

异甘草酸镁对重症急性胰腺炎肝损伤治疗作用的实验研究

赵 建 刘红辉 谭波宇

摘 要 **目的** 观察异甘草酸镁治疗大鼠重症急性胰腺炎肝损伤的疗效。**方法** 采用数字表法将 36 只健康大鼠随机分成治疗组、SAP 组与假手术组各 12 例,治疗组制成 SAP 模型后在腹腔注入异甘草酸镁,SAP 组制成 SAP 模型后在腹腔注入等量 0.9% 生理盐水;假手术组开腹仅将胰腺组织翻动后关腹,对比分析 3 组血清 ALT、AST、ALB、TNF- α 水平、12h 内死亡率。**结果** ALT、AST、TNF- α 水平 SAP 组明显高于假手术组,治疗组明显低于 SAP 组,ALB 水平 SAP 组明显低于假手术组,治疗组高于 SAP 组,差异均具有统计学意义($P < 0.01$),12h 死亡率 SAP 组与治疗组相差无几(41.67% vs 25.00%),差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 异甘草酸镁能降低肝酶学,对重症胰腺炎大鼠肝损伤具有一定的治疗和保护作用。

关键词 异甘草酸镁 重症急性胰腺炎 肝损伤

[中图分类号] R576 [文献标识码] A

Experimental Study of Magnesium Isoglycyrrhizinate Treatment on Liver Injury in Severe Acute Pancreatitis. Zhao Jian, Liu Honghui, Tan Boyu. Pharmacy Department, Hunan Provincial People's Hospital, Hunan 410005, China

Abstract **Objective** To observe the treatment effect of magnesium isoglycyrrhizinate on liver injury in rats with severe acute pancreatitis. **Methods** Thirty six healthy rats were randomly divided into treatment group, SAP group and sham operation group with 12 cases in each group. Rats in treatment group were injected magnesium isoglycyrrhizinate in abdomen after making into SAP mode, and those in SAP group were injected the same volume of saline in abdomen instead. Rats in the sham operation group's pancreatic tissue were only flipped after opening abdomen. The level of serum ALT, AST, ALB, TNF- α , 12h mortality rate were studied. **Results** The SAP group's ALT, AST, TNF- α were higher than sham operation group's. Treatment group's ALT, AST, TNF- α were lower than SAP group's. The ALB level of SAP group was lower than that of sham operation group. Treatment group's ALB level was higher than SAP group's. There was significant difference between groups ($P < 0.01$). The mortality of 12 hour had no difference between SAP group and treatment group (41.67% vs 25.00%, $P > 0.05$). **Conclusion** Magnesium isoglycyrrhizinate reduces the liver enzymes, has therapeutic and protective effect on liver injury in rats with severe acute pancreatitis.

Key words Magnesium isoglyrrhizinate; Severe acute pancreatitis; Liver damage

急性胰腺炎是各种原因导致胰酶被异常激活,胰酶对胰腺自身组织消化,继而引起胰腺水肿、坏死,并产生一系列并发症如腹腔感染、休克等全身性炎症性疾病,分为轻症和重症两类。重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者病情复杂、进展快,常伴有其他器官的功能障碍及损伤,常因呼吸窘迫综合征、休克及多器官功能障碍而死亡^[1]。肝脏是人体代谢最旺盛的器官之一,参与多种细胞因子的灭活与产生,是多种细胞因子的靶器官。SAP 时,体内大量炎性介质失控释放,导致其他器官损伤,肝损伤是 SAP 常见的器官损伤之一,SAP 并发肝脏损伤的发生率高达 40%^[2]。肝脏是人体重要的解毒器官,一旦

发生损害,肝脏清除率及解毒功能下降,各种致病物质更易进入体内循环,加速其他脏器的损伤,促进多器官功能障碍形成。有研究显示,肝脏也是 SAP 患者较早发生改变的胰外器官,因此保护重症胰腺炎患者的肝脏,可延缓多器官功能障碍的发生,有利于预后,提高生活质量,降低病死率。本实验通过制作重症急性胰腺炎大鼠模型,研究异甘草酸镁对重症胰腺炎大鼠肝损伤的治疗作用,报道如下。

材料与方法

1. SAP 模型制作:术前大鼠禁食 12h,在大鼠腹腔注射 10% 的水合氯醛溶液(250mg/kg)进行麻醉,麻醉成功后,取仰卧位,用橡皮筋固定门齿及四肢在手术台上,手术皮肤区剃毛、消毒、铺巾,在腹部正中做一切口,暴露肝下间隙,确定胰胆管及肝门部胆总管的位置,用无损伤动脉夹夹闭肝部胆管,在胰管开口十二指肠系膜对侧进行肠壁穿刺,进入胆

胰管开口,注入 5% 的牛磺胆酸钠(1ml/kg),保留无损伤血管夹 5min 后松开血管夹,复位各脏器,缝合切口,制作 SAP 模型。

2. 药物制剂与设备:水合氯醛(批号:20120801,青岛宇龙海藻有限公司产),用生理盐水配制成 10% 的水合氯醛无菌溶液,剂量:按 250mg/kg(体重)计算;牛磺胆酸钠(批号:T4009-088K0097,Sigma 公司),用生理盐水溶解并配成 5% 牛磺胆酸钠溶液,剂量:按 1ml/kg(体重)计算;异甘草酸镁注射液(国药准字 H20051942,正大天晴药业集团股份有限公司产),按 60mg/kg(体重)计算;肿瘤坏死因子 TNF- α ELISA 试剂盒(批号 080621,深圳晶美生物工程有限公司产);低速离心机(LD5-2A 北京医用离心机厂产);MD-200-3 电子天平(上海方瑞仪器厂生产);HF-220 全自动生化分析仪(泰诺科贸有限公司生产)。

3. 动物分组与处理:选择健康的 SD 大鼠 36 只并编码,大鼠由湖南省动物实验中心提供,清洁级 δ ,体重 210~300g,平均体重 241.00 ± 12.54 g,购买后在湖南省人民医院临床医学研究所动物房喂养,维持室温 23℃,湿度为 50%,饲养 1 周,按照随机数字表法将大鼠随机分成假手术组、SAP 组、治疗组

3 组各 12 只,3 组处理方式如下:治疗组:制成 SAP 模型 1h 后在腹腔按 60mg/kg 的剂量注入异甘草酸镁;SAP 组:按照上面的方式制备 SAP 模型,制成 SAP 模型 1h 后在腹腔按 60mg/kg 的剂量注入 0.9% 生理盐水;假手术组:不制成 SAP 模型,开腹仅将胰腺组织翻动后关腹。

4. 标本采集、检测:12h 后处死大鼠,在下腔静脉处采 5ml 血,离心,于 -20℃ 保存样本,采用 HF-220 全自动生化分析仪检测血清 ALT、AST、ALB 水平,采用 ELISA 试剂盒检测 TNF- α 水平,按 ELISA 试剂盒取血浆,采用双抗夹心法测定 TNF- α 。

5. 统计学方法:采用 SPSS 18.0 统计学软件进行分析,计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采取 t 检验,计数资料用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. 假手术组与 SAP 组 ALT、AST、ALB、TNF- α 比较:ALT、AST、TNF- α 水平 SAP 组明显高于假手术组,ALB 水平 SAP 组明显低于假手术组,差异均具有统计学意义($P < 0.01$,表 1)。

表 1 假手术组与 SAP 组 ALT、AST、ALB、TNF- α 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ALT(U/L)	AST(U/L)	ALB(g/L)	TNF- α
假手术组	12	32.14 ± 10.03	44.68 ± 12.57	47.21 ± 4.98	28.02 ± 10.33
SAP 组	12	181.24 ± 26.45	246.68 ± 22.54	25.12 ± 5.01	114.56 ± 29.65
<i>t</i>		18.2586	27.1136	10.8326	9.5479
<i>P</i>		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

2. SAP 组与治疗组 ALT、AST、ALB、TNF- α 比较:ALT、AST、TNF- α 水平治疗组明显低于 SAP 组,

ALB 水平治疗组高于 SAP 组,差异均具有统计学意义($P < 0.01$,表 2)。

表 2 SAP 组与治疗组 ALT、AST、ALB、TNF- α 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ALT(U/L)	AST(U/L)	ALB(g/L)	TNF- α
SAP 组	12	181.24 ± 26.45	246.68 ± 22.54	25.12 ± 5.01	114.56 ± 29.65
治疗组	12	109.41 ± 25.45	166.84 ± 14.02	36.87 ± 4.97	74.21 ± 18.52
<i>t</i>		6.7790	2.074	5.7678	2.074
<i>P</i>		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

3.3 组 12h 内死亡率比较:假手术组死亡 0 只,SAP 组 12h 内死亡率为 41.67% (5/12),治疗组 12h 内死亡率 25.00% (3/12),SAP 组与治疗组相差无几,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.6429$, $P > 0.05$)。

讨 论

急性胰腺炎有分为轻症和重症,轻症可无明显并发病,重症急性胰腺炎往往有胰外脏器的损伤,以胰腺实质出血、坏死为主要病理特点,起病急、进展快、预后不良、发病机制尚未明确。目前对重症急性胰腺炎尚无特异性治疗方案,常用治疗方法包括内科治疗和手术治疗^[3],病死率高达 20%^[4]。防止胰外其他器官损伤,有利于降低重症急性胰腺炎病死率,延缓

重症急性胰腺炎进展。重症急性胰腺炎时易出现肝损害,血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)升高,肝脏合成白蛋白(ALB)减少。ALT、AST、ALB 常作为肝功能监测的重要指标。在本研究中,通过在胆胰管内注内牛磺胆酸钠建立 SAP 模型,经检测 SAP 组的 ALT、AST、TNF- α 水平明显高于假手术组,ALB 水平明显低于假手术组,说明 SAP 能引起肝组织的损害观点是肯定的。在大鼠动物实验中,重症急性胰腺炎大鼠出现肝细胞内酸中毒,肝脏能量代谢障碍以及溶酶体和线粒体脆性增加等,肝细胞发生变性、坏死,出现坏死灶、库普弗细胞发生肿胀,糖原颗粒减少、线粒体肿胀等组织学改变。

肝脏是重症急性胰腺炎最早累及的器官之一,在动物实验中,在重症急性胰腺炎后 3h 即可出现肝脏的损伤^[5],损伤的严重程度与胰腺炎的严重程度呈正比。肝损伤又会进一步加重重症急性胰腺炎,对重症急性胰腺炎的病程和预后具有重要影响。早发现,早控制肝功能损害是控制病情进展、防止肝功能不全的关键措施之一,重症急性胰腺炎引起肝损伤机制复杂,在临床中尚无特效药,本实验主要研究异甘草酸镁对重症急性胰腺炎肝损伤的治疗作用。

重症急性胰腺炎引起肝损伤的机制可能如下:

(1) 各种细胞因子的作用,重症急性胰腺炎时中性粒细胞可以产生大量的细胞因子,包括 TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 等,参与肝细胞的损害,其中重症急性胰腺炎肝损伤可能与肝巨噬细胞来源的细胞因子 TNF- α 关系最大,TNF- α 是各种免疫的重要介质。(2) 胰酶的作用,重症急性胰腺炎时大量的胰酶被激活,损伤胰腺,刺激胰腺释放大量炎性介质,形成瀑布样连锁反应,造成多器官损害。(3) 氧自由基的作用,重症急性胰腺炎时,病变的胰腺腺泡细胞,白细胞以及巨噬细胞产生大量氧自由基,作用于肝脏,使肝脏发生变性、空泡化、炎性浸润等病变。(4) 局部微循环障碍、胰腺炎相关性腹腔积液、肝细胞的凋亡都可引起肝脏的损害。治疗重症急性胰腺炎引起肝损伤,其关键要阻断损害肝脏的各种途径。

本实验中治疗组 ALT、AST、TNF- α 水平明显低于 SAP 组,治疗组 ALB 水平高于 SAP 组,说明异甘草酸镁对重症急性胰腺炎肝损伤有一定的治疗作用,对重症急性胰腺炎者的肝脏有一定的保护作用。甘草酸类制剂是临床中比较认可的保肝、护肝、消炎、抗病毒的药物^[6]。异甘草酸镁是第 4 代甘草酸制剂,是从甘草中提取甘草酸,经碱催化异构后制成,在临床上已被广泛的用于治疗各种肝脏病变,其有效成分为 18- α 异构体甘草酸^[7]。18- α 异构体甘草酸具有较强的亲脂性,在体内与受体蛋白,类固醇激素靶细

胞的受体结合,有肾上腺皮质样作用,作用于激素受体,具有很强的抗炎作用;抑制钙离子通道,减缓 Ca²⁺ 内流,进而降低细胞凋亡的发生率;能调节酶的活性、物质代谢以及调节神经的兴奋性,诱导产生内源性还原型谷胱甘肽,具有解毒的功效。可选择性的抑制前列腺素等炎性介质的产生;诱导 I 型胶原纤维的产生,防止肝脏纤维化;调节 WDA、SOD、NO 等物质,降低脂质发生过氧化。18- α 异构体甘草酸特异性作用于肝脏,能稳定肝细胞膜,清除氧自由基,减轻肝细胞炎症反应,促进肝细胞增殖和胆汁分泌排出,发挥着抗炎、解毒、保护肝细胞膜、改善肝功能等功效^[8]。

但在本实验中,SAP 组和治疗组的 12h 死亡率 SAP 组低于治疗组,但差异无统计学意义($P > 0.05$),可能与样本量较少有关,对异甘草酸镁对重症急性胰腺炎的肝损伤死亡率的影响,还需扩大样本量做进一步的研究。

总之,通过对本实验中 3 组大鼠处理后的血清 ALT、AST、ALB、TNF- α 水平比较,证实异甘草酸镁可降低重症胰腺炎大鼠的肝脏损害程度,对重症急性胰腺炎的肝损伤具有一定的保护作用。

参考文献

- 中华医学会外科学分会胰腺外科学组.重症急性胰腺炎诊治草案[J].中华消化杂志,2001,21(10):622-623
- 刘石龙,廖雯俊,郭林泉.N-乙酰半胱氨酸对大鼠重症急性胰腺炎肝损伤的抑制[J].世界华人消化杂志,2010,18(10):1046-1050
- 黄正斌.浅谈重症胰腺炎的治疗现状及研究进展[J].当代医药论丛,2014,12(1):307-308
- 周晓兰.重症急性胰腺炎诊断与分类的临床研究[D].合肥:安徽医科大学,2013:7-8
- Chiang DT, Anozie A, Fleming WR, et al. Comparative study on acute pancreatitis management[J]. ANZ J Surg, 2004, 74: 218-221
- 聂燕.异甘草酸镁注射液治疗重症肝炎的疗效观察[J].现代药物与临床,2014,29(1):55-58
- 李艳丽,张建英,吴爽.异甘草酸镁注射液的临床应用[J].实用药物与临床,2011,14(6):521-522
- 朱礼尧.浅谈异甘草酸镁临床研究进展[J].海南医学院学报,2013,19(12):1776-1777 (收稿日期:2014-04-22) (修回日期:2014-05-04)
- (上接第 130 页)
- Timor-Tritsch IE, Monteagudo A. Unforeseen consequences of the increasing rate of cesarean deliveries: early placenta accreta and cesarean scar pregnancy. A review[J]. Am J Obstet Gynecol, 2012, 207(1): 14-29
- Timor-Tritsch IE, Monteagudo A, Santos R, et al. The diagnosis, treatment, and follow-up of cesarean scar pregnancy[J]. Am J Obstet Gynecol, 2012, 207(1): 44 e41-13
- 张月香,黄宇春,黄骊莉,等.子宫动脉化疗栓塞治疗剖宫产切口妊娠的临床价值[J].中国现代医学杂志,2011,21(27):3425-3430
- 陈正云,张信关,许泓,等.宫腔镜联合子宫动脉栓塞术终止剖宫产术后子宫瘢痕妊娠的疗效与安全性[J].中华妇产科杂志,2011,46(8):591-594
- Lian F, Wang Y, Chen W, et al. Uterine artery embolization combined with local methotrexate and systemic methotrexate for treatment of cesarean scar pregnancy with different ultrasonographic pattern[J]. Cardiovascular and Interventional Radiology, 2012, 35(2): 286-291
- 于晓兰,张楠,左文莉.剖宫产瘢痕妊娠 100 例分析[J].中华医学杂志,2011,91(45):3186-3189 (收稿日期:2014-04-10) (修回日期:2014-05-20)