DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.06.005

高脂高蛋白饲料对胰腺细胞稳定性及自由基损伤的影响

陈跃钢 黄志强 杨可祯 王加文 尹国清 段恒春 李 昆（西南医院 肝胆外科）

提 要 用高脂高蛋白饲料和基础饲料分别喂养大鼠2月后，发现高脂高蛋白饲料的大鼠胰腺中FFA增多，LPO量及SOD活性增加，而cAMP量下降。提示高脂高蛋白饮食可使胰腺组织内FFA增多，自由基反应增强，进而使胰腺细胞受到一定程度损伤，细胞膜通透性增加，稳定性下降。当胰腺炎的致病因素存在时，这种潜在性损伤可促使胰腺炎的发生并加重其病变程度。这可能是高脂高蛋白饮食加重急性胰腺病变程度的重要因素。

关键词 胰腺；游离基类；脂肪酸类非酯化；过氧化脂质类；自由基；高脂高蛋白饲料

我们以往的实验结果提示，高脂高蛋白饲料可使胰腺内一些致伤性胰酶（胰蛋白酶，脂肪酶，磷脂酶A）适应性增多。当急性胰腺炎时，较多的胰酶被激活，可能是引起急性胰腺炎病变程度加重的因素之一[1]。但多数胰酶是以酶原存在于胰腺细胞内，为什么长期高脂高蛋白饮食后，胰腺内会有较多的胰酶被激活？有人认为胰腺炎病变的加重与胰腺细胞的稳定性有关[2]。本实验用高脂高蛋白饲料和基础饲料分别喂养大鼠后，观察大鼠血和胰腺内游离脂肪酸（FFA）、过氧化脂质（LPO）及胰腺内环磷酸腺苷（cAMP）和超氧化物歧化酶（SOD）的变化，旨在探讨长期高脂高蛋白饮食后，胰腺细胞的稳定性、FFA和氧自由基对胰腺细胞的损伤机理。

材 料 与 方 法

一、动物分组

Wistar大鼠，在仔鼠出生后4周断乳，按同窝分组原则分为4组：高脂高蛋白饲料组（H）；高脂高蛋白饲料＋诱发胰腺炎组（HP）；基础饲料组（B）；基础饲料＋诱发胰腺炎组（BP）。分别以不同的饲料喂养2个月。

二、饲料配制

以本校动物所的普通大鼠饲料为基础饲料，高脂高蛋白饲料则基本按此饲料的原有成分，从比例上调整后配制，再加入定量的猪油和麻油。2种饲料的热量分配见表1。

表1 2种饲料主要营养成分的热量分配*

	蛋白质 %总热量	脂肪 %总热量	碳水化合物 %总热量
基础饲料	18.65	11.86	69.49
高脂高蛋白饲料	29.82	31.67	38.51

*本饲料的成分含量是经重庆市卫生局防疫站检测。

三、大鼠胰腺炎模型

用结扎十二指肠腔的方法，使肠液、胆汁反流而诱发胰腺炎[3]。

四、生化指标

血和胰腺组织的FFA用铜盐比色法[4]测定；胰腺组织cAMP用上海第二医科大学的“cAMP放免测定药盒”在LKB-Rack-Bata-1217型液体闪烁计数仪（瑞典产）上测定；血和胰腺组织的LPO分别用Yagi[5]和Ohkawa[6]法在MPF—4型日立荧光分光光度计上测定；胰腺组织SOD采用化学发光法[7]在FG—200型发光光度计（上海植生所产）上测定。

五、统计

所有数据均用苑锡光医用数理统计程序[8]，在Apple-II型微机上统计处理。

结 果

一、胰腺炎后大鼠胰腺的病理变化

大鼠诱发急性胰腺炎的发生率为100%，但出血坏死性胰腺炎的发生率在HP组为84%(21/25)，

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

在BP组仅为8％（2/25）。此表明长期喂养高脂高蛋白饲料能明显加重大鼠实验性急性胰腺炎的病变程度。

二、大鼠血清中FFA和LPO的变化（见表2）

表2 各组大鼠血FFA和LPO的变化（$\bar{X}\pm SE$）

	HP	BP	H	B
FFA (μmol/L)	621.73±45.52 (n=12)*	834.75±75.53 (n=12)△	358.22±38.35 (n=9)	307.06±49.73 (n=7)
LPO (nmol/ml)	5.75±0.84 (n=12)*	5.39±0.36 (n=12)△	3.40±0.04 (n=12)	3.78±0.03 (n=12)

*与H组相差显著$P<0.05$.　　△与B组相差显著$P<0.05$.

在2组（HP和BP）诱发胰腺炎的大鼠血中FFA和LPO均明显高于两组（H和B）不诱发胰腺炎的大鼠，这是胰腺炎后的非特异性反应。而H组B组之间无明显差异，说明血清中FFA和LPO不能反应高脂高蛋白饲料对胰腺的影响。

三、胰腺组织内cAMP和FFA的变化见表3

四、胰腺组织内LPO和SOD的变化见表4

表3 各组大鼠胰腺FFA、cAMP含量的变化（$\bar{X}\pm SE$）

	HP	BP	H	B
FFA (μmol/L)	42.43±3.51 (n=12)	35.61±4.25 (n=14)	54.53±5.03 (n=11)*	38.39±3.97 (n=8)
cAMP (pmol/g)	62.2±6.2 (n=11)△	72.7±9.8 (n=12)*	115.6±7.9 (n=10)*	220.5±78.6 (n=8)

*与B组相差显著$P<0.05$.　　△与H组相差显著$P<0.05$.

表4 2种饲料大鼠胰腺LPO、SOD的变化（$\bar{X}\pm SE$）

	H	B	P值
LPO (nmol/g)	63.74±2.27 (n=12)	53.02±2.20 (n=12)	<0.05
SOD (u/g)	915.4±9.70 (n=12)	580.01±2.21 (n=12)	<0.05

讨　论

急性胰腺炎的基本病理特点是胰酶溢出细胞外被激活，使胰腺自身被消化。因此，胰酶的溢出与胰腺细胞的稳定性和完整性有密切关系。cAMP存在于细胞内，当细胞膜通透性增加或损伤时，cAMP可溢出细胞。故胰腺组织内cAMP量减少能灵敏反映胰腺细胞的损伤情况[9]。本实验用胰腺组织cAMP来观察胰腺细胞膜的通透性及损伤情况。结果表明，诱发胰腺炎后大鼠胰腺内cAMP量均明显下降。应注意的是，未诱发胰腺炎时，高脂高蛋白饲料喂养大鼠的胰腺内cAMP量就明显低于基础饲料喂养的大鼠，此提示高脂高蛋白饲料组大鼠的胰腺细胞已受到一定的损伤，其通透性增加，稳定性下降。

FFA是对胰腺细胞有害的毒性物质，它通过攻击胰腺细胞膜使细胞受损[8]。本实验结果表明，未诱发胰腺炎时，高脂高蛋白饲料大鼠胰腺组织内FFA量明显多于基础饲料大鼠，此说明高脂高蛋白饲料使大鼠胰腺内

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

FFA量增多，这可能损伤胰腺细胞膜。

近年来，自由基在急性胰腺炎发病过程中的作用已受到重视[11][12]。自由基能攻击细胞膜上磷脂的不饱和脂肪酸，使其过氧化而产生LPO，LPO的分解产物丙二醛可与细胞膜的膜蛋白、磷脂发生交联，使膜的脂质结构和构型改变而影响膜的通透性和稳定性。自由基还可与细胞膜上Na^+-K^+ATP酶结合，使其失活而影响细胞的能量代谢和膜通透性[13]。自由基还能激活磷脂酶A，该酶水解细胞膜上的卵磷脂后，既可直接损伤细胞膜，又能产生溶血卵磷脂和FFA，同时使细胞膜的脂质过氧化反应增强，这些均使细胞进一步受损伤[14]。本实验结果表明，在未诱发胰腺炎的高脂高蛋白饲料大鼠的胰腺组织内，LPO和SOD均比基础饲料大鼠明显升高（SOD是底物诱导酶，其在组织内活性升高表明该组织内自由基反应活跃）。提示高脂高蛋白饮食可使胰腺内自由基反应增强，胰腺细胞膜受损伤。

综上所述，高脂高蛋白饮食能使胰腺内FFA量增多，从而引起胰腺内自由基反应增强，LPO产生增加，使胰腺细胞受到一定程度损伤，细胞膜通透性增加，完整性和稳定性下降。然而这些损伤不能通过血中淀粉酶、脂肪酶和FFA及LPO反应出来。而当胰腺炎的致病因素（胆道疾病，饮酒等）存在时，这种潜在的损伤可促使急性胰腺炎的发生，胰酶的大量溢出被激活，从而加重其病变程度。这可能是高脂高蛋白饮食加重急性胰腺炎病变程度的重要因素。

参考文献

1. 陈跃钢，等。高脂高蛋白饲料对大鼠实验性急性胰腺炎的影响。中日难治性胰腺疾病学术交流会资料汇编 1988；4

2. Haig THB. Experimental pancreatitis intensified by a high fat diet. Surg Gynec Obsetet 1970; 131:914

4. 上海医学化验所主编。临床生化检验（上册）。上海科学技术出版社，1982:169

3. Nevalainen TJ, et al. Acute pancreatitis caused by losed duodenal loop in the rat. Scand J Gastroent 1975; 10:521～527

5. Yagi K. Assay for blood plasma or serum methods. Enzymology 1984; 105:328

6. Ohkawa H, et al. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anyl Biochem 1979; 95:351

7. 李益新，等。超氧化物歧化酶测定的新方法—化学发光法。生物化学生物物理进展 1983；2:59

8. 苑锡光。以电子计算机为工具的-医用统计分析。四川科学技术出版社，1985:80～110

9. 顾 明，等。犬急性出血坏死性胰腺炎早期血浆、胰、肺组织环核苷酸的变化。第二军医大学学报 1986；7:25

10. Schmidet H, et al. Fat necrosis-a cause of pancreatic parenchymal necrosis? Digestion 1978; 17:84

11. Sanfey H, et al. The pathogenesis of acut pancreatitis. Ann Surg 1985; 201:633

12. Guice KS, et al. Superoxide dismutase and catalase:a possible role in established pancreatitis. Am J Surg 1986; 151:163

13. Demppoulos HB, et al. The free radical pathology and microcirculation in the major central nervous system disorders. Acta Physiol Scand 1980; suppl 492:91

14. Del Maestro RB, et al. Free radicals as mediators of tissue injury. Acta physiol Scand 1980; suppl 429:43

（收稿：1989.7.17修回：1989.8.21）

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

Effects of High Fat High Protein Diet on the Stability of Pancreatic Acinar Cells and the Injury of the Free Radicals

Chen Yuegang, et al. (Department of Hepatic-Biliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical College)

Weaning rats are fed 8 w with high fat high protein diet (HFHPd) and balanced diet (Bd) respectively. Acute pancreatitis is induced. The rat pancreases are examined. The serum and pancreatic tissue free fatty acid(FFA) ,lipid-peroxide (LPO), superoxide dismutase (SOD) and cAMP are measured. the results are: acute experimental pancreatitis in rats fed on HFHPd is much more severe than those fed on Bd; serum FFA and LPO increase markedly after experimental pancreatitis is induced; before the inducing of pancreatitis the HFHPd can cause an increase of FFA, LPO and SOD in the pancreatic tissue of the rats, but a decrease in cAMP. These findings suggest that the HFHPd can cause an increase of FFA in rat pancreatic tissues and a reaction of free radicals, which may partially damage the pancreatic acinar cells resulting in an increase in permeability of cell membrane and a decrease in stability of the pancreatic acinar cells. The potential damage may induce and worsen the pancreatitis when some pathogenic factors of pancreatitis exists (such as obstruction of biliary tract). It is possible that the HFHPd is one of the important factors to aggravate the acute pancreatitis.

Key words: Pancreas/UL; Free radicals; Fatty acids, non-esterified; Lipid-peroxide; Free radicals; High fat high protein diet

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