

内源性一氧化氮对急性坏死性胰腺炎大鼠肠黏膜通透性的影响

杨永久, 高乃荣

杨永久, 辽宁朝阳市中心医院普通外科 辽宁省朝阳市 122000
高乃荣, 东南大学附属中大医院普通外科 江苏省南京市 210009
项目负责人: 杨永久, 122000, 辽宁省朝阳市朝阳大街二段6号, 朝阳中心医院. doctoryyi@sohu.com
电话: 0421-2816477
收稿日期: 2004-11-09 接受日期: 2004-12-08

摘要

目的: 探讨内源性一氧化氮(NO)对急性坏死性胰腺炎(ANP)大鼠肠黏膜通透性的影响。

方法: 84只 Sprague-Dawley 大鼠随机分为4组:假手术组, 生理盐水组(ANP/NS), 硫酸甲基异硫脲组(ANP/SMT), 精氨酸组(ANP/L-Arg)。测定12 h和24 h血浆和小肠黏膜组织NO含量, 观察小肠的病理改变, 肠黏膜通透性以及脏器细菌移位率。

结果: ANP大鼠病程中存在NO含量降低、肠黏膜损伤, 出现肠黏膜通透性升高和细菌移位, 应用SMT可使NO的含量更加减少, 肠黏膜损伤更加严重, 肠黏膜通透性和脏器细菌移位率显著增加;应用左旋精氨酸(L-Arg)后小肠的病理损害明显减轻, 肠黏膜的通透性显著降低, 脏器细菌移位率显著减少。

结论: ANP大鼠病程中存在内源性NO水平降低, 肠黏膜通透性升高, 适当调节内源性NO的水平对降低ANP肠黏膜通透性具有一定的保护作用。

杨永久, 高乃荣. 内源性一氧化氮对急性坏死性胰腺炎大鼠肠黏膜通透性的影响. 世界华人消化杂志 2005;13(3):389-391
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/389.asp>

0 引言

肠黏膜通透性的改变乃至细菌移位是急性坏死性胰腺炎(ANP)重症化的主要原因之一。我们观察了ANP大鼠肠黏膜组织一氧化氮(NO)含量及肠黏膜通透性的改变, 以探讨NO对ANP大鼠肠黏膜通透性的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 84只 Sprague-Dawley 大鼠由东南大学医学院实验动物中心提供, 体重160-200 g, 平均体重185.6 g。牛磺胆酸钠、L-精氨酸(L-Arginine, L-Arg)、硫酸甲基异硫脲(Sulpha-Methylisothiourea, SMT)均为Sigma公司产品。NO检测试剂盒为南京建成生物工程公司产品, 钼(^{99m}Tc)为中国原子能科学研究院同位素所产品。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及模型制备 84只大鼠随机分组, 假手术

组12只, ANP实验组72只; ANP组再分为生理盐水组(ANP/NS), 硫酸甲基异硫脲组(ANP/SMT), 精氨酸治疗组(ANP/L-Arg), 各组再分为12 h组24 h组, 每组12只。参照Aho *et al*^[1]的方法制备急性坏死性胰腺炎模型后, 于近端空肠缓慢注入1.5 mCi ^{99m}Tc -DTPA。制模后10 min, 每12 h腹腔内分别缓慢注射生理盐水或0.5 g/L的SMT或15 g/L的L-Arg 1.0 mL/100 g体重。放入代谢笼, 留取尿液。假手术组大鼠, 仅提起十二指肠, 轻轻翻动胰腺三次。各ANP组分别于12 h和24 h处死采取标本, 假手术组24 h处死采取标本。

1.2.2 观察指标及检测方法 病理学: 腹腔内大体改变, 末段回肠石蜡切片, 观察组织学改变, 回肠黏膜上皮电镜, 观察肠黏膜上皮细胞超微结构改变; 肠黏膜通透性: 放免计数器检测尿 ^{99m}Tc -DTPA脉冲数^[2]; 血浆和肠黏膜组织NO含量: 取血浆和回肠黏膜组织匀浆用硝酸还原酶法检测NO含量; 腹腔脏器细菌移位率: 取胰腺、腹水、肠系膜淋巴结(MLN)、下腔静脉血作细菌需氧和厌氧培养, 计算脏器细菌移位率。

统计学分析 采用SPSS10.0软件处理, 计量资料采用 t 检验, 以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示; 计数资料采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 病理改变 假手术组大鼠腹腔内无腹水, 胰腺和肠管未见明显异常改变; 大鼠腹腔内可见较多血性腹水, 肠系膜、大网膜出现大量皂化斑, 胰腺可见充血水肿、出血坏死灶及皂化斑, 结肠及小肠管壁充血水肿, 部分肠管内可见血性内容物; ANP/SMT组胰腺和肠管病变较ANP/NS组改变更加严重; ANP/L-Arg治疗组大鼠腹腔内可见少量淡黄色腹水, 肠系膜、大网膜可见少量皂化斑, 胰腺可见轻度充血水肿及皂化斑, 肠管壁轻度水肿。光镜下观察: 假手术组肠黏膜无异常; ANP/NS组大鼠肠黏膜水肿、黏膜上皮变性、坏死、脱落, 黏膜及黏膜下层可见血管扩张、出血及炎症细胞浸润; ANP/SMT组肠黏膜破坏更加严重, 表面被覆假膜; ANP/L-Arg治疗组大鼠肠黏膜轻度水肿, 黏膜及黏膜下层血管扩张充血及炎症细胞浸润减轻。电镜下见肠微绒毛坏死、脱落, 线粒体肿胀, 细胞紧密连接破坏, 且随着时间的延长而加重; ANP/SMT组肠微绒毛坏死、脱落加重, 线粒体显著肿胀, 与ANP/NS组大鼠比较细胞紧密连接破坏更加严重; ANP/L-Arg治疗组肠微绒毛轻度坏死、脱落, 线粒体轻度肿胀, 细胞紧密连接破坏减轻。

2.2 血浆NO含量的测定值(表1), 结果表明, 胰腺炎大鼠存在NO含量减少, 应用NO阻断剂SMT后血浆NO含

量降低更加明显, L-Arg 可以显著提高血浆中 NO 的含量甚至达正常水平。

表1 血浆 NO 的测定值($\mu\text{mol/L}$)

组别	12 h	24 h
假手术组		15.25 \pm 0.7634
ANP/NS 组	11.48 \pm 0.9593 ^{ac}	8.94 \pm 0.6529 ^{ae}
ANP/SMT 组	11.25 \pm 0.7013 ^{ac}	7.59 \pm 0.2937 ^{ae}
ANP/L-Arg 组	15.16 \pm 1.0190	16.32 \pm 0.7433

^a $P < 0.05$ vs 假手术组, ^c $P < 0.05$ vs ANP/L-Arg 12 h 组, ^e $P < 0.05$ vs ANP/L-Arg 24 h 组。

2.3 肠黏膜组织 NO 含量的测定值(表2)结果表明, 胰腺炎大鼠存在肠黏膜组织 NO 含量减少, 应用 SMT 后肠黏膜组织 NO 含量降低更加明显, L-Arg 可以显著提高肠黏膜组织中 NO 的含量。

表2 各组大鼠肠黏膜组织 NO 含量的变化($\mu\text{mol/g}$ 蛋白)

组别	12 h	24 h
假手术组		3.27 \pm 0.3089
ANP/NS 组	2.08 \pm 0.2209 ^{ac}	1.39 \pm 0.1655 ^{ae}
ANP/SMT 组	2.19 \pm 0.4245 ^{ac}	1.36 \pm 0.2485 ^{ae}
ANP/L-Arg 组	3.19 \pm 0.3826	3.20 \pm 0.3859

^a $P < 0.05$ vs 假手术组, ^c $P < 0.05$ vs ANP/L-Arg 12 h 组, ^e $P < 0.05$ vs ANP/L-Arg 24 h 组。

2.4 肠黏膜通透性的检测值(表3)结果表明, 胰腺炎大鼠存在肠黏膜通透性升高, 应用 SMT 后肠黏膜通透性升高更加明显, L-Arg 可以显著降低肠黏膜通透性。

2.5 细菌培养结果(表4)结果显示, 胰腺炎大鼠病程中出现脏器细菌移位, 应用 SMT 后细菌移位更加明显, 随时间延长而加重, 并以胰腺和 MLN 细菌移位为主, 后期腹水细菌移位有显著增加, L-Arg 可以显著降低脏器细菌移位率。

表4 细菌培养结果(培养阳性数/培养标本数)

MLN 组别	n	胰腺		MLN		腹水		血
		需氧	厌氧	需氧	厌氧	需氧	厌氧	
假手术组	12	1	0	0	0	0	0	0
ANP/NS 12 h	12	6 ^{ac}	3	4 ^{ac}	0	3	1	1
ANP/SMT 12 h	12	7 ^{ac}	4 ^{ac}	5 ^{ac}	1	3	2	2
ANP/L-Arg 12 h	12	1	0	1	0	1	0	0
ANP/NS 24 h	12	10 ^{ae}	4 ^{ae}	8 ^{ae}	2	7 ^{ae}	3	3
ANP/SMT 24 h	12	11 ^{ae}	6 ^{ae}	9 ^{ae}	3	9 ^{ae}	3	2
ANP/L-Arg 24 h	12	3	1	2	0	2	1	1

^a $P < 0.05$ vs 假手术组, ^c $P < 0.05$ vs ANP/L-Arg 12 h 组, ^e $P < 0.05$ vs ANP/L-Arg 24 h 组。

表3 各组大鼠肠黏膜通透性的改变

组别	12 h	24 h
假手术组		0.0693 \pm 0.0153
ANP/NS 组	0.2892 \pm 0.1022 ^{ac}	0.6615 \pm 0.1359 ^{ae}
ANP/SMT 组	0.4095 \pm 0.1009 ^{ac}	0.5950 \pm 0.0736 ^{ae}
ANP/L-Arg 组	0.1832 \pm 0.0174	0.3379 \pm 0.03738

^a $P < 0.05$ vs 假手术组, ^c $P < 0.05$ vs ANP/L-Arg 12 h 组, ^e $P < 0.05$ vs ANP/L-Arg 24 h 组。

3 讨论

ANP 时, 机体处于严重的应激状态, 肠黏膜的低灌流状态使他产生缺血缺氧改变, 他所引起的缺血再灌注损伤是导致肠黏膜屏障功能障碍的主要原因之一^[3]。胰腺炎症程度愈重, 肠黏膜毛细血管的灌注量下降愈明显^[4]。本实验病理学检查显示 ANP 时存在肠黏膜机械屏障的损伤。微循环的一些特定血管起到组织-血液屏障的作用, 急性炎症时, 这些血管通透性增加、屏障功能下降, 引起组织水肿。Kurose *et al*^[5] 研究大鼠肠系膜微循环, 发现 NO 供体可显著减轻缺血-再灌注诱发的毛细血管后静脉的白细胞附壁、游出和白蛋白渗漏, 认为维持微血管的完整性、减轻白细胞-血管内皮细胞的相互作用是 NO 对缺血再灌注损伤的保护机制之一。NO 也能防止内毒素血症引起的肠血管通透性增加^[6]。

我们观察到, ANP/NS 组 12 h 和 ANP/NS 24 h 大鼠肠黏膜组织 NO 含量呈下降趋势。而 ANP/SMT 12 h 组和 24 h 组与相应时间点 ANP/NS 组比较, 其肠黏膜组织中的 NO 含量有所降低, 病理损害加重; ANP/L-Arg 12 h 组和 24 h 组大鼠肠黏膜病理改变减轻, 与相应两个时间点 ANP/NS 组比较, 其肠黏膜组织中的 NO 含量有显著提高。我们还观察到, ANP 大鼠发病后 12 h 即有肠黏膜通透性增加, 而且随着病程延长而加重, 应用 SMT 后肠黏膜通透性增加更严重, 而应用 L-Arg 后肠黏膜通透性降低显著。同时 ANP 大鼠发病 12 h 时即有细菌移位, 随着时间的延长细菌移位增加, 应用 SMT 后, 脏器细菌移位率显著增加, 而应用 L-Arg 治疗后脏器细菌移位率显著降低。

我们的试验显示, ANP 大鼠肠黏膜组织中的 NO 含量随 ANP 的病程延长而合成减少, 应用 SMT 后可更加减少 NO 的含量, 加重肠黏膜的损伤, 增加肠黏膜通透性; 而应用 L-Arg 后, 肠黏膜组织 NO 含量增加, 肠黏膜损伤显著减轻, 肠黏膜通透性显著降低. 这说明内源性 NO 具有维持肠黏膜微血管完整性的作用, 这可能是 NO 改善 ANP 大鼠肠黏膜通透性的机制之一.

4 参考文献

- 1 Aho HJ, Koskensalo ML, Nevalainen TJ. Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate-induced acute haemorrhagic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1980;15:411-416
- 2 Resnick RH, Royal H, Marshall W, Barron R, Werth T. Intesti-

- nal permeability in gastrointestinal disorders, Use of oral [^{99m}Tc]DTPA. *Dig Dis Sci* 1990;35:205-211
- 3 Ammori BJ, Leeder PC, King RF, Barclay GR, Martin IG, Larvin M, McMahon MJ. Early increase in intestinal permeability in patients with severe acute pancreatitis: correlation with endotoxemia, organ failure, and mortality. *J Gastrointest Surg* 1999;3:252-262
- 4 Hotz HG, Foitzik T, Roheder J, Schulzke JD, Fromm M, Runkel NS, Buhr HJ. Intestinal microcirculation and gut permeability in acute pancreatitis: early changes and therapeutic implications. *J Gastrointest Surg* 1998;2:518-525
- 5 Kurose I, Wolf R, Grisham MB, Granger DN. Modulation of ischemia-reperfusion induced microvascular dysfunction by nitric oxide. *Circ Res* 1994;74:376-382
- 6 Dobosz M, Hac S, Wajda Z. Dose nitric oxide protect from microcirculatory disturbances in experimental acute pancreatitis in rat? *Int J Microcirc Clin Exp* 1996;16:221-226

编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

影响因子记录中国期刊进步足迹

《科学时报》2004-06-24 报道: 美国科学信息研究所的《期刊影响因子 - 网络版》(The Journal Citation Reports on the Web) 6 月 18 日公布了 2003 年度 5907 种来源期刊的影响因子. 中国期刊影响因子较 2002 年再创新高.

2003 年 SCI 网络版收录中国学术期刊 76 种, 2003 年 JCR 网络版公布的是前两年在收的 70 种中国期刊(含中国机构主办由外国出版商代为出版的期刊)的影响因子. 经统计, 70 种期刊的影响因子总值为 39.718, 平均值为 0.567; 若按收录期刊 76 种计算平均值为 0.523.

中国学术期刊年年都有进步. 就整体而言, 中国在 1999 年以前未曾有过影响因子达到 1 的期刊, 2000 年仅有 1 种期刊影响因子刚好为 1, 2001 年有 2 种期刊影响因子超过 1, 2002 年则有 6 种期刊影响因子超过 1, 而 2003 年共有 11 种期刊影响因子超过 1.

从收录期刊数和影响因子平均值来看, 1997 年~2003 年收录中国期刊总数分别为 36 种, 45 种, 57 种, 63 种, 66 种, 70 种和 76 种; 有影响因子的期刊分别为 21 种, 32 种, 37 种, 48 种, 60 种, 64 种和 70 种. 按收录期刊总数计算影响因子平均值, 7 年分别为: 0.125; 0.159; 0.178; 0.240; 0.351; 0.422 和 0.523, 若仅按有影响因子的期刊数计算平均影响因子, 则这 7 年分别为: 0.214; 0.224; 0.274; 0.313; 0.386; 0.452 和 0.567.

从各年度中国期刊影响因子最高值看, 1997 年~2003 年分别是: 0.513(《中国科学: B 辑》); 0.818(《高能物理与核物理》); 0.839(《生物医学与环境科学》); 1.000(《地质学报》); 2.102(《细胞研究》); 2.532(《世界胃肠病学杂志》); 3.318(《世界胃肠病学杂志》). 这几串单向变化的数字已清晰记录了中国期刊整体进步的足迹.

近两年连续排在中国期刊影响因子第一位的《世界胃肠病学杂志》(World Journal of Gastroenterology), 自 1998 年开始被 SCI 收录. JCR 2000 年度报告中, 该刊影响因子为 0.993, 2001 年为 1.445. 在这两年也均是中国期刊中影响因子较高者. 该刊在 SCI 中归属“胃肠病学与肝脏病学”(Gastroenterology & Hepatology)类目, 此类目 2001 年和 2003 年都是收录 47 种专业期刊, 该刊影响因子在这两年中分别排在此类目第 27 位、第 11 位, 可谓后起之秀.

中国期刊影响因子提高较快有以下原因: 一是国家对科研投入大幅增长, 科研创新条件改善, 使高水平科研成果不断增多, 从而投送到国内期刊上发表的高质量研究成果相应增加, 期刊质量得以提高. 二是经过各方面的努力, 我国期刊编辑规范化程度和国际化程度有一定提高. 三是 SCI 近年新增入选中国期刊较多, 中国期刊的增多开始产生了一定的“协同效应”. 四是部分期刊实现了印刷版、电子版并存发行的发展态势, 提高了期刊的显示度和可获得性. 五是不少期刊出版周期有所缩短, 增强了时效性. 六是中国期刊原有指标基数较低, 在低指标基础上提高指标相对容易.

《世界胃肠病学杂志》等刊影响因子快速提升, 除上述原因外, 该刊编辑部的开放意识和网络技术帮了大忙. 该刊在中国学术期刊中不仅建设了比较理想的期刊网站, 还率先加入了美国国立医学图书馆(National Library of Medicine, NLM)的 PubMed 系统, 通过 PubMed 系统为读者提供 1998 年以来的全文免费查阅和下载. 随后又加入了 Free Medical Journals 免费查阅网站和 Directory of Open Access Journals 免费查阅网站, 利用这些重要的期刊免费开放平台, 广泛向全世界开放, 让全世界同行不仅能检索到, 还能免费下载使用其全文. 编辑部紧跟时代步伐的开放意识、利用网络技术的能力和服务作者、服务读者的精神, 为作者投稿、读者查阅下载极大地提供了方便, 同时也赢得了期刊声誉、期刊显示度和利用率的明显提高.

中国学术期刊进步很大, 但相比国际名刊还有不小差距. 如 2003 年 JCR 中影响因子最高值为 52.280; 6907 种来源期刊的平均影响因子值为 1.592. 显然中国期刊的发展仍是任重道远. 国家科技部、自然科学基金委员会、中国科学院等科技管理部门和学术机构应继续支持中国学术期刊; 各学科院士、学术带头人要积极关心中国学术期刊, 为之献计献策, 将自己高水平科研成果更多地投送到国内期刊上发表, 使中国学术期刊获得进一步发展, 取得更好的成效.

注: 由 The Journal Citation Reports on the Web 直接从“Peopls R China”检索只有 67 种期刊. 文中 70 种中国期刊是按我国通常采用的统计方法, 计入了包含了由中国电子学会主办的《电子学报》(Chinese Journal of Electronics)、由中国化学学会主办的《高分子科学》(Chinese Journal of Polymer Science) 及《亚洲天然产品研究杂志》(Journal of Asian Natural Products Research) 3 种在境外或国外出版的期刊. 按 67 种期刊统计, 其影响因子总值为 38.022, 平均值也为 0.567. (科学时报 2004-06-24 赵基明)