

亚甲蓝+牛磺胆酸钠联合逆行胰胆管注射法 制备重症急性胰腺炎大鼠模型



吉九威, 赵海平, 胡文秀, 杨丽敏, 王飞

内蒙古医科大学附属医院肝胆胰脾外科 A 区(呼和浩特 010059)

【摘要】 目的 研究亚甲蓝+牛磺胆酸钠联合逆行胰胆管注射法制备重症急性胰腺炎(SAP)大鼠模型的应用价值。方法 选取 SPF 级 SD 大鼠 90 只,雌雄各半,采用拆信封法随机分为正常对照组(NC 组)、牛磺胆酸钠组(ST 组)及亚甲蓝+牛磺胆酸钠组(MBST 组),分别经胰胆管逆行注射 0.9% 生理盐水、牛磺胆酸钠+DAPI 荧光剂及亚甲蓝+牛磺胆酸钠+DAPI 荧光剂的混合液,分别从穿刺成功率、胰腺组织坏死程度、胰腺病变范围及胆、肠漏发生率 4 个方面比较各组间的差异。结果 ① 穿刺成功率在 MBST 组明显高于 ST 组($P=0.003$)和 NC 组($P=0.006$),ST 组和 NC 组比较差异无统计学意义($P=0.782$)。② 在 MBST 组和 ST 组的胰腺坏死程度随着时间的延长越来越重($P<0.050$);在 12、24 和 48 h 3 个时间点时 MBST 组胰腺坏死程度均较 ST 组严重($P<0.050$)。③ MBST 组的胰腺病变范围评分明显高于 ST 组($P=0.003$)。④ MBST 组的胆、肠漏发生率明显低于 NC 组($P=0.008$)和 ST 组($P=0.004$)。结论 亚甲蓝+牛磺胆酸钠联合逆行胰胆管注射法制备 SAP 大鼠模型可以提高胰胆管穿刺成功率、加重胰腺组织的坏死程度、扩大胰腺组织的病变范围、降低胆、肠漏率,可为 SAP 基础研究提供较为稳定的动物模型。

【关键词】 重症急性胰腺炎;动物模型;牛磺胆酸钠;亚甲蓝

Severe acute pancreatitis rat model induced by retrograde pancreatic duct infusion of methylene blue in combination with sodium taurocholate

Ji Jiuwei, ZHAO Haiping, HU Wenxiu, YANG Limin, WANG Fei

Area A of Hepatobiliary, Pancreatic and Splenic Surgery, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Huhhot 010059, P. R. China

Corresponding author: ZHAO Haiping, Email: zhaohaiping007@aliyun.com

【Abstract】 Objective To study value of severe acute pancreatitis (SAP) rat model induced by retrograde pancreatic duct infusion of methylene blue in combination with sodium taurocholate. **Methods** The SPF 90 SD rats, 45 male rats and 45 female rats of them, were randomly divided into normal control group (NC group), sodium taurocholate group (ST group) and methylene blue in combination with sodium taurocholate group (MBST group), which were retrogradely infused with the 0.9% normal saline, sodium taurocholate plus DAPI, and methylene blue plus sodium taurocholate plus DAPI respectively into the pancreatic duct. The success rate of puncture, degree necrosis of pancreas tissue, range of pancreatic lesions, and the incidence of bile or intestinal leakage were compared among the three groups. **Results** ① The success rate of puncture in the MBST group was significantly higher than that in the ST group ($P=0.003$) and the NC group ($P=0.006$), which had no significant difference between the ST group and the NC group ($P=0.782$). ② The necrosis degree of pancreas tissues in the MBST group and ST group became more and more severe with the extension of time ($P<0.050$), which in the MBST group was more serious than that in the ST group ($P<0.050$). ③ The range of pancreatic lesions in the MBST group was significantly higher than that in the ST group ($P=0.003$). ④ The incidence of bile or intestinal leakage in the MBST group was significantly lower than that in the NC group ($P=0.008$) and the ST group ($P=0.004$). **Conclusions** Retrograde pancreatic duct infusion of methylene blue in combination with sodium taurocholate can improve success rate of puncture, aggravate necrosis degree of pancreatic tissue, increase lesion

DOI: 10.7507/1007-9424.201803092

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目[项目编号: 2016MS(LH)0809]; 内蒙古自治区科技计划项目
通信作者: 赵海平, Email: zhaohaiping007@aliyun.com

scope of pancreatic tissue, and reduce rate of bile or intestinal leakage, which can provide a stable animal model for basic research of SAP.

【Keywords】 severe acute pancreatitis; animal model; sodium taurocholate; methylene blue

重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 发病急且病情重, 特别是合并肝、肺、脑等脏器病变时病死率极高, 预后不佳, 成为临床较为棘手的问题, 针对 SAP 的基础性研究仍是当今研究的热点问题。因此, 对 SAP 动物模型的要求不断提高, 需要一个稳定、重复性好、成模率高及致病因素与临床病因相似的动物模型, 其是探寻 SAP 发病机制、病理生理变化及其治疗方法的基础。自 1980 年 Aho 等^[1]首次报道了通过逆行胰胆管注射牛磺胆酸钠成功制备 SAP 大鼠模型以来, 因此方法具有成模率和存活率高、稳定性好等优点, 且病变符合临床病变特征, 故一直受到研究者的认可, 但其不足之处在于大鼠的胰胆管直径小、寻找胰胆管开口及注射牛磺胆酸钠困难、操作繁杂、对操作者技术熟练度要求高、胆漏和肠漏发生率高、病变常局限在胰头而胰体及胰尾部组织病变表现不明显。因此, 关于 SAP 大鼠模型的建立需不断地创新、改良和发展。本研究应用亚甲蓝作为示踪剂进行逆行胰胆管注射牛磺胆酸钠造模, 探究此法在大鼠 SAP 模型中的应用价值。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

1.1.1 实验动物 SPF 级 SD 大鼠 90 只 (购自辽宁长生生物技术股份有限公司), 雌雄各半, 体质量为 280 ~ 320 g, 鼠龄 60 ~ 70 d。

1.1.2 实验试剂 牛磺胆酸钠, 购自北京索莱宝科技有限公司, 使用前用灭菌注射水稀释配制成浓度为 5% 的溶液; 水合氯醛, 购自成都市科隆化工试剂厂, 使用前用灭菌注射水稀释配制成浓度为 10% 的溶液; DAPI 荧光剂, 购自美国 Sigma 公司; 亚甲蓝注射液, 购自济川药业集团有限公司; 4% 甲醛固定液, 购自美国 Sigma 公司。

1.1.3 其他实验物品 显微止血夹, 购自宁波医用缝针有限公司; 可吸收性外科缝线, 购自上海浦东金环医疗用品股份有限公司; pH 试纸, 购自上海馨晟试化工科技有限公司; 1 mL 和 5 mL 注射器; HE 染色相关试剂、设备等。

1.2 动物分组及模型制备

1.2.1 动物分组 实验 SD 大鼠购回后适应性喂养 1 周, 随后按照拆信封法随机分配成 3 组, 即正常

对照组、牛磺胆酸钠组和亚甲蓝+牛磺胆酸钠组, 每组 30 只, 每组再依次随机分为 12、24 及 48 h 3 个亚组, 每个亚组 10 只大鼠。

1.2.2 模型制备及标本处理 手术器械消毒, 操作过程严格无菌。实验大鼠术前 12 h 禁食, 不禁水。采用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉 (3.3 mL/kg)。待麻醉满意后将大鼠固定于手术台, 腹部术区备皮, 常规乙醇消毒铺巾。取上腹正中切口长约 3 cm 入腹, 显露十二指肠, 将十二指肠顺时针翻转, 暴露胰腺背侧, 手术灯光照向胰腺背侧, 从胰腺腹侧辨认胆管系统及十二指肠乳头 (图 1a); 显微止血夹暂时阻闭肝门部胆管, 用棉签钝性分离胰头, 暴露胰胆管-十二指肠汇合部, 于乳头开口处十二指肠对系膜缘肠壁无血管区作为穿刺点, 用直径 0.3 mm 穿刺针头与肠管壁成 10° 角刺入十二指肠壁内, 调整穿刺针方向平行于胰胆管, 经乳头部插入胰胆管内约 5 mm (此处一般无主胰管); 显微止血夹封闭胰胆管十二指肠开口端, 穿刺针连接 1 mL 注射器, 以 0.3 mL/min 的速度匀速向胰胆管内注入药液, 剂量为 2 mL/kg。其中 NC 组注射 0.9% 生理盐水, ST 组注射 5% 牛磺胆酸钠+3 μ L DAPI 荧光剂, MBST 组注射 5% 牛磺胆酸钠+0.1 mL 亚甲蓝注射液+3 μ L DAPI 荧光剂 (图 1b)。注药完毕后 5 min, MBST 组大鼠的分支胰胆管被逐渐清晰地显示出来, 同时在药液分布区域可见胰腺组织充血水肿 (图 1c), 注药后 10 min, 胰胆管内的亚甲蓝逐渐被吸收 (图 1d), 然后去除肝门部胆管及乳头处显微血夹, 8-0 可吸收性外科缝线“8”字缝合肠壁穿刺口, 用 5 mL 注射器抽取温盐水冲洗穿刺口及乳头部位; 5 min 后用 pH 试纸蘸取穿刺口周围肠壁及乳头部组织液, 与标准卡比色, 判断是否出现肠漏或胆漏 (比色后呈现碱性, 则认为出现肠漏或胆漏); 干纱布擦净腹腔内冲洗液及渗液, 检查无活动性出血后逐层关腹。术毕背部皮下注射 5 mL 生理盐水补液。大鼠苏醒后禁食, 可饮水, 分组进行饲养。每组大鼠于穿刺成功后分别于 12 h、24 h 及 48 h 采用断头法处死, 完整切除大鼠胰腺组织, 4% 甲醛固定备用。以上所有操作均由同一名术者完成。

1.3 SAP 模型纳入与排除标准

1.3.1 纳入标准 ① 穿刺过程中无肉眼可见胰胆管

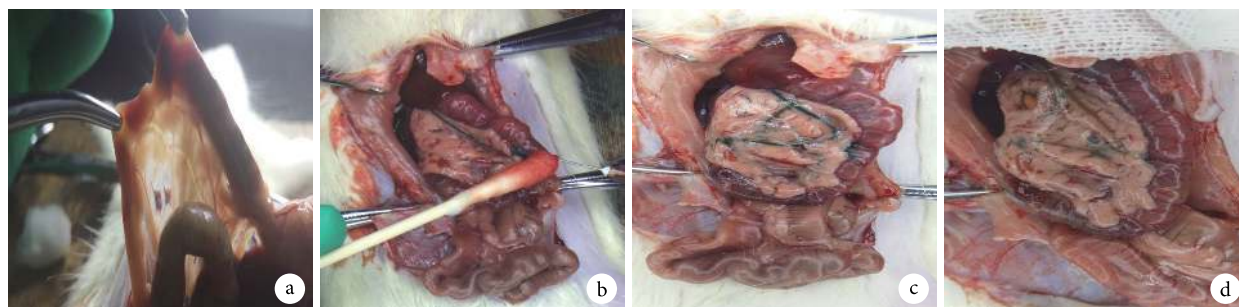


图 1 大鼠胰腺正常解剖及亚甲蓝+牛磺胆酸组大鼠模型的胰腺

a: 在灯光下辨认胰胆管; b: MBST 组注射药液后胰胆管清晰可见; c: MBST 组注射药液后 5 min 可见分支胰管显影, 药液周围的胰腺组织充血水肿明显; d: MBST 组注射药液后 10 min 亚甲蓝逐渐被吸收, 胰腺出现散在出血点

穿透性损伤; ② 无胰腺及其被膜损伤; ③ 无胰腺及穿刺部位活动性出血; ④ 穿刺口及乳头周围无胆漏或肠漏; ⑤ 操作过程中无其他器官组织的副损伤; ⑥ 大鼠在处死的各时间点仍然存活。对符合以上全部条件的大鼠纳入研究范围。

1.3.2 排除标准 ① 穿刺过程中有肉眼可见的胰胆管穿透性损伤; ② 穿刺十二指肠后针头脱出或反复穿刺; ③ 有胰腺及其被膜损伤; ④ 有胰腺及穿刺部位活动性出血且按压止血后仍有出血; ⑤ 穿刺口及乳头周围有胆漏或肠漏; ⑥ 操作过程中有其他器官组织的副损伤; ⑦ 在处死的各时间点大鼠已经死亡。对符合以上任何一条的大鼠均不纳入研究范围。

1.4 观察指标

1.4.1 穿刺成功率 符合以下全部条件者则认为穿刺成功: ① 穿刺过程中无胰胆管穿透性损伤; ② 无胰腺及其被膜损伤; ③ 无胰腺及穿刺部位活动性出血; ④ 穿刺口及乳头周围无肠漏及胰漏; ⑤ 操作过程中无其他器官组织的副损伤。计算 3 组的穿刺成功率。

1.4.2 坏死程度 取各组术后 12、24 及 48 h 时存活大鼠的胰腺体部标本, 常规 HE 染色后, 采用盲法由专科医师在光镜下阅片。每张切片随机选择 10 个高倍视野($\times 200$), 观察胰腺组织的病理变化, 并参照 Schmidt 等^[2]的镜下评分法(表 1)对胰腺病理变化进行评分, 计算 3 组在各时间点时的平均分数。

1.4.3 病变范围 分别取 ST 组及 MBST 组在 24 h 时的胰头、胰体、胰尾组织做成冰冻切片, 每张切片随机选择 5 个高倍视野($\times 200$), 在荧光显微镜下观察评分, 每个视野若见荧光分布则计 1 分, 同一只大鼠最高 15 分, 最低 0 分, 分别计算 ST 组及 MBST 组的平均评分。

表 1 胰腺病变光镜下的评分标准

病理状态	评分
水肿	
正常	0
小叶间隔局灶性扩张	1
小叶间隔广泛性扩张	2
腺泡间隔扩张	3
细胞间隔扩张	4
炎症细胞(炎性细胞数/高倍视野)	
无	0
1~10	1
11~20	2
21~30	3
>30 或小脓肿形成	4
腺细胞坏死(坏死细胞数/高倍视野)	
无	0
0~4	1
5~10	2
11~16	3
>16	4
出血	
无	0
有出血	1

1.4.4 胆、肠漏率 注射药液且缝合穿刺口后, 用温盐水冲洗穿刺口及乳头部位 5 min 后用 pH 试纸蘸取穿刺口周围肠壁及乳头部组织液, 与标准卡比色呈现碱性, 则认为肠漏或胆漏发生, 计算 3 组的总体胆、肠漏率。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件对数据进行分析, 计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 两样本均数比较采用两独立样本 t 检验; 多个样本均数比较经方差齐性检验, 满足方差齐性, 使用方差分析, 两

两比较采用 LSD-*t* 检验；计数资料采用 R×C 列联表卡方 (χ^2) 检验。检验水准为 $\alpha=0.050$ 。

2 结果

2.1 穿刺成功率

NC 组穿刺成功 21 (70%) 只, 失败 9 只, 其中 8 只出现胆漏或肠漏, 1 只出现肉眼胰胆管穿透性损伤, 但胰腺被膜完整; ST 组穿刺成功 20 (67%) 只, 失败 10 只, 其中 9 只出现胆漏或肠漏, 1 只出现胰头部出血且按压止血无效; MBST 组穿刺成功 29 (97%) 只, 失败 1 只, 为穿刺部位持续性出血。3 组间穿刺成功率总体比较差异有统计学意义 ($P=0.009$)。穿刺成功率在 MBST 组明显高于 ST 组 ($P=0.003$) 和 NC 组 ($P=0.006$), ST 组和 NC 组间比较差异无统计学意义 ($P=0.782$)。

2.2 胰腺坏死程度

NC 组在 3 个观察时间点时大鼠均存活。ST 组和 MBST 组在制模后 12、24 及 48 h 时存活大鼠分别为 7 和 7 只、5 和 6 只及 4 和 4 只。其中 MBST 随着时间延长胰腺的病变程度越来越重 (图 2a-图 2d), 48 h 时大体标本出现了胰腺大片坏死及皂化斑 (图 2e)。3 组间大鼠胰腺体部组织病理评分结果见表 2。各组间的病理评分在相同时间点比较: 在 12、24 及 48 h 时间点时 MBST 组均明显高于 ST 组 ($P=0.003, P=0.002, P=0.046$) 和 NC 组 ($P<0.001,$

$P<0.001, P<0.001$), ST 组也明显高于 NC 组 ($P<0.001, P<0.001, P<0.001$)。同一组内不同时间点的病理评分比较: MBST 组在 48 h 时明显高于 12 h 时 ($P<0.001$), 与 24 h 时比较差异无统计学意义 ($P=0.410$), 在 24 h 时明显高于 12 h 时 ($P=0.040$); 在 ST 组在 48 h 时明显高于 12 h 时 ($P=0.009$), 与 24 h 时比较差异无统计学意义 ($P=0.110$), 24 h 与 12 h 时比较差异亦无统计学意义 ($P=0.840$); NC 组在 48 h 时明显低于 12 h 时 ($P=0.012$) 和 24 h 时 ($P=0.019$), 24 h 与 12 h 比较差异亦无统计学意义 ($P=0.818$)。

2.3 胰腺病变范围

制模后 24 h 时大鼠存活情况为 ST 组 5 只, MBST 组 6 只。在 MBST 组可见胰头部荧光素聚集量最多, 胰体部次之, 胰腺尾部最少, 见图 3。MBST 组的胰腺病变范围评分明显高于 ST 组 [(10.67 ± 1.21) 分比 (7.40 ± 1.82) 分, $t=3.56, P=0.003$]。

2.4 各组胆、肠漏发生率结果

出现胆、肠漏大鼠 NC 组中有 8 (27%) 只, ST 组有 9 (30%) 只, MBST 组没有发生胆、肠漏。3 组间胆、肠漏发生率总体比较差异有统计学意义 ($\chi^2=10.59, P=0.005$), 其中 MBST 组的胆、肠漏发生率明显低于 NC 组 ($\chi^2=7.07, P=0.008$) 和 ST 组 ($\chi^2=8.37, P=0.004$), NC 组和 ST 组间比较差异无

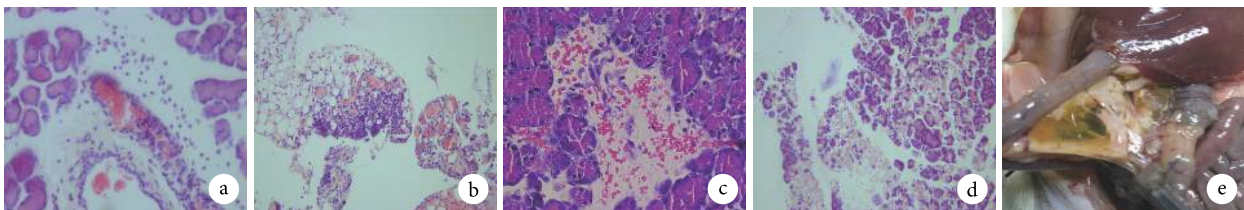


图 2 示 MBST 组术后胰腺组织坏死情况

a: 12 h 时胰腺组织出现充血、水肿及炎性细胞浸润表现 (HE $\times 200$); b: 12 h 时胰周脂肪出现出血、炎症细胞浸润表现 (HE $\times 100$); c: 24 h 时胰腺组织出现充血、水肿, 在炎性细胞浸润、腺泡破裂的基础上可见少量纤维细胞浸入 (HE $\times 200$); d: 48 h 时胰腺组织出现大片坏死 (HE $\times 100$); e: 48 h 时胰腺组织出现大片坏死及皂化斑

表 2 3 组间及组内不同时间点的胰腺体部组织病理评分结果 ($\bar{x}\pm s$)

组别	12 h		24 h		48 h		F 值	P 值
	n	病理评分 ($\bar{x}\pm s$)	n	病理评分 ($\bar{x}\pm s$)	n	病理评分 ($\bar{x}\pm s$)		
NC 组	10	3.93±0.56	10	3.87±0.39	10	3.24±0.40☆	4.84	0.021
ST 组	7	8.44±0.66*	5	9.16±0.60*	4	10.25±1.17*☆	6.63	0.010
MBST 组	7	9.64±0.52*#	6	10.82±0.64*#☆	4	11.73±0.45*#☆☆	8.79	0.002
F 值	186.05		291.38		243.08			
P 值	<0.001		<0.001		<0.001			

与 NC 组比较, * $P<0.001$; 与 ST 组比较, # $P<0.050$; 与同一组内 12 h 比较, ☆ $P<0.050$, ☆☆ $P<0.001$

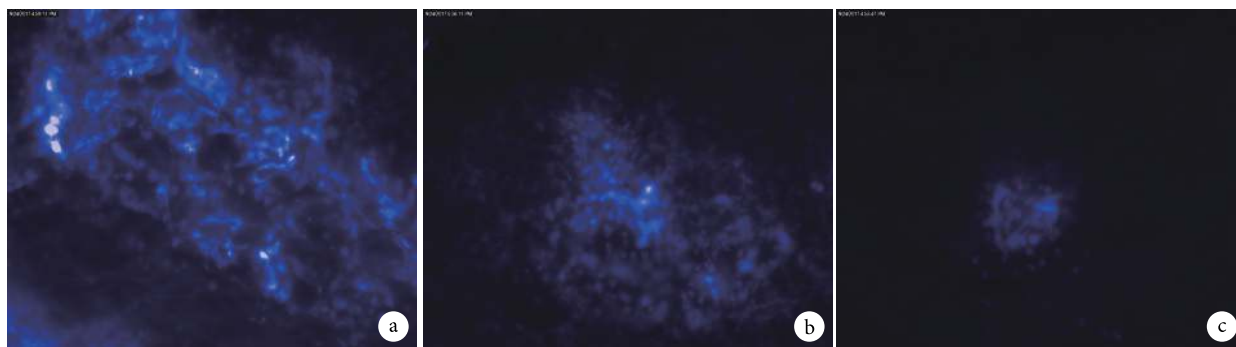


图 3 MBST 组胰头、胰体及胰尾部的荧光素聚集情况 ($\times 200$)

a: 胰头; b: 胰体; c: 胰尾

统计学意义 ($\chi^2=0.93, P=0.334$)。

3 讨论

SAP 病因复杂,其原因以胆管疾病及饮酒过度为主,也可由缺血性损伤、高脂血症、高钙血症、Oddi 括约肌功能障碍、感染、手术等因素所致;该病具有起病急、进展快、病情复杂以及病死率高的特点,其发病率在近 10 年来呈上升趋势^[3-6]。为此,构建一个更加可靠的 SAP 模型对研究该疾病的发病机制、病理生理以及治疗效果是至关重要的。

SAP 大鼠模型的建立方法较多,主要包括侵袭性法和非侵袭性法两种。侵袭性法主要包括逆行胰胆管注射法^[1,7-8]、胰胆管直接结扎法^[9-10]及胰腺被膜下注射法^[11-12];非侵袭性法主要包括分次腹腔注射 L-arginine 法^[13-15]、高钙血症法^[16]、雨蛙素腹腔注射法^[17]、雨蛙素联合脂多糖腹腔注射法^[18-20]及无胆盐乙硫氨酸喂养法^[21-22];此外,还有多种方法联合应用,如 Grönroos 等^[23]报道的慢性乙醇摄入联合牛磺胆酸钠刺激造模和 van Baal 等^[24]的静脉注射雨蛙素联合胰胆管注射胆盐刺激法造模。

由于逆行胰胆管注射法具有成模率和存活率高、稳定性好等优点,且病变符合临床病变特征,一直被广大研究者认可,故在 Aho 等^[1]首次应用逆行胰胆管注射法成功制备 SAP 大鼠模型后仍很多研究者在其基础上不断地进行改良。但是在改良过程中发现仍有较多问题需要解决,如寻找胰胆管开口及注射药液困难、容易发生胆肠漏等。李洋等^[25]曾报道将亚甲蓝色染法应用于乳腺癌前哨淋巴结活检中,具有很好的示踪效果,并且发现小剂量亚甲蓝并无毒副作用。据此,本研究在逆行胰胆管注射牛磺胆酸钠制备 SAP 大鼠模型的基础上也在药液中添加亚甲蓝作为示踪剂,结果发现,在穿刺注药过程中,在蓝色药液的映衬下胰胆管清晰可见,

穿刺针在胰胆管中的方位容易确定且在穿刺过程中可以根据情况随时调整针头位置,避免胰胆管或胰腺被膜被穿破而造成胰漏或胆漏,即便第 1 次穿刺注药后药液并未进入胰胆管仅在胰头被膜下聚集,但此时胰胆管-十二指肠连接处在蓝色药液背景下十分清楚,仅需轻微调整穿刺针方向就可以穿刺成功,这就有效避免了因反复穿刺造成十二指肠漏及穿刺部位的出血,大大提高了穿刺成功率,降低了胆、肠漏发生率,本研究中 MBST 组的穿刺成功率明显高于 ST 组 ($P<0.050$) 和 NC 组 ($P<0.050$);MBST 组的胆、肠漏发生率明显低于 NC 组 ($P<0.050$) 和 ST 组 ($P<0.050$);此外,在注药过程中,可以看到蓝色药液经主胰胆管逐渐分散到分支胰管,最终散布到整个胰腺组织,同时药液分布的周围往往有肉眼可见的胰腺组织充血水肿,可根据药液在胰胆管中流动的情况以及穿刺部位是否有蓝色药液反流至十二指肠从而调整穿刺针的位置、注药的速度和压力,确保药液均匀分布在胰腺组织内,尽量使胰腺病变轻重一致,病变范围广泛,在本研究中,MBST 组的胰腺病变范围评分明显高于 ST 组 ($P<0.050$);同时也避免了药液浪费以及注药不足所致的胰腺病变过轻致造模失败。

本研究结果证实,亚甲蓝+牛磺胆酸钠联合逆行胰胆管注射法制备急性 SAP 大鼠模型可以显著提高穿刺成功率、加重胰腺病变程度、扩大胰腺病变范围及降低胆漏或肠漏率,使得模型稳定、重复性好及成模率高,可以成为制备 SAP 大鼠模型的合适方法。

参考文献

- 1 Aho HJ, Koskensalo SM, Nevalainen TJ. Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate-induced acute haemorrhagic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol*, 1980, 15(4): 411-416.
- 2 Schmidt J, Rattner DW, Lewandowski K, et al. A better model of

- acute pancreatitis for evaluating therapy. *Ann Surg*, 1992, 215(1): 44-56.
- 3 Hung WY, Abreu Lanfranco O. Contemporary review of drug-induced pancreatitis: A different perspective. *World J Gastrointest Pathophysiol*, 2014, 5(4): 405-415.
 - 4 Zerem E. Treatment of severe acute pancreatitis and its complications. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(38): 13879-13892.
 - 5 Pavlidis P, Crichton S, Lemmich Smith J, *et al*. Improved outcome of severe acute pancreatitis in the intensive care unit. *Crit Care Res Pract*, 2013, 2013: 897107.
 - 6 张凌, 卢山, 陆慧敏, 等. 重症急性胰腺炎术后腹腔出血的危险因素分析及诊治经验. *中国普外基础与临床杂志*, 2018, 25(5): 565-571.
 - 7 邓文宏, 郭闻一, 孙荣泽, 等. 花姜酮通过 NF- κ B 保护重症急性胰腺炎大鼠胰腺损伤. *中国普外基础与临床杂志*, 2016, 23(1): 28-32.
 - 8 黄伯儒, 赵海平, 胡文秀. 髓鞘碱性蛋白、TNF- α 和 IL-6 在实验性大鼠胰性脑病中的水平变化及相关性研究. *中国普外基础与临床杂志*, 2015, 22(7): 816-821.
 - 9 Buchwalow I, Schnekenburger J, Atiakshin D, *et al*. Oxidative stress and NO generation in the rat pancreatitis induced by pancreatic duct ligation. *Acta Histochem*, 2017, 119(3): 252-256.
 - 10 Yubero S, Manso MA, Ramudo L, *et al*. Dexamethasone down-regulates the inflammatory mediators but fails to reduce the tissue injury in the lung of acute pancreatitis rat models. *Pulm Pharmacol Ther*, 2012, 25(4): 319-324.
 - 11 Wang X, Zhou G, Liu C, *et al*. *Acanthopanax versus 3-methyladenine ameliorates sodium taurocholate-induced severe acute pancreatitis by inhibiting the autophagic pathway in rats. Acanthopanax Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 8369704.
 - 12 Du D, Jin T, Zhang R, *et al*. Phenolic compounds isolated from *Dioscorea zingiberensis* protect against pancreatic acinar cells necrosis induced by sodium taurocholate. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(6): 1467-1470.
 - 13 Cheng L, Qiao Z, Xu C, *et al*. Midkine is overexpressed in acute pancreatitis and promotes the pancreatic recovery in L-arginine-induced acute pancreatitis in mice. *J Gastroenterol Hepatol*, 2017, 32(6): 1265-1272.
 - 14 Kaur J, Sidhu S, Chopra K, *et al*. Protective effect of *Mimosa pudica* L. in an L-arginine model of acute necrotising pancreatitis in rats. *J Nat Med*, 2016, 70(3): 423-434.
 - 15 Aziz NM, Kamel MY, Rifaai RA. Effects of hemin, a heme oxygenase-1 inducer in L-arginine-induced acute pancreatitis and associated lung injury in adult male albino rats. *Endocr Regul*, 2017, 51(1): 20-30.
 - 16 Frick TW. The role of calcium in acute pancreatitis. *Surgery*, 2012, 152(3 Suppl 1): S157-S163.
 - 17 Yin T, Peeters R, Liu Y, *et al*. Visualization, quantification and characterization of caerulein-induced acute pancreatitis in rats by 3.0T clinical MRI, biochemistry and histomorphology. *Theranostics*, 2017, 7(2): 285-294.
 - 18 Liu Y, Zhou D, Long FW, *et al*. Resolvin D1 protects against inflammation in experimental acute pancreatitis and associated lung injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2016, 310(5): G303-G309.
 - 19 Pan Y, Li Y, Gao L, *et al*. Development of a novel model of hypertriglyceridemic acute pancreatitis in mice. *Sci Rep*, 2017, 7: 40799.
 - 20 Warzecha Z, Sendur P, Ceranowicz P, *et al*. Protective effect of pretreatment with acenocoumarol in cerulein-induced acute pancreatitis. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(10): pii: E1709.
 - 21 Lombardi B, Estes LW, Longnecker DS. Acute hemorrhagic pancreatitis (massive necrosis) with fat necrosis induced in mice by DL-ethionine fed with a choline-deficient diet. *Am J Pathol*, 1975, 79(3): 465-480.
 - 22 Akita S, Kubota K, Kobayashi A, *et al*. Role of bone marrow cells in the development of pancreatic fibrosis in a rat model of pancreatitis induced by a choline-deficient/ethionine-supplemented diet. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 420(4): 743-749.
 - 23 Grönroos JM, Aho HJ, Nevalainen TJ. Effects of chronic alcohol intake and secretory stimulation on sodium taurocholate-induced pancreatic necrosis in the rat. *J Surg Res*, 1989, 47(4): 360-364.
 - 24 van Baal MC, van Rens MJ, Geven CB, *et al*. Association between probiotics and enteral nutrition in an experimental acute pancreatitis model in rats. *Pancreatol*, 2014, 14(6): 470-477.
 - 25 李洋, 谢靖, 张超杰. 亚甲蓝染色法在乳腺癌前哨淋巴结活检中的应用价值. *中国社区医师*, 2016, 32(6): 151-152.

收稿日期: 2018-03-31 修回日期: 2018-06-17

本文编辑: 蒲素清