

[文章编号] 1000-2200(2005)02-0110-03

·急性胰腺炎基础与临床研究·

脾脏在大鼠急性胰腺炎炎症介质释放中的作用

鲁正¹, 朱言亮², 何长林¹, 刘牧林¹, 刘金新¹

[摘要]目的: 探讨脾脏在全身炎症反应综合征(SIRS)中对炎症介质释放的作用。方法: 大鼠胆胰管内注入3%牛磺胆酸钠(0.7 ml/kg)及胰蛋白酶(3 000 u/kg)制成急性胰腺炎模型以引起SIRS。实验大鼠随机分成4组: 假手术组, 脾切除组, 脾切除+急性胰腺炎组, 急性胰腺炎组。分别观察各组血清淀粉酶、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6及IL-10水平, 取末段回肠行光镜及透射电镜观察肠黏膜受损情况。结果: 脾切除+急性胰腺炎组TNF- α 、IL-1 β 及IL-10均低于急性胰腺炎组($P < 0.01$); 病理学检查显示, 脾切除+急性胰腺炎组肠黏膜上皮仅轻微水肿, 肠黏膜屏障基本完整, 而急性胰腺炎组肠黏膜上皮水肿明显, 绒毛坏死, 上皮细胞变性, 炎性细胞浸润。结论: 脾脏在急性炎症反应早期, 可以明显促进炎症介质的产生和释放, 加重炎症反应。脾脏切除后可减少促炎因子的产生和释放, 肠黏膜屏障受损减轻。

[关键词] 胰腺炎; 脾/生理学; 炎症介质; 大鼠

[中国图书资料分类法分类号] R 657.51; R 331.21 [文献标识码] A

Experimental study on the influence of spleen on the release of inflammatory mediator in rats with acute pancreatitis

LU Zheng¹, ZHU Yan-Liang², HE Chang-Lin¹, LIU Mu-Lin¹, LIU Jin-Xin¹

(1. Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004; 2. Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the influence of spleen on the production and release of inflammatory mediator in acute pancreatitis. **Methods:** Acute necrotizing pancreatitis (ANP) was induced in SD rats by injecting 3% sodium taurocholate and trypsin into the biliopancreatic duct. All rats were divided into four groups randomly: sham operation group, splenectomy group, acute pancreatitis with splenectomy group, and acute pancreatitis group. The serum levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-10 in each group were examined. The terminal ileum was excised to observe the injury of intestinal mucosal barrier by optical microscope and electronic microscope. **Results:** The serum levels of TNF- α , IL-1 β and IL-10 in the acute pancreatitis with splenectomy group were significantly lower than those in the acute pancreatitis group ($P < 0.01$). Histological examination revealed mild edema of mucosal epithelium and normally appearing intact mucosal barrier in the acute pancreatitis with splenectomy group, whereas acute pancreatitis group revealed severe injuries including apparent edema, necrosis of the intestinal villi, degeneration of epithelial cell and infiltration of neutrophils. **Conclusions:** Spleen may promote the production and release of inflammatory mediators in acute inflammatory response, and aggravate the inflammatory response. Splenectomy can reduce the production and release of inflammatory mediators, thus decrease the damage of intestinal mucosal barrier.

[Key words] pancreatitis; spleen/physiology; inflammatory mediator; rats

脾脏是人体重要的免疫器官, 关于脾脏在抗细菌感染、对肿瘤的生长、门静脉高压症中的巨脾等方面的作用已有深入研究, 但其在急性全身炎症反应中的作用如何还知之甚少。我们以大鼠急性胰腺炎模型复制全身炎症反应综合征(SIRS), 探讨脾脏在SIRS中对炎症介质释放的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 SD大鼠(蚌埠医学院实验动物中心提供), 雌雄分笼饲养, 体重250~350 g。实验动物随机分为4组: 假手术组(8只); 脾切除组(8只); 急性胰腺炎组(10只); 脾切除+急性胰腺炎组(10只)。上述各组动物均于术后24 h检测血清淀粉酶(碘-淀粉法)、肿瘤坏死因子(TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6和IL-10。各组动物均于术后48 h取胰腺和末段回肠组织行光学显微镜和透射电子显微镜检查。

1.2 实验试剂 牛磺胆酸钠(华美生物工程有限公司), 胰蛋白酶(上海生工公司), 检测TNF- α 、IL-1 β 、IL-6及IL-10 ELISA试剂盒(上海森雄科技实业有限公司)。

[收稿日期] 2004-09-08

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学研究资助项目(99j0148)

[作者单位] 1. 蚌埠医学院附属医院 普外科, 安徽蚌埠 233004(现为上海第二医科大学外科学博士研究生); 2. 华中科技大学同济医学院, 湖北武汉 430030

[作者简介] 鲁正(1972-), 男, 安徽亳州人, 博士研究生, 主治医师, 讲师。

1.3 动物模型^[1] 大鼠急性胰腺炎模型制作: 进腹后找到胆胰管, 用丝线结扎胆胰管入十二指肠端, 胆胰管肝门端用小动脉夹阻闭, 以 4 ½ 针头从胆胰管远端逆行行胰胆管穿刺, 注入 3% 牛磺胆酸钠 (0.7 ml/kg) 及胰蛋白酶 (3 000 u/kg), 注毕后去除结扎丝线及小动脉夹, 逐层缝合腹壁。脾切除+胰腺炎组则在脾切除一周后再按上述制作胰腺炎模型。实验动物采用腹腔注射 3% 硫喷妥钠 (40 mg/kg) 麻醉, 手术按无菌操作。假手术组仅行简单剖腹术, 进腹后用手翻动胃、脾及胰腺后复置于原位即关腹。

1.4 统计学方法 采用方差分析和 q 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠血清淀粉酶、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 IL-10 水平 胰腺炎组及脾切除+胰腺炎组血清淀粉酶较假手术组及脾切除组血清淀粉酶显著增高 ($P < 0.01$)。胰腺炎组同假手术组及脾切除组相比, TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 IL-10 水平均显著升高 ($P < 0.01$), 胰腺炎组同脾切除+胰腺炎组相比, TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 IL-10 水平均增高, 其中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-10 差异均有显著性 ($P < 0.01$) (见表 1)。

表 1 4 组血清淀粉酶、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	淀粉酶 (u/L)	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)
假手术组	8	1 683.15 \pm 121.4	0.00 \pm 0.00	15.57 \pm 6.21	10.09 \pm 1.48	1.44 \pm 0.52
脾切除组	8	1 626.50 \pm 168.6	0.13 \pm 0.22	18.62 \pm 6.53	11.01 \pm 2.58	0.67 \pm 0.52
胰腺炎组	10	10 058.10 \pm 1 824.8 **	19.93 \pm 2.38 **	42.79 \pm 4.31 **	20.19 \pm 3.35 **	39.28 \pm 12.69 **
脾切除+胰腺炎组	10	3 397.70 \pm 991.7 $\Delta\Delta$	3.06 \pm 3.61 $\Delta\Delta$	16.46 \pm 5.52 $\Delta\Delta$	19.90 \pm 6.89	6.94 \pm 3.93 $\Delta\Delta$
F	—	122.85	163.49	51.75	10.72	64.02
P	—	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01
$MS_{组内}$	—	1 222 575.713	5.269	31.558	25.031	49.753

q 检验: 与假手术组和脾切除组比较 ** $P < 0.01$, 与胰腺炎组比较 $\Delta\Delta P < 0.01$

3 讨论

机体在遭受严重创伤、感染等疾病打击时, 炎症细胞大量激活, TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等促炎因子大量释放, 引起全身炎症反应综合征^[2], 可使组织细胞遭受损害, 进一步发展还可引起多器官功能障碍综合征 (MODS)^[3]。忽视对炎症反应的早期认识和积极干预, 常痛失早期有利的治疗时机, 产生严重后果。

我们以急性胰腺炎模型复制大鼠全身炎症反应综合征, 观察脾脏在其中的作用。在实验中发现, 胰腺炎组大鼠促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均明

2.2 各组大鼠胰腺及末段回肠病理学改变

2.2.1 大体观察 (1) 假手术组及脾切除组: 无腹腔积液, 胰腺及小肠未有明显改变。(2) 胰腺炎组: 大量淡红色血性腹腔积液, 胰腺水肿明显, 可见片状出血及灶性坏死, 胰周及肠系膜大量皂化斑, 肠壁增厚、水肿, 失去光泽。(3) 脾切除+胰腺炎组: 腹腔内中等量淡黄色腹腔积液, 约 3~4 ml, 胰腺水肿, 点状出血, 坏死少见, 散在皂化斑, 肠壁轻微水肿。

2.2.2 光镜检查 (1) 假手术组及脾切除组: 胰腺及小肠未见明显病理改变。(2) 胰腺炎组: 胰腺间质明显水肿, 炎细胞浸润, 片状出血, 灶性坏死, 小叶轮廓不清, 肠黏膜上皮水肿明显, 绒毛排列紊乱, 部分脱落、缺失。(3) 脾切除+胰腺炎组: 胰腺间质水肿, 充血, 炎细胞浸润, 可见点状出血, 偶见坏死灶, 小叶轮廓存在, 肠黏膜上皮仅轻微水肿, 肠黏膜屏障基本完整。

2.2.3 电镜检查 (1) 胰腺炎组: 可见回肠上皮细胞变性, 胞质线粒体嵴消失及空泡形成, 核固缩, 核形不规则, 上皮可见炎细胞浸润及细菌。(2) 脾切除+胰腺炎组: 回肠仅上皮及间质水肿, 胞质半透明, 线粒体肿胀, 核大, 染色质疏松。

显升高。在形态学方面, 可见大鼠肠黏膜发生明显变化, 这说明在急性胰腺炎早期, 异常激活的胰酶在引起胰腺细胞本身损伤的同时, 也导致胰腺局部炎症反应, 释放炎症介质, 这些介质进入血液循环后, 又激活机体其它炎症细胞释放大量炎症介质, 发生“瀑布式反应”, 产生 SIRS。此外, 大量炎症介质的释放亦可导致器官微循环障碍, 肠道是最先受累的内脏器官, 由于持续的低灌注、缺血、缺氧, 导致肠黏膜屏障功能受损, 通透性增加, 使得细菌和内毒素易于通过黏膜向肠壁的微血管和淋巴管移动, 从而发生细菌移位。在这里细菌移位既是肠屏障功能障碍的后果, 也是 MODS 发生在肠道的一种前期表现。

[文章编号] 1000-2200(2005)02-0112-02

·急性胰腺炎基础与临床研究·

大黄素对重症急性胰腺炎大鼠腺泡细胞凋亡的影响

刘牧林, 刘瑞林, 姜从桥, 马良龙, 方先业

[摘要] 目的: 探讨大黄素对重症急性胰腺炎大鼠腺泡细胞凋亡的影响。方法: SD 大鼠 30 只, 随机分为对照组、胰腺炎组和大黄素组, 5% 牛磺胆酸钠 1 ml/kg 制作大鼠重症急性胰腺炎模型, 大黄素组为模型制作完成时及 3 h 后腹腔内注射大黄素 2.5 mg/kg, 观察 12 h 后各组大鼠血清淀粉酶、IL-6 和腺泡细胞凋亡情况。结果: 大黄素组血清淀粉酶、IL-6 值低于胰腺炎组 ($P < 0.01$), 细胞凋亡指数增加 ($P < 0.01$), 病理损害减轻。结论: 大黄素促进重症急性胰腺炎大鼠腺泡细胞凋亡, 减少淀粉酶和 IL-6 释放, 减轻胰腺病理损害。

[关键词] 胰腺炎; 大黄素; 凋亡; 大鼠

[中国图书资料分类法分类号] R 657.51; R 975.3 [文献标识码] A

Influence of emodin on pancreatitic acinar cell apoptosis in rats with acute pancreatitis

LIU Mu-lin, LIU Rui-lin, JIANG Cong-qiao, MA Liang-long, FANG Xian-ye

(Department of Gastrointestinal Surgery, Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of emodin on apoptosis of pancreatic acinar cells in rats with acute pancreatitis. **Methods:** Thirty SD rats were randomly divided into control group, acute necrotizing pancreatitis (ANP) group, and emodin group. 5% sodium deoxycholate was injected into the intrapancreatobiliary duct to establish acute pancreatitis models and emodin was injected intraperitoneally to induce pancreatic acinar cell apoptosis. The changes of serum amylase, interleukin-6 and apoptosis index were observed. **Results:** The level of serum amylase and interleukin-6 was lower in the emodin group than that in the ANP ($P < 0.01$). Apoptosis index was higher in the emodin group than that in the ANP ($P < 0.01$). **Conclusions:** Emodin can induce pancreatic acinar cell apoptosis, decrease the level of amylase and interleukin-6, and relieve the hemorrhage and necrosis of pancreas.

[Key words] pancreatitis; emodin; apoptosis; rats

重症急性胰腺炎病情危重, 并发症多, 病死率高。胰腺腺泡细胞损伤释放胰酶和炎症介质是其病情危重关键因素。研究发现胰腺腺泡细胞凋亡与胰腺炎病情呈负相关^[1]。大黄抑制胰腺炎患者炎症介质释放, 减轻胰腺炎病情, 确切机制未完全阐明, 大黄对胰腺炎腺泡细胞凋亡是否有影响, 能否促使已受损不能恢复的腺泡细胞凋亡尚无一致结论。

[收稿日期] 2004-09-17

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学研究资助项目(2002kj213)

[作者单位] 蚌埠医学院附属医院 胃肠外科, 安徽蚌埠 233004

[作者简介] 刘牧林(1966-), 男, 安徽灵璧县人, 副主任医师, 副教授。

脾脏作为人体最大的免疫器官, 它可以产生多种抗体和细胞因子, 同时对其它器官中的免疫细胞起重要的调节作用。本实验中可以看到, 脾脏切除后丧失了对机体的免疫调节作用, 抑制了机体的免疫反应, 使得免疫活性细胞对外源性刺激的敏感性下降, 有活性的炎症介质产生及释放减少, 炎症反应减轻, 肠黏膜屏障基本保持完整, 细菌移位率降低。

因此, 我们认为脾脏对免疫活性细胞具有重要的调节作用。在急性炎症反应早期, 脾脏可以明显

1 材料与方法

1.1 模型制作与分组 选用 SD 大鼠 30 只, 体重 220~250 g, 随机分为三组(对照组, 重症胰腺炎组, 大黄素治疗组), 每组 10 只, 对照组为假手术组, 开腹后翻动胰腺即关腹。重症急性胰腺炎模型组经胰胆管注入 5% 牛磺胆酸钠 1 ml/kg, 大黄素治疗组制作胰腺炎模型后, 腹腔内注射大黄素 2.5 mg/kg, 3 h 后重复 1 次, 对照组和模型组腹腔注射等量生理盐水。

1.2 测定指标 12h 取心脏血 -80 °C 后保存备

促进炎症介质的产生和释放, 加重炎症反应, 充分认识脾脏在这一方面的作用, 采取适当措施抑制其功能, 可为预防 SIRS 的发生提供一种新的思路。

[参考文献]

- [1] Liu Q, Djuricin G, Rossi H, et al. The effect of lexipafant on bacterial translocation in acute necrotizing pancreatitis in rats[J]. *Am Surg*, 1999, 65(7): 611~616.
- [2] Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery[J]. *Surgery*, 2000, 127(2): 117~126.
- [3] 黄志强. 腹部外科与多器官功能障碍综合征[A]. 见: 黄志强主编. 腹部外科学理论与实践[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 84~90.