DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.04.019

文章编号:1000-5404(2000)04-0345-04

论著

使用渗透压泵以Caerulein诱导大鼠急性轻度水肿性胰腺炎模型

刘旭盛[1], John A. Windsor[2], Glenn James Farrant[2], Fikri M. Abu-Zidan[2], L. Jonathan Zwi[2] ([1]第三军医大学附属西南医院烧伤研究所,重庆 400038;[2]新西兰奥克兰市奥克兰大学奥克兰医院外科)

提 要:目的 建立一方便、实用和易于操作的轻度水肿性胰腺炎模型以更好地对急性胰腺炎的发病机制及防治措施进行研究。方法 采用Wistar大鼠,以Caerulein作为急性水肿性胰腺炎的刺激诱导剂,将Caerulein预灌入一特制的渗透压泵(Alzet)中,再将该泵植于大鼠左下腹,以静脉输入方式,将Caerulein由股静脉缓慢输入血液而诱发胰腺炎。结果 由病理组织检查证实,以Caerulein(312.5 mg/L, 8 μl/h)静脉灌注6 h即显示明显组织水肿,大体检查胰腺各小叶间被清亮的胶冻样液体分隔,光镜检查显示胰腺间质水肿和明显的空泡化,但无炎症浸润;而仅以生理盐水灌注者则未见胰腺组织学的明显变化。结论 采用渗透压泵植入大鼠腹部皮下以Caerulein缓慢静注能够可靠地诱导轻度水肿性胰腺炎(组织学证实),该技术具有操作方便,效果可靠,并减少对动物干扰性操作的优点。

关键词:胰腺炎;渗透压泵;Caerulein
中图法分类号: R-332;R576 文献标识码:A

Caerulein-induced acute edematous pancreatitis with osmotic pump in rats

LIU Xu-sheng, John A. Windsor, Glenn James Farrent, Fikri M. Abu-Zidan, L Joqnathan Zwi (Research Institute of Burn Injury, Southwestern Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To establish a refined model of intravenous Caerulein-induced edematous pancreatitis in order to study the pathogenesis and therapeutic protocols of the disesase. **Methods** Wistar rat was employed. The osmotic pump pre-filled with Caerulein and saline was implanted into a subcutaneous pocket in the left iliac fossa of the animal. Caerulein was then infused via femoral vein to induce pancreatitis. **Results** Pathological examination revealed obvious tissue edema of the pancreas in the rat 6 hours after Caerulein infusion. The gross appearance of the pancreas exhibited edema with a clear 'gel-like' fluid separating the pancreatic lobules. Interstitial edema and marked vacuolization without inflammatory infiltrations in the Caerulein-infused rats were observed with light microscopy. There was no remarkable pathological changes in the pancreas of rats infused with normal saline. **Conclusion** The advantages of using implantable osmotic pump to infuse Caerulein to rats are the facilitation of animal handling, unrestriction of animal movement in cages and reduction in time lost due to acclimatization of the rat to new housing conditions.

Key words: pancreatitis; osmotic pump; Caerulein

由Caerulein诱导的急性水肿性胰腺炎是非致命性的,可重复和可逆转[1,2],该模型已被用于研究急性胰腺炎发病机制。过去建立这些模型曾遇到一些问题,尽管使用一种机械泵行静脉注射Caerulein可以提供准确的输注,但需要束缚动物,这常常导致一定的生理刺激,其反过来又延缓实验以使动物能够习服,而机械输入泵的昂贵价格是其又一弊端;静脉输注的另一种替代方法即多次腹腔或皮下注射,但这种操作又对动物产生反复的严重应激刺激。而可靠、价廉又可植

基金项目:WHO 1998/1999年度基金

作者简介:刘旭盛(1962-),男,河南省平顶山市人,博士,副主任医师,副教授,主要从事烧伤后脏器功能损害、创面愈合方面的研究,发表论文30篇。电话:(023)68754149-8036

收稿日期:1999-10-18;修回日期:1999-12-22

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

入的持续静脉输入装置的出现，使我们有机会改良现有的由Caerulein诱导的胰腺炎。本研究即衡量使用一种可植入的渗透压泵引导的轻度水肿性胰腺炎模型的利弊。

1 材料和方法

1.1 实验动物与分组

使用无特定病原（SPF）成年雄性Wistar大鼠（300～405 g，2～3月龄）。将这些大鼠在奥克兰大学医学院动物研究室进行喂养，喂以"Diet 86"食物粒（New zealand stock feeds）。所有动物在实验前均禁食18 h，但动物可自由饮水，动物衬垫用锯末，环境温度维持于21℃～22℃，湿度于55%～56%，给动物以12 h轮流光照和黑夜，本研究获奥克兰大学动物伦理委员会批准，并符合新西兰动物保护条约和条例。

30只大鼠被分为5个实验组：1组（n=6）：对照组；2组（n=6）：生理盐水灌注6 h；3组（n=6）：生理盐水灌注24 h；4组（n=6）：Caerulein灌注6 h；5组（n=6）：Caerulein灌注6 h，再继而生理盐水18 h。静脉内以超生理剂量输注Caerulein（5～10 $\mu g \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$）12 h可导致最重的胰腺损伤[2,8]，而行6 h静脉输注Caerulein已显示可诱导轻度水肿性胰腺炎[2]，我们又进一步观察了灌注后18 h后的胰腺炎严重程度。

1.2 渗透压泵的准备

该泵呈胶囊状（3 cm×0.7 cm）。它由包围着药池的两层膜组成，而药池是可压缩的弹性囊，内层膜是等渗盐袖套，它围绕着药池，外层是一层刚性半通透膜，将泵植入皮下后，组织间液渗透压经外层半透膜，继而压迫内层药池使其中的药物Caerulein排出，这层外膜半通透的特性控制药物输入的速度，由于仅需输入药物6 h，我们选择以生理盐水准备泵而以计算出一定量的Caerulein注满导管。其作用原理：Alzet渗透压泵植入皮下后，组织间液经外膜入膜间腔，使其压力增加，压迫内膜使内囊内压力增加，导致内囊内液体经静脉插管排入静脉内，静脉插管前段的Ceanulein因此而被挤入静脉内导致胰腺炎。

在本实验中所用的泵为Alzet R2001 D（Alzat公司，Palo Alto，California），其输注速度为8 μl/h，可输入24 h，囊内药池中以无菌术充以200 μl生理盐水，静脉内插管选取PE-55聚乙烯管（内径0.8 mm，外径1.2 mm，由澳大利亚新南威尔士，Critchley electrical products制造），取该管11.2 cm，这相当于内部容量56 μl，其保证每只动物接受最少6 h，48 μl的灌注，该管道然后以Virkon液（Antec international，VK）冲洗去污染，再以蒸馏水冲净。将硫酸Caerulein（Sigma-Aldrich PTY，Australia）以无菌生理盐水稀释成312.5 mg/L后再分装每份56 μl，而后冰冻储存直到需要，Caerulein的灌注速度随大鼠体重而变化于6.5～7.1 $\mu g \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$，据各组分组，将Caerulein或生理盐水，用1 ml注射器连接21 G平头皮下注射针以无菌技术自EP离心管吸取定量的Caerulein或生理盐水按分组分别注入PE-55管内，在药物泵内的生理盐水仅被用于将套管内容冲出，为减少Caerulein被生理盐水在管内的混合稀释，在向导管内灌注液体时，以小气泡（1 mm长）将Caerulein与生理盐水分开，灌注后将注射器继续连接于导管上直到将导管与泵相连，从而减少自导管流出任何Caerulein或生理盐水，将连导管的泵置37℃水浴预处理3 h，从而保证药泵在插入时处于最理想的工作状态，并减少植入后在导管内形成血凝块的危险。

1.3 药物泵的植入

在全身麻醉下施行植泵术，以5%Halothane（氟烷）和2 L/min的氧灌入一塑料引导盒内行初始麻醉，并以2.5% Halothane和1.5 L/min氧经鼻罩吸入作维持麻醉。在手术显微镜下，从大鼠左腹股间作一斜行切口暴露左侧股静脉，在操作前以0.2 ml 1%利多卡因浸润麻醉，将该静脉远端以4-0棉线结扎（结扎点高于旋静脉，从而不影响侧支循环），经静脉切开术后插导管，再以2条4-0线将导管与静脉固定结扎，然后将药物泵植于左侧髂窝部皮下，将伤口以3-0丝线连续缝合双层封闭，术后每只鼠给予肌内注射叔丁啡0.1～0.2 mg/kg（Temgesic，reckitt and colman）作止痛剂[9]，然后送回鼠盒使其恢复，术后允许自由进食、水，所有动物在实验结束后均在氟烷吸入麻醉下行心内注射苯巴比妥钠200 mg/kg（Phenobarbitone）致死，第1组大鼠在禁食后18 h活杀，第2组和第4组在术后6 h后活杀，第3组和第5组则在术后24 h活杀。

1.4 胰腺组织学检查

在实验结束后将胰腺取出行组织病理学检查，先将其固定于10%福尔马林，然后经分段酒精和二甲苯脱水，并以石腊包埋，行连续切片后以苏木紫和伊红染色，采用Kyogokn等[6]计分系统对胰腺病理组织学改变进行计分，其计分根据以下5项标准：水肿（0～3），炎症浸润（0～3），胰腺组织实质出血（0～3），胰腺实质坏死（0～3）和空泡化（0～3）。计分结果采用Mann whitney U检验。

2 结果

平均手术时间约25 min（20～45 min），包括术前准备和麻醉时间，1只大鼠因股静脉撕裂出血而术中死亡，另有2只大鼠因技术问题使导管与药泵脱离，这些均被从实验组排除不计。第4组（Caerulein灌注6 h）大鼠胰腺的大体表现明显不同于第2和第3组大鼠（接受6 h和24 h生理盐水灌注），在第4组大鼠经6 h的Caerulein灌注后表现明显水肿，并且胰腺各小叶（岛）间被清亮的胶冻样液体分隔，见图1，第5组大鼠（6 h Caerulein灌注和18 h生理盐水灌注）亦与第2组及第3组（6 h和24 h生理盐水灌注）大鼠相似。组织学变化显示相似的模式，见表1，在第4组大鼠（Caerulein灌注6 h），其胰腺显示间质水肿和明显的空泡化，但无炎症浸润，见图2，相比之下第5组大鼠（6 h Caerulein后再行18 h生理盐水）显示水肿和空泡化程度较轻，但出现一些炎症浸润，而在第2组和第3组（仅以生理盐水灌注）的大鼠胰腺则未见组织学变化。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　输注 Caerulein 后胰腺的病理组织学改变评分($n=6$)

Tab 1　Histological examination scoring of pancreas after caerulein infusion($n=6$)

Time after infusion	Interstitial edema	Inflammatory infiltrate	Haemorrhage	Parenchymal necrosis	Vacuolization
Group 4	2(1 ~ 2)*	0(0 ~ 1)	0	0	2(2 ~ 3)**
Group 2	0	0	0	0	0
Group 5	0(0 ~ 3)	1(0 ~ 1)	0	0	1(1 ~ 2)
Group 3	0	0	0	0	0

Group 4: Caerulein 6 h; Group 2: NS 6 h; Group 5: Caerulein 6 h + NS 18 h; Group 3: NS 24 h; * : $P=0.07$, ** : $P<0.02$ *vs* group 5

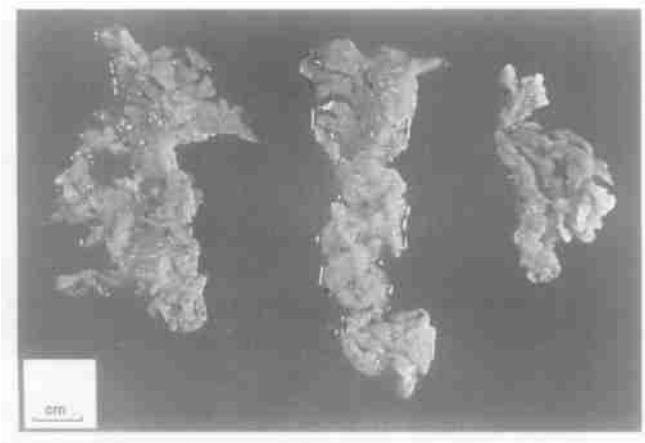


图 1　轻度水肿性胰腺炎大体标本

Fig 1　Gross oppearance of mild edematous pancreatitis

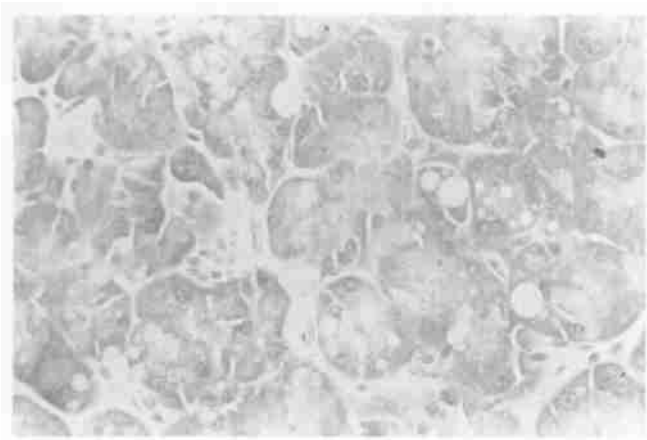


图 2　第 4 组大鼠水肿性胰腺炎　(HE× 200)

Fig 2　Edematous pancreatitis in group 4　(HE× 200)

3　讨论

本研究已显示利用渗透压泵在 Wistar 大鼠建立一可靠的由 Caerulein 诱导的轻度水肿性胰腺炎模型。我们所描述的本模型所采用的技术比过去所采用的技术有优越性[2]，这些包括对大鼠的喂养、操作和束缚，以及用于监视动物所花时间，在喂养装置方面通常的方法是在 1 个笼内养 3 只雄性大鼠，这一技术允许我们把动物与它们的同伴放在同一笼内，避免了让大鼠对单笼喂养的习服，在植入泵后大鼠的活动并未受到明显限制，对大鼠操作也减少到仅为麻醉和称重的时间；本模型的另一特点即减少用于监视控制试验的时间，在温浴前预置 3 个渗透压泵的时间大概 15 ~ 20 min，平均手术时间为 25 min，其包括在 2 次动物操作间隙准备装置和麻醉时间，一旦将泵植入，在术后 6 ~ 8 h 我们对动物进行观察，以确定是否再需要镇痛剂。本模型有 3 个潜在的问题：结扎股动脉的影响；创面的位置；镇痛剂叔丁啡对胰腺炎的影响。在结扎股静脉后未发现肢体静脉凝血的证据，提示其侧支循环良好。有 2 种原因使我们选取股静脉而非髂内静脉插管，带有 11.2 cm 长导管的渗透药泵置于下腹部皮下张力较小，这种泵必需在植入后 1.5 d 取出，而后续的试验将利用这模型再行腹部切开术，在切开腹部时可以很容易将位于左髂窝皮下的泵取出，只简单夹闭结扎和切断导管而避免再打开原植入创面；另一个潜在问题是由于腹股沟创面是大鼠头部可屈颈触及的，但我们并未发现大鼠有干扰创面的情况；最后令人关心的是叔丁啡对胰腺炎的作用，将叔丁啡作镇痛剂是考虑到作用时间长（6 ~ 8 h），以及被证明在动物内脏疼痛的外科操作中的有效性[10]，人体研究发现本药不影响 Oddi 氏括约肌的功能[11]，然而有证据提示叔丁啡可减轻由 Caerulein 诱导的大鼠胰腺炎的程度[12]，但这并不成为使用禁忌，因为我们仅要制作的是轻度非致命性胰腺炎。在本实验中第 4 组和第 5 组的病理改变差异可能与胰腺炎症反应的不同时相有关，即在第 4 组的灌注后 6 h，以水肿和空泡化为主，而至 24 h，则以炎症浸润为主。

Alzet 渗透压泵已被广泛用于 40 多种不同的复合物而进行输注。在材料消耗方面，本模型有节约消费

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

和较少浪费Caerulein和导管的优点，仅仅将所需输入的药量注入导管而在输入时又不需预置很长的束缚线，该泵均一次性使用，它使我们在每天设计进行动物实验数量时有较大灵活性。

总之，在诱导Wistar大鼠轻度水肿性胰腺炎时我们使用了可植入的渗透压输入泵并显示其实用的优越性，其优点即减少对动物的干扰次数，使其在笼内不受约束地运动，又减少让动物对新喂养环境进行习服适应的时间。

参考文献：

[1] Banerjee A K, Galloway G W, Kingsnorth A N. Experiment models of acute pancreatitis[J]. Br J Surg, 1994, 81(8): 1 096—1 103.

[2] Willemer S, Elsasser H P, Adler G. Hormone-induced pancreatitis[J]. Eur Surg Res, 1992, 24(Suppl 1): 29—39.

[3] Watanabe O, Baccino F M, Steer M L, *et al*. Supramaximal caerulein stimulation and ultrastructure of rat pancreatitic acinar cell: Early morphological changes during development of experimental pancreatitis[J]. Am J Physiol, 1984, 246 (Gastrointest. Liver Physiol 9): G 457—G 467.

[4] Rattner D W. Experimental models of acute pancreatitis and their relevance to human disease[J]. Scand J Gastroenterol, 1996, 31(Suppl 219): 6—9.

[5] Fiedler F, Croissant N, Rehbein C, *et al*. Acute-phase response of the rat pancreas protects against further aggression with severe necrotizing pancreatitis[J]. Crit Care Med, 1998, 26(5): 887-894.

[6] Kyogoku T, Manabe T, Tobe T. Role of ischemia in acute pancreatitis, haemorrhagic shock converts edematous pancreatitis to haemorrhagic pancreatitis in rats[J]. Digestive Diseases Science, 1992, 37(9): 1 409—1 417.

[7] Schmidt J, Rattner D W, Lewandrowski K, *et al*. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy[J]. Ann Surg, 1992, 215(1): 44—56.

[8] Lampel M, Kern H. Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of a pancreatitic secretagogue[J]. Virchows Arch Path Anat, 1977, 373(2): 97—117.

[9] Wereszczynska-Siemiatkowska U, Nebendahl K, Pohl U, *et al*. Influence of buprenorphine on acute experimental pancreatitis [J]. Research Experimental Medicine, 1987, 187(3): 211—216.

[10] Liles J H, Flecknell P A. The influence of buprenorphine or bupivacaine on the post-operative effects of laparotomy and bile duct ligation in rats[J]. Laboratory Animals, 1993, 27 (4): 374—380.

[11] Staniitz M, Poralla T, Manns M, *et al*. Effect of modern analgesic drugs (tramadol, pentazocine, and buprenorphine) on the bile duct sphincter in man[J]. Gut, 1986, 27(5): 567—569.

[12] Ogden J M, Modlin I M, Gorelick F S, *et al*. Effect of buprenorphine on pancreatic enzyme synthesis and secretion in normal rats with acute edematous pancreatitis[J]. Digestive Diseases Science, 1994, 39(11): 2 407—2 415.

（编辑 陈聪连）

（上接344页）

测血压、脉搏、呼吸、体温和血氧饱和度1周，稳定后根据病情给予更改。体温升高超过39℃提示排斥和感染的可能，脉搏增快而血压下降，在早期提示出血可能性，脉搏增快而血压升高，提示有左心衰发生的可能性，在后期脉搏、血压的变化是观察排斥和水电解质平衡的重要指标，呼吸频数，应警惕术后肺萎陷和肺炎。血氧饱和度低于90%，提示病人缺氧严重应加大吸氧浓度。

2.1.2 排斥反应的观察 胰肾联合移植排斥反应特点是：肾脏排斥在先，胰腺排斥在后，肾排斥易早期出现，临床症状有移植肾区胀痛，体温、血压升高、尿少、血肌酐、尿素氮升高。胰腺排斥临床表现主要有：早期移植胰区疼痛、食欲下降、血压高、尿淀粉酶下降、血淀粉酶升高、胰液中出现单核细胞、后期尿糖、血糖升高，C-肽水平异常，彩色多普勒超声检查，二者均可出现移植器官体积增大，血流改变，阻力指数增加，经及时抗排斥治疗后以上症状可逐渐消失。

2.1.3 引流液的观察 病人术后给予腹腔引流，胰周引流及膀胱引流。引流是观察术后并发出血感染、吻合口瘘、动静脉血栓形成的最直接指标，若引流血液不止，且出现局部血肿并有扩大趋势，同时脉搏增快，血压下降，可能发生吻合口漏血或破裂出血，应立即紧急手术处理。若胰周引流液每日超过500 ml，应警惕胰漏的发生，若膀胱引流在术后3～5 d每小时小于100 ml，应警惕加速排异反应发生，若引流尿液持续暗红色，应进行膀胱冲洗，防止感染和尿管堵塞。

2.1.4 注意观察病人有无呕血、黑便及下肢静脉血栓形成，据文献报道75%受者可发生代谢性酸中毒[1]和脱水，所以术后应每天监测血常规、电解质和血气分析，发现异常及时处理。

2.2 预防感染

0.25%氯霉素眼液、吗啉胍眼液交替点眼1次/2 h；1∶5 000呋喃西林液、5%碳酸氢钠液交替漱口4次/d；超声雾化吸入2次/d，大佛喉露喷喉4次/d；保持会阴干燥、清洁，并给予0.1%新洁尔灭棉球擦洗会阴及尿道口6次/d。鼓励病人多喝水，以稀释尿液，减轻胰腺分泌物对尿路的刺激，每日更换尿管、尿瓶保持管道通畅，防止折叠及扭曲，必要时行持续膀胱冲洗以预防泌尿系感染的发生。

关键词：移植；胰-肾同期联合移植；护理
中图法分类号：R617 文献标识码：B

参考文献：

[1] 陈兴富，李炎唐．胰肾联合移植．中华器官移植杂志，1995，7(3)：16—17.

（编辑 薛国文）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net