论著

文章编号:1000-5404(2010)15-1660-03

巴马猪胆道盐酸消融对肝功能的影响及病理学变化

杨爱军[1],董家鸿[2] (400038 重庆,第三军医大学西南医院全军肝胆外科研究所[1];100853 北京,解放军总医院肝胆外科[2])

【摘要】 目的 观察以5%盐酸为消融剂,氰基丙烯酸酯为栓塞剂对巴马猪行选择性胆道消融栓塞后靶肝叶病理学改变以及对肝功能的影响。方法 5头巴马猪左外叶胆道置管,造影后行选择性左外叶胆道消融并栓塞术,检测术后动物的肝脏功能的变化、HE染色和Masson胶原染色观察组织病理改变和术后存活情况。结果 消融术后动物无死亡。术后3 d血清中ALT、AST、ALP达峰值,其后逐渐恢复正常。术后1周时ALT、AST、ALP与正常无明显异常($P>0.05$)。术后1个月,靶肝叶中部及边缘组织胶原染色视野面积百分比及靶肝叶羟脯氨酸含量较正常增加($P<0.05$)。结论 选择性胆道5%盐酸消融及氰基丙烯酸酯栓塞可以导致巴马猪靶肝叶萎缩纤维化。

【关键词】 肝内胆管结石;消融;盐酸;巴马猪
【中图法分类号】 R575.62;R322.47;R-332 【文献标志码】 A

Pathological change in liver lobe of Bama pigs after selective bile duct ablation with hydorchloric acid

Yang Aijun[1], Dong Jiahong[2] ([1]Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [2]Department of Hepatobiliary Surgery, General Hospital of PLA, Beijing, 100853, China)

【Abstract】 Objective To study the pathological changes in liver lobe of Bama pigs after selective bile duct ablation with 5% hydrochloric acid as an as ablation reagent and cyanoacrylate as an embolization reagent. Methods A tube was placed in bile duct in swine left liver lobe and selective bile duct ablation was performed. Liver function, pathologic change in liver tissue and survival time of the animals were observed after operation. Results No death occurred after operation. The ALT, AST and ALP levels reached their peak in 3 d after operation and became normal in 7 d after operation. The collagen-stained area in center and border of target liver lobe was larger than normal ($P<0.05$). The level of hydroxyproline was higher in target liver lobe than in normal liver lobe ($P<0.05$). Conclusion Selective bile duct ablation with 5% hydrochloric acid and cyanoacrylate can lead to atrophy of target liver lobe in Bama swine.

【Key words】 hepatolithus; ablation; hydrochloric acid; Bama pigs

Corresponding author: Dong Jiahong, Tel: 86-23-66936602, E-mail: dongjh301@163.com

肝内胆管结石是按肝内胆道系统分布的节段性、区域性疾病[1]。有研究者基于肝内区域胆管完全梗阻后可造成分布区域肝脏组织的萎缩纤维化而"自裁"的特点,考虑通过区域肝内胆道消融栓塞祛除结石复发的条件和环境,人为造成栓塞区域肝脏组织的萎缩纤维化,以期达到治疗无法手术治疗的肝内胆管结石病的目的[2,3]。本实验拟应用小型动物筛选出的消融栓塞剂对大型动物行胆道消融栓塞,以期了解区域性胆道消融栓塞后大型动物局部肝脏组织病理改变及其对肝脏功能的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及方法

健康成年雄性巴马小型猪5头,体质量35~39 kg(第三军医大学实验动物中心)。术前12 h禁食水。予以10 mg/kg盐酸氯胺酮+0.5 mg硫酸阿托品肌注行麻醉诱导。动物取仰卧位。气管插管成功后呼吸机辅助呼吸。静滴氯胺酮、氯化琥珀酰胆碱,维持麻醉。颈动脉插管监测系统动脉压及心率,颈静脉插管连接三腔管分别接静脉输液、麻醉给药和采集静脉血样品。腹部常规消毒铺巾,取经右腹直肌切口入腹。显露肝门部,解剖显露左外叶胆管。细硅胶管一端植入左外叶胆管,另一端右侧腹壁另戳孔引出。逐层关腹。将猪移至X线机下,通过硅胶管行胆道造影。造影后开放造影管30 min。据胆道造影剂体积注入胆道毁损剂5%盐酸夹闭硅胶管10 min,开放后尽量吸净盐酸,等量生理盐水冲洗3次,重复上述步骤1次后注入等量OB胶后夹闭硅胶管6~10 s[4]。动物麻醉清醒后,送回动物房分栏饲养。术前、术后3 d及术后1、2、4周采取静脉血测肝功。术中取左外叶边缘0.8 cm×0.8 cm肝组织,术后4周处死后取插管处、左外叶边缘及二者连线中点0.8 cm×0.8 cm肝组织,分别液氮保存及10%福尔马林固定。

1.2 观察及检测方法

观察动物术后一般情况,检测术后肝功能变化。观察术后肝脏病理改变行HE染色、Masson胶原染色。用羟脯氨酸检测

【通信作者】 董家鸿,电话:(010)66936602,E-mail:dongjh301@163.com

试剂盒(南京建成)测定肝组织羟脯氨酸含量。

统计学方法:计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS. 15 统计软件进行分析,多组均数间的比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 实验动物一般情况

动物术后第 2 天即开始进食,活动自如,无皮肤巩膜黄染。动物无死亡,存活率 100%。

2.2 肝功能检查

术后肝功能变化见表 1。术后 3 d 谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酸(AST)、碱性磷酸酶(ALP)达最高值($P<0.05$),其后逐渐恢复正常。术后 1 周时肝功能各项指标与正常无明显异常,总胆红素(TBIL)及直接胆红素(DBIL)水平术后无显著改变($P>0.05$)。

表 1 术后不同时间肝功能变化($n=5$, $\bar{x} \pm s$)

检测时间	ALT(U/L)	AST(U/L)	ALP(U/L)	TBIL(μmol/L)	DBIL(μmol/L)
术前	84.5 ± 10.7	94.3 ± 23.7	142.0 ± 23.3	15.7 ± 1.4	5.42 ± 1.03
术后 3 d	164.5 ± 10.5[a]	275.0 ± 55.9[a]	286.8 ± 20.2[a]	16.9 ± 2.0	6.90 ± 1.07
术后 7 d	93.5 ± 11.6	96.3 ± 10.3	148.3 ± 25.6	16.8 ± 1.9	6.39 ± 1.02
术后 14 d	96.4 ± 8.4	98.6 ± 14.2	145.7 ± 24.6	17.1 ± 1.5	6.26 ± 0.84
术后 21 d	86.2 ± 7.6	97.6 ± 13.7	128.6 ± 18.3	15.9 ± 3.1	5.40 ± 1.60
术后 28 d	84.3 ± 9.2	93.4 ± 17.6	144.1 ± 26.3	15.2 ± 2.3	5.80 ± 1.05

a:$P<0.05$,与术前比较

2.3 病理观察

2.3.1 大体标本 胆道置管无液体流出,栓塞的肝叶萎缩明显,粉红色,质地韧,与周围轻度粘连(图 1)。肝门处与网膜粘连重,解剖胆道置管上方胆道见栓子与胆道结合紧密,上方无扩张胆管。

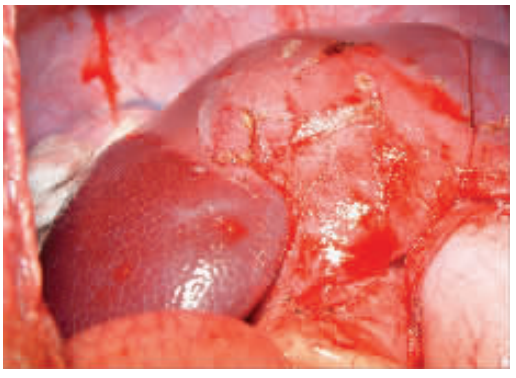


图 1 消融栓塞 4 周后萎缩靶肝叶外观

2.3.2 HE 染色 胆管壁明显纤维化、增厚,汇管区有淋巴细胞及巨噬细胞浸润。栓子与胆管壁紧密嵌合,纤维细胞包裹栓子。胆管附近异物肉芽与结缔组织取代周围结构,未见肝细胞。靶肝叶肝内增宽的纤维间隔内有新生小胆管,可见黏液细胞。增生的胆小管与成纤维细胞形成间隔,肝内假小叶明显,纤维间隔宽。假小叶内中央静脉缺如或偏位,肝细胞数目减少(图 2)。

2.3.3 Masson 染色 术后 4 周所有动物靶肝叶胶原明显增生(表 2),汇管区胶原纤维尤为显著。靶肝叶形成典型假小叶(图 3)。

2.3.4 羟脯氨酸含量 术后 4 周靶肝叶羟脯氨酸含量检测见表 2。羟脯氨酸均较正常明显增高($P<0.05$)。

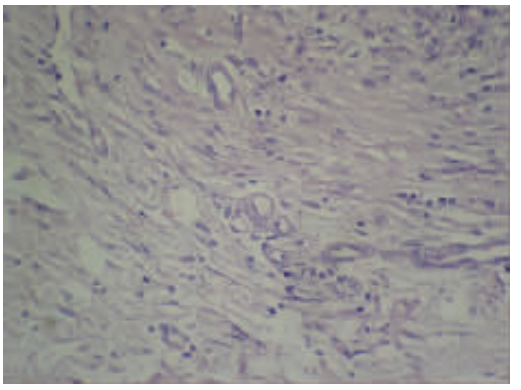


图 2 术后 4 周靶肝叶组织病理学观察 (HE ×400)

表 2 术后 4 周染色胶原占视野面积百分比及羟脯氨酸含量($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

动物编号	视野(%)			羟脯氨酸含量
	中心	中间	边缘	(μg/g)
正常	34.7 ± 1.2	7.1 ± 1.1	6.7 ± 1.0	362.50 ± 24.02
1	37.1 ± 2.4	28.1 ± 1.5[a]	13.5 ± 1.8[a]	647.23 ± 68.28[a]
2	38.6 ± 2.4	25.6 ± 1.8[a]	16.1 ± 2.1[a]	832.21 ± 104.51[a]
3	36.0 ± 3.4	26.7 ± 1.2[a]	15.3 ± 1.4[a]	746.13 ± 108.19[a]
4	41.0 ± 2.9	27.1 ± 1.6[a]	17.2 ± 1.1[a]	837.74 ± 97.68[a]
5	36.2 ± 1.6	24.9 ± 1.3[a]	14.9 ± 2.2[a]	691.71 ± 37.30[a]

a:$P<0.05$,与正常比较

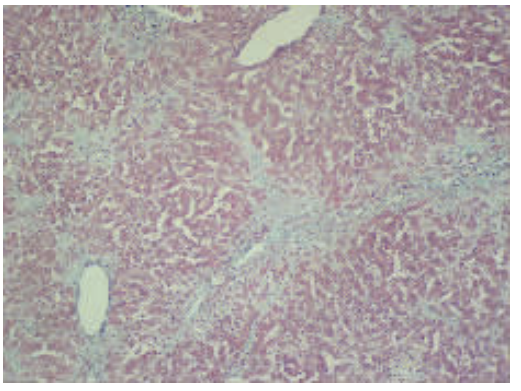


图 3 Masson 染色观察术后 4 周靶肝叶组织变化 (×100)

3 讨论

肝内胆管结石是我国乃至亚太地区的常见疾病[5]。肝部分切除是治疗肝内胆管结石的主要手段[6,7]。但各行肝部分切除均伴出血或结石残留等并发症。单纯胆道探查取石,伴随较高结石复发率及胆道狭窄持续存在[8-10]。部分学者探索用胆道消融栓塞的方法治疗肝内胆管结石术后胆漏[11]。目前对胆道消融栓塞的相关研究中,已使用小动物如大鼠、兔子进行相关实验,其结果显示胆道消融栓塞可以使靶肝叶萎缩纤维化,其内肝内胆管结石不再发展[12,13]。去胆管肝叶保留了大部分蛋白合成分泌及营养物质代谢功能[14]。但目前已有结果尚有局限性,小型动物与大型哺乳动物生理结构相差较远,不能很好的模拟人体相关病理过程。为了能将消融栓塞这项新技术应用于

人体，故本实验选用在解剖、组织、生理和营养代谢等方面与人类相似度较高的巴马小型猪。本研究采用的小型猪的肝脏质量、体积比较恒定，形态变异小，与体质量有很好的相关性，左外叶占全肝质量的(33.67±0.48)%[15]。

本实验观察到胆道消融栓塞后不同时相点肝功变化，与家兔动物实验近似：胆道消融栓塞术后ALT、AST开始显著升高，术后3 d为高峰，其后迅速下降，术后7 d接近正常值。术后1个月大体标本显示靶肝叶胆道栓塞完全，未见栓子脱落，靶肝叶肝组织切片胶原染色显示胶原明显增加，羟脯氨酸含量明显增加也支持肝纤维化，靶肝叶病理未见其他异常。结果证明应用的胆道消融剂5%盐酸加栓塞剂OB胶达到毁损胆道上皮填塞胆管空间，去除胆道结石发生的条件和环境，靶肝叶萎缩纤维化进程顺利，未见脓肿等异常，可以达到治疗胆道结石的目的。

应用5%盐酸联合胆道栓塞剂行胆道消融栓塞术后肝功能一过性轻度异常，靶肝叶明显萎缩纤维化，胶原增生明显，假小叶形成，肝细胞数目减少，故5%盐酸是对大型动物有效的胆道消融剂。待进一步行毒性及其他相关实验后，5%盐酸将可适用于临床无法手术治疗的肝内胆管结石病的治疗。

参考文献：

[1] 黄志强. 肝内胆管结石治疗演变和发展[J]. 中国实用外科杂志，2009，29(7)：537－539.

[2] 李富宇，何生，董家鸿，等. 胆道化学性栓塞治疗肝内胆管结石的可行性初探[J]. 中华实验外科，2005，22(9)：1132.

[3] 杨爱军，丁钧，董家鸿. 胆道消融剂在选择性胆道消融栓塞中的选用[J]. 消化外科，2005，4(6)：439－443.

[4] Levrier O，Mekkaoui C，Rolland P H，*et al*. Efficacy and low vascular toxicity of embolization with radical versus anionic polymerization of n-butyl-2-cyanoacrylate (NBCA). An experimental study in the swine [J]. J Neuroradiol. 2003，30(2)：95－102.

[5] Mori T，Suzuki Y，Sugiyama M，*et al*. Hepatolithiasis in Japan：Epidemiology update and a cohort study in 473 patients[J]. Gastroenterology，2008，134(4)：A－270.

[6] 黄志强. 肝内胆管结石肝切除术的演变[J]. 中国现代普通外科进展，2009，12(1)：1－2.

[7] 黄志强. 在微创外科时代对肝内胆管结石外科治疗的再认识[J]. 中国普外基础与临床杂志，2006，13(4)：371－372.

[8] Uenishi T，Hamba H，Takemura S，*et al*. Outcomes of hepatic resection for hepatolithiasis[J]. Am J Surg，2009，198(2)：199－202.

[9] Chen D W，Tung-Ping-Poon R，Liu C L，*et al*. Immediate and long-term outcomes of hepatectomy for hepatolithiasis[J]. Surgery，2004，135(4)：386－393.

[10] 宋晓雪，谢炜，孙安仁，等. 肝切除术治疗肝胆管结石的临床疗效观察[J]. 第三军医大学学报，2006，28(16)：1732.

[11] Vu D N，Strub W M，Nguyen P M. Biliary duct ablation with N-butyl cyanoacrylate[J]. J Vasc Interv Radiol，2006，17(1)：63－69.

[12] 沈爱玲，周家华，余泽前，等. 选择性胆道化学栓塞行化学性肝切除的实验研究[J]. 东南大学学报，2007，26(4)：291－294.

[13] 李富宇，何生，董家鸿. 应用胆道化学性栓塞治疗肝内胆管结石的实验和临床研究[J]. 消化外科，2005，4(4)：233－236.

[14] 焦华波，黄志强，梁平，等. 去胆管及去门脉肝组织蛋白质组研究[J]. 解放军医学杂志，2009，34(5)：541－544.

[15] 冷建军，董家鸿，韩本立，等. 巴马小型猪肝脏应用解剖学观察[J]. 消化外科，2004，3(3)：181－184.

(收稿：2010-03-05 修回：2010-06-09)

(编辑　汪勤俭)

(上接1659页)

根据假定模型推算体积，准确性和可重复性差。近年来随着超声应用技术的提高和三维超声的临床应用，使得体积的测算更加准确。三维超声VOCAL功能被认为目前准确简便的体积测量方法[4]。徐辉雄等[5]利用VOCAL测得仿体体积与实际体积高度相关(r为0.992～0.999)，误差低于4%。肾脏由于具有较好的边界特性和透声窗，比较适合三维超声测定，体积测定的准确性较高，可重复性强[6]。

有研究认为肾脏位置较深，且随呼吸移动，妊娠后增大的子宫使肾动脉血流参数的测定有一定难度，但是多数研究发现在测量时采取正确的体位，并嘱孕妇适当屏住呼吸，肾动脉频谱的测定并不难[1]。本研究中，研究组95%测得肾动脉血流频谱。妊娠20周后，肾脏血流量增加，但是外周阻力指标RI等与对照组比较无统计学差异[2]，与本研究结果一致。

新近研究认为虽然肾动脉血流阻力随孕周增加无改变，但肾动脉血流阻力由外向内逐渐降低，肾动脉主干、肾段动脉、肾皮质动脉三段间RI逐渐降低[2]。重度子痫前期肾动脉舒张期血流减低，阻力指数升高[3]，肾脏静脉血流参数也发生了变化[7]。妊娠期肾动脉血流的监测主要可以了解母体循环的情况。因此监测肾动脉不同段和病理妊娠时肾动脉血流动力学指标，有利于进一步了解病情。

参考文献：

[1] 孙丽洲，潘义，姜海风. 妊娠期妇女肾血流动力学特征[J]. 江苏医药，2007，33(11)：1087－1089.

[2] 杨怡珂，林建华，林其德，等. 妊娠早中晚期相关动脉血流参数及其规律[J]. 中国实用妇科与产科杂志，2009，25(9)：677－680.

[3] 周信忠，胡冬梅. 妊娠高血压综合征患者肾动脉彩色多普勒血流改变的观察[J]. 实用临床医学，2006，7(4)：115.

[4] 彭晓慧，赵博文，杨园，等. 二维超声及实时三维超声VOCAL技术评估膀胱容量的对比研究[J]. 中国超声医学杂志，2009，25(6)：605－607.

[5] 徐辉雄，徐作峰，吕明德，等. 三维超声容积自动测量技术的准确性及重复性研究[J]. 中国超声医学杂志，2003，19(3)：232－236.

[6] 曹兵生，盛林，董宝玮，等. 三维超声重建测量肾脏体积的实验研究[J]. 中国临床医学影像杂志，2005，16(2)：86－88.

[7] Karabulut N，Baki-Yagci A，Karabulut A. Renal vein Doppler ultrasound of maternal kidneys in normal second and third trimester pregnancy[J]. Br J Radiol，2003，76(907)：444－447.

(收稿：2010-03-11 修回：2010-04-10)

(编辑　吴培红)