



# 白藜芦醇治疗急性坏死性胰腺炎的实验研究

冯浩, 刘瑞文, 陈健<sup>(通讯作者)</sup> (昆山市第一人民医院肝胆外科, 江苏苏州 215300)

**摘要:** 目的 探讨白藜芦醇对大鼠急性坏死性胰腺炎炎症介质的作用。方法 制作急性坏死性胰腺炎模型, 使用白藜芦醇进行干预治疗, 于造模后12h开腹, 采用放射免疫分析测定技术检测血清肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、白细胞介素(IL)-6和白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 。结果 白藜芦醇治疗组胰腺炎组织损伤与急性坏死性胰腺炎模型组相比明显减轻, 血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 的水平明显下降, 死亡率降低( $P<0.05$ )。结论 白藜芦醇可有效通过抑制TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 的产生减轻胰腺炎, 降低急性坏死性胰腺炎大鼠死亡率。

**关键词:** 胰腺炎 白藜芦醇 肿瘤坏死因子 白细胞介素

**中图分类号:** R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187(2016)11-069-02

急性坏死性胰腺炎(Acute Pancreatitis, AP)是临床常见的急腹症之一, 具有发病急、病情重、变化复杂等特点, 死亡率约占发病人数的10%左右<sup>[1]</sup>。TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 是引起组织细胞损伤的重要细胞因子, 两者均参与急性胰腺炎的病理过程。白藜芦醇具有抗炎、抗血小板聚集等多种生物活性和药理作用, 用于急性坏死性胰腺炎治疗的报道少见。本文采用放射免疫分析测定白藜芦醇治疗急性坏死性胰腺炎后其血清TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 浓度, 从而对白藜芦醇治疗急性坏死性胰腺炎效果及机理进行初步探讨。

## 1 材料与方

### 1.1 实验动物及主要试剂和仪器

无特殊病原菌(SPF级)SD大鼠由南通大学实验动物中心提供; 白藜芦醇购置西安奥塞斯公司生物工程有限公司; 蛙皮素购自美国Sigma公司。血清淀粉酶, TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 检测试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

### 1.2 动物分组、模型制备步骤

SD大鼠50只, 雌雄不限, 体重250g-300g。将动物随机分为五组, 每组10只, 试验前禁食不禁水12h。(1)空白对照组(control): 3%戊巴比妥(1ml/kg)大鼠腹腔内注射麻醉。然后开腹, 轻轻翻动肠管, 缝合切口, 禁食不禁水。

(2)急性坏死性胰腺炎组(AEP): 3%戊巴比妥(1ml/kg)大鼠腹腔内注射麻醉。于大鼠后肢根部皮下注射蛙皮素15 $\mu$ g/只, 每小时1次, 共4次。然后开腹, 行小肠穿孔给予生理盐水0.5ml/100g。缝合切口, 禁食不禁水。(3)急性坏死性胰腺炎治疗组(AEPtread): 白藜芦醇治疗组1(5mg/kg)、白藜芦醇治疗组2(10mg/kg)、白藜芦醇治疗组3(20mg/kg)。各组大鼠分别于术后3、6、12h分别取静脉血2ml, 测定TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ , 处死大鼠, 经原切口入腹, 取胰腺组织, 用10%福尔马林固定, 常规石蜡包埋, 切片HE染色, 光镜观察胰腺组织病理改变。

### 二指肠。

### 1.3 检测血清TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$

各组大鼠活体状态下取静脉血2ml, 分离血清, -20 $^{\circ}$ C保存, 测定前集中复溶, 应用放射免疫分析对血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 进行双管测定。

### 1.4 统计学处理

所有实验结果采用SPSS11.0进行统计分析, 采用方差分析,  $P<0.05$ 差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠存活率比较

空白对照组存活率为100%, 急性坏死性胰腺炎组术后12h存活率为70%, 白藜芦醇治疗组1术后12h存活率为90%, 白藜芦醇治疗组2和3术后12h存活率均为100%。

### 2.2 TNF- $\alpha$ 水平的测定

术后3、6、12h时段急性坏死性胰腺炎组TNF- $\alpha$ 较空白

对照组显著升高( $P<0.01$ ), 但应用白藜芦醇治疗后, 治疗组1、2、3与急性坏死性胰腺炎组比较TNF- $\alpha$ 水平显著降低(表1)。

表1: 各组大鼠血清TNF- $\alpha$ 水平(pg,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	3h	6h	12h
空白对照组	6.37	6.79	6.93
急性坏死性胰腺炎组	12.37	15.73	17.31
白藜芦醇治疗组1	9.62 <sup>**</sup> , $\Delta$	12.69 <sup>**</sup> , $\Delta$	13.36 <sup>**</sup> , $\Delta$
白藜芦醇治疗组2	8.71 <sup>**</sup> , $\Delta$	10.71 <sup>**</sup> , $\Delta$	11.93 <sup>**</sup> , $\Delta$
白藜芦醇治疗组3	7.13 <sup>**</sup> , $\Delta$	8.17 <sup>**</sup> , $\Delta$	9.31 <sup>**</sup> , $\Delta$

与空白对照组相比, <sup>\*\*</sup> $P<0.01$ ; 与急性坏死性胰腺炎组相比,  $\Delta P<0.01$

### 2.3 IL-6水平的测定

术后3、6、12h时段急性坏死性胰腺炎组IL-6较空白对照组显著升高( $P<0.01$ ), 但应用白藜芦醇治疗后, 治疗组1、2、3与急性坏死性胰腺炎组比较IL-6水平显著降低。

表2: 各组大鼠血清IL-6水平(pg,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	3h	6h	12h
空白对照组	60.39	62.69	61.93
急性坏死性胰腺炎组	213.17	337.76	473.39
白藜芦醇治疗组1	173.69 <sup>**</sup> , $\Delta$	287.39 <sup>**</sup> , $\Delta$	371.63 <sup>**</sup> , $\Delta$
白藜芦醇治疗组2	117.61 <sup>**</sup> , $\Delta$	193.79 <sup>**</sup> , $\Delta$	237.78 <sup>**</sup> , $\Delta$
白藜芦醇治疗组3	79.73 <sup>**</sup> , $\Delta$	89.17 <sup>**</sup> , $\Delta$	137.33 <sup>**</sup> , $\Delta$

与空白对照组相比, <sup>\*\*</sup> $P<0.01$ ; 与急性坏死性胰腺炎组相比,  $\Delta P<0.01$

### 2.4 IL-1 $\beta$ 水平的测定

术后3、6、12h时段急性坏死性胰腺炎组IL-6较空白对照组显著升高( $P<0.01$ ), 但应用白藜芦醇治疗后, 治疗组1、2、3与急性坏死性胰腺炎组比较IL-6水平显著降低。

表3: 各组大鼠血清IL-1 $\beta$ 水平(pg,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	3h	6h	12h
空白对照组	11.73	11.31	11.73
急性坏死性胰腺炎组	23.17	27.76	31.93
白藜芦醇治疗组1	17.39 <sup>**</sup> , $\Delta$	21.37 <sup>**</sup> , $\Delta$	27.61 <sup>**</sup> , $\Delta$
白藜芦醇治疗组2	15.63 <sup>**</sup> , $\Delta$	17.79 <sup>**</sup> , $\Delta$	19.38 <sup>**</sup> , $\Delta$
白藜芦醇治疗组3	11.91 <sup>**</sup> , $\Delta$	13.37 <sup>**</sup> , $\Delta$	15.31 <sup>**</sup> , $\Delta$

与空白对照组相比, <sup>\*\*</sup> $P<0.01$ ; 与急性坏死性胰腺炎组相比,  $\Delta P<0.01$

## 3 讨论

急性坏死性胰腺炎是临床常见急腹症之一。近年来公认的观点为: 在急性坏死性胰腺炎发病早期即存在炎症细胞因子过度释放和过度的全身炎症反应<sup>[2]</sup>。但有关急性坏死性胰腺炎的发病机制尚未完全清楚, 得到了很多学者的关注<sup>[3]</sup>。

本研究采用周新泽等<sup>[4]</sup>报道的方法, 大鼠后肢根部皮下注射蛙皮素制备急性坏死性胰腺炎动物模型, 采用蛙皮素



15μg/只,每小时1次,共4次的量制模,结果显示实验组大鼠血清淀粉酶较空白对照组显著增高,提示急性坏死性胰腺炎组模型成功制备。

TNF-α、IL-6和IL-1β是急性坏死性胰腺炎重要的炎症介质,由大鼠胰腺腺泡细胞产生,在急性胰腺炎的发生发展及其全身并发症过程中起着重要作用,被作为急性胰腺炎发病后反映其严重程度的重要的早期指标<sup>[5]</sup>。TNF-α主要由单核巨噬细胞产生,是具有多项生物学效应的细胞因子(CF),在亚细胞水平激发一系列反应,诱导自由基形成,促进内皮细胞通透性增加,加剧氧化损伤组织。其次,TNF-α在急性坏死性胰腺炎即升高,其表达水平与急性坏死性胰腺炎严重程度呈正相关,高浓度的TNF-α与其受体结合后,该细胞可被诱导产生TNF-α自身及IL-1、IL-6、IL-10等细胞因子,易引起病理性损伤<sup>[6]</sup>。

IL-6在血中出现早,易检测,具有较高灵敏度和特异性,是判断急性坏死性胰腺炎预后的重要指标。其主要由单核细胞在IL-1、TNF-α等诱导下产生,特征是诱导和调节急性期蛋白的产生。研究发现,急性坏死性胰腺炎时胰腺腺泡周围的肌成纤维细胞分泌大量的IL-6,导致血清IL-6水平明显升高,其水平与胰腺炎的严重程度和并发症的发生率呈正相关<sup>[7]</sup>。

IL-1β作为全身炎症反应综合征的启动因子,发挥着与TNF-α相类似的作用。在急性胰腺炎发生发展过程中往往伴随着IL-1β高水平表达,在动物实验中可高达120倍,提示与急性胰腺炎病变的发展有关。

白藜芦醇是植物界分布较广的羟基二苯乙烯化合物,具有抗炎、抗氧化、抗血小板凝聚等重要的生物活性作用。白藜芦醇能够明显抑制巨噬细胞释放TNF-α,明显减少TNF-α所致的炎症反应,减轻对组织的损伤。同时,白藜芦醇可以抑制巨噬细胞激活,减少IL-6mRNA和IL-1βmRNA表达,从而使血清和组织中的促炎细胞因子IL-6和IL-1β的含量减少,从根本上阻断炎症级联反应。

本研究显示,急性坏死性胰腺炎组大鼠血清TNF-α、IL-6和IL-1β表达水平较空白对照组明显增高,从而反映了TNF-α、IL-6和IL-1β作为炎症因子,确实参与急性胰腺炎的病理生理过程,与急性胰腺炎发病有密切关系。白藜芦醇治疗组血清TNF-α、IL-6和IL-1β均明显下降,提示白藜芦醇治疗后急性坏死性胰腺炎胰腺组织病理损伤明显减轻,说明白藜芦醇对急性胰腺炎有治疗作用。由上推断,白藜芦醇可能通过降低TNF-α、IL-6和IL-1等炎症因子的产生,从而阻断了炎症介质的级联反应,抑制了炎症反应,从而减轻了胰腺损伤。

#### 参考文献

- [1] Zhang XP, Li ZF, Liu XG, et al. Effects of emodin and baicalein on rats with severe acute pancreatitis[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(14): 2095-2100.
- [2] Li ZF, Xia XM, Huang C, et al. Emodin and baicalein inhibit pancreatic stromal derived factor-1 expression in rats with acute pancreatitis[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2009, 8(2): 201-208.
- [3] Raraty MG, Connor S, Criddle DN, et al. Acute pancreatitis and organ failure: pathophysiology, natural history, and management strategies[J]. Curr Gastroenterol Rep, 2004, 6(2): 99-103.
- [4] 周新泽,曹勇,章文毅,等. 大黄素诱导细胞凋亡对不同急性胰腺炎腺泡死亡方式的影响[J]. 中华肝胆外科杂志, 2009, 15(7):520-522.
- [5] 吕冠华,王长洪,王立新,等. 大黄及其复方对重症急性胰腺炎大鼠促炎细胞因子调节作用的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2009, 16(4):265-267.
- [6] Makhlaja R and Kingsnorth AN. Cytokine storm in acute pancreatitis[J]. J Hepatobiliary Pancreat Surg, 2002; 9(4): 401-10.
- [7] 黄建勇,马清涌,孙青. 白藜芦醇治疗重症急性胰腺炎的实验研究. 西安交通大学学报(医学版), 2005, 26(2):163-165.

(上接第67页)

的常用术式。相关研究表明,两种术式的疗效比较接近,但其中后者的前列腺腺体切除效果相对更为彻底,手术出血量相对更少<sup>[4-5]</sup>。本研究可见,两组术后6月时的QOL、IPSS、Qmax及PVR等指标均较术前有明显的改善(P<0.05),但组间差异不显著(P>0.05),这提示两种术式均可获良好的疗效。而其中观察组的手术出血量显著较少,尿管留置时间、住院天数显著较短,切除组织量显著较高(P<0.05),与蔡振等<sup>[6]</sup>学者的研究结果基本保持一致。

由此可见,前列腺增生患者行经尿道双极等离子前列腺电切术与剜除术治疗的疗效相当,但其中经尿道双极等离子前列腺剜除术的应用价值相对更高,值得广泛推广。

#### 参考文献

- [1] 秦晓平,黄君,陈奇彪等. 广州市4所高校50岁以上男性

教工前列腺增生的现况调查[J]. 南昌大学学报(医学版), 2016, 56(3):79-81.

- [2] 朱凌峰,谭建明. 经尿道双极等离子前列腺剜除术治疗体积>60ml前列腺增生的疗效分析[J]. 中国微创外科杂志, 2016, 16(5):394-398.
- [3] 陈斌,郑嘉欣,张开颜等. 经尿道前列腺剜除术与电切术治疗不同质量良性前列腺增生的前瞻性研究[J]. 中华泌尿外科杂志, 2013, 34(8):608-612.
- [4] 凌锋,郑少波,李虎林等. 三种手术方法治疗前列腺增生症的疗效研究[J]. 兰州大学学报(医学版), 2015, 41(4):27-31.
- [5] 罗春峰. 经尿道等离子电切术和剜除术治疗前列腺增生的临床疗效对比[J]. 包头医学院学报, 2016, 32(6):91-92.
- [6] 蔡振,周华设. 经尿道双极电切术与等离子剜除术治疗良性前列腺增生的效果比较[J]. 医学综述, 2016, 22(13):2693-2696.

(上接第68页)

具有较为广泛的应用,同样在股骨近端粉碎性骨折、多段骨折、近端病理性骨折等均具有良好的效果<sup>[3]</sup>。

本研究显示,锁定钢板组患者同PFNA组疗效相当,但PFNA组的完全负重、骨折愈合情况同锁定钢板组相比较优势更为显著。因此,值得推广应用。

#### 结语:

综上所述,股骨近端锁定钢板及PFNA治疗股骨近端骨折均能得到较为良好的疗效,PFNA手术方式更能够尽早实现早

期负重以及骨折愈合,具有推广应用的价值。

#### 参考文献

- [1] 吴昊,徐南伟. 股骨近端锁定钢板与PFNA治疗股骨近端骨折的对比研究[J]. 实用临床医药杂志, 2012, 11(05):36-40.
- [2] 余颖锋,谢文伟,姚汉刚,余占洪. 股骨近端锁定解剖钢板和PFNA治疗老年股骨粗隆间粉碎性骨折的疗效比较[J]. 中华关节外科杂志(电子版), 2013, 22(04):477-480.
- [3] 李捷,黄必留,潘磊. 股骨近端锁定钢板与PFNA治疗股骨转子间骨折临床研究[J]. 中外医疗, 2014, 25(22):82-84.