

• 基础研究 •

抑肽酶和肿瘤坏死因子- α 抗体预防术后腹腔粘连实验研究

杨雁灵 曹华梁 徐小平 岳树强

[摘要] 目的 研究抑肽酶和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 抗体预防小鼠术后腹腔粘连的疗效。方法 96 只 BALB/c 小鼠随机分成 4 组:生理盐水对照组、抑肽酶组、TNF- α 抗体组、抑肽酶联合 TNF- α 抗体组,每组 24 只。经过同一标准的腹膜损伤手术后,分别在关腹前腹腔内灌注生理盐水及抑肽酶和相应抗体。术后 20d 将小鼠处死,观察腹腔内粘连的情况,通过对粘连的程度、位置以及粘连类型的综合评价得出粘连分数。结果 抑肽酶联合 TNF- α 抗体组的平均粘连分数和 2—3 级粘连发生率明显低于其他各组 ($P < 0.01$)。结论 抑肽酶和 TNF- α 抗体能够对术后腹腔粘连形成起预防作用。

[关键词] 抑肽酶;肿瘤坏死因子 α ;腹膜粘连;小鼠

Preventive effect of Aprotinin and TNF- α antibody on postoperative abdominal adhesion in mice YANG Yan-ling, CAO Hua-liang, XU Xiao-ping, et al. Department of Hepatobiliary Surgery, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shanxi, China

[Abstract] Objective To study the effect of aprotinin and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) antibody on preventing postoperative abdominal adhesion in mice. Methods 96 BALB/c mice were randomly divided into 4 groups: normal saline group ($n = 24$), aprotinin group ($n = 24$), TNF- α antibody group ($n = 24$), and aprotinin combined with TNF- α antibody group ($n = 24$). After an identical peritoneal injury operation, all mice were treated intraperitoneally with normal saline, aprotinin, TNF- α antibody and aprotinin combined with TNF- α respectively at the time of abdominal closure. The mice were killed 20 days after operation, the abdominal incisions and the development of intraabdominal adhesions were observed. Adhesion score was based on an overall assessment of the extent, location, and type of adhesions. Results Aprotinin combined with TNF- α antibody group showed significantly lower adhesion score and 2—3 grade adhesion (advanced significant adhesion) rate was lower than that of other groups ($P < 0.01$). Conclusions The intraperitoneal administration of aprotinin and TNF- α antibody can inhibit postoperative adhesion formation.

[Key words] peritoneal adhesion; Aprotinin; tumor necrosis factor α ; mice

中图分类号: R574.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-9771(2003)03-0189-02

腹腔粘连是腹部及盆腔手术的常见并发症,许多因素与术后腹膜粘连的形成有关,如手术损伤、异物残留、组织缺血等。这些因素引起腹膜组织损伤、炎症反应,而浸润的炎症细胞的细胞因子释放,被认为是导致腹膜粘连形成的触发机制^[1]。抑肽酶是一种丝氨酸蛋白酶抑制剂,具有血小板保护作用,能减少术中及术后出血^[2]。近年的研究显示,抑肽酶还可减轻机体炎症反应,具有明显的抗炎性介质的作用^[3]。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) 是参与炎症反应过程中的细胞因子,在腹膜粘连的形成中起到了重要作用^[4]。本研究采用抑肽酶和 TNF- α 抗体,试图减轻术后炎症反应,阻断或减轻术后腹腔粘连的形成,为临床预防术后腹腔粘连提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 BALB/c 小鼠 96 只,陕西省中医研究院实

作者单位: 1. 710032 陕西西安市,第四军医大学西京医院肝胆外科(杨雁灵、岳树强); 2. 710003 陕西西安市,西安市中心医院普通外科(曹华梁); 3. 510282 广东广州市,第一军医大学珠江医院普通外科(徐小平)。作者简介: 杨雁灵(1974-),男,医学博士,主治医师,讲师,主要研究方向: 器官移植和普外科基础。

验动物中心提供,雌性,7—8 周龄,体重(20 ± 2) g; 抑肽酶,广东天普制药公司,实验前用生理盐水稀释为 1×10^7 KU/L 备用; TNF- α 单抗,广东晶美公司,实验前用生理盐水 1:100 稀释备用。

1.2 实验方法 96 只动物术前随机分成 4 组(各 24 只): 生理盐水对照组、抑肽酶组、TNF- α 抗体组、抑肽酶联合 TNF- α 抗体组(联合治疗组)。以 5g/L 戊巴比妥钠(0.1 ml/10g)腹腔注射麻醉,固定后,取腹部正中切口进腹,确认盲肠及升结肠以后,用 2 块干纱布将其轻轻提起,在肠管外周各侧面用纱布反复磨擦 20 次,中线右侧的壁层腹膜用止血钳多处反复钳夹 20 次,搔刮 20 次,其他组织尽可能减少损伤。操作时注意壁层腹膜损伤引起出血,用可吸收缝合线缝合腹膜,最后 1 针缝合线结扎前根据分组将生理盐水 1 ml, 1×10^7 KU/L 抑肽酶 1 ml, 1:100 TNF- α 抗体 1 ml, 或 1×10^7 KU/L 抑肽酶 0.5 ml + 1:100 TNF- α 抗体 0.5 ml 分别缓慢注入各组小鼠腹腔内,结扎缝线后关闭腹部切口。给予庆大霉素饮水以预防感染。

1.3 粘连评价标准 术后 20d 通过颈椎脱臼法处死小鼠,在原切口上方作左肋缘下斜切口,通过此切口检查上次腹部正中切口的完整性及腹腔内粘连的情况,通

过对粘连的程度、位置及类型的综合评价得出各组粘连分数,粘连分级标准按照 3 级分类标准^[5]:0 级(无粘连):没有粘连;1 级(轻度粘连):粘连容易分离;2 级(中度粘连):粘连难以分离,但局限于一个区域;3 级(重度粘连):呈纤维性粘连增生,可见多条粘连带,肠粘连或肠管固定于腹壁成团块状。通过单盲法对小鼠术后腹腔粘连的情况进行评价。

1.4 统计学处理 各组的腹腔粘连分数的比较,按两个样本比较的秩和检验。

2 结果

所有小鼠均顺利康复,术后 20d 处死后检查,所有小鼠腹壁切口愈合良好,未有 1 例出现切口疝。各组粘连分数及 2—3 级粘连发生率见附表,抑肽酶联合 TNF- α 抗体治疗组与其他各组相比有高度显著性差异 ($P < 0.01$)。

附表 各组粘连分数及 2—3 级粘连发生率

组别	粘连分数	2—3 级粘连率
生理盐水组	2.42 \pm 0.39	79.2 %
抑肽酶组	1.53 \pm 0.21	37.5 %
TNF- α 抗体组	1.39 \pm 0.25	29.2 %
联合治疗组	0.86 \pm 0.34 ^a	16.7 % ^a

注:a:与其他各组比较: $P < 0.01$ 。

3 讨论

虽然许多措施被用来预防术后肠粘连^[6],但效果均不理想。

抑肽酶是一种丝氨酸蛋白酶抑制剂,能抑制胰蛋白酶、激肽释放酶、纤溶酶、白细胞水解酶,抑制血小板聚集和粘附等作用,广泛用于体外循环心血管手术和治疗多种疾病^[7]。它在高纤溶状态下发挥抗纤溶作用,在纤溶状态降低时能防止术后早期纤溶活性降低。抑肽酶有保护血小板功能,减少术后出血,缩短创面渗血时间和稳定血流动力学等作用^[8];此外,抑肽酶还有抑制 TNF- α 、白细胞介素-6 等的释放及改善中性粒细胞的趋化性,具有明显的抗炎性介质的作用^[3]。

TNF- α 主要由激活的巨噬细胞、内皮细胞、中性粒细胞及 B 淋巴细胞分泌,是具有多功能的多肽。它在损伤后的炎症反应过程中起着较重要的作用。研究发现,术后早期腹腔液和全身 TNF- α 的高水平与术后粘

连程度显著相关^[9]。Saba 等发现,术后早期血清 TNF- α 高水平与术后腹膜粘连程度显著相关,认为 TNF- α 术后早期升高可作为人类术后腹膜粘连形成的可靠的生物学标志^[10]。Kaidi 等报道,在术前应用 TNF- α 抗体可明显减轻试验大鼠的腹膜粘连程度^[11]。

本研究结果显示,抑肽酶和 TNF- α 抗体联合治疗可以预防小鼠术后腹腔粘连,且此浓度下的抑肽酶和 TNF- α 抗体对腹壁切口无影响。

[参考文献]

- [1] Krahenbuhl L, Schafer M, Kuzinkovas V, et al. Experimental study of adhesion formation in open and laparoscopic fundoplication[J]. Br J Surg, 1998, 85(6): 826—830.
- [2] Kyriakos T, Wurst H, Friedel G, et al. Reduced blood loss by aprotinin in thoracic surgical operations associated with high risk of bleeding. A placebo controlled, randomized phase IV study[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2001, 20(1): 38—41.
- [3] Landis RC, Asimakopoulos G, Poullis M, et al. The antithrombotic and antiinflammatory mechanisms of action of aprotinin[J]. Ann Thorac Surg, 2001, 72(6): 2169—2175.
- [4] Crha I, Ventruba P, Petrenko M, et al. Present possibilities of prevention of adhesions and their immunologic aspects[J]. Ceska Gynekol, 1999, 64(4): 230—234.
- [5] 邱培伦. 肠粘连的复制[A]. 见: 郭鹂. 人类疾病的动物模型[C]. 北京: 人民卫生出版社, 1990. 182—185.
- [6] Liakakos T, Thomakos N, Fine PM, et al. Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management[J]. Dig Surg, 2001, 18(4): 260—273.
- [7] Turköz A, Cigli A, But K, et al. The effects of aprotinin and steroids on generation of cytokines during coronary artery surgery[J]. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2001, 15(5): 603—610.
- [8] Özer Z, Sucu N, Düzmez D, et al. The effect of aprotinin on ischemia-reperfusion injury in the rabbit kidney[J]. Pharmacol Res, 2001, 44(6): 455—460.
- [9] Kaidi AA, Gurchumelidze T, Nazzal M, et al. Tumor necrosis factor alpha: a marker for peritoneal adhesion formation[J]. J Surg Res, 1995, 58(5): 516—518.
- [10] Saba AA, Godziachvili V, Mavani AK, et al. Serum levels of interleukin 1 and tumor necrosis factor alpha correlate with peritoneal adhesion grades in humans after major abdominal surgery[J]. Am Surg, 1998, 64(8): 734—736.
- [11] Kaidi AA, Nazzal M, Gurchumelidze T, et al. Preoperative administration of antibodies against tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interleukin-1 (IL-1) and their impact on peritoneal adhesion formation[J]. Am Surg, 1995, 61(7): 569—572.

(收稿日期: 2002-12-16)