

# 高脂血症性急性胰腺炎大鼠模型的建立和分析

黄晓丽, 王国品, 王平, 滕晓琨, 葛建新

南通大学附属南京江北人民医院消化科, 江苏 南京 210048

**摘要:** **目的** 探讨高脂血症性急性胰腺炎(HLP)大鼠模型的建立。**方法** 32只SD雄性大鼠随机分为4组:正常(N)组,高脂血症(HL)组,非高脂血症性急性胰腺炎(NHLP)组,HLP组,每组8只。N组和HL组分别予以普通饲料和高脂饲料喂养4周后,术中仅轻轻翻动十二指肠和胰腺;NHLP组和HLP组分别以普通饲料和高脂饲料喂养4周后,5%牛磺胆酸溶液逆行胰胆管注射制模。观察各组术后12h血清淀粉酶(AMS)、甘油三酯(TG)及胰腺病理变化。**结果** 血清TG水平HLP组[(0.64±0.25)mmol/L]明显高于NHLP组[(0.30±0.14)mmol/L, $P<0.05$ ]和N组[(0.16±0.03)mmol/L, $P<0.01$ ]。血清AMS水平NHLP组[(46.49±27.95)U/L]与HLP组[(60.29±49.53)U/L]明显高于N组[(6.12±2.00)U/L, $P<0.01$ ]。NHLP组与HLP组胰腺实质大量坏死伴出血,间质显著充血水肿,大量炎细胞浸润,病理组织学评分NHLP组(9.13±1.55)与HLP组(10.88±1.55)明显高于N组(0.25±0.46)( $P$ 均 $<0.01$ )。**结论** 高脂饲料喂养联合逆行胰胆管注射制备HLP大鼠模型,具有稳定性高、成活率高等优势,是理想的HLP制模方法。

**关键词:** 胰腺炎; 高脂血症; 动物模型; 大鼠

中图分类号: R 332 R 576 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2015)02-0148-03

## Establishment of hyperlipidemic acute pancreatitis animal model in rats

HUANG Xiao-li, WANG Guo-pin, WANG Ping, TENG Xiao-kun, GE Jian-xin

Department of Gastroenterology, Nanjing Jiangbei People's Hospital Affiliated to Nantong University, Nanjing, Jiangsu 210048, China

**Abstract: Objective** To establish the hyperlipidemic acute pancreatitis (HLP) animal model in rats and observe the molding effect. **Methods** Thirty-two male SD rats were randomly divided into 4 groups ( $n=8$  each): normal group (N group), hyperlipidemia group (HL group), non-HLP group (NHLP group) and HLP group. In N group and HL group, the duodenum and pancreas were gently ruffled only in operation after fed with ordinary diet and high fat diet for 4 weeks, respectively. In NHLP group and HLP group, 5% taurocholic acid solution was injected into the biliopancreatic duct by retrograde direction for molding after fed with ordinary diet and high fat diet for 4 weeks, respectively. The levels of serum amylase (AMS) and triglyceride (TG) and the pancreatic pathological changes in all groups were observed 12 hours after operation. **Results** The serum TG level in HLP group [(0.64±0.25)mmol/L] were significantly higher than those in NHLP group [(0.30±0.14)mmol/L, $P<0.05$ ] and N group [(0.16±0.03)mmol/L, $P<0.01$ ]. The serum AMS level in NHLP group [(46.49±27.95)U/L] and HLP group [(60.29±49.53)U/L] were all significantly higher than that in N group [(6.12±2.00)U/L, all  $P<0.01$ ]. The massive necrosis and hemorrhage of pancreas parenchyma, obvious interstitial edema and a large number of inflammatory cells infiltration were found in NHLP group and HLP group. The histopathology scores in NHLP group (9.13±1.55) and HLP group (10.88±1.55) were all significantly higher than that in N group (0.25±0.46) (all  $P<0.01$ ). **Conclusion** The HLP rat model established by high fat diet combined with retrograde injecting 5% taurocholic acid solution into the biliopancreatic duct has the advantages of high stability and high survival rate, and is an ideal method for establishing model.

**Key words:** Pancreatitis; Hyperlipidemia; Animal model; Rat

随着人们生活水平的提高,高脂血症人群逐年上升,由此导致的急性胰腺炎发病率亦随之升高。高脂血症性急性胰腺炎(hyperlipidemic acute pancreatitis,

HLP)成为近期研究的热点,因此建立一个稳定的HLP动物模型,对该病发病机制的探索、治疗方法的研究均具有重要意义。本文通过高脂饲料喂养后逆行胰胆管注射法建立大鼠HLP模型,取得了较理想的HLP模型。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物和试剂 SD 雄性大鼠 32 只, 体重 200 ~ 250 g, 由浙江省实验动物中心提供; 牛磺胆酸钠购自 Sigma 公司; 戊巴比妥钠购自中国医药上海化学试剂公司, 生理盐水配制成 1% 浓度; 胆固醇购自北京双旋培养基厂。

1.2 动物分组 随机分为 4 组: 正常组 (N 组), 高脂血症组 (HL 组), 非高脂血症性急性胰腺炎组 (NHLP 组), 高脂血症性急性胰腺炎组 (HLP 组), 每组 8 只。术前 12 h 禁食。

1.3 各组造模方法 N 组: 大鼠予普通饲料喂养 4 周后, 术中仅轻轻翻动十二指肠和胰腺; HL 组: 大鼠予高脂饲料 (77% 普通饲料 + 20% 猪油 + 3% 胆固醇) 喂养 4 周, 术中仅轻轻翻动十二指肠和胰腺; NHLP 组: 大鼠予普通饲料喂养 4 周, 5% 牛磺胆酸钠溶液逆行胰胆管注射; HLP 组: 大鼠予上述高脂饲料喂养 4 周, 5% 牛磺胆酸钠溶液逆行胰胆管注射。各组分别于造模后 12 h 处死动物, 取胰腺组织和股动脉血进行各项指标检测。

1.4 HLP 大鼠模型制作 高脂饲料 (77% 普通饲料 + 20% 猪油 + 3% 胆固醇) 喂养 4 周大鼠, 术前禁食 12 h, 不禁水。1% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉, 5 ml/kg, 常规消毒、固定、备皮、铺消毒洞巾, 沿腹白线切开入腹, 寻找到十二指肠及胰胆管, 用小动脉夹阻闭胰胆管近肝门端, 取 4.5 号头皮针于十二指肠乳头附近经十二指肠壁穿刺进入肠腔, 经乳头逆行穿刺入胰胆管约 5 mm, 在十二指肠乳头处以另一血管夹固定, 缓慢注入 5% 牛磺胆酸钠溶液, 剂量 0.15 ml/100g。注毕 5 min 后去除小动脉夹, 观察到出现胰腺水肿伴出血后缝合腹壁。

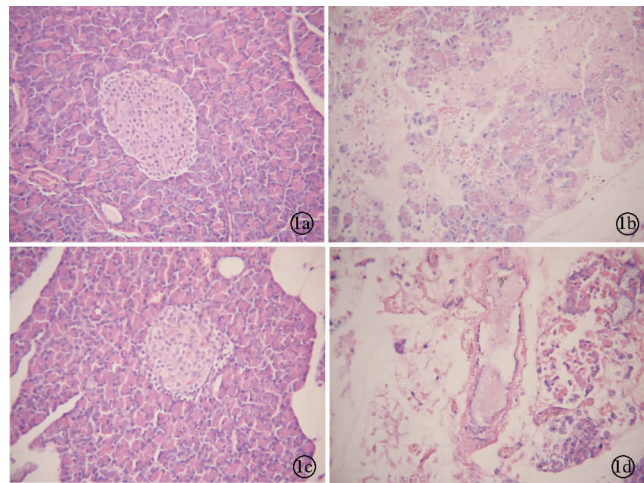
1.5 观察指标 (1) 胰腺大体标本及组织学检查: 组织经 4% 多聚甲醛固定 24 h, 石蜡包埋制片, 苏木精-伊红 (HE) 染色后光镜下观察, 由 2 名病理医师根据 Schmidt 组织学评估方法<sup>[1]</sup> 进行评分, 每片随机选取 4 个视野, 每一单项 (水肿、炎细胞浸润、出血、坏死) 的 4 个视野平均分为最后得分, 分 0 ~ 3 级 (记 0 ~ 3 分), 各单项平均分之之和为病理总分, 得分越高表示病变程度越重。(2) 血清甘油三酯和淀粉酶浓度测定: 采用全自动生化分析仪检测血清甘油三酯和淀粉酶浓度。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 方差齐时采用单因素方差分析, 两两比较采用  $q$  检验; 方差不齐采用 Kruskal-Wallis  $H$  检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 造模结果 全部大鼠模型制备完毕至取材时仍全部存活, NHLP 组及 HLP 组大鼠精神较萎靡、懒动, N 组及 HL 组大鼠状态较好, 可活动或饮水。

2.2 胰腺病理学表现 N 组胰腺组织结构基本正常, HL 组部分细胞脂质空泡形成, 中等量炎症细胞浸润, 未见明显出血及坏死。NHLP 组与 HLP 组胰腺实质大量坏死伴出血, 间质显著充血水肿, 大量炎细胞浸润。各组胰腺组织病理图片见图 1 ~ 6。病理组织学评分 NHLP 组与 HLP 组明显高于 N 组 ( $P$  均  $< 0.01$ ), HLP 组明显高于 HL 组 ( $P < 0.01$ ) 和 NHLP 组 ( $P < 0.05$ )。见表 1。



注: 1a: N 组; 1b: NHLP 组; 1c: HL 组; 1d: HLP 组。

图 1 各组大鼠胰腺组织病理图 (HE,  $\times 200$ )

表 1 血清甘油三酯、淀粉酶水平及胰腺组织病理学评分 ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

分组	甘油三酯 (mmol/L)	淀粉酶 (U/L)	病理学评分
N 组	0.16 ± 0.03	6.12 ± 2.00	0.25 ± 0.46
HL 组	0.72 ± 0.30 <sup>a</sup>	9.73 ± 7.43	1.25 ± 1.04
NHLP 组	0.30 ± 0.14 <sup>a</sup>	46.49 ± 27.95 <sup>a</sup>	9.13 ± 1.55 <sup>a</sup>
HLP 组	0.64 ± 0.25 <sup>ac</sup>	60.29 ± 49.53 <sup>ab</sup>	10.88 ± 1.55 <sup>abc</sup>

注: 与 N 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与 HL 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与 NHLP 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

2.3 血清甘油三酯和淀粉酶测定 血清甘油三酯浓度 HL 组明显高于 N 组 ( $P < 0.01$ ), HLP 组高于 NHLP 组 ( $P < 0.05$ ) 和 N 组 ( $P < 0.01$ )。血清淀粉酶浓度 NHLP 组明显高于 N 组 ( $P < 0.01$ ), HLP 组高于 HL 组 ( $P < 0.05$ ) 和 N 组 ( $P < 0.01$ )。见表 1。

## 3 讨论

本研究通过高脂饲料喂养联合逆行胰胆管注射方法制备大鼠急性 HLP 模型, HLP 组血清淀粉酶及甘油三酯明显高于 N 组, NHLP 组与 HLP 组胰腺实

质大量坏死伴出血,间质显著充血水肿,大量炎细胞浸润,病理组织学评分明显高于 N 组,故提示制模成功。本研究还显示 HLP 组胰腺病理组织损伤明显重于 NHLP 组,这与 Czako 等<sup>[2]</sup>报道相一致,这可能与大量的甘油三酯在脂肪酶作用下生成过多的游离脂肪酸,破坏胰腺腺泡和毛细血管内皮细胞,诱发和加重胰腺的损伤有关。高甘油三酯还增加了血液黏稠度,并激活血小板产生有强烈缩血管作用的血栓素 A<sub>2</sub>,进一步加重了胰腺微循环障碍<sup>[3]</sup>。

喂养法是目前制作高脂血症动物模型最常用的方法,符合人类由于饮食变化而形成高脂血症的特点<sup>[4]</sup>,造模的时间、饲料的种类均影响血脂水平。一般造模时间为 7~45 d 不等<sup>[5-7]</sup>,这与大鼠的种类、性别、月龄、品系以及高脂饲料的制备方法不同有关,喂养时间越长,大鼠血脂越高。高脂饮食配方有多种,普通饲料加胆固醇、猪油是基本高脂饲料,因为猪油影响甘油三酯的水平。有研究认为,0.15% 胆固醇 + 21% 猪油 + 78.85% 普通饲料组成的高脂饲料喂养的大鼠血清甘油三酯及胆固醇水平均增高,适合建立混合型高脂血症大鼠模型,且稳定性高<sup>[8]</sup>。也有研究认为,在基本高脂饲料基础上加用胆盐和丙基硫氧嘧啶能增强造模效果,缩短造模时间<sup>[9]</sup>。丙基硫氧嘧啶能使甲状腺机能减退,降低胆固醇的氧化和排泄过程而使血胆固醇含量升高,胆酸钠会促进大鼠有效吸收胆固醇与脂肪<sup>[10]</sup>。但加入两种成分主要导致模型血清胆固醇的升高,不适合建立高甘油三酯血症性大鼠模型,而人类 HLP 主要以高甘油三酯明显升高为主,故本研究选用胆固醇加猪油加普通饲料组成的高脂饲料,喂养时间为 4 周,HL 组及 HLP 组大鼠血清甘油三酯明显升高,取得了满意的效果。

本研究通过逆行胰胆管注射法制急性胰腺炎模型,急性胰腺炎造模方法还有胰腺被膜下注射法、雨蛙素法<sup>[10]</sup>、L-精氨酸注射法<sup>[11]</sup>等。逆行胰胆管注射法是直接经胆胰管穿刺逆行注射诱导剂复制急性胰腺炎,制模因素与临床相似,是目前较为成功、运用最为广泛的一种方法,造模稳定性良好<sup>[12-13]</sup>。此种造模方法又可分为胰胆管逆行穿刺法和十二指肠穿刺法两种方法,前者是直接经胆胰管穿刺逆行注射诱导剂复制急性胰腺炎,后者是找到十二指肠乳头并确定胆胰管开口,穿刺乳头附近的十二指肠壁进入肠腔,经乳头逆行插入胰胆管。胰胆管逆行穿刺法发生胆漏较多,大鼠死亡率高,经十二指肠直接穿刺法明显

优于直接胰胆管逆行穿刺法<sup>[14]</sup>。本研究采用经十二指肠穿刺逆行胰胆管注射法造模,大鼠死亡率低,至造模后 12 h 未发生 1 例死亡。

综上所述,高脂饲料喂养联合逆行胰胆管注射制备大鼠 HLP 模型符合 HLP 临床特征,且具有稳定性高、成活率高等优势,可为研究该病提供可靠的动物模型。

## 参考文献

- [1] Schmidt J, Lewandrowsi K, Fernander-del Castillo C, et al. Histopathologic correlates of serum amylase activity in acute experimental pancreatitis [J]. *Dig Dis Sci*, 1992, 37(9): 1426 - 1433.
- [2] Czako L, Szabolcs A, Vajda A, et al. Hyperlipidemia induced by a cholesterol-rich diet aggravates necrotizing pancreatitis in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 572(1): 74 - 81.
- [3] Hackert T, Pfeil D, Hartwig W, et al. Platelet function in acute experimental pancreatitis induced by ischaemia - reperfusion [J]. *Br J Surg*, 2005, 92(6): 724 - 728.
- [4] 刘海利,肖学凤,莫凡,等. 几种高脂血症实验动物模型的研究进展 [J]. *实验动物科学*, 2010, 27(2): 38 - 41.
- [5] 谢晓隽,裴景春,包永睿,等. 关于高脂血症大鼠模型及模型后持续时间研究 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2011, 13(9): 205 - 206.
- [6] 王先科,史莹华,王成章,等. 不同高脂饲料建立高脂血症大鼠模型的对比研究 [J]. *江苏农业科学*, 2012, 40(1): 182 - 184.
- [7] 王琛,崔金环,魏蕾. 茵陈提取物对 SD 大鼠高脂血症模型血脂水平和脂肪肝变的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2010, 28(8): 1738 - 1740.
- [8] 林武,吴丽萍. 高脂饲料致高脂血症大鼠模型的研究 [J]. *现代实用医学*, 2013, 25(2): 171 - 172, 185.
- [9] 张东,武海军,陈士萍,等. 大鼠实验性高脂血症五种造模方法的比较 [J]. *中国药理学通报*, 2007, 23(9): 1254 - 1256.
- [10] 张智,闪郁都,向丽华,等. 大鼠实验性高脂血症两种造模方法的比较 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2004, 10(2): 113 - 114.
- [11] Nathan JD, Romac J, Peng RY, et al. Transgenic expression of pancreatic secretory trypsin inhibitor-I ameliorates secretagogue-induced pancreatitis in mice [J]. *Gastroenterology*, 2005, 128(3): 717 - 727.
- [12] Toma H, Winston J, Micci MA, et al. Nerve growth factor expression is up-regulated in the rat model of L-arginine-induced acute pancreatitis [J]. *Gastroenterology*, 2000, 119(5): 1373 - 1381.
- [13] Zhang XP, Li ZF, Liu XG, et al. Effects of emodin and baicalin on rats with severe acute pancreatitis [J]. *World J Gastroenterology*, 2005, 11(14): 2095 - 2100.
- [14] 刘纳新,管敏强,陈通克,等. 两种大鼠急性坏死性胰腺炎模型制作方法的改良和比较 [J]. *实验动物与比较医学*, 2008, 28(2): 110 - 113.

收稿日期: 2014 - 11 - 10 修回日期: 2014 - 12 - 18 编辑: 王国品