

doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2013.07.007

奥曲肽与丹参多酚酸盐合用对急性胰腺炎大鼠 氧自由基影响的研究

王宏志¹, 何仁胜¹, 方春华¹, 胡亚华¹, 刘俊²

¹黄石市中心医院 消化内科,湖北 黄石 435000;²华中科技大学同济医学院附属协和医院 消化内科,湖北 武汉 430022

摘要:[目的]探讨奥曲肽与丹参多酚酸盐合用对急性胰腺炎(AP)大鼠氧自由基的影响。[方法]SD 大鼠 75 只,随机分为 5 组,每组 15 只。通过胰胆管逆行性注射牛磺胆酸钠制成 AP 大鼠模型。分别观察各实验组血清超氧化歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)的变化。[结果]①AP 组与假手术组相比,血清 SOD 水平明显降低($P<0.05$),血清 MDA 水平明显升高($P<0.05$)。②奥曲肽治疗组、丹参多酚酸盐治疗组及奥曲肽、丹参多酚酸盐合用组与 AP 组相比,血清 SOD 水平明显升高($P<0.05$),血清 MDA 水平明显降低($P<0.05$)。③奥曲肽、丹参多酚酸盐合用组与奥曲肽、丹参多酚酸盐单用组相比,血清 SOD 水平明显升高($P<0.05$),血清 MDA 水平明显降低($P<0.05$)。[结论]奥曲肽、丹参多酚酸盐通过升高 SOD(保护性因素)、降低 MDA(损伤性因素),对 AP 有明显治疗作用,且奥曲肽、丹参多酚酸盐合用效果更显著。

关键词:急性胰腺炎; 氧自由基; 超氧化物歧化酶; 丙二醛; 奥曲肽; 丹参多酚酸盐

中图分类号:R 576

文献标志码:A

文章编号:1671-038X(2013)07-0359-04

Effect of Octreotide combined with Salvianolate on oxygen free radical in rats with acute pancreatitis

WANG Hong-zhi¹, HE Ren-sheng¹, FANG Chun-hua¹, HU Ya-hua¹, LIU Jun²

⁽¹⁾Department of Gastroenterology, Huangshi Central Hospital, Huangshi 435000, China

⁽²⁾Department of Gastroenterology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

收稿日期:2013-03-05

作者简介:王宏志,男,医学硕士,主治医师,从事消化内科临床与科研工作

便宜等优点,已成为治疗胃病的重要药物。本研究中患者反酸、烧心症状得到明显改善,尤其是 D 组症状体征改善最为明显,说明三药联合应用在 GU 治疗中的重要作用所在。

本研究结果显示:单用康复新液对以腹痛、腹胀为主的 GU 是有效的,适合早期中型的 GU。同时康复新液不仅可用于 GU 的治疗,还适用于合并腹泻与便秘交替的 GU 患者;联合胶体果胶铋治疗腹痛、腹胀更有效,适合中度 GU 患者;再结合奥美拉唑对 GU 最有效,特别适合较重的 GU,但联合用药后要注意奥美拉唑的不良反应。本研究结果是初步的,有待于今后增加样本数、延长疗程、设置多中心、双盲对照等进一步证实上述结果。

参考文献

[1] 张军,张振玉,陈震球,等.以埃索美拉唑为基础的

三联疗法治疗幽门螺杆菌阳性十二指肠球部溃疡的疗效分析[J].临床消化病杂志,2009,21(3):183-185.

[2] 陆再英,钟南山.内科学[M].7版.北京:人民卫生出版社,2008:394-394.

[3] TARNAWSKI A, BRZOZOWSKI T, SARFEHI J, et al. Prostaglandin protection of human isolated gastric glands against indomethacin and ethanol injury. Evidence for direct cellular action of prostaglandin [J]. J Clin Invest. 1988, 81:1081-1089.

[4] 李菁,李雪梅,洪阳.康复新液联合三联疗法治疗消化性溃疡 36 例[J].华西药学杂志,2008,23(1):122-122.

[5] 黎莉,杨卫文,杨景林.康复新口服液联合三联疗法治疗消化性溃疡的疗效观察[J].华西药学杂志,2006,1(3):309-310.

Abstract: [Objective] To investigate the effects of Octreotide combined with Salvianolate on oxygen free radical in rats with acute pancreatitis (AP). [Methods] Seventy-five SD rats were divided into 5 groups, fifteen in each group. Rat models of AP were made by retrogressive injection of sodium taurocholate through pancreas biliferous ducts. Levels of serum superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in each experimental group were observed. [Results] ① Compared with the sham-operated group, the serum SOD levels of AP group were significantly lower ($P<0.05$) and the MDA levels were elevated obviously ($P<0.05$). ② Compared with the AP group, serum SOD levels increased significantly in Octreotide-treated group, Salvianolate-treated group and Octreotide combining Salvianolate group ($P<0.05$), while MDA levels were decreased ($P<0.05$). ③ Combination of Octreotide and Salvianolate group showed a higher serum SOD levels than Octreotide-treated group or Salvianolate-treated group ($P<0.05$) and a lower MDA levels ($P<0.05$). [Conclusion] Octreotide combining with Salvianolate has a therapeutic effect on AP by increasing protective factor SOD and decreasing injury factor MDA. Furthermore, the effect is more evident when Octreotide is combined with Salvianolate.

Key words: Acute pancreatitis; oxygen free radicals; superoxide dismutase; malondialdehyde; octreotide; salvianolate

氧自由基(OFR)与急性胰腺炎(Acute pancreatitis, AP)的发病以及胰腺炎时胰外脏器的损伤均有密切关系, OFR 所导致的胰腺损伤是各种病因所致 AP 的共同发病环节。本研究通过大鼠 AP 模型, 经尾静脉注射奥曲肽、丹参多酚酸盐, 动态观察大鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)水平、病理改变等, 以判定奥曲肽、丹参多酚酸盐对 AP 治疗的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 SD 雄性大鼠 90 只(由华中科技大学同济医学院动物中心提供), 体重 200~300 g, 在 22℃ 恒温房内饲养, 标准颗粒混合饲料(由华中科技大学同济医学院动物中心提供)喂养。实验鼠随机分为 5 组(每组 18 只): A 组为假手术组; AP 组为模型组; C 组为奥曲肽治疗组; D 组为丹参多酚酸盐治疗组; E 组为奥曲肽与丹参多酚酸盐合用治疗组。每组又随机分为 3 h、6 h、12 h 组(每小组 6 只)。

1.1.2 药物与试剂 牛磺胆酸钠(美国 Sigma 公司), 奥曲肽(吉林省一心制药有限公司), 丹参多酚酸盐(上海绿谷制药有限公司), SOD、MDA 试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 方法

1.2.1 AP 模型制备 参照 Aho 等^[1]的方法制备急性出血坏死型胰腺炎(acute hemorrhagic and necrotizing pancreatitis, AHNP)模型。术前 12 h 禁食, 自由饮水。采用 1% 戊巴比妥钠(0.4 ml/100 g)腹腔注射麻醉, 上腹正中切口进入腹腔, 显露胰胆

管, 以血管夹夹住近肝门处胰胆管后, 用 4 号头皮静脉针于十二指肠乳头附近经十二指肠壁穿刺, 逆行插入胰胆管, 在十二指肠乳头处用手指捏闭胆总管末端。用 5% 牛磺胆酸钠溶液(0.245 ml/min)注入胰胆管, 剂量为 1 ml/kg。2 min 后松开血管夹, 关腹后于背部皮下注射 0.9% 氯化钠(20 ml/kg), 以补充血容量不足。

1.2.2 给药方法 A 组开腹后不进行插管, 仅翻动胰腺。其余步骤同上。AP 模型制备成功后 20 min, 经尾静脉注射给药, C 组给予奥曲肽(皮下注射 30 μg/kg, 浓度 0.2 mg/ml)、D 组给予丹参多酚酸盐(100 mg/kg, 浓度为 20 mg/ml)。E 组皮下注射奥曲肽 10 min 后再注射丹参多酚酸盐, 剂量同上。

1.2.3 标本采集 每组大鼠按不同的时间段于术后 3、6、12 h 深麻醉后门静脉取血, 装于试管内, 37℃ 水浴 20 min, 随即 4℃ 离心 15 min(3 000 r/min), 取上清悬液分装于 2 只 EP 管中, -20℃ 冻存。实验结束后, 将大鼠剖腹, 肉眼观察腹水及胰腺炎症轻重情况。

1.2.4 检测指标及方法 SOD 测定采用黄嘌呤氧化酶法, MDA 测定采用硫代巴比妥酸法(TBA 法)试剂盒。

1.3 统计学处理方法

应用 SPSS13.0 统计软件处理分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验和方差分析。

2 结果

2.1 AP 时的胰腺病理形态及血清 SOD、MDA 的变化

胰腺观察:A组无腹水;AP组各时段均有红色或暗红色的混浊腹水,腹水量均超过7 ml,且腹水混浊程度和量随时间延长而加重。胰腺大体观察:A组无明显改变;AP组胰腺充血水肿,可见点片状出血、黑色坏死灶,病理改变随时间延长而加重。胰腺光镜观察:A组无明显改变;AP组胰腺间质水肿,红细胞漏出,腺泡细胞水肿,灶性坏死,部分腺导管扩张,点片状出血坏死,炎细胞浸润。

2.2 奥曲肽、丹参多酚酸盐及两药合用对AP大鼠胰腺病理形态及血清SOD、MDA的影响

腹水:AP组为暗红色混浊腹水,量均在7 ml以上;各治疗组腹水量明显减少,量4 ml左右,混浊程度明显低于AP组。胰腺大体观察:AP组胰腺均充血水肿,可见点片状出血坏死及深褐黑色坏死灶;各治疗组病理改变明显减轻。

各组与同时点AP组相比,血清SOD水平均明显升高($P<0.05$),血清MDA水平均明显降低($P<0.05$)。奥曲肽治疗组与丹参多酚酸盐治疗组同时点相比,血清SOD、MDA水平无明显改变($P>0.05$)。奥曲肽、丹参多酚酸盐合用组与奥曲肽治疗组、丹参多酚酸盐治疗组同时点相比,血清SOD水平均明显升高($P<0.05$),血清MDA水平均明显降低($P<0.05$),见表1。

3 讨论

AP的病因复杂,发病机制尚不完全清楚。目前已知胰酶、炎性递质、胰腺微循环障碍、内毒素、细胞凋亡等因素参与了AP的发生、发展。其中,OFR参与了AP及并发肝、肾、肺损害的病理过程。

氧化应激(oxidative stress)是在机体内活性氧生成和抗氧化物质失衡状态下,直接或间接通过信号转导通路引起细胞的损伤^[2]。研究表明,氧化应激在AP的发病中发挥重要的作用,还与胰腺炎时胰腺外器官的损伤有密切的联系^[3]。氧化应激是许多疾病的病因,同时又是许多疾病发生、发

展的结果。1991年范学良等研究表明,多种原因诱发的AP均有OFR的产生。OFR的产生主要发生于胰腺缺血后。Urunuela等^[4]通过结扎胰管(PDO)诱导急性大鼠胰腺炎模型,并用二氢若丹(dihydrorhodamine-123)荧光染色检测胰腺细胞内OFR,发现大鼠AP在6 h、12 h OFR显著升高,表明AP早期即产生大量OFR。

OFR在AP组织的损伤过程中起着重要的介导作用,OFR所致胰腺损伤是各种病因所致胰腺炎的共同发病环节^[5]。OFR增多引起的组织损伤可能与以下因素有关:① OFR与膜内多价不饱和脂肪酸结合,形成多种脂质过氧化物(LPO),导致细胞膜多价不饱和脂肪酸与蛋白质比例失调,影响膜通透性^[6],从而引起线粒体和溶酶体被膜破坏,造成细胞死亡^[7]。还可破坏细胞质Ca²⁺内环境的稳定,引起细胞内Ca²⁺超载^[8]。② 共价键结合性损伤:OFR作用于含巯基的氨基酸,使蛋白质变性和失活,作用于辅基使辅酶活性下降^[6]。③ 激活CD95受体,诱导细胞凋亡^[9]。

SOD活力的高低间接反映了机体清除OFR的能力。MDA的量常常可反映机体内LPO的程度,因此,MDA的高低可以间接反映机体细胞受到OFR攻击的严重程度。

奥曲肽(Octetide)属于人工合成的八肽化合物,可以抑制生长激素、胃肠道和胰内分泌激素的病理性分泌,抑制胆囊排空,降低胃肠蠕动,减少内脏血流量及降低门静脉压力,减少胰酶分泌,对胰腺实质细胞膜有直接保护作用。奥曲肽可以抑制中性粒细胞的浸润,减轻再灌注诱导的氧化损伤^[10-11];能有效地纠正SAP患者的血液流变学异常,改善微循环,从而减少了胰腺坏死的危险^[12];能明显提高SOD活性,减轻组织炎性反应,对再灌注起到保护作用^[13]。

表1 各组各时段血清SOD、MDA水平的比较

组别	n	SOD/(U·ml ⁻¹)			MDA/(nmol·ml ⁻¹)		
		3 h	6 h	12 h	3 h	6 h	12 h
A组	18	357.21±13.23 ¹⁾	369.32±16.54 ¹⁾	361.46±18.23 ¹⁾	4.65±0.32 ¹⁾	4.75±0.26 ¹⁾	4.61±0.45 ¹⁾
AP组	18	247.35±17.42	206.21±14.35	178.45±12.25	7.68±0.57	9.37±0.32	11.32±0.35
C组	18	298.43±13.51 ¹⁾	279.35±14.12 ¹⁾	248.43±13.32 ¹⁾	6.27±0.42 ¹⁾	6.82±0.63 ¹⁾	7.71±0.54 ¹⁾
D组	18	306.25±12.31	286.35±13.36	251.26±12.16	6.12±0.35	6.67±0.26	7.72±0.51
E组	15	369.27±14.24 ²⁾	328.36±13.63 ²⁾	298.32±13.32 ²⁾	4.31±0.35 ²⁾	5.12±0.41 ²⁾	6.23±0.22 ²⁾

与同时点B组相比,¹⁾ $P<0.05$;分别与同时点C、D组相比,²⁾ $P<0.05$ 。

丹参多酚酸盐是从单味中药丹参中提取的以丹参乙酸镁为主要成分的丹参多酚酸盐类化合物。与传统中药丹参相比,具有有效成分明确、质量容易监控、毒副作用小、疗效稳定等优点。可通过多个作用靶点改善实验动物的血液黏、浓、聚、滞的状态,保护血管内皮细胞功能,改善血液循环^[14]。丹参多酚酸盐通过多种途径、多个机制来发挥抗血栓、促血管生成、抑制血小板聚集和活化的作用^[15]。丹参能清除 OFR,其成分中的丹参酮类、丹参素、丹酚酸类化合物,原儿茶酚、咖啡酸及迷迭香均具有很强的抗氧化作用^[16]。丹参多酚酸盐还具有钙拮抗作用,通过其钙拮抗作用减轻细胞损伤^[17]。

本研究表明,与 AP 组相比,奥曲肽、丹参多酚酸盐二者单用与合用均可升高各组 SOD 水平及降低各组 MDA 水平,并明显减轻 AP 所导致的病理损害。而奥曲肽、丹参多酚酸盐二者合用与二者单用相比差异具有统计学意义的,说明奥曲肽与丹参多酚酸盐合用,可以有效提高机体对 OFR 的清除能力,减轻胰腺组织的损伤,延长 AP 大鼠的生存时间。结果显示,奥曲肽与丹参多酚酸盐合用具有协同作用,比单独使用奥曲肽或丹参多酚酸盐效果更显著。

参考文献

[1] AHO H J, NE VALAINEN T J, HINDBERG R L, et al. Experimental pancreatitis in the rat, the role of phospholipase A in sodium taurocholate-induced acute hemorrhagic pancreatitis[J]. Scand J Gastroenterol, 1980, 15: 1027—10.

[2] DRYDEN G W J R, DEACIUC I, ARTEE G, et al. Clinical implications of oxidative stress and antioxidant therapy[J]. Curr Gastroenterol Rep, 2005, 7: 308—316.

[3] ESREFOGLU M, GUL M, ATES B, et al. Antioxidative effect of melatonin, ascorbic acid and N-acetylcysteine on caerulein-induced pancreatitis and associated liver injury in rats[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12: 259—264.

[4] URUÑUELA A, SEVILLANO S, de la MANO A M, et al. Time-course of oxygen free radical production in acinar cells during acute pancreatitis induced by pancreatic duct obstruction[J]. Biochim Biophys Acta,

2002, 1588: 159—164.

[5] 王宏志, 刘俊, 宋慧, 等. 乌司他丁联合三七总皂甙对急性胰腺炎大鼠氧自由基影响的研究[J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15(17): 1956—1959.

[6] 王兴鹏, 朱颖, 袁耀宗. 急性胰腺炎实验与临床研究[M]//袁耀宗. 消化系疾病临床新技术. 北京: 人民军医出版社, 2002: 169—169.

[7] TADA O M, YUJI O. Role of free radicals in the development of severe acute pancreatitis[J]. Nippon Rinsho, 2004, 62: 2015—2020.

[8] MARTINEZ-BURGOS M A, Granados M P, GONZALEZ A, et al. Involvement of ryanodine-operated channels in tert-butylhydroperoxide-evoked Ca^{2+} mobilisation in pancreatic acinar cells[J]. J Exp Biol, 2006, 209: 2156—2164.

[9] GOUAZE V, NDRIEU-ABADIE N, CUVILLIER O, et al. Glutathione peroxidase-1 protects from CD95-induced apoptosis[J]. J Biol Chem, 2002, 277: 42867—42874.

[10] KACMAZ A, POLAT A, USER Y, et al. Octreotide improves reperfusion-induced oxidative injury in acute abdominal hypertension in rats[J]. J Gastrointest Surg, 2004, 8: 113—119.

[11] KACMAZ A, POLAT A, USER Y, et al. Octreotide: a new approach to the management of acute abdominal hypertension[J]. Peptides, 2003, 24: 1381—1386.

[12] 程丹, 王国文, 刘禹. 奥曲肽对重症急性胰腺炎患者血液流变学的影响[J]. 中国药房, 2006, 17(21): 1644—1645.

[13] 程若川, 刁畅, 魏晓岗, 等. 奥曲肽对大鼠胰腺移植缺血再灌注损伤的保护机制[J]. 中华实验外科杂志, 2004, 21(8): 909—911.

[14] 杨志霞, 林谦, 马利. 丹参对心血管疾病药理作用的文献研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2012, 7(2): 93—96.

[15] 李湘平, 尹桃. 丹参多酚酸盐注射液治疗冠心病的疗效观察[J]. 中国现代医学杂志, 2010, 20(4): 619—621, 624.

[16] 范慧霞. 中药丹参药理作用研究概况[J]. 新疆中医药, 2007, 25(5): 113—116.

[17] 金惠铭, 王建枝. 病理生理学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 205—205.