论著

文章编号:1000-5404(2006)09-0952-03

犬可复性胆总管不全梗阻对 Oddi 括约肌功能的影响

刘永康[1],禹建峰[1],李智华[1],徐世荣[2] ([1]第三军医大学西南医院全军肝胆外科研究所,中国人民解放军肝脏移植重点实验室,重庆 430038;[2]重庆大学生物力学与组织工程教育部重点实验室,重庆 400044)

提 要:目的 建立可复性胆总管不全梗阻的动物模型,研究胆总管不全梗阻对 Oddi 括约肌(sphincter of Oddi, SO)运动的影响。**方法** 将成年杂种犬麻醉后,暴露并游离胆总管中段,不全梗阻(PO)组以丝线将胆总管和一直径 1 mm 的导管一同结扎后拔除导管,正常对照(NC)组不结扎胆总管。术后不同时间点获取血液和肝脏的标本分别检测肝功及肝脏的病理变化;术后第 28 天进行 SO 测压。**结果** 术后 28 d 实验组胆总管梗阻完全解除,肝细胞形态结构恢复,肝功能正常;实验组 SO 基础压和峰压降低,收缩频率减慢,但收缩间期无明显变化。**结论** 胆总管不全梗阻对 SO 运动具有抑制作用,该动物模型能够模拟短期的梗阻性黄疸对胆道动力学的影响,方法简便、易行,可重复性好。

关键词:胆总管;不全梗阻;Oddi 括约肌;动物模型

中图法分类号:R-332;R322.48;R575.7 **文献标识码**:A

Effect of reversible partial obstruction of common bile duct on function of sphincter of Oddi in dogs

LIU Yong-kang[1], YU Jian-feng[1], LI Zhi-hua[1], XU Shi-rong[2] ([1]Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, [2]Key Lab for Biomechanics and Tissue Engineering of Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract: Objective To establish a reversible partial obstruction model of the common bile duct (CBD) in dogs and explore the influence of partial obstruction of CBD on the motility of sphincter of Oddi (SO). **Methods** Adult mongrel dogs were anesthetized. In the partial obstruction (PO) group, a double ligature was performed around both a cannula (1 mm in diameter) and the common bile duct near to its bifurcation, then the cannula was withdrawn, while in the control group, only sham operation was done. The serum of venous blood was obtained before and on day 1, 3, 5, 7, 14, 28 after operation. Liver specimens were obtained by biopsy on postoperative day 3, 7, 14. SO motility was recorded on postoperative day 28. **Results** All the obsrtuction of CBDs were removed in PO group, the structure of hepatocytes and liver function recovered to normal on day 28 after operation. SO basal pressure (SOBP), SO amplitude (SOAP) and frequency of SO phasic contraction (SOF) significantly decreased, whereas the duration of SO contraction did not change. **Conclusion** Partial obstruction of CBD inhibited the motility of SO. The clinical manifestation of this model is similar to that of patients with temporary obstructive jaundice that influenced the motility of SO. This model was relatively simple, easy and reliable.

Key words: common bile duct; partial obstruction; sphincter of oddi; animal model

胆道动力学研究的焦点是 Oddi 括约肌(sphincter of Oddi, SO),研究表明,胆囊的扩张或者胆管内压力增高可以抑制 SO 的运动[1,2],从而减少胆汁流经 SO 时的阻力,利于胆汁的排泄。但是持续的胆囊和胆总管内压力升高对 SO 的影响如何尚少见报道,为此,我们制作了可复性胆总管不全梗阻的动物模型并研究其对 SO 运动的影响,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物准备

健康成年杂种犬 12 只(第三军医大学实验动物中心提

基金项目:高等学校重点实验室访问学者基金资助项目(重庆大学校科字[2003]76)

Supported by the Research Funds for Visiting Scholars in Key Lab of Colleges and Universities ([2003]76)

作者简介:刘永康(1976-),男,四川省乐山市人,硕士研究生,医师,主要从事胆道动力学方面的研究。电话:(023)68773078

通讯作者:李智华,电话:(023)68754373

收稿日期:2005-10-08;修回日期:2005-11-30

供），体质量 10～13 kg，雌雄不限，随机分为正常对照（NC）组和不全梗阻（PO）组，每组 6 只，均在相同条件下饲养。术前 12 h禁食，手术当日速眠新（0.1 ml/kg）肌注麻醉，将犬固定于自制的犬实验台，经小隐静脉补液。备皮后行右腹直肌切口进腹，暴露肝门，穿刺确定胆总管进入十二指肠的位置后，在胆总管中段以 1 号丝线将一直径 1 mm 的导管与胆总管一同结扎后拔除导管，关腹结束手术。对照组不结扎胆总管，余步骤相同。术后正常饲养。

1.2　测压系统

PC polygram HR 高分辨、多通道胃肠功能测定仪（瑞典 CTD-Synetics Medical 公司）；顶端有导丝通道的三通道测压导管（美国 Wilson-Cook Medical 公司）用于胆道括约肌测压，其外径 1.7 mm，内径 0.5 mm，3 个通道的侧孔在距顶端 20 mm 处依次开口，孔间间隔 2 mm。低顺应性毛细管灌注系统将灭菌纯化水以每分钟 0.2 ml 的速度灌注入导管内腔。

1.3　测压方法

术后第 28 天在禁食 12 h 后，在速眠新麻醉下经原切口进腹，打开十二指肠腔后将三腔测压管逆行插入胆总管上段，逐渐退出测压管至可以清楚的记录到 SO 的时相性收缩波，记录 SO 收缩频率（frequency of sphincter of oddi，SOF）、SO 基础压（basal pressure of sphincter of Oddi，SOBP）、SO 峰压（amplitude of sphincter of Oddi，SOAP）、胆总管内压（common bile duct pressure，CBDP）及 SO 收缩时间。

1.4　指标检测

术前、术后 1、3、5、7、14、28 d 经股静脉抽血，离心后取上层血清，贮于 -20 ℃冰箱待测肝功；术后 3、7、14 d 将犬麻醉后经皮肝穿刺获取肝脏标本，所有动物在测压结束后留取胆总管及肝脏标本，甲醛固定 24～48 h，常规石蜡包埋、切片、苏木精-伊红（HE）染色后镜检。

1.5　统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，使用统计软件 SPSS 10.0 进行单因素方差分析和 t 检验。

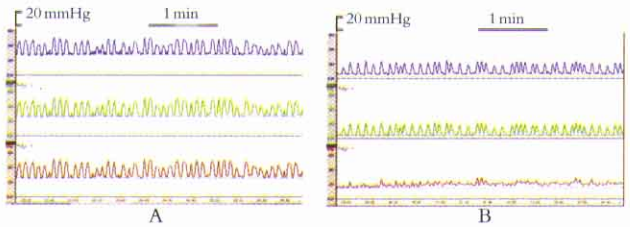
2　结果

2.1　术后情况

所有犬术后均正常存活，未发生肠瘘、胆瘘及重症感染等并发症。B 组的胆总管全部因丝线的切割作用使梗阻解除。

2.2　胆道及 SO 压力变化

与对照组相比，实验组 SO 基础压和峰压降低（$P<0.01$），收缩频率减慢（$P<0.05$），但收缩时间无明显变化（$P>0.05$）（表 1，图 1），SOBP 与 CBDP 压力梯度变小。



A：对照组；B：实验组

图 1　Oddi 括约肌测压结果

表 1　胆道动力学变化（$\bar{x} \pm s$）

组别	胆总管内压（mmHg）	Oddi 括约肌基础压（mmHg）	Oddi 括约肌峰压（mmHg）	Oddi 括约肌收缩频率（次/min）	Oddi 括约肌收缩时间（s）
NC 组	14.6 ± 0.7	20.2 ± 1.8	23.8 ± 2.2	10.3 ± 0.8	3.6 ± 0.2
PO 组	11.1 ± 2.8[a]	12.6 ± 2.9[b]	14.4 ± 3.4[b]	7.8 ± 1.5[a]	3.4 ± 0.4

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与 NC 组比较

2.3　犬肝脏功能的变化

血清胆红素在第 3 天达到高峰，丙氨酸氨基转移酶和碱性磷酸酶的峰值出现在第 7 天，谷氨酰转肽酶的峰值出现在第 5 天（$P<0.01$），在第 28 天基本降至正常（$P>0.05$），见表 2。

表 2　肝脏功能检查结果（$\bar{x} \pm s$）

组别	总胆红素（μmol/L）	直接胆红素（μmol/L）	丙氨酸氨基转移酶（IU/L）	碱性磷酸酶（IU/L）	谷氨酰转肽酶（IU/L）
NC 组	1.3 ± 0.5	0.2 ± 0.1	22.6 ± 6.2	82.4 ± 17.7	5.2 ± 2.3
PO 1 d 组	6.6 ± 1.9[b]	5.1 ± 2.0[b]	42.2 ± 12.5[b]	123.2 ± 26.4[a]	7.3 ± 1.8
PO 3 d 组	22.1 ± 5.3[b]	19.3 ± 5.9[b]	117.8 ± 26.9[b]	1033.7 ± 205.9[b]	74.7 ± 14.5[b]
PO 5 d 组	13.7 ± 4.0[b]	9.7 ± 3.4[b]	188.2 ± 27.3[b]	1868.5 ± 305.5[b]	126.2 ± 20.7[b]
PO 7 d 组	5.6 ± 1.7[a]	4.2 ± 1.9[a]	287.0 ± 42.4[b]	1028.3 ± 209.8[b]	181.3 ± 31.7[b]
PO 14 d 组	2.3 ± 0.9	1.4 ± 0.5[a]	95.3 ± 31.5[a]	428.8 ± 132.3[b]	83.2 ± 18.8[a]
PO 28 d 组	1.0 ± 0.3	0.4 ± 0.2	21.4 ± 2.6	93.6 ± 23.5	8.4 ± 4.0

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与 NC 组比较

2.4　肝脏病理变化

所有犬的肝脏结构完整，A 组肝脏无明显变化，B 组肝脏出现明显的小胆管增生和门管区体积增加。B 组术后第 3 天汇管区白细胞浸润，中心静脉周围肝窦的小胆管和肝细胞出现胆汁染色，窦状隙扩张，其内出现血液成分并含有少量的炎性细胞。术后第 7 天出现肝脏轻度的纤维化，白细胞浸润增多，以淋巴细胞为主而中性粒细胞很少，肝细胞表现出核浓缩、核膜不规则、染色质异常分布和细胞质浓染，中央静脉周围肝细胞的有丝分裂增多，凋亡小体可见。术后第 14 天肝脏淤胆消失，肝细胞形态在术后第 28 天恢复正常，但增生的小胆管仍未消失。

3 讨论

本实验中，血清胆红素在第3天达到高峰，转氨酶的峰值稍晚于胆红素，二者在第28天基本降至正常，此时肝脏的病理变化也由早期的淤胆和纤维化逐渐恢复为正常肝小叶结构和肝细胞形态；而SO的运动功能却表现为SO基础压和峰压明显降低、收缩频率变慢。这表明，随着胆总管梗阻的解除，肝脏的病理变化和肝功能恢复，但是胆道动力学的紊乱却未能恢复。

SO位于胆管和胰管汇合进入十二指肠的区域，其运动形式表现为叠加于基础压上的时相性收缩运动，它与胆囊、十二指肠的周期性协调运动调节着胆汁进入十二指肠并防止十二指肠液返流入胆管[3]。生理学和外科学的研究表明，SO、十二指肠及胆道之间不仅存在局部的神经联结；SO还受交感神经、迷走神经以及胃肠激素的共同调节，其中任何一个环节发生异常都可能导致Oddi括约肌功能障碍(SOD)[4-6]。有学者用扩张胆囊及胆总管内加压的实验发现了胆囊-SO、胆总管-SO之间存在局部的抑制反射[1,2]，其神经解剖基础在后来的研究得以证实[7]。由于SOD的患者多伴有良性胆道疾病如胆管狭窄、胆石症等[8]，而胆汁淤积、胆道内压增高等胆道动力学紊乱常常是此类疾病的特征性表现，这些患者SOD的发生是否和胆道动力学紊乱有关呢？为此，我们制作了犬可复性胆总管不全梗阻的动物模型。

本实验显示，可复性胆总管不全梗阻对SO的运动具有抑制作用，这种抑制作用并没有随着胆总管梗阻的解除而恢复。其机制可能为：由于胆囊、胆总管和SO之间存在局部反射，胆总管不全梗阻的初期，胆囊和胆总管内压的升高直接抑制SO的运动功能，表现为SO基础压和峰压的降低，该反射性抑制有利于胆汁从胆囊和胆总管进入十二指肠，从而减轻胆汁淤积造成的肝脏损害[9]，是一种保护性反射；在胆总管不全梗阻的后期，尽管胆总管的梗阻解除，但由于胆囊容积增大、胆总管扩张，胆囊的收缩能力和胆总管的回弹能力下降，胆囊和胆总管内的传入神经的末梢继续感受因被动扩张形成的刺激信号，从而通过局部反射对SO产生抑制作用。另外，胆道的运动存在重要的重复调节，当一种机制被破坏，其他机制为保持其完整性将代替主要的机制，当胆囊-SO、胆总管-SO之间的抑制反射由于胆囊和胆总管内压的降低而减弱的时候，外来神经(迷走神经)以及胆囊收缩素(CCK)等对SO的作用增强，从而使SO的运动功能减弱，其具体机制还有待于进一步阐明。

可复性胆总管不全梗阻的动物模型制作的关键在于：既要保证胆总管一定的通畅，又要保证梗阻上方形成的胆道高压足以使胆总管外的丝线对胆总管形成切割作用而使梗阻自行解除，本实验中实验组胆总管梗阻完全解除，和方学军等[10]在胆总管结扎的基础上行胆肠吻合的动物模型相比，该模型没有改变胆道的解剖关系，保持了胆道系统的解剖和结构的完整性。我们认为本动物模型具有以下优点：① 操作简单易行，经济实用；② 拟人性、可重复性好，犬的SO运动功能与人类相似，都对胆汁的排泄起阻碍作用；③ 动物较大，抵抗力和抗病能力强，死亡率低。因此，该模型是用来研究良性胆道疾病，特别是研究胆总管狭窄对胆道动力学影响的较好的动物模型。

参考文献：

[1] THUNE A, SACCONE G T, SCICCHITANO J P, *et al*. Distension of the gall bladder inhibits sphincter of Oddi motility in humans[J]. Gut, 1991, 32(6): 690-693.

[2] SHAFIK A. Choledochosphincter inhibitory reflex: identification of the reflex in dogs and its significance[J]. J Surg Res, 1998, 78(1): 7-10.

[3] TOOULI J, DODDS W J, HONDA R, *et al*. Motor function of the opossum sphincter of Oddi[J]. J Clin Invest, 1983, 71(2): 208-220.

[4] NABAE T, YOKOHATA K, OTSUKA T, *et al*. Effect of truncal vagotomy on sphincter of oddi cyclic motility in conscious dogs[J]. Ann Surg, 2002, 236(1): 98-104.

[5] DONG M, SONODA Y, KAWAMOTO M, *et al*. Duodenum is important for the sphincter of Oddi motor response to cholecystokinin octapeptide in conscious dogs[J]. J Gastroenterol, 2005, 40(4): 389-395.

[6] DENG Z L, NABAE T, KONOMI H, *et al*. Effects of proximal duodenal transection and anastomosis on interdigestive sphincter of Oddi cyclic motility in conscious dogs[J]. World J Surg, 2000, 24(7): 863-869.

[7] BALEMBA O B; SALTER M J, MAWE G M. Innervation of the extrahepatic biliary tract[J]. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol, 2004, 280A(1): 836-847.

[8] PICCINNI G, ANGRISANO A, TESTINI M, *et al*. Diagnosing and treating Sphincter of Oddi dysfunction: a critical literature review and reevaluation[J]. J Clin Gastroenterol, 2004, 38(4): 350-359.

[9] GRIVELL M B, WOODS C M, GRIVELL A R, *et al*. The possum sphincter of Oddi pumps or resists flow depending on common bile duct pressure: a multilumen manometry study[J]. J Physiol, 2004, 558(Pt 2): 611-622.

[10] 方学军，迟延邦，李 靖. 胆道梗阻再通后肝脏过氧化损伤恢复的实验研究[J]. 实用肝脏病杂志，1997, 2(3): 160-161.

(编辑 陈聪连)