DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.05.032

胰酶自身消化在大鼠急性出血坏死性胰腺炎病程中的作用

范林军* 顾红光 段恒春 王救川 (第三军医大学附属西南医院肝胆外科中心) 重庆, 400038

提 要 目的: 探讨急性出血坏死性胰腺炎(AHNP)病程中胰酶自身消化对胰腺病变的作用程度及胰酶活性与胰腺病变之间的关系。方法: 以3%牛磺胆酸钠经胆胰管逆行注射制成大鼠AHNP, 观察血清、十二指肠液、胰腺组织胰酶活性变化及胰腺组织学改变。结果: 在AHNP 6 h出现严重的胰腺出血坏死, 血清胰酶活性显著升高($P < 0.01$), 十二指肠液、胰腺组织胰酶活性显著降低($P < 0.01$), 12 h后3种胰酶活性呈进行性降低, 胰腺组织学改变则进行性加重。结论: 胰酶自身消化是AHNP早期胰腺病变的主要原因, 血清、十二指肠液及胰腺组织中淀粉酶(AMS)、脂肪酶(LPA)、磷脂酶A_2(PLA_2)活性各呈一致的变化趋势, 十二指肠液胰酶活性变化能够反映胰腺的病变程度。

关键词 急性胰腺炎; 胰酶; 自身消化
中图法分类号 R576

急性出血坏死性胰腺炎(Acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis, AHNP)是一种病因复杂、病情凶险的危重急症, 已经证实胰酶自身消化作用是急性胰腺炎的主要原因, 但其确切的发病机制尚不完全清楚。本实验应用大鼠胆胰管内逆行注射牛磺胆酸钠所制作的AHNP模型, 对胰酶自身消化在AHNP病程中的作用进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 动物模型及实验分组

健康Wistar大鼠64只, 月龄3~4月, 体重180~250 g, 雌雄不限, 随机分为: ① 对照组(16只): 测各指标的正常值; ② 胰腺炎组(48只): 随机分为3小组, 每组16只, 参照Aho等[1]的方法(应用3%的牛磺胆酸钠)制成AHNP模型后分别在6、12、24 h处死。

1.2 观察指标

1.2.1 胰腺组织学检查 常规制作病理切片(HE染色), 光镜观察, 并按Spormann等[2]的方法进行评分。

1.2.2 血清、十二指肠液及胰腺组织胰酶活性 淀粉酶(AMS)采用碘比色法, 脂肪酶(LPA)采用浊度法[3], 磷脂酶A_2(PLA_2)采用酸滴定法[4](应用$\oint$ 72 pH值, pH灵敏度为0.001, Beckman, 美国)。

1.3 数据处理

实验数据均以$\bar{x} \pm s$表示, 并用方差分析及t检验分别作相差和相关的显著性检验。

2 结果

2.1 胰腺组织学改变

AHNP模型制成后6 h出现大片胰腺小叶坏死, 坏死区边缘有严重的出血及炎细胞浸润, 间质中出现小灶性脂肪坏死, 12 h出现大片小叶溶解性坏死, 但小叶轮廓仍清晰, 间质中有大片脂肪坏死, 并有脂肪酸钙形成; 24 h后坏死小叶中出现严重的炎细胞浸润, 小叶轮廓破坏, 其边缘的腺泡细胞出现空泡变性, 病理评分结果分别是19.3±2.6(6 h), 22.4±1.2(12 h)和25.4±1.2(24 h)。

2.2 血清AMS、LPA、PLA_2活性见表1

胰腺炎组各时相点3种血清胰酶活性均比对照组显著升高($P < 0.01$), 但12 h及24 h均比6 h显著降低($P < 0.01$)。

表1 血清AMS, LPA, PLA_2活性($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The activities of AMS, LPA and PLA_2 in serum ($\bar{x} \pm s$)

	Control	AHNP		
		6 h	12 h	24 h
AMS(U/dl)	156±32	682±147△	490±108△	361±16△
LPA(IU/ml)	3.0±0.4	31.6±5.6△	20.6±5.6△#	8.5±2.7△#
PLA_2(U/ml)	55±14	219±24△	125±24△#	121±25△#

△: $P < 0.01$ *vs* control; #: $P < 0.01$ *vs* 6 h

2.3 十二指肠液AMS、LPA、PLA_2活性见表2

胰腺炎组各时相点十二指肠液3种胰酶活性均比对照组显著降低($P < 0.01$), 且6~24 h呈进行性降低, 各时相点之间均相差显著($P < 0.05$)。

* 范林军, 男, 30岁, 主治医师, 现在济南军区总医院 济南, 250031

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

表 2　十二指肠液 AMS, LPA和 PLA_2活性 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　The activities of AMS, LPA and PLA_2 in duodenal juice ($\bar{x}\pm s$)

	Control	AHNP		
		6 h	12 h	24 h
AMS(U/dl)	358± 83	157± 23△	138± 35△	86± 18△
LPA(IU/ml)	142± 31	89± 15△	74± 33△#	40± 14△#
PLA_2(U/ml)	880± 1151	5949± 893△	4820± 808△#	308± 166△#※

△: $P<0.01$ *vs* control; #: $P<0.05$ *vs* 6 h; ※: $P<0.05$ *vs* 12 h

2.4　胰腺组织 AMS, PLA_2活性见表 3

胰腺炎组各时相点 AMS, PLA_2值均比对照组显著降低($P<0.01$), 6~ 24 h进行性降低,但各时相间差异不显著($P<0.05$)。

表 3　胰腺组织 AMS和 PLA_2活性 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 3　The activities of AMS and PLA_2 in pancreatic tissue ($\bar{x}\pm s$)

	Control	AHNP		
		6 h	12 h	24 h
AMS(U/mg)	19.6± 3.2	14.7± 2.5△	14.4± 3.4△	12.6± 2.4△
PLA_2(U/100 mg)	192± 29	138± 31△	125± 25△	116± 34△

△: $P<0.01$ *vs* control

2.5　相关性分析

血清 AMS, LPA及 PLA_2间均呈显著正相关($P<0.01$),胰腺组织 AMS(x)与 PLA_2呈显著正相关($P<0.01$),十二指肠液 AMS, LPA及 PLA_2之间均呈显著正相关($P<0.01$)。胰腺炎组十二指肠液 AMS, LPA, PLA_2均与胰腺病理评分结果呈显著负相关,即随着病变的加重,十二指肠液胰酶活性呈进行性降低($P<0.01$)。

3　讨论

3.1　胰酶自身消化在 AHNP病程中的作用

胰酶自身消化在 AHNP病程中的重要作用早已引起人们的重视,但在 AHNP各阶段的作用程度目前研究不多。本研究观察到 AHNP大鼠 6 h血清胰酶活性显著升高,12 h后又进行性降低;胰腺组织及十二指肠液胰酶活性由 6~ 24 h呈持续降低,但胰腺病变呈进行性加重。这种胰酶活性与胰腺病变的不一致现象提示胰酶在 AHNP病程不同阶段的作用程度可能有差别。6 h血清胰酶显著升高是大量胰酶释入间质所致,而间质中的胰酶可直接破坏胰腺组织[5],说明胰酶的自身消化在 AHNP的早期有重要作用。但 12 h后血清、十二指肠液及胰腺组织胰酶活性持续降低提示胰酶的作用可能在逐渐减弱。Aho等[1,5]证实在 AHNP后期胰腺间质中的 PLA_2活性逐渐降低,这可能是由于脂肪坏死的加重导致胰腺组织中钙离子逐渐降低,从而抑制了 PLA_2活性,而 PLA_2是胰腺病变发生发展的关键酶,说明在 AHNP后期胰酶自身消化作用确有削弱。由此推测 AHNP病程后期胰腺病变的加重可能还有其它重要因素参与[6]。

3.2　胰酶活性与胰腺病变之间关系

血清 AMS是急性胰腺炎时的重要诊断指标,但不能反映胰腺的病变程度[7],有人认为血清 PLA_2活性能反映胰腺的病变程度[8];十二指肠液胰酶活性在急性胰腺炎时的变化尚有争议[9,10],而胰腺组织胰酶活性与胰腺病变的关系文献中报道较少。本实验发现 AHNP大鼠血清、十二指肠液 AMS, LPA, PLA_2 3者之间,胰腺组织 AMS与 PLA_2之间均呈显著的正相关,说明在一定条件下各种胰酶的合成分泌均有一定比例,且任何一种胰酶活性均可反映其它的胰酶活性。可见在 AHNP病程中血清、十二指肠液、胰腺细胞中 AMS, LPA, PLA_2活性各呈一致的变化趋势。十二指肠液 AMS, LPA, PLA_2与胰腺的病变程度有显著的相关性,而血清及胰腺组织胰酶活性与胰腺病变之间相关均不明显,这可能是由于胰腺组织胰酶包含实质及间质中的两部分,不能确切反映间质中参与自身消化的胰酶活性,血清胰酶在 AHNP早期虽可反映间质中的胰酶,但在 AHNP后期由于微循环障碍加重及胰酶自身消化作用削弱,因此均不能反映胰腺的病变程度;而十二指肠液胰酶活性能反映胰腺的外分泌功能,胰腺腺泡及胰管的破坏或水肿导致的胰管受阻均可减少胰酶的分泌,因此在 AHNP病程中胰腺的外分泌功能有显著降低,且其降低程度与胰腺病变程度有关。

参考文献

1　Aho H J, Nevalainen T J, Lindberg R L P, *et al*. Experimental pancreatitis in the rat, the role of phospholipase a in sodium taurocholate-induced acute hemorrhagic pancreatitis. Scand J Gastroenterol, 1980, 15(8): 1027

2　Spormann H, Sokolowski A, Letko G. Effect of temporary

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

ischemia upon development and histological patterns of acute pancreatitis in the rat. Pathol Res Pract, 1989, 184(5): 507

3 陈 映,缪银昌.浊度法脂肪酶试剂酶试剂盒及其应用.中华医学检验杂志, 1986, 9(1): 5

4 陈思锋,吴中立.体液和组织液磷脂酶 A_2 的简便快速测定法.第二军医大学学报, 1989, 10(3): 254

5 Beger H G, Buchler M. Acute pancreatitis. Berlin: Springer-Verlag, 1987. 71~73

6 范林军,顾红光,段恒春,等.丹参对大鼠急性出血坏死性胰腺炎的作用.第三军医大学学报, 1996, 18(4): 334

7 Schmidt J, Lewandrowski K, Fernandez-Dwl Castillo C, *et al*. Histopathological correlates of serum amylase activity in acute experimental pancreatitis. Dig Dis Sci, 1992, 37(9): 1426

8 Puolakkainen P, Valtotonen V, Paananen A, *et al*. C-reactive protein and serum phospholipase A_2 in the assessment of the severity of acute pancreatitis. Gut, 1987, 28(6): 764

9 Regan P T, Malagelada J R, Go V L M, *et al*. A prospective study of the antisecretory effects of cemetidine and glucagon in human acute pancreatitis. Mayo Clin Proc, 1981, 56(8): 499

10 Ogden J M, O'keefe S J D, Louw J A, *et al*. Duodenal juice protein and pancreatic enzyme synthesis, turnover and secretion in patients after acute pancreatitis. Gut, 1993, 34(9): 1261

(收稿: 1997-11-25;修回: 1998-02-26)
(编辑 刘 鹏)

Role of autodigestion of pancreatic enzymes in acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis in rats

Fan Linjun, Gu Hongguang, Duan Hengchun, Wang Aochuan (Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract **Objective**: To explore the effects of autodigestion of pancreatic enzymes on pancreatic lesions during acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis (AHNP) and the relationship between the pancreatic enzymes and pancreatic lesions. **Methods**: After the model of AHNP was established with retrograde injection of 3% sodium taurocholate into biliopancreatic duct in rats, the activities of pancreatic enzymes in the serum, duodenal juice and pancreas were determined and the histological changes of the pancreas observed. **Results**: At the 6th hour after AHNP, severe hemorrhage and necrosis were seen in the pancreas and the activities of the pancreatic enzymes in the serum were significantly increased ($P < 0.01$) but those in the duodenal juice and pancreas significantly decreased ($P < 0.01$). At the 12th hour after AHNP, the activities in all the three samples were progressively decreased and the histological lesions in the pancreas developed continuously. **Conclusion**: The autodigestion of pancreatic enzymes is the main cause for the early pancreatic lesions and the changes of the activities of AMS, LPA and PLA_2 are unanimous in the serum, duodenal juice and pancreas. The changes of the pancreatic enzymes in duodenal juice can reflect the severity of pancreatic lesions.

Key words acute pancreatitis; pancreatic enzyme; autodigestion; rat

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