

鱼油对重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障的影响

张波, 刘燕燕, 刘丛丛, 武华

张波, 刘燕燕, 山西医科大学 山西省太原市 030001
刘丛丛, 山西医科大学第一医院病理科 山西省太原市 030001
武华, 山西医科大学第一医院普外科 山西省太原市 030001
作者贡献分布: 此课题由张波与武华设计; 动物模型制作和指标检测分析由张波与刘燕燕操作完成; 病理分析由刘丛丛完成; 论文写作由张波与武华完成。
通讯作者: 武华, 教授, 主任医师, 030001, 山西省太原市, 山西医科大学第一医院普外科. taiyuanwuhua@yahoo.cn
收稿日期: 2011-01-17 修回日期: 2011-03-14
接受日期: 2011-03-23 在线出版日期: 2011-04-08

Fish oil protects the intestinal mucosal barrier in rats with severe acute pancreatitis

Bo Zhang, Yan-Yan Liu, Cong-Cong Liu, Hua Wu

Bo Zhang, Yan-Yan Liu, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Cong-Cong Liu, Department of Pathology, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Hua Wu, Department of General Surgery, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Correspondence to: Professor Hua Wu, Department of General Surgery, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. taiyuanwuhua@yahoo.cn

Received: 2011-01-17 Revised: 2011-03-14

Accepted: 2011-03-23 Published online: 2011-04-08

Abstract

AIM: To evaluate the protective effect of omega-3 fish oil on the intestinal mucosal barrier in serious acute pancreatitis (SAP) rats.

METHODS: Thirty male Wistar rats were randomly divided into three groups: sham-operated group ($n = 10$), fish oil group ($n = 10$), and normal saline group ($n = 10$). SAP was induced in rats of the fish oil group and normal saline group by retrograde injection of 5% sodium cholate (1 mL/kg) into the pancreatic duct. These two groups were then intravenously given fish oil supplement (2 mL/kg) and normal saline (2mL/kg), respectively. The sham-operated group was subjected to sham operation. After treatment, plasma D-lactate and serum intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) were measured, and the severity of pancreatitis and

intestinal changes was evaluated by histopathological scoring.

RESULTS: Plasma D-lactate (mmol/L), serum I-FABP ($\mu\text{g/L}$), and histopathological scores of intestinal changes and pancreatitis in the normal saline group were markedly lower than those in the sham-operated group and fish oil group (0.43 ± 0.12 vs 0.07 ± 0.02 , 0.26 ± 0.05 ; 1510.00 ± 72.72 vs 80.50 ± 5.60 , 904.00 ± 61.50 ; 2.60 ± 0.32 vs 0.20 ± 0.10 , 1.85 ± 0.34 ; 8.60 ± 0.31 vs 0.30 ± 0.12 , 7.30 ± 0.23 ; all $P < 0.05$ or 0.01).

CONCLUSION: Omega-3 fish oil supplementation reduces plasma D-lactate and serum I-FABP concentrations, protects the intestinal mucosal barrier, and thereby decreases intestinal mucosal permeability and systemic inflammation in SAP rats.

Key Words: Fish oil; Severe acute pancreatitis; Intestinal mucosal barrier; D-lactate; Intestinal fatty acid-binding protein

Zhang B, Liu YY, Liu CC, Wu H. Fish oil protects the intestinal mucosal barrier in rats with severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(10): 1067-1070

摘要

目的: 探讨 ω -3鱼油脂肪乳剂对重症急性胰腺炎(SAP)大鼠早期肠黏膜功能屏障的影响。

方法: δ Wistar大鼠30只随机分为: 假手术组(Sh组, $n = 10$), 鱼油治疗组(F组, $n = 10$)和生理盐水治疗组(N组, $n = 10$)。通过胰管逆行注射法建成SAP模型, 并分别尾静脉注射 ω -3鱼油脂肪乳剂和生理盐水治疗。检测大鼠血浆D-乳酸和肠脂肪酸结合蛋白(I-FABP)的水平, 观察小肠黏膜组织和胰腺组织并进行病理学评分。

结果: N组中D-乳酸浓度(mmol/L), I-FABP浓度($\mu\text{g/L}$), 小肠组织评分(分)和胰腺组织评分(分)明显高于Sh组和N组(0.43 ± 0.12 vs 0.07 ± 0.02 , 0.26 ± 0.05 ; 1510.00 ± 72.72 vs 80.50 ± 5.60 , 904.00 ± 61.50 ; 2.60 ± 0.32 vs 0.20 ± 0.10 , 1.85 ± 0.34 ; 8.60 ± 0.31 vs 0.30 ± 0.12 , $7.30 \pm$

■背景资料

重症急性胰腺炎(SAP)具有病情凶险、病程进展快、并发症多和病死率高等特点。在病情进展中, 肠黏膜屏障功能破坏的现象已逐渐得到公认, 已有实验证明肠黏膜屏障功能的破坏是SAP发生级联反应的关键点和转折点, 因此肠黏膜屏障功能是当今SAP研究的关注点。

■同行评议者

李国威, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院普通外科

■研究前沿

近年来肠黏膜屏障的功能障碍与SAP的关系成为研究SAP的热点。

0.23, 均 $P<0.05$ 或 0.01).

结论: ω -3鱼油脂肪乳剂能降低D-乳酸和I-FABP的浓度, 从而降低肠黏膜的通透性, 减轻全身炎症反应, 保护大鼠的肠黏膜屏障。

关键词: 鱼油; 重症急性胰腺炎; 肠黏膜屏障; D-乳酸; 肠脂肪酸结合蛋白

张波, 刘燕燕, 刘丛丛, 武华. 鱼油对重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19(10): 1067-1070
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1067.asp>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是一种临床常见的急腹症, 发病急骤, 变化迅速, 病情危重而且复杂. 尤其是重症急性胰腺炎(serious acute pancreatitis, SAP)来势更加凶猛, 病死率高达12%-15%, 有并发症者甚至达50%, 而其中约80%的死亡原因与肠道屏障功能受损、继发感染有关^[1]. 大量研究显示SAP容易发生肠屏障功能障碍(intestinal barrier functional disturbance, IBFD), IBFD是SAP并发感染, 诱发和加重全身炎症反应综合征, 多器官功能障碍综合征, 且死亡率居高不下的症结所在^[2]. 本实验旨在通过对SAP大鼠进行鱼油干预, 检测大鼠血浆D-乳酸和肠脂肪酸结合蛋白(intestinal fatty acid binding protein, I-FABP)的含量, 以探讨 ω -3鱼油对SAP大鼠的肠黏膜屏障功能的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 Wistar大鼠30只, δ , 由山西医科大学生理实验室提供(体质量202-240 g). 10%鱼油脂肪乳剂购于费森尤斯卡比公司。

1.2 方法

1.2.1 分组: 30只大鼠随机分为3组: 假手术组(So, $n=10$)、鱼油治疗组(F, $n=10$)和生理盐水治疗组(N, $n=10$)。

1.2.2 造模: 术前12 h禁食, 自由饮水. 乌拉坦腹腔内注射麻醉, 固定大鼠. 经上腹正中切口进腹, 提起十二指肠以无损伤血管夹夹闭肝门部胰胆管和十二指肠处. 经十二指肠穿刺胰胆管, 加压注射5%牛黄胆酸钠(1 mL/kg, 购自Sigma公司), 持续1 min, 助手捏紧十二指肠两端, 保持3 min, 观察到胰腺迅速充血、间质水肿并有散在出血点, 术毕关腹^[3]. 通过尾静脉向F组和N组的大鼠分别注射鱼油(2 mL/kg)及生理盐水(2 mL/kg), 10 min注射完毕^[3]. 分别于干预后12 h处死大鼠,

留取血样及胰腺和小肠组织标本。

1.2.3 指标检测: (1)D-乳酸: 采用改良的酶学分光光度法测定D-乳酸的含量, 按照说明书操作; (2)I-FABP: 采用ELISA试剂盒检测I-FABP的含量, 按照说明书操作; (3)病理HE染色: 将经甲醛固定的大鼠小肠组织和胰腺组织系列脱水, 石蜡包埋, 连续切片, 常规HE染色. 小肠组织常规HE染色后光镜下观察并进行炎症损伤病理学评分^[4]. 0分: 无异常改变; 0.5分: 肠黏膜水肿、充血, 无坏死性病变; 1分: 病变局限于肠黏膜, 有散在性出血点; 2分: 坏死累及浅表黏膜, 黏膜中有多区域出血; 3分: 全层坏死伴有肠腔出血. 胰腺组织参照Sharif等^[5]的方法对胰腺组织不同程度的炎症、水肿、出血及坏死(0-4分)在光镜下进行评分。

统计学处理 数据采用SPSS16.0统计软件包进行处理. 定量资料采用mean \pm SD表示; 所有数据Levene法进行方差齐性检验, 多组间比较采用方差分析(ANOVA), 组间两两比较采用LSD- t 法. 取检验水准 $\alpha=0.05$.

2 结果

2.1 死亡情况 N组有2只大鼠死亡, F组和So组无大鼠死亡。

2.2 血浆D-乳酸变化 So组血浆D-乳酸为 $0.07 \text{ mmol/L} \pm 0.02 \text{ mmol/L}$, F组和N组血浆D-乳酸则升高明显, F组和N组与So组比较有显著性差异($P<0.01$); F组与N组比较明显降低($P<0.05$, 表1)。

2.3 血清I-FABP的变化 F组和N组中血清的I-FABP的浓度明显高于So组, 且F组较N组明显降低($P<0.05$), 说明肠黏膜屏障功能障碍时, 有持续的、明显的肠道低灌注, 鱼油能改善肠道的微循环状态(表1)。

2.4 病理组织改变 胰腺组织改变: So组胰腺组织在肉眼及光镜下观察基本正常, 无出血及坏死. N组病理改变表现为胰腺间质水肿, 血管充血, 炎性细胞浸润, 组织间隙见红细胞分布, 胰腺腺泡结构消失(图1A). F组病理改变表现为中央区可见大片无结构坏死区, 周缘可见部分腺叶轮廓, 残存的腺泡组织腔内有分泌物, 炎细胞浸润明显少于N组(图1B). 小肠组织改变: 鱼油组小肠组织病理改变较N组轻, 其病理评分为 1.85 ± 0.34 , 与N组比较有显著的改善($P<0.05$, 表1)。

3 讨论

SAP是一种严重的急腹症, 近年来大量研究表明, 在SAP的疾病发展过程中, 肠黏膜屏障功能

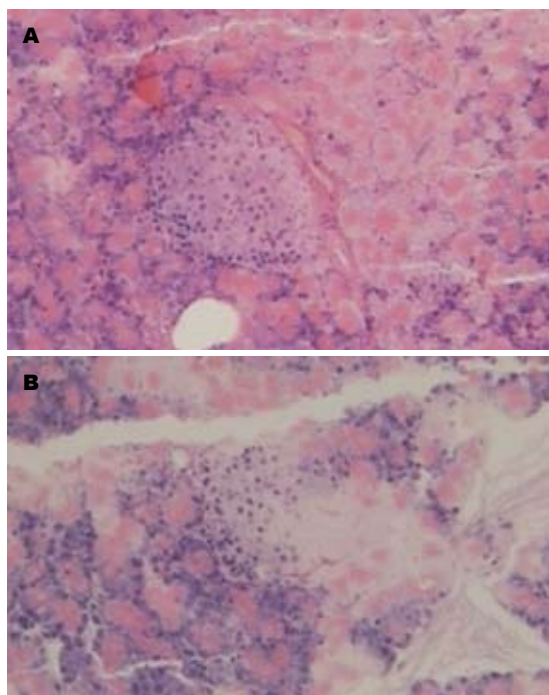
■相关报道

王鹏飞等研究发现 ω -3鱼油脂肪乳在提供能量的同时, 对急性胰腺炎的炎症反应具有一定的抑制作用, 可以明显改善胰腺炎症的病理积分和胰腺坏死。

表 1 各组D-乳酸、I-FABP浓度及小肠和胰腺组织评分

分组	D-乳酸浓度(mmol/L)	I-FABP浓度(μ g/L)	小肠组织评分	胰腺组织评分
So组	0.07 \pm 0.02	80.5 \pm 5.6	0.2 \pm 0.1	0.3 \pm 0.12
N组	0.43 \pm 0.12 ^d	1 510 \pm 72.72 ^d	2.6 \pm 0.32 ^d	8.6 \pm 0.31 ^d
F组	0.26 \pm 0.05 ^{ad}	904 \pm 61.5 ^{ad}	1.85 \pm 0.34 ^{ad}	7.3 \pm 0.23 ^{ad}

^a $P < 0.05$ vs N组; ^d $P < 0.01$ vs So组.

图 1 胰腺组织(H&E $\times 100$). A: N组; B: F组.

损害起着极为重要的作用. 肠黏膜屏障功能是指肠黏膜上皮具有将肠腔内容物分隔, 防止致病物质进入血循环和淋巴循环^[6]. 肠黏膜屏障主要由机械屏障、免疫屏障、生物屏障和化学屏障4部分构成. 而肠黏膜通透性是评价肠黏膜屏障功能的重要指标之一. Ammori等^[7]研究发现, SAP患者早期的肠道通透性明显增加. 本实验结果表明: 与So组比较, F组和N组中D-乳酸和肠脂肪酸结合蛋白都明显升高, 进一步证实了SAP大鼠早期即有肠黏膜通透性的增加, 提示在SAP早期存在肠黏膜屏障功能损伤.

ω -3鱼油脂肪乳的主要成分为 ω -3多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs), 来源于深海鱼油, 包括二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA). 大量研究表明EPA和DHA具有良好的炎症反应调节作用^[8], 认为 ω -3鱼油脂肪乳在提供能量的同时对AP的炎症反应具有一定的抑

制作用^[9]. 本实验研究发现, F组大鼠的小肠组织病理评分低于N组, 高于So组, 说明在胰腺炎时肠黏膜组织已经受到损伤, 应用鱼油可以改善SAP肠道屏障功能障碍.

D-乳酸是细菌发酵的代谢产物, 肠通透性增加时肠道中细菌所产生的大量D-乳酸通过受损黏膜进入血液循环, 因此血浆D-酸水平可以反映肠屏障功能变化^[10]. 在本实验中F组中D-乳酸的浓度明显低于N组, 说明鱼油可以降低肠黏膜的通透性.

I-FABP是从肠道分离出的特异性表达于肠道的脂肪酸结合蛋白, 占肠道蛋白的2%-3%. 有研究表明, I-FABP的浓度与肠黏膜屏障功能损害明显相关^[11]. 在正常情况下, 血清中I-FABP水平在可检测限度以下^[12]. 一旦肠道发生缺血, 即使只有微绒毛受损而隐窝细胞仍保持完整的情况下, 血I-FABP水平也会上升^[13]. 亦有研究者将其作为小肠缺血的敏感指标^[14,15]. 而在本实验中, 我们通过检测SAP大鼠血清I-FABP的浓度, 发现在SAP早期, 血清I-FABP即有升高, 说明了在SAP早期即发生了肠道缺血. 而注射了鱼油的大鼠血清中的I-FABP水平与N组比较明显降低, 说明鱼油可以改善肠道的微循环状态保护肠黏膜屏障.

目前, 肠黏膜通透性改变的路径及其机制尚未完全阐明, 但是由于肠黏膜通透性的变化可以反映肠黏膜屏障功能的状态, 对预示疾病过程转归具有重要意义. 因此, D-乳酸和I-FABP的检测有望成为SAP患者肠黏膜屏障的监测指标. 而鱼油可以降低肠黏膜的通透性, 改善肠道的微循环状态, 可以为临床上治疗胰腺炎疾病提供依据, 其完整的机制有待于进一步的研究证实.

4 参考文献

- 1 蒋晓芸, 钱立平, 孙大裕. 重症急性胰腺炎肠道屏障功能损伤机制研究进展. 国际消化病杂志 2006; 26: 221-223
- 2 刘晓臣, 彭燕. 肠屏障功能障碍与重症急性胰腺炎. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3131-3135
- 3 刘纳新, 陈周浚, 余震, 周蒙淘, 陈通克, 章晓东, 章忠渭, 王鹏飞. 鱼油对急性坏死性胰腺炎大鼠胃肠功能

■应用要点

临床上重症胰腺炎患者多在发病数小时后就诊, 此时肠道屏障功能已经损伤, 而D-乳酸和I-FABP对肠黏膜损伤有良好的灵敏度和特异性. 因此D-乳酸和I-FABP的检测有望成为SAP患者肠黏膜屏障的监测指标.

■同行评价

本文设计合理,对SAP早期的黏膜通透性改变及处理对策研究具有一定的参考意义。

- 的影响. 中华肝胆外科杂志 2009; 15: 534-536
- 4 Schlag G, Redl H, van Vuuren CJ, Davies J. Hyperdynamic sepsis in baboons: II. Relation of organ damage to severity of sepsis evaluated by a newly developed morphological scoring system. *Circ Shock* 1992; 38: 253-263
- 5 Sharif S, Broman M, Babcock T, Ong E, Jho D, Rudnicki M, Helton WS, Espat NJ. A priori dietary omega-3 lipid supplementation results in local pancreatic macrophage and pulmonary inflammatory response attenuation in a model of experimental acute edematous pancreatitis (AEP). *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2006; 30: 271-276
- 6 Baumgart DC, Dignass AU. Intestinal barrier function. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5: 685-694
- 7 Ammori BJ, Fitzgerald P, Hawkey P, McMahon MJ. The early increase in intestinal permeability and systemic endotoxin exposure in patients with severe acute pancreatitis is not associated with systemic bacterial translocation: molecular investigation of microbial DNA in the blood. *Pancreas* 2003; 26: 18-22
- 8 Mori TA, Beilin LJ. Omega-3 fatty acids and inflammation. *Curr Atheroscler Rep* 2004; 6: 461-467
- 9 Foitzik T, Eibl G, Schneider P, Wenger FA, Jacobi CA, Buhr HJ. Omega-3 fatty acid supplementation increases anti-inflammatory cytokines and attenuates systemic disease sequelae in experimental pancreatitis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2002; 26: 351-356
- 10 蔡元坤, 秦新裕. D-乳酸与肠道屏障功能. 国外医学·外科学分册 2004; 31: 331-335
- 11 黄晓曦, 王兴鹏, 吴恺, 马晶晶, 徐铭益. 肠屏障功能障碍临床评估指标建立的初步研究. 中华消化杂志 2006; 28: 519-522
- 12 Pelsers MM, Hermens WT, Glatz JF. Fatty acid-binding proteins as plasma markers of tissue injury. *Clin Chim Acta* 2005; 352: 15-35
- 13 潘莉雅, 王新颖, 李维勤, 李宁, 黎介寿. 脂肪酸结合蛋白在重症急性胰腺炎诊断中的应用. 肠外与肠内营养 2010; 17: 134-137
- 14 Wiercinska-Drapalo A, Jaroszewicz J, Siwak E, Pogorzelska J, Prokopowicz D. Intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) as a possible biomarker of ileitis in patients with ulcerative colitis. *Regul Pept* 2008; 147: 25-28
- 15 Derikx JP, Poeze M, van Bijnen AA, Buurman WA, Heineman E. Evidence for intestinal and liver epithelial cell injury in the early phase of sepsis. *Shock* 2007; 28: 544-548

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文。以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。(2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。(3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。(4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按 ●、○、■、□、▲、△ 顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第 3 套为 ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴。(5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。