 任晓葆,何振平,冯华芳,等.急性出血坏死性胰腺炎大鼠血浆和胰腺组织内皮素的变化及其意义.第三军医大学学报,1997,19(6):509

3 Liu X, Nadano I, Yamaguchi H, *et al*. Protective effect of nitric oxide on development of acute pancreatitis in rats. Dig Dis and Sci, 1995, 40(10): 2162

4 Takaori K, Inoue K, Kogire M, *et al*. Effect of endothelin on microcircualtion of the pancreas. Life Sci, 1992, 51(8): 615

5 Liu X H, Kimura T, Ishikawa H, *et al*. Effects of endothelin-1 on the development of hemorrhagic pancreatitis in rats. Scand J Gastroenterol, 1995, 30(3): 276

6 张群华,蔡　端,吴树强,等.一氧化氮等炎性介质与急性坏死性胰腺炎的关系.中华实验外科杂志,1997,14(4):197

7 Sotoh A, Shimoseganawa J, Abe T, *et al*. The role of nitric oxide in the pancreatic blood flow response to caerulein. Pancreas, 1994, 9(5): 574

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

8 Werner J, Rivera J, Fernandez C, *et al*. Differing roles of nitric oxide in the pathogenesis of acute edematous versus necrotizing pancreatitis. Surgery, 1997, 12(1): 23

(收稿: 1998-09-18;修回: 1999-01-22)
(编辑 王 红)

Changes of plasma ET/NO ratio and their relationship with pancreatic blood flow during acute pancreatitis in rats

Ren Xiaobao, He Zhengping, Feng Huafang, Duan Hengchun (Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To study the changes of plasma ET/NO ratio and their relationship with pancreatic blood flow during acute pancreatitis. Methods: The rat model of acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis (AHNP) was established by injecting 5% sodium taurocholate into the bile-pancreatic duct. The changes of plasma endothelin (ET) nitric oxide (NO) were dynamically determined and their relationship to the changes of pancreatic blood flow (PBF) and pancreatic pathology was also observed. Results: In the early stage of AHNP, pancreatic ischemia occurred and plasma level of ET and NO was significantly increased. Consequently ET/NO ratio was progressively increased. Conclusion: The increase of ET and NO level and ET/NO ratio in the plasma might play a part in the pathological changes of AHNP in rats.

Key words pancreatitis/acute; endothelin; nitric oxide; rat

改良根管疗法治疗多根管后牙尖周炎

Treatment of apical periodonitis of multirooted molar by improved root-canel method

游古莲* 林景春 赵 瑛 (第三军医大学附属新桥医院口腔科) 重庆, 400037

治疗尖周炎最有效的方法是根管充填。而后牙根管数量多,弯曲小且分叉亦多,操作不方便,给根管扩大和充填带来困难。因此,笔者自1996年来,用替硝唑、头孢氨苄霉素糊剂行新根管疗法治疗多根管后牙尖周炎106例129牙,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 一般资料

男51例,女36例,年龄14~76岁,其中45~65岁者占43%。98牙均为恒磨牙,上下颌第一磨牙32牙和25牙,第二磨牙14牙和19牙,第三磨牙3牙和5牙。106例129牙1年后复诊87例98牙,复诊率为75.97%。

1.2 病因分类

龋病所致者54牙,牙冠隐裂15牙,牙尖斜折7牙,牙周牙髓综合征者19牙,残髓炎3牙。

1.3 药物配制

粉:替硝唑6份、头孢氨苄霉素4份;液:丁香油适量。将药粉按上述比例混匀,使用时加少许丁香油液调成糊状即可。

1.4 操作方法

常规开髓、清理和稍扩大根管,有牙龈窦道者须见消毒液从窦道口流出,吹干后,髓腔内封FC棉球,牙胶暂封。1周后,拆去封料,用光滑针蘸少许替硝唑头孢氨苄霉素向根管口内反复导入,再用细根充器尽量将糊剂压入根管内,至病人根尖部有轻微触压感即可,根管口处覆盖此糊剂1.5~2 mm,锌基银汞材料永久充填。术前及复诊时常规口内检查和X线片检查。

1.5 疗效判断标准

成功:无自觉症状,咀嚼功能完好,无叩痛及瘘管,X线示原有根尖病变消失或明显缩小。失败:反复出现肿痛或瘘管形成、牙折裂,X线片示根尖病变不消退或扩大。

2 结果

87例98牙1年复查结果为:成功91牙,占92.86%;失败7牙,其中2牙出现牙龈窦道;4牙牙冠折裂;1牙深牙周袋,松动II°,X线示尖周及根分叉处有稀疏区。失败率7.14%。

典型病例:刘某,女,62岁,退休工人,因右上后牙反复肿痛半年余于1996年1月4日来我科门诊就诊,查$\frac{6}{}$近中邻面深龋,叩(++),探(-),松动I°,牙龈瘘管,X线示根分叉稀疏区,根尖阴影3 mm,按前述程序治疗。1997年1月8日复诊患者无不适,咀嚼功能完好,叩(-),瘘管消失无松动,X线示根炎阴影消失。

3 讨论

3.1 新根管疗法原理

治愈尖周病的主要条件是清除和控制根管内感染。在根管

(下转350页)

* 游古莲,女,35岁,主管技师

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net