

三种急性胰腺炎大鼠模型的制备及特点比较

牛小龙¹, 陈佳靓¹, 郑华群¹, 杨桂媚¹, 姚广涛^{1,2}

<https://doi.org/10.12307/2024.835>

投稿日期: 2023-11-28

采用日期: 2024-01-20

修回日期: 2024-02-04

在线日期: 2024-02-07

中图分类号:

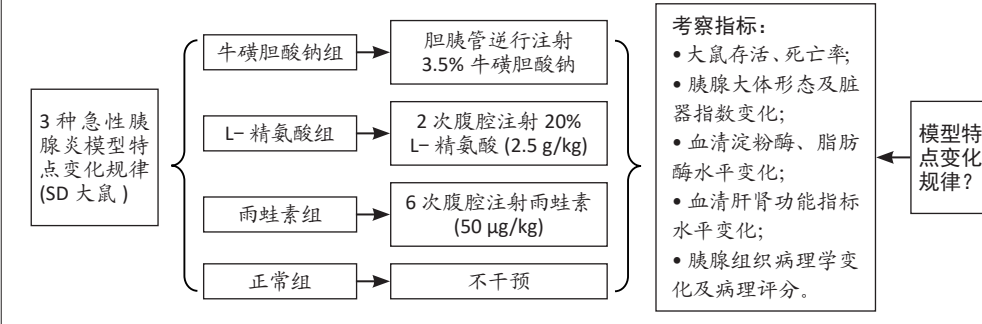
R459.9; R318; R332

文章编号:

2095-4344(2024)34-05480-07

文献标识码: B

文章快速阅读: 三种急性胰腺炎模型的制备方法及其模型特点变化规律



文题释义:

急性胰腺炎: 是一种胰腺突发性炎症性疾病, 由多种病因导致胰酶在胰腺内被激活而引起胰腺组织自身消化、水肿、甚至坏死的炎症反应。该病以腹痛、腹胀、恶心呕吐、血清淀粉酶升高等为主要特点, 发病率、死亡率逐年增高, 严重影响患者的生活质量。胆道疾病和过度饮酒被认为是诱发急性胰腺炎的主要因素, 此外, 暴饮暴食、高脂血症、高钙血症、有家族遗传史者也能引起该病的发生。

疾病模型制备: 指的是在医学、生物学、药物研究等科学研究中为了模拟特定疾病过程或病理状态, 采用一系列方法和技术, 通过实验建立与疾病相关的动物或细胞模型。该模型旨在帮助科研人员了解疾病的发病机制、病理生理过程以及可能的治疗方法, 为新药开发和药物治疗提供基础支持。

摘要

背景: 建立稳定可靠的急性胰腺炎动物模型对于了解其发病机制、病理生理学特点及临床用药具有重大意义。国内外研究表明, 雨蛙素、L-精氨酸、牛磺胆酸钠均能诱导急性胰腺炎, 但是其病理生理学特点、模型特点变化规律尚不明确。

目的: 采用雨蛙素、L-精氨酸、牛磺胆酸钠制备大鼠急性胰腺炎模型, 观察不同时段模型特点变化规律。

方法: 96只健康雄性SD大鼠随机分为正常组、雨蛙素组、L-精氨酸组、牛磺胆酸钠组, 每组24只, 每组内分为12, 24, 48 h 3个亚组, 每个亚组8只。正常组不做处理, 其余3组制备急性胰腺炎模型: 雨蛙素组采用雨蛙素6次腹腔注射, 间隔1 h; L-精氨酸组采用L-精氨酸2次腹腔注射, 间隔1 h; 牛磺胆酸钠采用胆胰管逆行注射牛磺胆酸钠诱导急性胰腺炎模型。考察各组大鼠存活率、胰腺大体形态、胰腺脏器指数、淀粉酶、脂肪酶、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐水平, 苏木精-伊红染色观察胰腺组织病理特征并进行胰腺损伤评分, 评估大鼠不同时段模型特点变化规律。

结果与结论: ①雨蛙素组大鼠总存活率100%, L-精氨酸组为88%, 牛磺胆酸钠组为96%; ②各组模型大鼠胰腺脏器指数均有所升高; 雨蛙素组大体观察可见胰腺水肿、分叶模糊、疏松; L-精氨酸组胰腺腺体增大增厚并伴有点片状出血; 牛磺胆酸钠胰腺组织出现不同程度充血水肿伴散在点片状出血坏死; ③各组模型组大鼠血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐水平与淀粉酶、脂肪酶水平变化一致, 雨蛙素组可能在12 h达到峰值($P < 0.05$), 随后呈下降趋势; L-精氨酸24 h达到最高峰($P < 0.05$), 48 h明显下降; 牛磺胆酸钠组血清淀粉酶、脂肪酶在12 h维持在较高水平并且有缓慢下降的趋势($P < 0.05$); ④与正常组相比, 光镜下观察雨蛙素组胰腺腺泡轻度水肿, 小叶间隙增宽, 炎性细胞较多; L-精氨酸组小叶间隙增宽, 大量炎性细胞浸润, 片状坏死点; 牛磺胆酸钠组胰腺水肿明显, 结构紊乱, 出现大量坏死灶及炎性细胞浸润; ⑤与正常组相比, 3种模型诱导急性胰腺炎胰腺病理评分在各个时间点差异均有显著性意义($P < 0.05$), 且同组随着时间的推移病理评分增加, 说明胰腺组织损害逐渐加重; 同一时间不同模型组相比, 病理评分存在差异, 且以牛磺胆酸钠组病理评分最高, L-精氨酸组次之, 雨蛙素组最低; ⑥结果提示, 在相同时间点分析3种模型, 病情最重的是牛磺胆酸钠组, 以胰腺的出血坏死为主要特征; 其次是L-精氨酸组, 以坏死为主要特征, 病情最轻为雨蛙素组, 以水肿为主要特征; 雨蛙素和L-精氨酸组血清生化指标在48 h有所好转, 提示这两种模型可能有自愈倾向属于自限性疾病; 牛磺胆酸钠组血清生化指标在12 h后缓慢下降, 因此认为在48 h后或者更长时间内牛磺胆酸钠组胰腺的损伤可能不会有所缓解。

关键词: 雨蛙素; L-精氨酸; 牛磺胆酸钠; 急性胰腺炎; 动物模型; 比较研究

Preparation and characteristics comparison of three acute pancreatitis rat models

Niu Xiaolong¹, Chen Jialiang¹, Zheng Huaqun¹, Yang Guimei¹, Yao Guangtao^{1,2}

上海中医药大学, ¹上海中医健康服务协同创新中心, ²药物安全评价研究中心, 上海市 201203

第一作者: 牛小龙, 男, 1996年生, 在读硕士, 主要从事中药对急性胰腺炎的保护作用及机制研究。

通讯作者: 姚广涛, 研究员, 硕士生导师, 博士, 上海中医药大学, 上海中医健康服务协同创新中心, 药物安全评价研究中心, 上海市 201203

<https://orcid.org/0009-0006-8669-1579> (牛小龙)

基金资助: 上海市科委生物医药科技支撑专项 (22S21901300), 项目负责人: 姚广涛

引用本文: 牛小龙, 陈佳靓, 郑华群, 杨桂媚, 姚广涛. 三种急性胰腺炎大鼠模型的制备及特点比较 [J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(34):5480-5486.



¹Shanghai Innovation Center of TCM Health Service, ²Center for Drug Safety Evaluation and Research, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China
Niu Xiaolong, Master candidate, Shanghai Innovation Center of TCM Health Service, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Corresponding author: Yao Guangtao, MD, Researcher, Master's supervisor, Shanghai Innovation Center of TCM Health Service, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; Center for Drug Safety Evaluation and Research, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract

BACKGROUND: Establishing a stable and reliable animal model of acute pancreatitis is of great significance for understanding its pathogenesis, pathophysiological characteristics, and clinical medication. Domestic and foreign studies have shown that cerulein, L-arginine, and sodium taurocholate can induce acute pancreatitis, but their pathophysiological characteristics and model characteristics are still unclear.

OBJECTIVE: To establish an acute pancreatitis rat model using cerulein, L-arginine, and sodium taurocholate and to observe the changing patterns of model features at different time points.

METHODS: Ninety-six healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal group, cerulein group, L-arginine group, and sodium taurocholate group, with 24 rats in each group. Within each group, there were three subgroups ($n=8$ per group): 12-, 24-, and 48-hour subgroups. Cerulein was administered via intraperitoneal injection six times with a 1-hour interval. L-arginine was administered through two intraperitoneal injections with a 1-hour interval. Sodium taurocholate was injected for inducing acute pancreatitis models through retrograde injection into the bile-pancreatic duct. By examining the rat survival rate, gross morphology of the pancreas, calculating the pancreatic organ index, and measuring levels of amylase, lipase, alanine transaminase, aspartate transaminase, blood urea nitrogen, and creatinine, as well as observing pancreatic tissue pathological features through hematoxylin-eosin staining and conducting a pancreatic injury scoring, we evaluated the changing patterns of model features at different time points.

RESULTS AND CONCLUSION: Compared with the normal group, the overall survival rate of rats was 100% in the cerulein group, 88% in the L-arginine group, and 96% in the sodium taurocholate group. The pancreatic organ index was increased in all groups. Gross observation indicated that, in the cerulein group, pancreatic edema, blurred lobes, and looseness were visible. In the L-arginine group, the pancreatic glands were enlarged and thickened with patchy bleeding. In the sodium taurocholate group, pancreatic tissue showed varying degrees of congestion and edema accompanied by scattered flakes of hemorrhage and necrosis. The levels of serum alanine transaminase, aspartate transaminase, blood urea nitrogen, creatinine, amylase, and lipase in rats exhibited consistent changes. In the cerulein group, these parameters possibly peaked at 12 hours ($P < 0.05$) and then showed a declining trend. In the L-arginine group, they reached the highest levels at 24 hours ($P < 0.05$) and significantly decreased at 48 hours. In the sodium taurocholate group, serum amylase and lipase remained at higher levels at 12 hours with a slow decline trend ($P < 0.05$). Compared with the normal group, microscopic examination revealed mild acinar edema and widened interlobular spaces in the cerulein group, with a higher presence of inflammatory cells. In the L-arginine group, there was widening of interlobular spaces, extensive infiltration of inflammatory cells, and patchy necrotic areas. In the sodium taurocholate group, significant pancreatic edema, structural disarray, extensive necrotic foci, and inflammatory cell infiltration were observed. Compared with the normal group, the pathological scores of induced acute pancreatitis in all three models were significantly different at each time point ($P < 0.05$). Moreover, the pathological scores in each group increased over time, indicating a gradual worsening of pancreatic tissue damage. When comparing different models at the same time, there were differences in pathological scores, with the sodium taurocholate group having the highest scores, followed by the L-arginine group, and the cerulein group having the lowest scores. Analyzing the three models at the same time point, the most severe condition was in the sodium taurocholate group, which was characterized by pancreatic hemorrhage and necrosis, followed by the L-arginine group, which was characterized by necrosis, and the least severe condition was in the cerulein group, mainly characterized by edema. The serum biochemical index levels of the cerulein and L-arginine groups decreased at 48 hours, indicating that these two models may have a tendency to self-heal and belong to a self-limiting disease course. The serum biochemical index levels of the sodium taurocholate group decreased slowly after 12 hours. Therefore, pancreatic injury in the sodium taurocholate group might not be relieved after 48 hours or longer.

Key words: cerulein; L-arginine; sodium taurocholate; acute pancreatitis; animal model; comparative study

Funding: Biomedical Science and Technology Support Program of Shanghai Municipal Science and Technology Commission, No. 22S21901300 (to YGT)

How to cite this article: NIU XL, CHEN JL, ZHENG HQ, YANG GM, YAO GT. Preparation and characteristics comparison of three acute pancreatitis rat models. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2024;28(34):5480-5486.

0 引言 Introduction

急性胰腺炎是临床中常见的突发性炎症性疾病, 由多种病因导致胰酶在胰腺内被激活而后引起胰腺组织自身消化、水肿、出血甚至坏死的炎症反应^[1-2]。急性胰腺炎以腹痛、腹胀、发热等为主要特点^[3-5], 目前其发病机制尚不清楚, 在临床中开展试验存在诸多限制, 因此制备稳定的与人类急性胰腺炎相似的动物模型对于了解其发病机制、病理生理学特点及临床用药具有重大意义。目前关于急性胰腺炎模型制备主要分为侵入性和非侵入性。非侵入性通过腹腔注射 L-精氨酸、雨蛙素及乙硫氨酸饲喂法^[6-8], 侵入性则是通过手术造模诱发急性胰腺炎, 包括胆胰管逆行注射牛磺胆酸钠^[9-10]、顺行胰管灌注^[11]、胆管结扎等方法^[12]。此次研究采用腹腔注射雨蛙素、腹腔注射 L-精氨酸、胆胰管逆行注射牛磺胆酸钠 3 种方法诱导大鼠急性胰腺炎模型, 比较不同时段血清生化指标的变化规律, 观察胰腺组织病理变化并进行病理评分。其创新性在于较为系统地评价了 3 种方法制备急性胰腺炎模型的特点及造模方法的优劣, 并考察了其对于肝肾功能指标的影响, 为更好地研究急性胰腺炎及相关并发症提供实验基础。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验, 组间方差齐时采用单因素方差分析 (one-Way ANOVA), 两两比较采用 LSD 法; 方差不齐时, 采用 Welch's ANOVA, 两两比较采用 Dunnett's T3 检验。

1.2 时间及地点 实验于 2023 年 7-9 月在上海中医药大学实验动物中心完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 96 只雄性 SD 大鼠, SPF 级, 七八周龄, 体重 (200±20) g, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供 [许可证号: SCXK(沪)2018-0006], 饲养于上海中医药大学动物实验中心 [SYXK(沪)2020-0009]。饲养环境: 分笼饲养, 室温 21-25 °C, 湿度 40%-70%。常规饲料喂养, 正常饮水, 12 h 昼夜节律。实验获得上海中医药大学伦理委员会批准, 伦理批准号: PZSHUTCM2306150003。

1.3.2 主要试剂药品与仪器 雨蛙素 (上海源叶生物科技有限公司, S62702), L-精氨酸 (Adamas, P2489825), 牛磺胆酸钠 (Adamas, P2446564), 异氟烷 (上海玉研仪器有限公司, S10010533), 体积分数 4% 中性甲醛溶液 (浙江金华同和生

物技术有限公司, 20230503), 生理盐水 (上海源叶生物科技有限公司, 122031604); 淀粉酶 (Amylase)、脂肪酶 (Lipase) 测定试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。

手术器械 (上海泰坦科技股份有限公司); 全自动血清生化仪 (HITACHI 公司, 7080, 日本); 微量注射泵 (Chemyx 公司, Fusion 100X, 美国); 微量移液器 (Eppendorf, 美国); 酶标仪 (Bio Tek, Synergy, 美国); 离心机 (Thermo Fisher, ST16R, 美国); 显微镜 (Thermo Fisher, AMEX1000, 美国)。

1.4 实验方法

1.4.1 动物分组 96 只雄性 SD 大鼠在 SPF 级环境中适应性饲养 1 周后, 采用随机数字表法将大鼠随机分为正常组、雨蛙素组、L- 精氨酸组、牛磺胆酸钠组, 每组 24 只, 每组内再根据 3 个时间点随机分成 3 个亚组 (12, 24, 48 h), 每个亚组 8 只。

1.4.2 试剂配制 L- 精氨酸粉末 20 g 溶于 100 mL 氯化钠溶液中, 搅拌并调节 pH 值至 7.0, 配成 20% 的 L- 精氨酸溶液; 1 mg 雨蛙素粉末先涡旋振荡, 使之脱离管壁, 溶于 50 mL 生理盐水中, 配成存储液储存于 -20 °C 冰箱中; 牛磺胆酸钠粉末 0.35 g, 溶于 10 mL 生理盐水, 配制 3.5% 牛磺胆酸钠溶液, 4 °C 冰箱保存备用。

1.4.3 模型制备 所有大鼠在模型制备前 12 h 禁食, 不禁水。正常组大鼠不进行任何处理; 其余 3 组根据先前描述的方法制备急性胰腺炎模型^[13-15]。雨蛙素组采用 50 µg/kg 雨蛙素腹腔注射 6 次, 每次间隔 1 h; L- 精氨酸组腹腔注射 20% L- 精氨酸溶液, 剂量 2.5 g/kg, 每隔 1 h 注射 1 次, 共注射 2 次; 雨蛙素组、L- 精氨酸组大鼠出现呼吸急促、毛蓬松、扭体频繁、爬行困难、腹部胀大则说明造模成功。牛磺胆酸钠组采用异氟烷吸入麻醉, 术区脱毛膏备皮, 体积分数 70% 乙醇消毒, 取腹部正中作一纵行切口 (2.5-3.0 cm), 手术剪剪开皮肤各层, 充分暴露腹腔, 沿胃部向下找到十二指肠, 翻转十二指肠, 显露胆胰管, 于肝门部胆胰管用无损伤血管夹暂时关闭, 经十二指肠侧壁逆行胆胰管穿刺 (入针约 0.6 mm), 再以小血管夹固定针头, 按照 1 mL/kg (注射速率 200 µL/min) 均匀缓慢注射 3.5% 牛磺胆酸钠, 注射完成后观察 5 min, 如见白色胰腺出血水肿, 则建模成功, 退出穿刺针, 用生物胶将十二指肠穿刺口粘合, 撤出血管架, 逐层关闭腹腔。造模示意图见图 1。各组造模后按组别于 12, 24, 48 h 进行取材。

1.4.4 血清生化水平检测 在造模后的 12, 24, 48 h 各取 8 只大鼠, 以异氟烷吸入麻醉, 腹主动脉取血, 3 500 r/min、4 °C 离心血液 15 min, 制备上层血清, 严格根据试剂盒说明书采用的淀粉-碘比色法检测淀粉酶水平。简单的来说, 生理盐水稀释血清备用, 在微孔酶标板上设置测定孔和空白孔, 添加液体后, 用封膜板 37 °C 水浴, 准确反应 7.5 min 后, 依次加入碘应用液、双蒸水, 混匀后, 利用酶标仪检测 660 nm 处吸光度值, 计算血清中淀粉酶含量; 血清脂肪酶水平测定根据甲基试卤灵底物法, 配制标准品后备用, 在微孔酶标板上设置空白孔、校准孔和样本孔, 添加液体后, 用封膜板 37 °C

组织工程实验动物造模过程中的相关问题

造模目的	探讨急性胰腺炎大鼠模型特征变化规律
选择动物的条件	SPF 级成年雄性大鼠, 体质量 (200±20) g
模型与所研究疾病的关系	国内外研究表明, 雨蛙素、L- 精氨酸、牛磺胆酸钠是诱导急性胰腺炎的常用方法
动物来源及品系	雄性 SPF 级 SD 大鼠, 由上海西普尔- 必凯实验动物有限公司提供
造模技术描述	雨蛙素组采用以 50 µg/kg 腹腔注射雨蛙素 6 次, 每次间隔 1 h; L- 精氨酸组腹腔注射 20% L- 精氨酸溶液, 剂量 2.5 g/kg, 每隔 1 h 注射 1 次, 共注射 2 次; 牛磺胆酸钠组采用微量注射泵沿胆胰管逆行注射 3.5% 牛磺胆酸钠, 剂量 1 mL/kg, 注射速率 200 µL/min
动物数量及分组方法	96 只 SD 大鼠随机分为正常组、雨蛙素组、L- 精氨酸组、牛磺胆酸钠组, 每组 24 只, 每组内再根据 3 个时间点随机分成 3 个亚组 (12, 24, 48 h), 每个亚组 8 只
造模成功评价指标	雨蛙素组、L- 精氨酸组大鼠出现呼吸急促、毛蓬松、扭体频繁、爬行困难、腹部胀大则说明造模成功; 牛磺胆酸钠组注射完成后观察 5 min, 如见白色胰腺出血水肿, 则建模成功
造模后观察指标	大鼠存活、死亡率; 胰腺大体形态及脏器指数变化; 血清淀粉酶、脂肪酶水平变化; 血清肝肾功能指标水平变化; 胰腺组织病理学变化及胰腺组织病理评分
造模后动物处理	造模后 12, 24, 48 h 麻醉后, 腹主动脉取血, 摘取胰腺组织, 分离血清
伦理委员会批准	实验获得上海中医药大学伦理委员会批准, 伦理批准号: PZSHUTCM2306150003

恒温孵育 3-5 min, 加入终止液, 利用酶标仪检测 580 nm 处连续检测 2 min 各孔吸光度值, 计算血清脂肪酶含量。以上结果的测定, 每组均设定 3 个复孔。另取血清 150 µL 送上海中医药大学药物安全评价研究中心使用全自动血清生化仪检测血清中谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐水平。

1.4.5 脏器指数计算 摘取大鼠胰腺组织, 在生理盐水溶液中清洗, 吸水纸吸干表面水分后称质量, 脏器指数 = 脏器质量 / 体质量^[16]。

1.4.6 苏木精-伊红染色观察胰腺组织病理学变化 取大鼠胰头部位, 置体积分数 4% 中性甲醛溶液固定 72 h 后, 放入特定包埋盒中并编号, 随后经过梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 液体石蜡浸泡, 以上均在全自动脱水机中完成; 将浸蜡的组织放入液体石蜡中, 进行组织包埋; 切片机 5 µm 厚度连续切片, 二甲苯脱蜡, 使用不同梯度乙醇溶解二甲苯残液, 行苏木精-伊红染色, 流水冲洗, 乙醇脱色, 二甲苯透明后, 中性树胶封固, 10×20 倍镜下观察并拍照。

1.4.7 胰腺组织病理评分 胰腺组织病理评分采用改良过的 Kusske 评分标准^[17], 见表 1, 评分指标涉及水肿、出血、坏死、炎症细胞浸润, 总分为 4 项评分指标之和。采用盲选法, 由 2 位病理科老师同时读片, 并根据表 1 评分细则对胰腺组织进行评分, 每张胰腺组织病理切片分数为 2 位老师评分结果的平均值。

1.5 主要观察指标 记录各组大鼠造模后 12, 24, 48 h 存活率及死亡率; 取材后观察不同时间点胰腺大体形态并计算脏器指数; 测定大鼠血清淀粉酶、脂肪酶以及肝肾功能指标水平变化; 苏木精-伊红染色观察胰腺组织病理学变化并对胰腺组织出血、水肿、坏死、炎症细胞浸润进行评分。

表 1 | 胰腺组织病理评分细则 (Kusske 法)

Table 1 | Detailed rules for pathological scoring of pancreatic tissue (Kusske method)

评分	出血	水肿	坏死	炎性细胞浸润
0	无出血	无水腫	无坏死	炎性细胞数 0-1
1	出血面积 ≤ 25%	局限性小叶间水肿	坏死面积 1%-10%	炎性细胞数 2-10
2	出血面积 26%-50%	弥漫性小叶间水肿	坏死面积 11%-20%	炎性细胞数 11-20
3	出血面积 51%-75%	腺泡增大, 小叶间隔增宽	坏死面积 21%-30%	炎性细胞数 21-30
4	出血面积 > 75%	明显小叶分隔	坏死面积 > 30%	炎性细胞数 > 30

1.6 统计学分析 文章统计学方法已经上海中医药大学统计学专家审核, 采用 SPSS 25.0 软件进行数据分析。以 $\bar{x} \pm s$ 的方式表示各组计量资料, 满足各组均正态分布的数据做方差齐性检验, 方差齐时, 采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 法; 方差不齐时, 采用 Welch's ANOVA, 两两比较采用 Dunnett'T3 检验。 $P < 0.05$ 则认为差异有显著性意义。此次实验的统计学分析得到上海中医药大学统计学专家审核。

2 结果 Results

2.1 大鼠的死亡率 / 存活率 正常组、雨蛙素组各个时间点无死亡, 存活率 100%; L- 精氨酸组 12 h 死亡 1 只, 24 h 死亡 2 只, 48 h 无死亡, 总存活率 88%; 牛磺胆酸钠组 12 h 死亡 1 只, 24 h 和 48 h 无死亡, 总存活率 96%。

2.2 胰腺大体形态观察 造模后 12, 24, 48 h 后取材, 正常组胰腺组织呈灰红色, 胰周无明显改变, 解剖时腹腔内未见腹水; 雨蛙素组 12 h 大体观察可见胰尾部轻度水肿、分叶模糊、疏松, 24 h 胰头胰尾间质水肿明显, 48 h 胰头部水肿有所缓解; L- 精氨酸组 12 h 可见胰腺水肿明显, 24 h 胰腺腺体增大增厚并伴有点片状出血, 48 h 胰腺腺体变薄, 伴血性腹水; 牛磺胆酸钠组 12 h 胃肠道积液、积气及血性腹水, 胰周充满黄色斑块脂肪组织坏死及皂化斑, 24 h 胰腺组织出现不同程度充血水肿伴散在点片状出血坏死, 48 h 胰腺结构完全破坏。见图 2。

2.3 脏器指数变化 与正常组相比, 雨蛙素组 12, 24, 48 h 3 个时间点胰腺脏器系数显著增加且呈现下降趋势 ($P < 0.001$); 与正常组相比, L- 精氨酸组胰腺脏器指数呈上升趋势, 48 h 差异显著 ($P < 0.001$); 与正常组相比, 牛磺胆酸钠组, 12, 24, 48 h 胰腺脏器系数显著增加, 且 24 h 差异最显著 ($P < 0.0001$), 见图 3 及表 2。

表 2 | 各组大鼠胰腺脏器指数比较 ($\bar{x} \pm s$, mg/g)
Table 2 | Comparison of pancreatic organ indices in rats among groups

组别	12 h	24 h	48 h
正常组	2.46±0.11	2.57±0.07	2.43±0.12
雨蛙素组	4.32±0.20 ^c	3.67±0.10 ^b	2.78±0.07 ^b
L- 精氨酸组	2.92±0.08	3.85±0.65	6.68±0.59 ^b
牛磺胆酸钠组	3.48±0.17 ^a	4.23±0.33 ^c	3.74±0.09 ^a

表注: 与正常组相比, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.001$, ^c $P < 0.0001$ 。

2.4 血清中淀粉酶、脂肪酶水平变化情况 与正常组相比, 淀粉酶和脂肪酶在 3 种急性胰腺炎模型中均明显升高, 并随

着时间的推移呈现不同的变化趋势。雨蛙素组淀粉酶、脂肪酶水平可能在 12 h 达到峰值 (淀粉酶 $P < 0.0001$; 脂肪酶 $P < 0.0001$), 随后呈下降趋势; L- 精氨酸组血清淀粉酶、脂肪酶在 12 h 有明显升高, 24 h 达到最高峰 (淀粉酶 $P < 0.001$; 脂肪酶 $P < 0.01$), 48 h 明显下降, 接近正常水平; 牛磺胆酸钠组血清淀粉酶、脂肪酶在 12, 24, 48 h 维持在较高水平并且有缓慢下降的趋势。见图 4 及表 3。

表 3 | 各组大鼠血清淀粉酶、脂肪酶水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 3 | Comparison of serum amylase and lipase levels in rats

组别	时间	淀粉酶 (U/dL)	脂肪酶 (U/L)
正常组	12 h	2 059.16±149.25	12.29±1.15
	24 h	1 925.75±161.00	12.21±0.25
	48 h	2 088.53±108.33	10.69±1.15
雨蛙素组	12 h	4 502.87±122.87 ^d	111.84±9.78 ^d
	24 h	2 651.80±86.97 ^c	19.06±1.51 ^b
	48 h	2 578.64±89.38 ^b	18.54±2.94 ^b
L- 精氨酸组	12 h	4 037.35±389.21 ^b	79.84±25.51 ^a
	24 h	5 154.86±777.75 ^c	176.27±86.39 ^b
	48 h	3 030.12±315.54	45.35±22.52 ^a
牛磺胆酸钠组	12 h	6 142.37±214.45 ^d	102.08±18.05 ^d
	24 h	5 627.11±576.07 ^b	97.82±19.67 ^d
	48 h	5 522.18±753.79 ^b	84.44±23.24 ^d

表注: 与正常组相比, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$, ^d $P < 0.0001$ 。

2.5 血清中肝肾功能指标变化情况 与正常组相比, 雨蛙素组 12 h 谷丙转氨酶水平是其 2 倍左右 ($P < 0.01$), 并且随着时间的推移呈下降趋势; 谷草转氨酶、尿素氮、肌酐水平改变不明显, 提示其对肝肾功能损伤不明显。与正常组相比, L- 精氨酸组 24 h 谷丙转氨酶水平是其 8 倍左右 ($P < 0.001$), 随后呈下降趋势; 谷草转氨酶、尿素氮、肌酐水平与谷丙转氨酶水平变化一致, 24 h 达到最高峰, 随后呈下降趋势。与正常组相比, 牛磺胆酸钠组 12 h 谷丙转氨酶水平是其 9 倍左右 ($P < 0.001$), 随后缓慢下降; 谷草转氨酶、尿素氮、肌酐水平与谷丙转氨酶水平变化一致, 12 h 最高, 随后缓慢下降。见表 4。

表 4 | 各组大鼠血清肝肾功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 4 | Comparison of rat serum liver and kidney function parameters among groups

组别	时间	谷丙转氨酶 (IU/L)	谷草转氨酶 (IU/L)	尿素氮 (mmol/L)	肌酐 (μ mol/L)
正常组	12 h	43.50±4.20	149.50±11.80	6.00±0.39	26.25±0.63
	24 h	37.40±2.00	125.60±11.10	5.16±0.32	27.80±0.58
	48 h	36.40±1.70	101.80±6.00	4.92±0.18	23.40±0.51
雨蛙素组	12 h	87.00±5.40 ^d	183.60±5.60 ^b	6.61±0.29	28.14±0.94
	24 h	81.20±3.60 ^d	142.80±5.40	4.74±0.14	24.40±0.68 ^b
	48 h	53.20±4.40 ^b	112.80±6.50	5.64±0.28	27.20±1.07 ^b
L- 精氨酸组	12 h	64.25±9.84 ^a	164.25±25.85 ^a	8.63±0.27 ^a	28.60±0.51 ^c
	24 h	248.00±34.31 ^d	268.40±17.42 ^d	10.70±3.68 ^d	31.17±0.79 ^c
	48 h	95.50±6.73 ^b	187.50±13.32	9.80±0.80 ^b	29.00±0.45 ^c
牛磺胆酸钠组	12 h	394.80±57.74 ^d	705.20±32.55 ^d	22.33±5.13 ^b	55.17±25.16 ^b
	24 h	292.80±44.00 ^d	671.70±51.30 ^d	17.08±7.94 ^b	40.00±12.29
	48 h	97.83±12.74 ^a	299.50±43.16 ^a	13.80±2.26 ^a	36.17±4.36 ^a

表注: 与正常组相比, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$, ^d $P < 0.0001$ 。

2.6 胰腺组织病理学变化 光镜下观察可见, 正常组各时间点胰腺腺泡正常, 胰岛结构完整, 无出血点, 未见小叶间隙增宽, 偶见炎性细胞。雨蛙素组 12 h 胰腺腺泡轻度水肿,

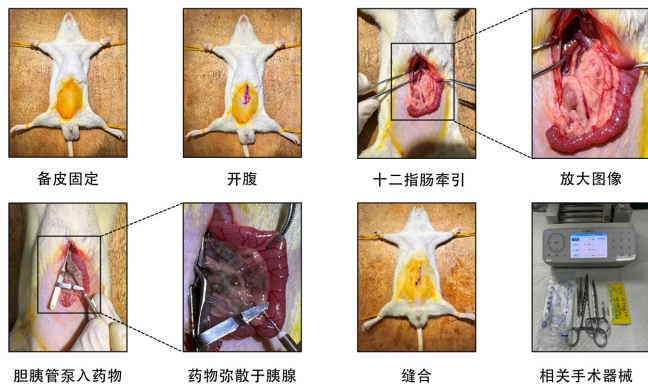


图1 | 牛磺胆酸钠组造模示意图

Figure 1 | Schematic diagram of modeling in the sodium taurocholate group

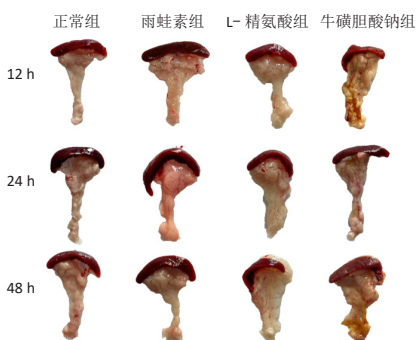


图2 | 各组大鼠不同时间点胰腺大体形态变化

Figure 2 | Gross changes in rat pancreatic tissues at different time intervals

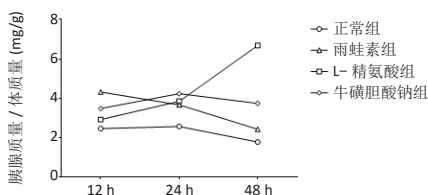


图3 | 各组大鼠胰腺脏器指数比较

Figure 3 | Comparison of pancreatic organ indices of rats among groups

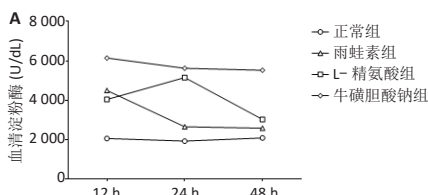
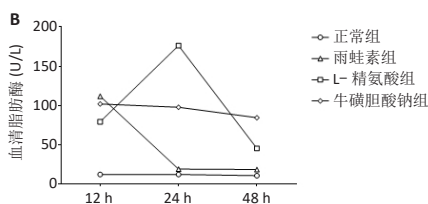


图4 | 各组大鼠血清淀粉酶 (A) 及脂肪酶 (B) 水平比较

Figure 4 | Comparison of serum amylase (A) and lipase levels (B) in rats among groups



小叶间隙增宽，炎性细胞增多；24 h 小叶结构紊乱及小叶间隙增宽，可见点片状坏死灶，炎性细胞浸润；48 h 胰腺腺泡水肿，弥漫性炎性细胞浸润及片状坏死。L-精氨酸组 12 h 腺泡结构破坏，小叶间轻度水肿，坏死灶散在分布及少量炎性细胞浸润；24 h 小叶间隙增宽，大量炎性细胞浸润，片状坏死点；48 h 胰腺腺泡完整性，大片区域坏死及炎性细胞浸润。牛磺胆酸钠组 12 h 小叶间隙增宽，坏死灶散在分布，大量炎性细胞浸润；24 h 组胰腺片状坏死及少量出血点，大量炎性细胞浸润；48 h 组腺泡水肿明显结构紊乱，大量坏死灶及炎性细胞浸润。见图 5。

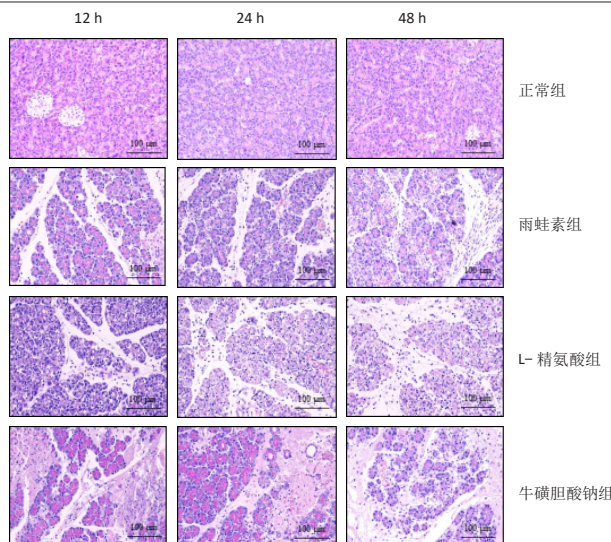


图5 | 各组大鼠胰腺组织不同时间段病理学变化 (苏木精-伊红染色, ×200)

Figure 5 | Pathological changes in rat pancreatic tissues at different time intervals (hematoxylin-eosin staining, ×200)

2.7 胰腺组织病理评分结果 正常组胰腺组织病理评分在 3 个时间点差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。与正常组相比，3 种模型诱导急性胰腺炎胰腺病理评分在各个时间点差异均有显著性意义 ($P < 0.05$)，且同组随着时间的推移病理评分增加，说明胰腺组织损害逐渐加重；同一时间不同模型组相比，病理评分存在差异，且以牛磺胆酸钠组病理评分最高，L-精氨酸组次之，雨蛙素组最低，说明牛磺胆酸钠组胰腺损伤最为严重。见表 5。

表5 | 各组大鼠胰腺组织病理评分比较 (x̄±s)

组别	12 h	24 h	48 h
正常组	1.25±0.25	1.50±0.29	1.25±0.25
雨蛙素组	3.25±0.24 ^a	4.23±0.74 ^b	5.00±0.41 ^b
L-精氨酸组	5.50±0.64 ^c	6.41±0.64 ^c	7.50±0.65 ^b
牛磺胆酸钠组	7.00±0.41 ^c	8.00±0.41 ^c	9.25±0.85 ^b

表注：与正常组相比，^a $P < 0.05$ ，^b $P < 0.001$ ，^c $P < 0.0001$ 。

3 讨论 Discussion

急性胰腺炎是一种引起高发病率和死亡率的突发性炎症性疾病^[18]，在不加干预的情况下会导致全身性炎症反应综合征，持续性全身性炎症反应综合征患者容易出现多器官功能障碍综合征和器官衰竭^[19-20]。胆结石、过度饮酒、高血脂症被认为是引起急性胰腺炎的主要病因^[21]。在急性胰腺炎相关机制研究中，人们普遍能接受的是胰腺通过自身过早激活的蛋白酶进行自我消化作为关键起始事件，自身消化过程导致胰腺腺泡细胞坏死亡，并释放损伤相关的分子模式，激活巨噬细胞，促进趋化因子和其他炎症标志物单核细胞趋化蛋白、细胞间黏附分子 1、白细胞介素 1、白细胞介素 8、肿瘤坏死因子 α、血小板活化因子等释放^[22]，从而导致更多的水肿和炎症，当胰腺的炎症反应过度增强时，诱发全身性炎症反应综合征、多器官功能障碍综合征导致患者死亡^[23]。近年来，研究人员对于急性胰腺炎发病机制的研究从未停止，现

存作用机制尚需实验研究来加以证实和阐明,因此制备稳定可靠的急性胰腺炎模型对于机制探讨及药效学评价具有重大意义。

1977年LAMPEL等^[24]首次通过静脉注射雨蛙素的方法成功诱导大鼠轻型急性胰腺炎模型。雨蛙素是一种胆囊收缩素-胰酶类似物,能够刺激胆囊收缩和胰酶分泌。雨蛙素诱导急性胰腺炎的作用机制尚未完全阐明,一种普遍接受的作用机制为雨蛙素刺激胰腺腺泡细胞分泌大量的消化酶和胰蛋白酶,这些消化酶在胰腺组织中大量积聚,导致胰腺自我消化^[25]。目前,雨蛙素已经成功运用于大鼠、小鼠、兔、狗和猪等动物急性胰腺炎模型的建立^[26-31],该模型的组织学表现与人类早期急性胰腺炎非常相似^[32],且该模型属于非侵入性,无需手术,在整个造模过程中无动物死亡,稳定性及重复性好。此次实验通过腹腔注射雨蛙素 50 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{h})$,连续 6 次诱导大鼠急性胰腺炎模型,结果显示,雨蛙素诱导组淀粉酶、脂肪酶在 12 h 处于较高水平,随后呈下降趋势,与文献相符^[33]。且该急性胰腺炎模型对血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐水平影响较小,提示该模型对肝肾功能损伤较小。病理结果表明,随着时间推移,雨蛙素组胰腺及周围组织水肿,坏死面积逐渐扩大。结合淀粉酶、脂肪酶水平及胰腺病理切片及病理评分结果,雨蛙素腹腔注射法诱导的急性胰腺炎为轻型急性胰腺炎,病变为自限性且以水肿为主要特征。

1984年,MIZUNUMA等^[34]通过腹腔注射大剂量 L-精氨酸,建立了一种无创的重症胰腺炎模型,L-精氨酸以浓度依赖性的方式导致胰腺腺泡细胞发生坏死。此后,L-精氨酸法普遍用于急性胰腺炎的研究,目前机制尚不清楚。TANI等^[35]认为其机制在于过量的精氨酸减少了多胺的合成,从而抑制了核酸和蛋白质的合成。因为蛋白质代谢在胰腺腺泡细胞中最活跃,腺泡细胞很可能是精氨酸过量的第一个靶点,导致变性或坏死。随着研究的深入,L-精氨酸诱导急性胰腺炎的作用机制可能与氧自由基、一氧化氮、炎症递质等有关^[36-37]。该模型简单快速、成本低廉,具有较高的适用性,可通过改变 L-精氨酸浓度、剂量来改变胰腺损伤程度。此次研究采用 20% L-精氨酸按 2.5 g/kg 分 2 次腹腔注射,结果显示血清淀粉酶、脂肪酶活性在 12 h 显著增加,24 h 达到峰值,48 h 有所下降,与相关文献报道相符^[38]。胰腺组织病理结果显示,胰腺组织坏死灶散在分布,大量炎性细胞浸润,符合重症急性胰腺炎模型特征。此外,与雨蛙素组相比,该模型血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐 24 h 明显升高,48 h 显著下降,提示肝肾功能受损严重。另外,实验结果显示,该模型生化指标水平在 12-24 h 最高,48 h 有所下降,虽然胰腺组织病理评分在 48 h 最高,但是此次研究只考察了 48 h 内其动态变化,据此作者大胆认为该模型可能有自愈倾向。

胆胰管逆行注射法是诱导坏死性急性胰腺炎大鼠模型的常用方法,该模型模拟远端胆总管阻塞时,胆汁和胰液反流入胰胆管,主要模拟的是胆源性急性胰腺炎的发病机制,

而胆源性急性胰腺炎发病率在急性胰腺炎中所占的比例超过 50%,故此该方法应用广泛^[39]。沈佳庆等^[40]通过使用不同浓度的牛磺胆酸钠建立急性胰腺炎模型,通过考察死亡率,并计算半数致死数,得出牛磺胆酸钠诱导急性胰腺炎最佳造模浓度为 3.409%。作者课题组预先采用 5% 牛磺胆酸钠,发现死亡率极高,随后使用 5%,4.5%,4%,3.5% 牛磺胆酸钠对比实验,最终选择 3.5% 牛磺胆酸钠溶液以 0.2 mL/min 注射速率既能成功诱导模型,死亡率也有所下降。实验结果显示 12 h 血清淀粉酶、脂肪酶达到较高水平,随后缓慢下降但与对照组相比仍具有显著性差异,与相关研究结果相符^[41]。与 L-精氨酸组相比,血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐指标均明显升高,胰腺组织出血坏死明显,属于典型的重症急性胰腺炎特征。

雨蛙素、L-精氨酸、牛磺胆酸钠都是诱导大鼠急性胰腺炎模型的良好方法。雨蛙素诱导急性胰腺炎无致死性,稳定性及重复性好,但是需要多次腹腔注射,造模时间较长;L-精氨酸诱导急性胰腺炎模型操作简单,成模迅速,成本低廉,具有较高的适用性,可通过调整 L-精氨酸浓度和剂量改变胰腺损伤程度,应用较为广泛,但是其模型致死性高于雨蛙素和牛磺胆酸钠;与雨蛙素和 L-精氨酸相比,牛磺胆酸钠诱导急性胰腺炎属于创伤性动物模型,且操作繁琐,但是该模型是研究胆源性急性胰腺炎及合并多器官功能损伤最理想的方法且该模型大鼠存活率高,具有成模率高、稳定性好等优点,其胰腺组织病变更符合临床病变特征。从此次实验数据可以看到,3 种造模方法干预后均可使血清淀粉酶、脂肪酶升高,并随着时间的推移呈现不同的变化趋势。雨蛙素组大鼠血清淀粉酶、脂肪酶水平可能在 12 h 达到峰值,随后呈下降趋势,48 h 接近正常组水平;L-精氨酸组大鼠血清 24 h 达到峰值,随后呈下降趋势,这两种模型在 48 h 监测点血清淀粉酶、脂肪酶水平接近正常组。因此,作者认为这两种模型诱导的急性胰腺炎可能有自愈倾向。牛磺胆酸钠组大鼠血清淀粉酶、脂肪酶水平可能在 12 h 最高,随后呈缓慢下降趋势。3 种模型大鼠血清肝肾功能指标与淀粉酶、脂肪酶水平变化一致,雨蛙素组肝肾功能指标变化不明显,提示其肝肾损伤较轻;与雨蛙素组相比,L-精氨酸组肝肾功能指标明显升高,但是其升高水平不及牛磺胆酸钠组,说明在这 3 种模型中牛磺胆酸钠组肝肾损伤最重,L-精氨酸次之,雨蛙素最轻。从胰腺组织形态学来看,雨蛙素诱导急性胰腺炎以胰腺的水肿为主要特征,L-精氨酸和牛磺胆酸钠以坏死为主要特征。对 3 种模型胰腺组织病理观察及病理评分结果显示,随着时间的推移,3 种模型胰腺组织损伤明显加重,结合在相同时间点胰腺组织病理评分,3 种模型诱导急性胰腺炎以牛磺胆酸钠组病情最重,L-精氨酸组其次,雨蛙素组最轻。

综上所述,此次研究通过 3 种造模方法诱导急性胰腺炎模型,在相同时间点比较其模型特征变化规律,综合评价 3 种大鼠胰腺炎模型严重程度及造模优劣,为进一步研究急性胰腺炎提供良好的实验基础。但是,该研究存在一定的局限

性,只是单纯考察了 12, 24, 48 h 这 3 个时间的模型特征,对于最初的 12 h 及 48 h 以后或者相当长的时间没有研究。

致谢:感谢上海中医药大学药物安全评价研究中心孙伟老师,病理科黄明珠、唐晓航老师对实验的帮助,在他们的帮助下增强了我对科研工作的热爱。

作者贡献:牛小龙进行实验设计、实验实施及撰稿,郑华群、杨桂媚协作实验实施,陈佳靓负责实验背景资料收集,姚广涛对文章进行了指导和修改。

利益冲突:文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明:这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让:文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范:该文章撰写遵守了国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- SONG Y, ZHANG Z, YU Z, et al. Wip1 Aggravates the Cerulein-Induced Cell Autophagy and Inflammatory Injury by Targeting STING/TBK1/IRF3 in Acute Pancreatitis. *Inflammation*. 2021;44(3):1175-1183.
- DING SP, LI JC, JIN C. A mouse model of severe acute pancreatitis induced with caerulein and lipopolysaccharide. *World J Gastroenterol*. 2003;9(3):584-589.
- 杜奕奇, 陈其奎, 李宏宇, 等. 中国急性胰腺炎诊治指南 (2019 年, 沈阳) [J]. *临床肝胆病杂志*, 2019,35(12):2706-2711.
- XIAO AY, TAN ML, WU LM, et al. Global incidence and mortality of pancreatic diseases: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression of population-based cohort studies. *Lancet Gastroenterol*. 2016;1(1):45-55.
- BOXHOORN L, VOERMANS RP, BOUWENSE SA, et al. Acute pancreatitis. *Lancet*. 2020;396(10252):726-734.
- HE L, WANG L, HOU H. Bicarbonated Ringer's solution improves L-arg-induced acute pancreatitis in rats via the NF- κ B and Nrf2 pathways. *Scand J Gastroenterol*. 2023;58(3):276-285.
- ZHANG L, SHI J, DU D, et al. Ketogenesis acts as an endogenous protective programme to restrain inflammatory macrophage activation during acute pancreatitis. *EBioMedicine*. 2022;78:103959.
- LIU X, LUO W, CHEN J, et al. USP25 Deficiency Exacerbates Acute Pancreatitis via Up-Regulating TBK1-NF- κ B Signaling in Macrophages. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2022;14(5):1103-1122.
- 李涛, 王海燕, 刘丽玲, 等. 大鼠实验性急性胰腺炎动物模型的建立 [J]. *中国比较医学杂志*, 2003,13(6):358-361.
- LIN R, LI M, LUO M, et al. Correction to: Mesenchymal stem cells decrease blood-brain barrier permeability in rats with severe acute pancreatitis. *Cell Mol Biol Lett*. 2019;24:56.
- LEE PJ, PAPACHRISTOU GI. New insights into acute pancreatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16(8):479-496.
- NEPOMNYASHCHIKH LM, LUSHNIKOVA EL, VISKUNOV VG, et al. Ultrastructure of acinar cell injuries in experimental acute pancreatitis created by common bile duct ligation. *Bull Exp Biol Med*. 2011;150(6):747-752.
- JAWOREK J, SZKLARCZYK J, KOT M, et al. Chemerin alleviates acute pancreatitis in the rat through modulation of NF- κ B signal. *Pancreatol*. 2019;19(3):401-408.
- ABDELZAHER WY, AHMED SM, WELSON NN, et al. Vinpocetine ameliorates L-arginine induced acute pancreatitis via Sirt1/Nrf2/TNF pathway and inhibition of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Biomed Pharmacother*. 2021;133:110976.
- 杨丹, 孙银凤, 白敏, 等. 基于 PI3K/AKT 信号通路的大黄牡丹汤对急性胰腺炎大鼠肺组织细胞凋亡及炎症反应的影响 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2022,29(7):73-79.
- EL-ASHMAWY NE, KHEDR NF, EL-BAHRAWY HA, et al. Suppression of inducible nitric oxide synthase and tumor necrosis factor- α level by lycopene is comparable to methylprednisolone in acute pancreatitis. *Dig Liver Dis*. 2018;50(6):601-607.
- KUSSKE AM, RONGIONE AJ, ASHLEY SW, et al. Interleukin-10 prevents death in lethal necrotizing pancreatitis in mice. *Surgery*. 1996;120(2):284-288,289.
- EL ME, AHMED M. Carvedilol attenuates l-arginine induced acute pancreatitis in rats through modulation of oxidative stress and inflammatory mediators. *Chem Biol Interact*. 2020;327:109181.
- SENDER M, VAN DEN BRANDT C, GLAUBITZ J, et al. NLRP3 Inflammasome Regulates Development of Systemic Inflammatory Response and Compensatory Anti-Inflammatory Response Syndromes in Mice With Acute Pancreatitis. *Gastroenterology*. 2020;158(1):253-269.
- LI XY, HE C, ZHU Y, et al. Role of gut microbiota on intestinal barrier function in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2020;26(18):2187-2193.
- NOHOMOVIH B, SHAH A, HUGHES N. Severe, Complicated Pancreatitis With an Unclear Etiology. *Cureus*. 2023;15(5):e39011.
- THIEL FG, ASGARBEIK S, GLAUBITZ J, et al. IRAK3-mediated suppression of pro-inflammatory MyD88/IRAK signaling affects disease severity in acute pancreatitis. *Sci Rep*. 2023;13(1):10833.
- TOÇOĞLU AG, KÖKSAL AŞ, TOKA B, et al. Validation of the Revised Atlanta Criteria in determining the severity of acute pancreatitis. *Eur J Gastroenterol Hepato*. 2023;35(10):1137-1142.
- LAMPEL M, KERN HF. Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of a pancreatic secretagogue. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*. 1977;373(2):97-117.
- 凤振宁, 金世柱. 急性胰腺炎动物模型构建方法的研究 [J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2020,29(4):388-391.
- GÜL M, EŞREFOĞLU M, ÖZTÜRK F, et al. The beneficial effects of pentoxifylline on caerulein-induced acute pancreatitis in rats. *Dig Dis Sci*. 2009;54(3):555-563.
- LIU LW, XIE Y, LI GQ, et al. Gut microbiota-derived nicotinamide mononucleotide alleviates acute pancreatitis by activating pancreatic SIRT3 signalling. *Br J Pharmacol*. 2023;180(5):647-666.
- YOTSUMOTO F, MANABE T, OHSHIO G. Bradykinin involvement in the aggravation of acute pancreatitis in rabbits. *Digestion*. 1993;54(4):224-230.
- KLAR E, SCHRATT W, FOITZIK T, et al. Impact of microcirculatory flow pattern changes on the development of acute edematous and necrotizing pancreatitis in rabbit pancreas. *Dig Dis Sci*. 1994;9(12):2639-2644.
- SONG R, YU D, PARK J. Changes in gene expression of tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 in a canine model of caerulein-induced pancreatitis. *Can J Vet Res*. 2016;80(3):236-241.
- BACHMANN K, FREITAG M, LOHALM H, et al. Effects of hydroxyethyl starch and cell-free hemoglobin on microcirculation, tissue oxygenation, and survival in severe acute porcine pancreatitis: results of a randomized experimental trial. *Pancreas*. 2014;43(6):855-862.
- DABROWSKI A, KONTUREK SJ, KONTUREK JW, et al. Role of oxidative stress in the pathogenesis of caerulein-induced acute pancreatitis. *Eur J Pharmacol*. 1999;377(1):1-11.
- 杨平, 寇明文, 赵戈, 等. L-精氨酸和雨蛙素诱导急性胰腺炎模型的对比研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2012,12(15):2810-2813.
- MIZUNUMA T, KAWAMURA S, KISHINO Y. Effects of injecting excess arginine on rat pancreas. *J Nutr*. 1984;114(3):467-471.
- TANI S, ITOH H, OKABAYASHI Y, et al. New model of acute necrotizing pancreatitis induced by excessive doses of arginine in rats. *Dig Dis Sci*. 1990;35(3):367-374.
- ABDELMAGEED ME, NADER MA, ZAGHLOUL MS. Targeting HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway by protocatechuic acid protects against l-arginine induced acute pancreatitis and multiple organs injury in rats. *Eur J Pharmacol*. 2021;906:174279.
- CZAKÓ L, TAKÁCS T, VARGA IS, et al. The pathogenesis of L-arginine-induced acute necrotizing pancreatitis: inflammatory mediators and endogenous cholecystokinin. *J Physiol Paris*. 2000;94(1):43-50.
- 尚宏清, 李非, 张再兴, 等. 分次大剂量 L-精氨酸腹腔内注射致大鼠急性坏死性胰腺炎模型的研究 [J]. *首都医科大学学报*, 2000(4):322-324.
- LERCH MM, GORELICK FS. Models of acute and chronic pancreatitis. *Gastroenterology*. 2013;144(6):1180-1193.
- 沈佳庆, 杨丽娟, 胡国勇, 等. 牛磺胆酸钠在大鼠急性胰腺炎模型中的半数致死量 (LD50) 研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2011,11(19):3618-3620.
- 李婷, 仁德芳, 付裕, 等. 柴黄清胰活血颗粒对重症急性胰腺炎模型大鼠的治疗作用研究 [J]. *中药药理与临床*, 2018,34(6):169-172.

(责任编辑: GD, ZN, WL, YJ)