DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.04.022

丹参对大鼠急性出血坏死性胰腺炎的作用

范林军* 顾红光 段恒春 王敖川 (第三军医大学附属西南医院肝胆外科中心) 重庆, 630038

提 要 以3%牛磺胆酸钠经胆胰管逆行注射制成大鼠急性出血坏死性胰腺炎(AHNP),并用丹参进行实验性治疗,发现对照组6 h出现严重的胰腺出血坏死及微血管破坏,血清胰酶活性显著升高($P < 0.001$),12 h后血清胰酶活性呈进行性降低,胰腺微血管及组织病变进行性加重;丹参组24 h胰腺微血管损害及组织学病变改善显著($P < 0.01$)。结果提示:微循环障碍是加重AHNP后期胰腺病变的重要因素,丹参能改变胰腺的微循环对AHNP有一定治疗作用。

关键词 急性胰腺炎;丹参;微循环
中图法分类号 R576

急性出血坏死性胰腺炎(Acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis,简称AHNP)是一种发病机理复杂、治疗棘手的危重急症,其确切的发病机理尚不完全清楚,治疗效果仍不够满意[1]。本实验应用胆胰管内逆行注射牛磺胆酸钠的方法制成大鼠AHNP模型,并使用丹参进行治疗,初步探讨AHNP病程中胰腺的微循环障碍及丹参的治疗作用。

1 材料与方法

1.1 模型制作及分组

健康Wistar大鼠112只,月龄3~4月,体重180~250 g,雌雄不限。AHNP动物模型参照Aho等[2]的方法稍加改进。所有动物随机分为3组。正常组16只:不做手术,测各指标的正常值;胰腺炎对照组48只(下称对照组):模型制成后不用任何治疗,作为各治疗组的对照;丹参治疗组48只(下称丹参组):模型制成后10 min于背部皮下注射丹参注射液(上海第一制药厂,3 g/支)100 mg/100 g鼠重,12 h一次,共用药1~2次。

1.2 观察指标

1.2.1 胰腺光镜下病理改变 动物由腹主动脉抽血5~10 ml后,参照文献[3]方法制作胰腺墨水灌注标本,作5 μm及120 μm的切片各一张,前者经HE染色观察胰腺组织学改变,并按Sporman等[4]的方法作定量分析,并经计算机图像分析处理系统(电脑软件由空军总医院及北京航空航天大学联合研制)计算血管面密度。

1.2.2 血清胰酶活性 淀粉酶(AMS)采用碘比色法,脂肪酶(LPA)采用浊度法[5],磷脂酶A_2(PLA_2)采用酸滴定法[6](应用Φ 72 pH计测pH值,pH灵敏度为0.001, Beckman,美国)。所有比色均用722分光光度计(四川仪表九厂,重庆)。

1.3 数据处理

实验数据均以$\bar{x} \pm s$表示,并用方差分析作相差的显著性检验。

2 结果

2.1 胰腺组织学改变

正常大鼠胰腺呈灰红色。以高于正常的压力将胆盐注入胆胰管后6 h即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(图1);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;24 h后坏死小叶中出现大量的炎细胞浸润,小叶轮廓破坏,其边缘的腺细胞出现空泡变性(图2)。病理评分结果显示丹参组24 h胰腺病变(21.6±2.5)比对照组(24.4±1.2)改善显著($P < 0.01$),丹参组12 h前均与对照组无显著差别。值得一提的是对照组在24 h出现显著的空泡变性,丹参组则未见明显的空泡变性。

2.2 胰腺微血管床病理改变

墨水灌注后正常大鼠胰腺血管充盈良好,呈连续密集的树枝状分布,毛细血管网完整、均匀、清晰,无墨水外漏;胆盐注射后6小时胰腺出现小片状无血管区及明显的墨水外漏,无血管区周围毛细血管网环路破坏(图3);12 h后无血管区扩大,且有大量墨水漏入血管间隙呈密集的点状或团块状分布;24 h后无血管区未见明显扩大,但毛细血管网之间有更多的墨水漏出,使毛细血管网模糊不清(图4)。丹参组各时相微血管病变在形态上与对照组无明显差别,但病变程度不同。血管面密度测定结果(表1):对照组各时相均比正常显著降低($P < 0.01$),丹参组24 h比对照组显著升高($P < 0.05$)。

表1 各组胰腺微血管床面密度(%)($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The pancreatic microvascularbed area density($\bar{x} \pm s$)

t	Normal	Control	*Danshen*
6 h	39±1	27±5△	25±4
12 h		20±6△	21±4
24 h		9±3△	14±3※

△: $P < 0.01$ *vs* normal; ※: $P < 0.01$ *vs* control

* 济南军区总医院普外科 济南, 250031

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

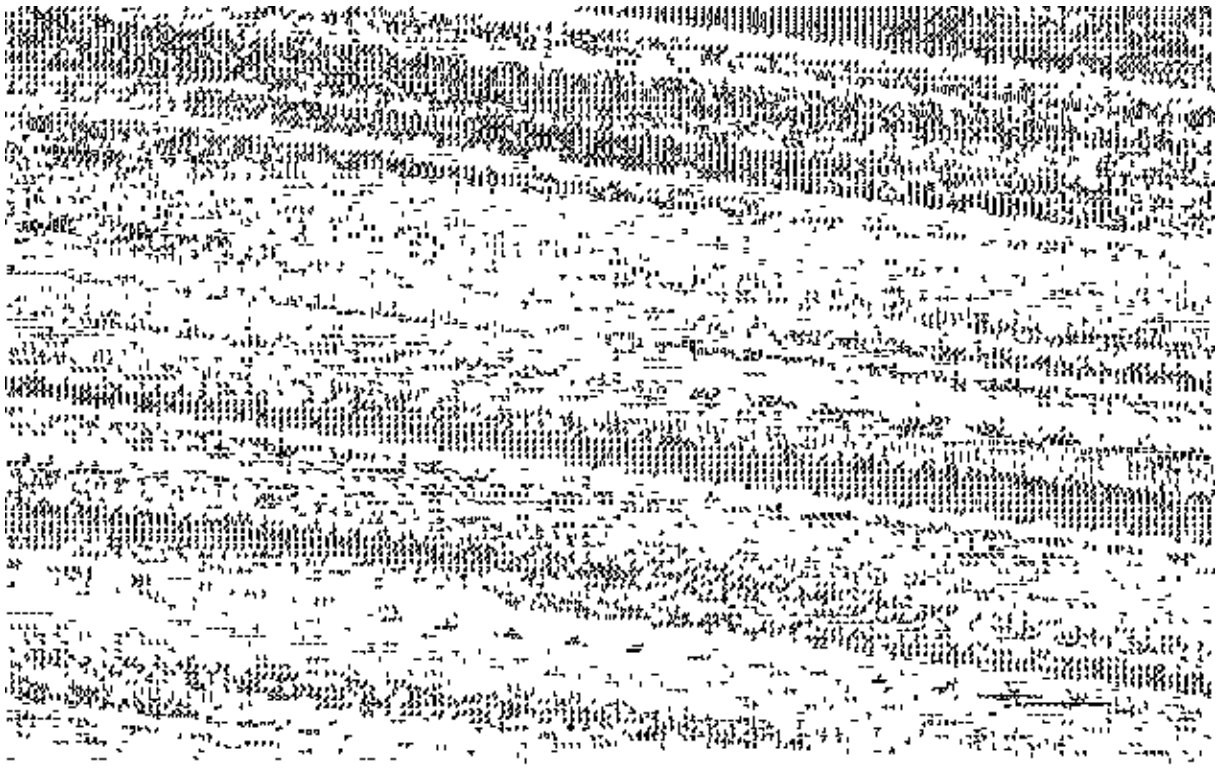


图 1　AHNP 6 h大片胰腺小叶坏死 ,坏死区边缘有严重出血及炎细胞浸润 ,坏死区周围间质中小灶性脂肪坏死 (HE× 100)

Fig 1　Necrosis of pancreatic lobules in large number 6 h after AHNP with severe hemorrhage and infiltration of inflammatory cells at the edge of necrotic area, small focal fatty necrosis in the mesenchyma surround the necrotic area (HE× 100)

图 2　AHNP 24 h坏死小叶中出现大量的炎细胞浸润 ,小叶轮廓破坏 ,坏死小叶边缘的腺泡细胞出现空泡变性 (HE× 100)

Fig 2　Marked inflammatory cell infiltration in the necrotic lobules 24 h after AHNP, vacuolar degeneration appeared in the acinous cells of the edge of necrotic lobules, contour of the lobules damaged (HE× 100)

图 3　AHNP 6 h出现小片状无血管区及其周围被破坏的毛细血管网　(透明切片× 100)

Fig 3　In 6 h after AHNP, there emerged the small region lack of blood essel around which the capillary network was destroyed (Hyaline section× 100)

图 4　AHNP 24 h无血管区与 12 h比较无明显扩大 ,但其周围的毛细血管之间有更多的墨水漏出 ,毛细血管网模糊不清 (透明切片× 100)

Fig 4　No marked extension of the region without blood vessel 24 h after AHNP as compared with that of 12 h, more ink leaked out from the surrounding capillaries and the capillary network became obscured (Hyaline section× **100**)

2.3　血清 AMS、LPA、PLA2活性 (表 2)

对照组各时相 3种血清胰酶活性均比正常显著升高 ($P < 0.01$) ,但 12及 24 h均比 6 h显著降低 ($P < 0.01$);丹参组 6 h比对照组显著降低 ($P < 0.05$) , 12、24 h与对照组无显著差异 ($P > 0.05$)。

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

表 2 各组血清 AMS LPA PLA_2活性 ($\bar{x}\pm s$)

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

	AMS (u/dl)	LPA (IU/ml)	PLA_2 (IU/ml)
Normal Control	156± 32	3.0± 0.4	55± 14
6 h	682± 147△	31.6± 6.5△	219± 24△
12 h	490± 108△#	20.6± 5.6△#	125± 24△#
24 h	361± 16△#	8.5± 2.7△#	121± 25△#
Danshen			
6 h	546± 134※	20.7± 5.8※※	163± 52※
12 h	385± 58	15.4± 5.9※	121± 39
24 h	354± 178	7.4± 2.4	112± 29

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

※: $P<0.05$, ※※: $P<0.01$ *vs* control

3 讨论

3.1 微循环障碍对 AHNP胰腺病变的影响

本实验观察到 AHNP大鼠 6 h即有严重的微血管床破坏,说明 AHNP早期就有微循环障碍,随着微血管床的破坏加剧,胰腺病变呈进行性加重,提示胰腺的微循环障碍与组织学病变密切相关。因为胰腺的微循环障碍导致缺血、缺氧可引起胰腺组织的能量代谢障碍,从而加重胰腺病变[7]。有研究表明,即使广泛的胰腺微血管栓塞 11 h后才出现较轻的 AHNP[8],说明在 AHNP早期病理改变并非微循环障碍所致,而很可能是胰酶消化作用的结果。而 12 h后微循环障碍与组织病变平行加重,因此微循环障碍可能是加重胰腺病变的重要因素。

3.2 丹参对 AHNP的治疗作用

丹参是一种含有多种有效成份的中药,它能增加冠状动脉的血流量并改善心肌的微循环,而广泛用于心血管疾病的治疗,且未见明显的毒副作用。由于 AHNP病程中有严重的微循环障碍,近年来丹参被用于急性胰腺炎的治疗研究,但其确切机理尚不十分清楚[9]。本实验用丹参的治疗结果表明,AHNP大鼠 24 h胰腺血管面密度比对照组升高了 56%,胰腺组织病变与对照组比较有显著改善,证实了丹参改善胰腺微循环的作用及其对 AHNP的治疗效果。

对照组 24 h坏死区周围的腺细胞出现空泡变性,丹参组则未见明显的空泡变性。因为在胰酶分泌少于合成时,腺细胞中酶原颗粒积聚,并通过噬分泌作用(Crinophagy)与溶酶体融合形成白噬空泡,空泡与空泡进一步融合即形成光镜下的空泡变性。而白噬空泡中溶酶体酶与胰酶的共存状态会导致胰酶的细胞内激活,最终破坏腺细胞[10]。丹参组空泡变性减轻可能与丹参改善了胰腺的微循环后,胰酶的分泌趋于正常有关。

参考文献

1 Steinberg WM, Schlesselman SE. Treatment of acute pancreatits: Comprison of animal and human studies. Gastroenterology, 1987; 93: 1420

2 Aho HJ, Koskensalo SM-L, Nevalainen TJ. Experimental pancreatitis in the rat, Sodium taurocholate-induced acute hemorrhagic pancreatits. Scand J Gastroenterol, 1980; 15: 411

3 程迅生,迟彦邦,祁佐元.慢性胆道梗阻时肝脏血流量及微血管床变化.中华外科杂志, 1992; 30(12): 751

4 Sporman T, Friess H. Standards in monitoring acute experimental pancreatitis. Eur Surg Res, 1992; 30(12): 751

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

6 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

7 Kyogoku T, Manabe T, Tobe T. Role of ischemia in acute pancreatitis: Hemorrhagic shock converts edematous pancreatitis to hemorrhagic Pancreatitis in rats. Dig Dis Sci, 1992; 37: 1409

8 Pfeffer RB, Lazzarini-Robertson A, Safadi D *et al*. Gradations of pancreatitis, edematous, through hemorrhagic, experimentally produced by controlled injection of microspheres into blood vessels in dogs. Surgery, 1962; 51: 764

9 张建新,黄懋魁,伍福乐.复方丹参对急性胰腺炎大鼠胰腺血流量的影响及其治疗作用.中华实验外科杂志, 1989; 6(4): 168

10 Niederau C, Luthen R, Niederau MC *et al*. Acute experimental hemorrhagic-necrotizing pancreatitis induced by feeding a choline-deficient, ethionine-supplemented diet. Eur Surg Res, 1992; 24(suppl 1): 40

(收稿: 1995-12-28;修回: 1996-07-09)

(编辑 冷怀明)

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

A study of microcircular disorder in acute hemorrhagic necrotic pancreatitis and therapeutic effects of *Danshen* on it in rats

Fan Linjun, Gu Hongguang, Duan Hengchun, Wang Aochuan (Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Miltary Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract After 96 rats were inflicted with acute hemorrhagic necrotic pancreatitis (AHNP) with retrograde injection of 3% sodium taurocholate into the biliopancreatic duct, 48 were treated with Danshen (Radix Salviae Miltiorrhizae) and the other 48 without treatment served as the control. It was found that there were severe hemorrhage, necrosis and microvascular lesions and the activity of pancreatic enzymes in serum was significantly increased ($P < 0.01$) in the 6th hour and the actitivity of the enzymes was decreased but the microvascular and panrenchymal lesions of the pancreas were progressively aggravated in the 12th hour after AHNP in the control. However, the microvascular and parenchymal lesions of the pancreas were significantly alleviated in the 24th h after AHNP in the treated group. Our findings suggest that the microcircular disorder is one of the factors to aggravate the pathological changes in the late stage of AHNP and *Danshen* can exert definite therapeutic effects on AHNP through the improvement of pancreatic microcirculation.

Key words acute pancreatitis; *Danshen*; microcirculation; rat

星形胶质细胞发育的形态学及眼球摘除后 AST反应性改变的实验研究

Experimental studies on the morphology of astrocyte during development and the astrocyte reactivity after enucleation

邓晓林 蔡文琴 (第三军医大学基础部组织与胚胎学教研室) 重庆, 630038

运用胶质纤维酸性蛋白(Glial fibrillary acidic protein, GFAP)免疫细胞化学染色,对43例12~38周人胎儿,63例生后大鼠不同时期(生后1天至12个月)中枢神经系统(Central nervous system, CNS)星形胶质细胞(Astrocyte, AST)发育进行了形态学观察,获得了关于人和大鼠AST发育、分布、GFAP染色特性等的总体认识;在此基础上采用不同方式的减弱视神经电活动模型,探索有关AST反应与视神经电活动减弱之间的关系;总结本工作主要有以下几方面成果:

(1) AST形态发育方面:① AST在人胎儿不同时期、CNS不同部位分布存在差异。出现的先后顺序为:由低级中枢到高级中枢、由室管膜和软脑脊膜向脑和脊髓实质,此外AST的时空差异性还与核团和神经纤维在CNS的分布位置相关,在某些核团以及颅神经纤维的髓内段,GFAP阳性AST出现较早。这些现象提示AST的成熟除了与神经干细胞的位置有关外,还与AST同神经元(胞体及纤维)的相互诱导作用相关。② 不仅在人胎脑毛细血管周围,而且在某些小血管周围AST密度较大,染色亦较深。推测平滑肌对AST成熟可能亦有诱导作用。③ 人胎儿发育过程中,GFAP阳性AST不具备传统重金属染色所显示的Ⅰ、Ⅱ型AST的形态特点,而主要存在单突起、多突起、少突起及中间型四种形态。这些不同形态的GFAP阳性AST大致的分布规律为:低级中枢以多突起细胞为主,高级中枢以少突起和中间形为主,而单突起细胞多位于室周区;也可见四种形态的GFAP阳性AST同时出现于同一脑区,同时出现于同一脑区的4种形态的AST可能反映了细胞的成熟过程及功能转换,单突起细胞比较"年轻",与引导神经元的迁移有关,而其它形态的细胞逐渐成熟,这些细胞可能与AST的物质转运及网络形成有关。④ 大鼠CNS GFAP阳性AST出现明显晚于人类,出生时在大脑表面仅见阳性带状环,生后3个月其分布和密度接近成年时水平。⑤ 大鼠GFAP阳性细胞形态相对单一,胞体较小,突起较少而且短,染色均匀,分布较稀疏。⑥ 大鼠生后2天端脑AST GFAP染色最强,随着发育其染色相反变浅。⑦ 大鼠海马和齿状回的AST呈均匀、规则的分层排列,预示在神经元与AST之间存在固定的位置关系与稳定的功能关系。

(2)眼球摘除后AST反应性改变实验研究方面:① 减弱视神经电活动能有效活化脑多个部位的AST。② AST的活化与C-fos和NO表达增强存在伴随关系。③ 活化AST的因素可能不是单一的,"主动"和"被动"活化的可能性均存在(主动活化:即AST对神经元电活动依赖性的消失导致的活化;被动活化:却去传入神经元的早期反应性诱导的AST活化)。④ 脑脊液中活化AST的成份增加不明显,而外侧膝状体局部活化AST的成份明显增加。

关键词 星形胶质细胞;胶质纤维酸性蛋白;发育;免疫细胞化学;细胞培养;C-fos;一氧化氮;眼球摘除;外侧膝状体;大脑;颈段脊髓

中图法分类号 R329.1

(收稿: 1996-07-08;修回: 1996-07-18)

(编辑 刘 鹏)

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