

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.18.003

实验性大鼠轻型和重型急性胰腺炎的病理形态特点*

褚薇薇,闫爱丽,聂蕾,何新盈,周伊,李晟,王善伟

(西安医学院基础医学部病理学教研室 710021)

[摘要] 目的 分析两种类型胰腺炎组织病理变化特点,进而为深入探讨重症急性胰腺炎(SAP)发病机制提供新思路。方法 30只成年雄性SD大鼠随机分为假手术(SO)组、轻型急性胰腺炎模型(MAP)组和重症急性胰腺炎模型(SAP)组。3组均于制模后12h剖杀取材;光镜下观察各组大鼠胰腺、肝、肺和小肠组织病理改变;透射电镜观察各种组织超微结构变化。结果 SO组大鼠各组织肉眼及镜下观察均无明显变化。与MAP组比较,SAP组大鼠各器官均出现不同程度出血、坏死、炎细胞浸润、血液成分外渗、微循环血栓形成、血管内皮损伤等病理变化,而MAP组仅表现为胰腺局部充血水肿,胰外脏器无明显病理变化。结论 SAP大鼠各器官均以出血、坏死为主要病理特点,与MAP具有本质性区别,这些病理特点为深入研究重症急性胰腺炎发病机制提供了新思路。

[关键词] 胰腺炎;病理学,临床;显微镜检查,电子透射

[中图分类号] R657.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)18-2454-03

Pathological morphological characteristics of experimental rats with acute light and heavy pancreatitis*

Chu Weiwei, Yan Aili, Nie Lei, He Xinying, Zhou Yi, Li Sheng, Wang Shanwei

(Department of Pathological Teaching and Research, Xi'an Medical University, Xi'an, Shanxi 710021, China)

[Abstract] **Objective** The aim of this study is to demonstrate the pathological characteristics about two types of pancreatitis, providing new thinking about the mechanism of severe acute pancreatitis. **Methods** Thirty male Sprague-Dawley rats were randomly divided into three equal groups: sham-operated (SO, $n=10$) group, mild acute pancreatitis (MAP, $n=10$) group and severe acute pancreatitis (SAP, $n=10$) group, all the rats were killed after 12 h of building model. Under the microscope, we detected the pathological changes of pancreas, liver, lung and small intestine. The ultrastructure of pancreas, liver, lung and small intestine tissue were observed by transmission electron microscope. **Results** In SAP group, congestion, edema, inflammatory cell infiltration, leaking of blood components, vascular endothelial injury and thrombosis of microcirculation were obviously observed. There is no apparent pathological changes in the MAP group except the edema of pancreas. **Conclusion** Hemorrhage and necrosis are the main pathological characteristics in SAP rats, has essential difference with MAP. These pathological characteristics provides us a new thinking for further study about the mechanism of SAP.

[Key words] pancreatitis; pathological, clinical; microscopy, electron; scanning transmission

急性胰腺炎分为轻型急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)和重型急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)两种类型。在临床上,两种类型胰腺炎有着截然不同的预后,其中MAP为自限性疾病,治疗方法简单,病死率几乎为零,而SAP病死率极高,综合国内外文献报道,即使经过正规、系统治疗,其总体病死率仍为10%~20%^[1-5]。从胰腺炎发病机制上,目前多数学者认为SAP的发生起因于胰酶的异位激活,破坏胰腺自身结构的同时激发一系列细胞因子及炎症介质的释放,进而引发微循环障碍、细菌移位、细胞凋亡等一系列连锁反应,最终导致胰腺以外的多器官受累。从病理学角度看,SAP以胰腺出血、坏死和炎症细胞浸润为主要特点,而MAP则主要表现为胰腺组织的充血和水肿^[6-9]。

本研究拟在复制不同类型胰腺炎模型的基础上,从病理学角度全面观察两种类型胰腺炎胰腺及胰外脏器的病理变化特点,并从中寻找客观规律,以期对两种类型胰腺炎的发生机制提供更加科学合理的解释。

1 材料与方法

1.1 实验动物与主要试剂 成年雄性SD大鼠共30只,体重300~350g,由西安交通大学医学院医学动物中心提供;高纯度牛磺胆酸钠购自Sigma公司。苏木素、中性树胶、乙醇及二甲苯等试剂主要用于苏木素-伊红(HE)染色,购自北京中杉金桥生物试剂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物模型复制 大鼠随机分为假手术(sham-operation, SO)组、轻型急性胰腺炎模型(mild acute pancreatitis, MAP)组和重症急性胰腺炎模型(severe acute pancreatitis, SAP)组,每组各10只。模型复制前8h禁食,4h禁水,腹腔注射200g/L乌拉坦(1g/kg)麻醉。分别用10、50g/L牛磺胆酸钠(1mL/kg)通过胰胆管逆行注射复制MAP和SAP模型。SO组注射等剂量生理盐水作为阴性对照。

1.2.2 标本收集 大鼠于制模后12h行剖杀取材。组织剪去取胰头部胰腺组织、肝右叶肝组织、右肺下叶肺组织和距离

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30772745);陕西省教育厅资助项目(2013JK0758)。 作者简介:褚薇薇(1975-),副教授,博士,主要从事缺血-再灌注损伤研究。

回盲部 2 cm 左右回肠组织各约 1.0 cm³, 40 g/L 多聚甲醛固定, 石蜡包埋切片, 常规 HE 染色。领取约 1.0 mm³ 相同部位

上述组织固定于 25 g/L 戊二醛溶液, 制备超薄切片 (50~70 nm), 电镜下观察各组织超微结构变化。

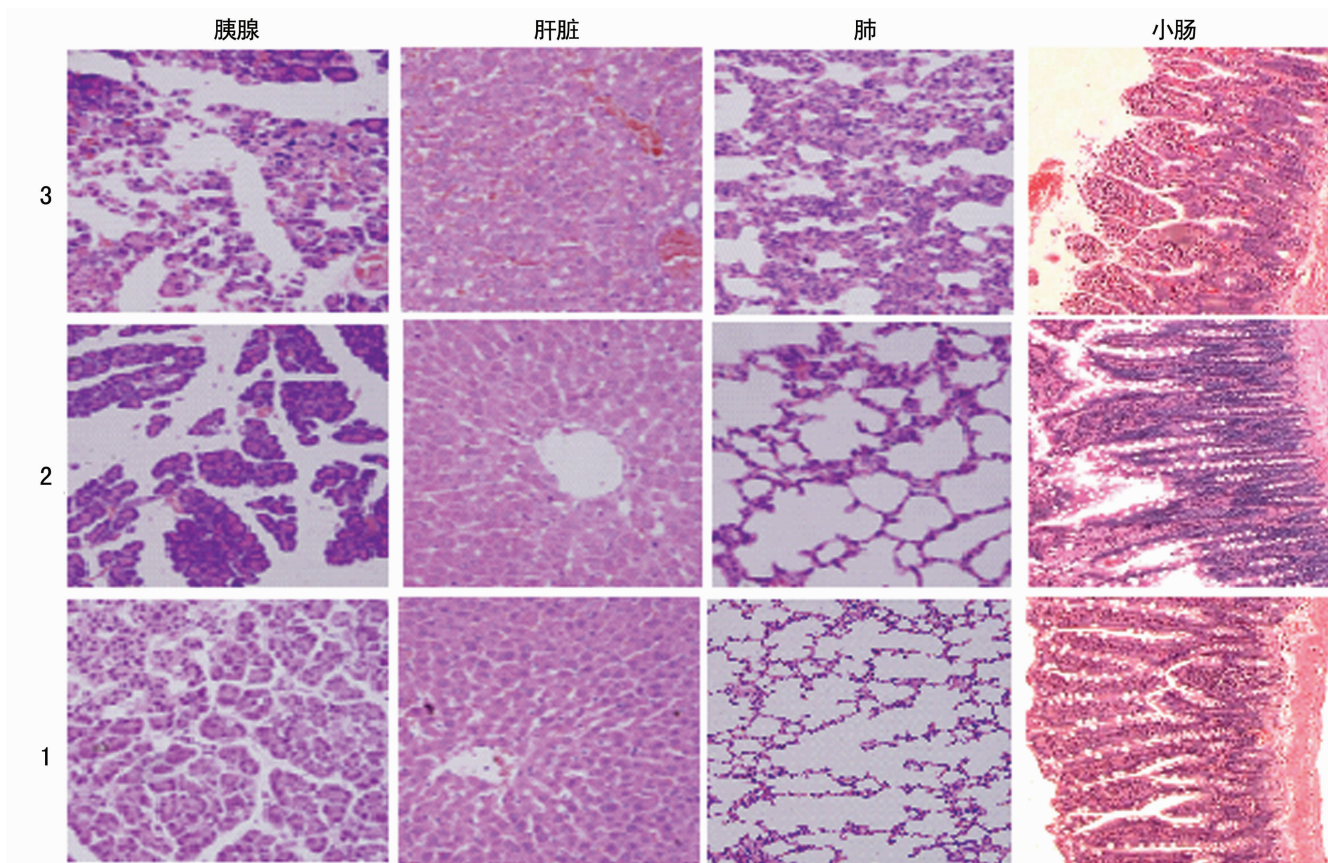


图 1 胰腺、肝脏、肺和小肠组织光镜下病理改变 (HE×200)

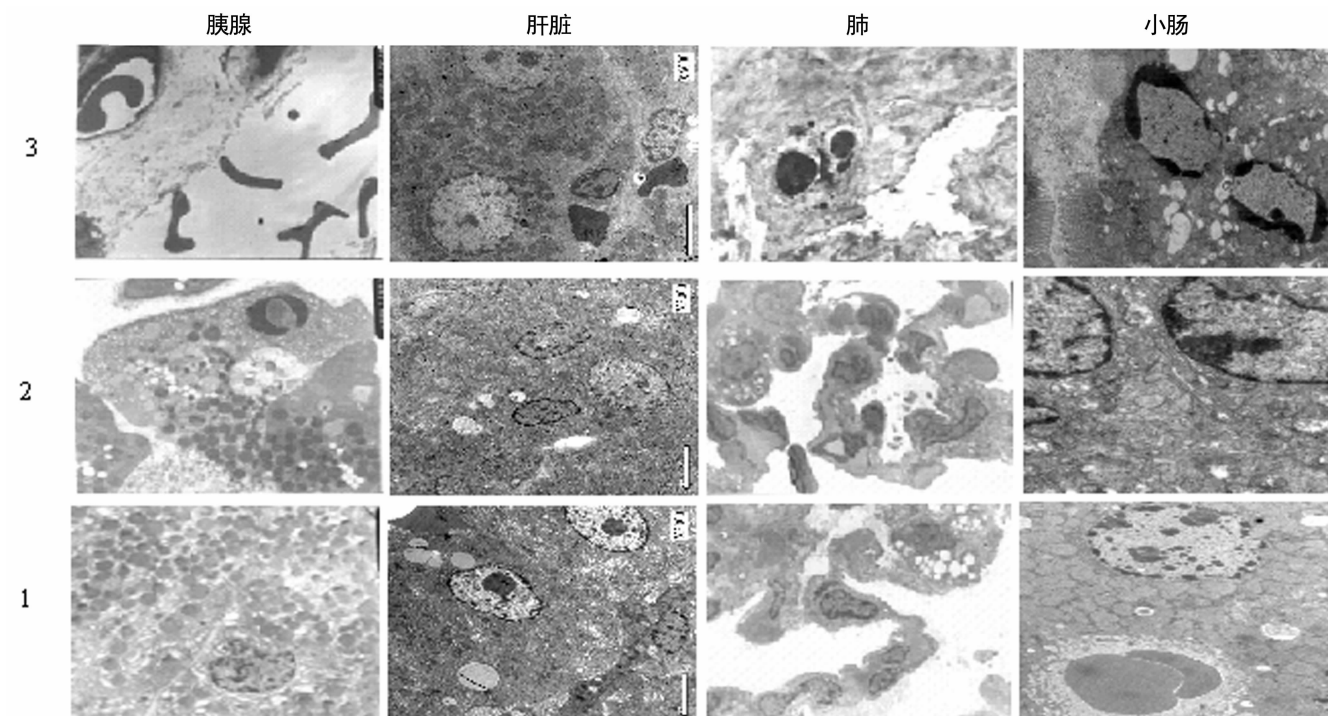


图 2 胰腺、肝脏、肺和小肠组织透射电镜下超微结构改变 (TEM×5 000)

2 结 果

2.1 各组织大体标本肉眼变化 SO 组大鼠各组织肉眼观察无明显变化; SAP 组肉眼可见胰腺水肿明显, 并可见片状坏

死, 呈黑色; 胰腺周围网膜、系膜及腹膜表面可见灰白色皂化斑和大量暗红色腹水。肝颜色暗红, 水肿明显, 被膜下可见点片状出血; 小肠蠕动基本消失, 组织颜色暗红, 水肿明显, 浆膜下

可见点灶状出血;肺组织暗红色,水肿明显,肺脏表面可见点灶状出血,胸腔内可见淡红色血性胸水。MAP 组除胰腺组织水肿、腹腔内偶见点状灰白皂化斑及少量淡黄色透明腹水外无明显肉眼变化。

2.2 各组织光镜下病理变化 SO 组大鼠各组织无明显变化。SAP 组胰腺组织可见到典型的灶片状坏死、小叶间隙变大、间质大量红细胞漏出和炎症细胞渗出、血管壁破坏等。肝组织可见肝索排列紊乱,内有炎症细胞浸润,血窦淤血、肝细胞水肿、坏死和小胆管炎症;小肠组织可看到黏膜充血水肿、红细胞及炎症细胞浸润,肠绒毛部分上皮细胞变性坏死、脱落。肺组织可见到不同程度的水肿、出血、灶性或片状肺不张,肺泡间隔毛细血管扩张充血,大量炎症细胞浸润等典型急性肺损伤病理改变。MAP 组仅可以看到胰腺组织充血、水肿、少量红细胞漏出、胰腺小叶间隙增宽及炎症细胞浸润等变化,胰外脏器变化不明显。见图 1。

2.3 各组织电镜下超微结构改变 SO 组大鼠各组织超微结构基本正常。SAP 组胰腺组织可见胰腺细胞核内染色体边聚,粗面内质网扩张,核糖体减少;线粒体嵴减少或消失,基质空泡化;酶原颗粒明显减少;细胞质内可见大量自噬性空泡;同时可见细胞凋亡;胰腺组织血管的结构病变也比较明显,主要表现为毛细血管扩张、内皮细胞肿胀,大量红细胞漏出;血小板伸出伪足并黏附于内皮细胞表面,逐渐生成血栓。肝组织电镜下可见肝细胞核不规则、染色质边聚,线粒体肿胀、嵴排列紊乱甚至消失,细胞质内空泡变性,细胞膜破裂,细胞器外溢。肺组织可见到明显水肿、出血,毛细血管淤血、炎症细胞浸润;肺组织血管内皮细胞出现凋亡增加,肺泡上皮细胞特别是肺泡Ⅱ型上皮细胞凋亡现象明显。小肠组织可见上皮细胞板层体减少,线粒体嵴肿胀。MAP 组大鼠除胰腺组织可见到胰腺细胞核内染色体边聚,核糖体减少甚至消失,酶原颗粒明显减少以及少量腺泡细胞凋亡等病理改变外,胰外脏器无明显病理变化。见图 2。

3 讨 论

从实验结果可以看出,两种类型的胰腺炎从全身病理改变上具有本质的区别,MAP 病变局限,仅仅表现为胰腺自身病变,并以胰腺局部水肿为主要病理特点。而 SAP 则以全身器官的出血、坏死为主要病理特点。这些结果也与前期文献报道本一致^[10-12]。从两种类型胰腺炎病理变化角度上讲,虽然两种类型胰腺炎都以渗出为主要病理特征,但 SAP 应当定义为出血性炎性反应,而 MAP 则应定义为浆液性炎性反应。这也是两种类型胰腺炎具有截然不同预后的病理学基础。

然而,是什么原因导致了在同一病因下后果却大相径庭的两种类型胰腺炎的发生呢?至今为止仍没有形成对这一问题的统一认识。关于胰腺炎发病机制的问题,学者们一直把研究的重点集中于胰酶异位激活基础上的微循环障碍、炎症介质和细胞因子等领域,并提出了目前较为公认的微循环障碍学说、细胞因子和炎症介质学说和细菌移位与“二次打击”等学说^[13-17]。这些理论固然有其合理性,却又有它们本身的局限性,没有一个能够解释 SAP 时多器官出血坏死的原因。2009 年 Sha 等^[18]在医学假说上发表了一篇文章,其总体思路认为胰蛋白酶不仅仅是胰腺炎胰腺自身损伤的主要原因,也是多器官损伤的主要介导者。SAP 时由于大量胰蛋白酶异位活化,它们在破坏胰腺自身结构的同时随静脉血流进入到血液循环,这些胰蛋白酶会破坏血管壁上的蛋白结构尤其是内皮细胞间

的紧密连接蛋白,从而引起血管通透性明显增加甚至破坏等后果,于是包括红细胞在内的大量血液内容物穿过血管壁进入组织间隙或体腔。由于过多的血液内容物外渗,导致了 SAP 患者早期循环不稳定甚至循环功能衰竭,这可能是 SAP 患者早期死亡的重要原因^[19-20]。

结合两种不同类型胰腺炎的病理特点,本研究认为 Sha 等^[18]的假说具有一定道理。按照这种推理,就可以比较容易的解释前面的疑问。两种类型胰腺炎的区别就在于胰蛋白酶激活的数量,当胰蛋白酶激活的量小而又没有进入血液循环的时候就作用于胰腺局部而引起胰腺组织充血、水肿。而当胰蛋白酶激活的量足够大的时候,它们不仅仅对胰腺本身造成更大的破坏,而且会进入血液循环引起其他脏器的损伤。这就导致了胰腺以外脏器出现了与胰腺自身相同的出血、坏死等病理现象。

因此,两种胰腺炎的本质区别就在于胰酶激活的浓度与进入血液循环的数量。这就为我们进一步探讨胰腺炎发病机制提供了新思路。进而为临床改进治疗方案提供了新依据。

参考文献

- [1] Sah RP, Dawra RK, Saluja AK. New insights into the pathogenesis of pancreatitis[J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2013, 29(5):523-530.
- [2] Fink MP. Acute pancreatitis: a lame duct problem? [J]. *Crit Care Med*, 2014, 42(3):757-758.
- [3] Balta AZ, Ozdemir Y, Sucullu I, et al. Early detection of potentially severe acute pancreatitis[J]. *J Am Coll Surg*, 2014, 218(5):1074.
- [4] Gomas IP, Xiaodong X, Ghaneh P, et al. Prognostic markers in acute pancreatitis[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2014, 14(3):333-346.
- [5] Hecker M, Mayer K, Askevold I, et al. Acute pancreatitis [J]. *Anaesthetist*, 2014, 63(3):253-263.
- [6] Fagenholz PJ, de Moya MA. Acute inflammatory surgical disease[J]. *Surg Clin North Am*, 2014, 94(1):1-30.
- [7] Yang CJ, Chen J, Phillips AR, et al. Predictors of severe and critical acute pancreatitis: A systematic review[J]. *Petrov MSDig Liver Dis*, 2014, 46(5):446-451.
- [8] Aleksandrova IV, Il'inskiĭ ME, Reĭ SI, et al. Early progressive organ failure in patients with severe acute pancreatitis [J]. *Khirurgiia*, 2013, (9):29-33.
- [9] Špicák J. Acute pancreatitis-new developments in treatment[J]. *Vnitr Lek*, 2013, 59(7):597-605.
- [10] Zhang XP, Zhang J, Ma ML, et al. Pathological changes at early stage of multiple organ injury in a rat model of severe acute pancreatitis [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2010, 9(1):83-87.
- [11] Klöppel G. Pathomorphology of acute pancreatitis [J]. *Ann Ital Chir*, 1995, 66(2):149-154.
- [12] Nepomnyashchikh LM, Viskunov VG, Lushnikova EL, et al. Pathomorphological study of the pancreas during phospholipase A2-induced experimental pancreatic necrosis [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2011, 150(3):387-391. (下转第 2460 页)

防止脂质过氧化有关。胰岛素调节血糖作用的主要靶器官是肝脏、骨骼肌和脂肪组织。IR 状态下,内源性葡萄糖的增多,肝脏和骨骼肌糖原储存减少。实验结果表明,CHA 能显著增加糖耐量,降低血清胰岛素水平,增加肝糖原、肌糖原的水平,降低 HOMA-IR,升高 HOMA-ISI。

本研究结果显示 CHA 具有良好的抑制内脏脂肪聚积和改善胰岛素抵抗的作用,并能促进外周组织吸收利用葡萄糖,降低血清 FFA 水平,降低肥胖大鼠的氧化应激,防止脂质过氧化,其分子机制值得进一步研究。

参考文献

- [1] Smyth S, Heron A. Diabetes and obesity: the twin epidemics[J]. *Nature Medicine*, 2006, 12(1): 75-80.
- [2] Altaf Q, Barnett AH, Tahrani AA, et al. Novel therapeutics for type 2 diabetes; insulin resistance [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2015, 17(4): 319-334.
- [3] Karthikesan K, Pari L, Menon VP. Combined treatment of tetrahydrocurcumin and chlorogenic acid exerts potential antihyperglycemic effect on streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic rats [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2010, 29(1): 23-30
- [4] Pari L, Karthikesan K, Menon VP. Comparative and combined effect of chlorogenic acid and tetrahydrocurcumin on antioxidant disparities in chemical induced experimental diabetes [J]. *Mol Cell Biochem*, 341(1/2): 109-117.
- [5] 王强, 陈东辉, 邓文龙. 金莲花提取物对血脂与血糖的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2007, 23(3): 40-42
- [6] 祝莹, 董英, 钱希文, 等. 苦瓜冻干超微粉调节肥胖大鼠胰岛素抵抗及其作用机制研究 [J]. *中国食品学报*, 2014, 14

(7): 5-13.

- [7] Lee YS, Kim WS, Kim KH, et al. Berberine, a natural plant product, activates AMP-activated protein kinase with beneficial metabolic effects in diabetic and insulin-resistant states [J]. *Diabetes*, 2006, 55(8): 2256-2264.
- [8] 李延兵, 廖志红, 黄知敏, 等. 吡格列酮和二甲基胍对 2 型糖尿病胰岛素抵抗的影响 [J]. *中国内分泌代谢杂志*, 2004, 20(1): 30-32.
- [9] 陈清光, 陆灏, 李俊燕, 等. 健脾清化方对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(10): 3239-3242.
- [10] Rong X, Li Y, Ebihara K, et al. Angiotensin II type 1 receptor-independent beneficial effects of telmisartan on dietary-induced obesity, insulin resistance and fatty liver in mice [J]. *Diabetologia*, 2010, 53(8): 1727-1731.
- [11] Savage DB, Petersen KF, Shulman GI. Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance [J]. *Physiological Reviews*, 2007, 87(2): 507-520.
- [12] Lee YS, Cha BY, Saito K, et al. Effects of a Citrus depressa Hayata (shikuwasa) extract on obesity in high-fat diet-induced obese mice [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(8/9): 648-654.
- [13] 李佳, 徐玲, 蒋岚. 血脂异常对胰岛 β 细胞功能和胰岛素敏感性的影响 [J]. *重庆医学*, 2010, 39(17): 2264-2269.
- [14] 罗蓉, 瞿颂义. 肥胖与自由基 [J]. *国外医学: 内分泌学分册*, 2004, 24(B5): 9-10.

(收稿日期: 2014-11-08 修回日期: 2015-01-10)

(上接第 2456 页)

- [13] Panek J, Zasada J, Pozniczek M. Microcirculatory disturbance in the course of acute pancreatitis [J]. *Przegl Lek*, 2007, 64(6): 435-437.
- [14] Yu G, Wan R, Hu Y, et al. Pancreatic acinar cells-derived cyclophilin A promotes pancreatic damage by activating NF- κ B pathway in experimental pancreatitis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 444(1): 75-80.
- [15] Sendler M, Dummer A, Weiss FU, et al. Tumour necrosis factor α secretion induces protease activation and acinar cell necrosis in acute experimental pancreatitis in mice [J]. *Gut*, 2013, 62(3): 430-439.
- [16] Yu J, Xu S, Wang WX, et al. Changes of inflammation and apoptosis in adrenal gland after experimental injury in rats with acute necrotizing pancreatitis [J]. *Inflammation*, 2012, 35(1): 11-22.
- [17] Hackert T, Büchler MW, Werner J. Targeting P-selectin

in acute pancreatitis [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2010, 14(9): 899-910.

- [18] Sha H, Ma Q, Jha RK. Trypsin is the culprit of multiple organ injury with severe acute pancreatitis [J]. *Med Hypotheses*, 2009, 72(2): 180-182.
- [19] Nepomnyashchikh LM, Bakarev MA, Vasilyev AV, et al. Pathomorphological analysis of the pancreaticoduodenal organs in experimental pancreonecrosis induced by trypsin injection [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2013, 155(2): 249-254.
- [20] Matveyev SB, Klytchnikova YV, Grishin AV, et al. The comparative characteristic of coefficients of endogenic intoxication under severe acute pancreatitis [J]. *Klin Lab Diagn*, 2013(5): 5-7.

(收稿日期: 2015-01-12 修回日期: 2015-03-21)