

文章编号:1005-6947(2005)05-0343-04

· 实验研究 ·

缺血预处理对大鼠胰腺移植的保护作用

霍婷婷¹, 刘小南², 王为忠², 李开宗³, 管文贤², 陈冬利²

(第四军医大学西京医院 1. 麻醉科 2. 胃肠外科 3. 肝胆外科, 陕西 西安 710033)

摘要:目的 探讨缺血预处理对大鼠胰腺移植的远期保护作用。方法 糖尿病大鼠随机分为缺血再灌注组(I/R组, $n=30$)和缺血预处理组(IPC组, $n=30$),两组移植前2d,再灌注后3d和7d随机各杀死6只大鼠,取血查血糖及淀粉酶,同时取胰腺组织行HE染色;6只大鼠用于观测各种代谢指标。其余6只大鼠用来观察大鼠存活率。结果 IPC组1个月存活率高于I/R组(5/6:3/6, $P<0.01$);再灌注后IPC组各时间点血糖($P<0.01$)、血淀粉酶($P<0.01$)、进食量($P<0.05$)、排尿量($P<0.01$)和饮水量($P<0.05$)均低于I/R组;I/R组移植胰的损伤程度大于IPC组。结论 缺血预处理可增加大鼠胰腺移植的存活率,降低血淀粉酶活性,减轻胰腺的再灌注损伤程度,对大鼠胰腺移植具有保护作用。

关键词: 胰腺移植; 缺血预处理; 再灌注损伤

中图分类号:R657.5; R619.9 文献标识码:A

The protective effect of ischemic preconditioning on pancreas transplantation in rats

HE Ting-ting¹, LIU Xiao-nan², WANG Wei-zhong², LI Kai-zong³, GUAN Wen-xian², CHEN Dong-li²

(1. Department of Anesthesiology 2. Department of Gastrointestinal Surgery 3. Department of Hepatobiliary Surgery, Xijing Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of ischemic preconditioning (IPC) on pancreas transplantation (PT) in rats. **Methods** Streptozotocin-induced diabetic SD rats were randomly assigned to 2 groups: group I/R (ischemia/reperfusion), consisted of 30 diabetic rats which received PT; group IPC, consisted of 30 diabetic rats which received pancreas transplantation and IPC. Six rats in each group were randomly sacrificed at 2 days before PT, and 3 days and 7 days after PT, to detect the level of blood sugar and amylase, and pancreatic sections were stained with HE simultaneously; 6 rats were used to observe various metabolic indexes, and other 6 rats were used to observe the rat survival rate. **Results** The rats of group IPC had a higher 1 month survival rate than group I/R (5/6 vs 3/6, $P<0.01$). The blood sugar and amylase activity, food intake, water intake and urine volume in group IPC were lower than group I/R at each time period after transplantation ($P<0.01$, $P<0.01$, $P<0.05$, $P<0.05$, $P<0.01$, respectively). The degree of injury of pancreas graft in group I/R was more serious than that in group IPC. **Conclusions** IPC can improve the survival rate, reduce amylase activity, alleviate the degree of injury of pancreas graft, and protect the pancreas graft after PT in rats.

Key words: Pancreas Transplantation; Ischemic Preconditioning; Reperfusion Injury

CLC number: R657.5; R619.9 **Document code:** A

缺血预处理(ischemic preconditioning, IPC)是指

通过预先反复短暂缺血以延缓或减轻组织后续缺血再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤的一种措施,其对于I/R损伤具有内源性保护作用。IPC这种内源性保护机制经过近20年的研究已在不同种属、不同器官得到证实,但有关IPC对胰腺的保护作用和机制的研究很少。本实验就IPC是否对大鼠胰腺移植(pancreas transplantation, PT)也具有保护

收稿日期:2004-12-01; 修订日期:2005-04-06。

作者简介:霍婷婷(1979-),女,陕西西安人,第四军医大学西京医院医师,主要从事器官移植方面的研究。

通讯作者:刘小南 电话:029-3375265(O), 029-3373607(H), 13909298083(手机); E-mail:liuxnys@yahoo.com.cn。

作用作一探讨。

1 材料和方法

1.1 动物分组及手术

134只SD雄性大鼠(250~320g),标准实验室饲养,由本校动物实验中心提供。86只大鼠自阴茎静脉注射链脲霉素(streptozozin, STZ)(65mg/kg),其中60只空腹血糖持续2周超过17.4mmol/L者视为糖尿病大鼠供本试验用。48只正常大鼠为供体。将60只糖尿病大鼠随机平均分为I/R组($n=30$)和IPC组($n=30$),两组随机各取18只动物进行各种检测,6只用于观测各种代谢指标,其余6只用来观察存活率。I/R组和IPC组均行PT,方法按参考文献^[1]。I/R组于获取供胰前以4℃肝素冰平衡盐液(150U/mL)灌注20min;IPC组于供胰再灌注前阻断脾血管5min再灌注5min共2次。供胰均置入4℃肝素冰平衡盐液(150U/mL)中保存,各组控制冷缺血时间为180min,热缺血时间为15min。各组受体术前禁食不禁水24h,并肌注氨基苄青霉素(100mg/kg)1次。盐酸氯氨酮(100mg/kg)腹腔麻醉。术后肌注氨基苄青霉素(200mg/kg),24h后正常饮食。

1.2 检测指标及方法

(1)各组移植前2d、再灌注后3d和7d随机杀死6只大鼠取下腔静脉血,用血糖监测仪(美国强生集团理康公司)测血糖,部分血样离心(4℃,4000r/min,10min),上清置于-70℃冰箱保存。用相应的试剂盒测定淀粉酶(化学比色法,操作步骤参照南京建成生物工程研究所试剂盒说明书);取部分胰腺组织保存于含10%中性甲醛中用于HE染色,光镜检查。(2)另随机取6只大鼠于术前2d及术后第3,7天分别记录体重,进食量,饮水量。(3)其余6只大鼠不做任何处理,观察1个月大鼠存活率。大鼠3d内死亡者属技术失败,不计入内。

1.3 统计学处理

数据资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间显著性差异用采用配对 t 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠存活率

I/R组有3只大鼠于1个月内死亡,2只死于继发性胰腺炎,1只死于胰漏,存活率50%。IPC组有1只大鼠于1个月内死亡,死于为继发性胰腺炎,存活率83.3%。两组1个月存活率比较,差异有显著性($P < 0.01$)。

2.2 大鼠胰腺移植前、后血糖的变化

I/R组和IPC组大鼠术后血糖均较术前下降($P < 0.05$, $P < 0.01$),IPC组术后3d和7d的血糖值较I/R组降低显著($P < 0.01$),说明IPC组术后移植胰内分泌功能较I/R组恢复好(表1)。

表1 大鼠胰腺移植前、后血糖水平变化($n=6$)

时间(d)	血糖(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	
	I/R组	IPC组
移植前 2	19.6 ± 1.8	20.1 ± 1.7
移植后 3	14.4 ± 0.7 ¹⁾	6.9 ± 1.2 ²⁾³⁾
7	14.3 ± 0.9 ¹⁾	6.7 ± 1.1 ²⁾³⁾

注:1)与术前比较 $P < 0.05$; 2)与术前比较 $P < 0.01$; 3)与I/R组比较 $P < 0.01$

2.3 大鼠胰腺移植前、后饮水量的变化

I/R组和IPC组大鼠移植术后饮水量均较术前下降($P < 0.05$, $P < 0.01$),但IPC组术后3d和7d的饮水量较I/R组低($P < 0.05$)(表2)。

表2 大鼠胰腺移植前、后饮水量变化($n=6$)

时间(d)	饮水量(mL/d, $\bar{x} \pm s$)	
	I/R组	IPC组
移植前 2	120.3 ± 19.4	121.2 ± 18.9
移植后 3	99.6 ± 15.1 ¹⁾	75.4 ± 14.1 ²⁾³⁾
7	93.7 ± 13.9 ¹⁾	62.5 ± 13.6 ²⁾³⁾

注:1)与术前比较 $P < 0.05$; 2)与术前比较 $P < 0.01$; 3)与I/R组比较 $P < 0.05$

2.4 大鼠胰腺移植前、后进食量的变化

I/R组和IPC组大鼠移植术后进食量均较术前下降($P < 0.05$, $P < 0.01$),IPC组术后3d和7d的进食量较I/R组低($P < 0.05$)(见表3)。

表3 大鼠胰腺移植前、后进食量变化($n=6$)

时间(d)	进食量(mL/d, $\bar{x} \pm s$)	
	I/R组	IPC组
移植前 2	62.1 ± 7.9	60.3 ± 7.2
移植后 3	52.9 ± 6.2 ¹⁾	41.2 ± 3.1 ²⁾³⁾
7	49.3 ± 5.8 ¹⁾	40.9 ± 2.8 ²⁾³⁾

注:1)与术前比较 $P < 0.05$; 2)与术前比较 $P < 0.01$; 3)与I/R组比较 $P < 0.05$

2.5 大鼠胰腺移植前、后排尿量的变化

I/R组和IPC组大鼠移植术后排尿量均较术前下降($P < 0.05$, $P < 0.01$),IPC组术后3和7d的排尿量较I/R组低($P < 0.01$)(表4)。

表4 大鼠胰腺移植前、后排尿量变化($n = 6$)

时间(d)	排尿量(mL/d, $\bar{x} \pm s$)	
	I/R组	IPC组
移植前 2	63.8 ± 7.1	61.1 ± 6.3
移植后 3	49.2 ± 6.4 ¹⁾	26.5 ± 3.9 ^{2),3)}
7	45.7 ± 5.8 ¹⁾	22.3 ± 4.2 ^{2),3)}

注:1)与术前比较 $P < 0.05$;2)与术前比较 $P < 0.01$;3)与I/R组比较 $P < 0.01$

2.6 大鼠胰腺移植前、后血淀粉酶活性变化

I/R组和IPC组大鼠移植术后3d血淀粉酶均较术前升高($P < 0.01$, $P < 0.05$);I/R组术后7d时血淀粉酶仍较术前高($P < 0.01$),IPC组已基本恢复正常;术后各时间段血淀粉酶I/R组均较IPC组增高($P < 0.01$)(表5)。

表5 大鼠胰腺移植前、后血淀粉酶变化($n = 6$)

时间(d)	血淀粉酶(U/L, $\bar{x} \pm s$)	
	I/R组	IPC组
移植前 2	984 ± 143	1032 ± 156
移植后 3	2796 ± 163 ¹⁾	1656 ± 149 ^{2),3)}
7	2243 ± 158 ¹⁾	1295 ± 143 ^{3),4)}

注:1)与术前比较 $P < 0.01$;2)与术前比较 $P < 0.05$;3)与I/R组比较 $P < 0.01$;4)与术前比较 $P > 0.05$

2.7 移植胰的病理变化

I/R组:术后3d,胰腺间质充血、水肿,个别胰腺小叶轮廓破坏,可见少量散在的腺泡坏死灶,部分胰管破坏,坏死区周围大量中性粒细胞浸润;术后7d,胰腺间质水肿较术后3d减轻,但仍见中性粒细胞浸润。IPC组:术后3d,胰腺间质充血、水肿情况较I/R组轻,胰腺小叶轮廓较清晰,可见少量中性粒细胞浸润;术后7d,已基本恢复正常。

3 讨论

研究认为IPC对胰腺I/R损伤有以下保护作用:(1)改善胰腺微循环障碍。缺血后的微循环障碍和再灌注后的无复流现象是I/R后胰腺损伤的重要原因;阻断胰腺血流会导致毛细血管内纤维蛋白酶凝聚,引起微循环障碍^[2]。对在体大鼠的研究发现,胰腺经过10min缺血和10min的再灌注可显

著地增加I/R后胰腺的功能性毛细血管密度^[3];胰腺的I/R损伤可导致胰腺血流减少,而IPC逆转这种变化,同时组织学损害减轻^[4]。(2)减轻炎症反应。胰腺的缺血会引起胰腺中性粒细胞浸润、黏附和激活,同时导致氧自由基和前炎症细胞因子的释放,介导胰腺的损伤^[2]。IPC可抑制I/R后的中性粒细胞浸润,减轻胰腺组织水肿^[3]。(3)抑制胰酶分泌。胰腺的缺血和再灌注阶段均可激活胰酶,导致胰腺的自我消化,诱发急性胰腺炎^[5,6],此现象已在动物实验和临床上得到证实^[7,8],这可能和胰腺的微循环障碍有关^[9],IPC可显著减少I/R后胰消化酶的活性,降低胰腺炎的患病率和动物的死亡率^[4]。(4)增加胰腺DNA的合成。胰腺炎所致的DNA合成减少是胰腺损伤的标志。在大鼠胰腺的IPC研究中发现,单纯IPC虽然不能改变胰腺DNA的合成,但可抑制I/R后胰腺DNA合成的减少^[4],其机制尚不清楚。

判断胰腺移植是否成功的标准是其内分泌功能恢复的优劣。移植过程中冷、热缺血和冷保存可导致移植胰I/R损伤。一方面,I/R直接损伤移植胰的内分泌系统,另一方面,缺血再灌注过程可激活胰酶,严重者引起继发性胰腺炎,导致全身系统的损害,终致移植的失败。本试验发现,IPC组在移植后近期不同时间点的胰腺内分泌功能及代谢水平均优于I/R组。说明IPC可以减轻早期胰腺内分泌细胞的损伤,,提高大鼠的存活率,并且暗示一定程度的I/R介导的胰腺内分泌系统的损伤可能是不可逆的。IPC组术后近期不同时间点的血淀粉酶低于I/R组,术后7d IPC组血淀粉酶已基本恢复正常,但I/R组仍高居不下,而病理学检查同样证实IPC可以减轻胰腺的损害。说明IPC对胰酶的激活有抑制作用,可减轻移植胰的损害,继而避免胰酶对机体全身系统的损伤,提高大鼠胰腺移植的成功率。

参考文献:

- [1] 刘小南,王为忠,李开宗,等.大鼠胰肠和胰膀胱单纯胰腺移植模型比较研究[J].中国普通外科杂志,2004,13(10):741-745.
- [2] Kusterer K, Poschmann T, Friedemann A, et al. Arterial constriction, ischemia - reperfusion, and leukocyte adherence in acute pancreatitis[J]. Am J Physiol, 1993, 265: G165 - G171.
- [3] Obermaier R, Von Dobschuetz E, Drognitz O, et al. Ischemic

- preconditioning attenuates capillary no - reflow and leukocyte adherence in postischemic pancreatitis [J]. *Langenbecks Arch Surg*, 2004, 389 (6): 511 - 516.
- [4] Artur Dembin' ski, Zygmunt Warzecha, Piotr Ceranowicz, *et al.* Ischemic preconditioning reduces the severity of ischemia reperfusion - induced pancreatitis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, 473 (2 ~ 3): 207 - 216.
- [5] Obermaier R, Benz S, Kortmann B, *et al.* Ischemia/reperfusion - induced pancreatitis in rats: a new model of complete normothermic in situ ischemia of a pancreatic tail - segment [J]. *Clin Exp Med*, 2001, 1 (1): 51 - 59.
- [6] Sakorafas GH, Tsiotos GG, Sarr MG. Ischemia/Reperfusion - Induced pancreatitis [J]. *Dig Surg*, 2000, 17 (1): 3 - 14.
- [7] Lonardo A, Grisendi A, Bonilauri S, *et al.* Ischemic necrotizing pancreatitis after cardiac surgery. A case report and review of the literature [J]. *Ital J Gastroenterol Hepatol*, 1999, 31 (9): 872 - 875.
- [8] Gullo L, Cavicchi L, Tomassetti P, *et al.* Effects of ischemia on the human pancreas [J]. *Gastroenterology*, 1996, 11 (4): 1033 - 1038.
- [9] Furukawa M, Kimura T, Sumii T, *et al.* Role of local pancreatic blood flow in development of hemorrhagic pancreatitis induced by stress in rats [J]. *Pancreas*, 1993, 8 (4): 499 - 505.

文章编号:1005-6947(2005)05-0346-01

· 病例报告 ·

海蓝组织细胞增生症 1 例

刘薇, 胡国璜, 汤恢煊

(中南大学湘雅医学院 普通外科, 湖南 长沙 410008)

关键词:海蓝组织细胞增生症; 病例报告

中图分类号:R589.2; R44 **文献标识码:**D

患者 男, 35 岁。脾脏肿大 20 余年, 黄疸伴牙龈出血 5 年余入院。患者 20 余年前发现左上腹一肿块, 诊断为巨脾, 间常有鼻出血, 无其他特殊不适, 未予特殊治疗, 5 余年前发现脾脏逐渐增大且反复皮肤巩膜黄染, 伴牙龈出血, 家族中无类似病史。体查: 无眼部畸形, 皮肤巩膜轻度黄染, 未见腹壁静脉曲张, 左侧腹部膨隆, 可触及明显肿大脾脏, 质硬, 表面尚光滑, 无压痛, 肝脏肋缘下未及。实验室检查: 白细胞 $3.1 \times 10^9/L$; 血小板 $39.1 \times 10^9/L$; 总胆红素 $47.9 \mu\text{mol}/L$; 间接胆红素 $15.6 \mu\text{mol}/L$; 胆固醇: $2.25 \text{mmol}/L$; HDL-C $0.35 \text{mmol}/L$; LDL-C $1.35 \mu\text{mol}/L$, 肝炎全套正常, 免疫全套正常。骨髓穿刺结果为海蓝组织细胞增生症。胸部正位片无异常。B 超及 CT 显示: 脾大, 脾内多发实质性结节, 胆囊息肉样病变。剖腹探查发现脾脏明显肿大, 结节状改变, 胆囊内多发性息肉, 行脾切除及胆囊切除术, 切除脾脏重 4 kg。病理切片报告: (脾) 脂质代谢障碍性疾病, 结合 Giemsa (+), PAS (+) 考虑为海蓝组织细胞增生症; 慢性胆囊炎并胆固醇息肉形成。术后第 2 天复查血小板: $108 \times 10^9/L$, 第 10 天复查血小板: $1354 \times 10^9/L$, 乃行血小板清除术 1 次, 术后予环磷酰胺 0.4g, 术后 2h 血小板为 $702 \times 10^9/L$ 。复查总胆红素 $42.3 \mu\text{mol}/L$; 间接胆红素 $13.4 \mu\text{mol}/L$; HDL-C $0.58 \text{mmol}/L$; LDL-C $1.66 \text{mmol}/L$; 胆固醇 $2.84 \text{mmol}/L$; 脂蛋白 α $62.18 \mu\text{mol}/L$, 患者症状缓解出院。

个器官都有组织细胞浸润, 因光镜下该种组织细胞中含有多少不等的海蓝色颗粒, 故称为海蓝组织细胞。1954 年, Sawisky (*Blood*, 1954, 9: 977 - 985.) 首次报道本病。本病病因至今尚未明了, 一般认为与脂质代谢障碍有关, 但有作者发现 apo 基因突变可能引起本病, 并且另有文献报道尼曼 - 匹克病, 白血病, 淋巴瘤等其他一些疾病也可出现海蓝组织细胞。本病多为散发, 但可家族发病, 临床表现多样化, Sawitsky 等 (*Blood* 1954, 9: 977 - 985) 总结认为海蓝组织细胞增生症的临床表现包括: 眼部畸形, 肺纤维化, 智力发育延迟, 皮肤色素斑, 脾大以及血小板减少, 其中最常见的是脾大及脾功能亢进。病程进展相对缓慢, 最后病人往往死于肝功能衰竭或呼吸功能衰竭。目前本病暂无有效的治疗方法, 脾切除术仅能缓解门静脉高压症消化道大出血及脾大脾功能亢进, 不能解除病因, 且手术治疗还有可能加速高脂血症和肝脏脂质沉积, 因此需严格掌握本病手术指征。

讨论 海蓝组织细胞增生症 (sea blue histiocytosis) 是一种罕见的与脂质代谢障碍有关的临床综合征, 中枢神经、肺、胃肠道、肝、脾、骨髓等全身多

收稿日期:2005-01-07;

修订日期:2005-03-07。

作者简介:刘薇 (1981 -), 女, 湖南娄底人, 中南大学湘雅医学院硕士研究生, 主要从事普外临床方面的研究。

通讯作者:刘薇 电话:13755101989。