DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.19.035

技术方法

文章编号:1000-5404(2003)19-1772-02

Oddis括约肌肌电记录方法的改进

Improvement of electrophysiological recording methods used for Oddis sphincter

赵红梅[1],李虎城[2],胡志安[1],徐红梅[1],董家鸿[2] (第三军医大学:[1]基础医学部基础医学教学实验中心;[2]附属西南医院全军肝胆外科研究所、西南肝胆外科医院,重庆 400038)

提 要:目的 探讨适合家兔Oddis括约肌肌电长期稳定记录的方法。方法 缝合十二指肠到腹壁,暴露Oddis括约肌。利用钩状不锈钢电极直接自Oddis括约肌浆膜表面刺入括约肌,并使其悬吊,胞外记录Oddis括约肌肌电。结果 记录时叠加10 Hz高通滤波,即可得到稳定家兔Oddis括约肌肌电信号。结论 上述改进措施是长时稳定进行家兔Oddis括约肌肌电记录的关键所在。

Oddis括约肌在胆汁、胰液分泌及排泄过程中具有重要的作用,其功能异常会导致多种胆胰疾病的发生。由于Oddis括约肌肌电的记录受多种因素影响,不易得到理想的记录效果。国外对Oddis括约肌肌电机制的实验研究开展较少,国内相关报道更少[1,2]。目前,国外对Oddis括约肌肌电变化的研究多采用离体实验[3,4],用显微手术的方式,将双极电极埋进Oddis括约肌和十二指肠肠壁内,设备及操作均较复杂,且手术过程中有可能对Oddis括约肌造成损伤。对于在体该方法难度更大。我们在参考国内外相关实验方法的基础上,初步摸索出了适合家兔Oddis括约肌肌电变化研究的实验方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物

30只健康成年家兔,由第三军医大学实验动物中心提供,雌雄不限,体质量2.0~3.5 kg。实验前18 h禁食、实验前4 h禁水。实验环境温度维持在24~28 ℃。

1.2 实验方法

1.2.1 Oddis括约肌的暴露 动物常规麻醉后,取上腹正中切口约5 cm,进腹后首先于肝下填塞纱布,分离十二指肠与肝脏,保留位置变浅、下移。然后,在十二指肠系膜缘平乳头及乳头下1 cm处分别将十二指肠缝至腹壁,使十二指肠后壁及Oddis括约肌充分暴露。

1.2.2 Oddis括约肌电生理记录 将钩状不锈钢双极电极直接从浆膜面刺入Oddis括约肌内、Oddis括约肌旁及十二指肠远端,然后用丝线悬吊于实验架上维持一定张力。不锈钢双极电极是由2根长12 cm、直径0.035 cm的不锈钢毫针固定于有机玻璃块制作而成。前端暴露金属电极约5 cm,用于插入机体内测量肌电,暴露的金属电极部分无须绝缘;后端暴露约1 cm,用于连接导联。实验仪器为RM6240多道生理仪及信号采集处理系统(成都仪器厂)。参数选择:扫描速度500 ms/div、灵敏度10 mV/div、时间参数1 s、滤波频率10 Hz,同时叠加10 Hz高通滤波。

2 结果

禁食状态下家兔Oddis括约肌肌电呈现为规律的单发的锋电位,0.2~0.4 Hz,最大电位250~375 μV,见图1;同时发现家兔Oddis括约肌肌电存在多种形式并与不同的Oddis括约肌机械运动相对应。叠加10 Hz高通滤波后,呼吸及胃肠道肌电活动的干扰基本被排除,得到单纯肌电信号,见图2。加入兴奋Oddis括约肌药物红霉素(25 mg/kg, iv)后Oddis括约肌肌电呈现为规律的簇发、密集的锋电位,0.2~0.3 Hz,最大电位350~475 μV,见图3。



图1 在胃肠电及呼吸活动背景下,正常Oddis括约肌锋电位



图2 叠加10 Hz高通滤波后,生理状态下Oddis括约肌肌电活动



图3 红霉素激发的Oddis括约肌肌电活动变化

作者简介:赵红梅(1970-),女,河北省衡水市人,技师,主要从事机能学实验技术方面的研究。电话:(023)68753703
通信作者:胡志安,电话:(023)68753704
收稿日期:2003-01-22;修回日期:2003-04-30

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3　讨论

本研究介绍了一种适合 Oddis 括约肌肌电长时稳定记录的方法, 即先行十二指肠腹壁缝合, 暴露 Oddis 括约肌。将双极不锈钢金属电极末端制成钩状, 记录时使其悬吊, 电极放置方式选择 Oddis 括约肌浆膜表面直接刺入法。最后通过叠加 10 Hz 高通滤波, 排除呼吸活动和胃肠电的干扰。

3.1　Oddis 括约肌的暴露

由于家兔十二指肠及 Oddis 括约肌所处位置较深, 良好的暴露对于肌电活动记录成功至为关键。我们曾经采用组织钳钳夹牵拉十二指肠、十二指肠下玻璃棒横穿系膜抬高十二指肠等方式使十二指肠乳头位置变浅, 但实践证明这两种方法在 20～30 min 内可以使十二指肠明显缺血, 十二指肠及乳头部颜色变黑, 从而影响实验结果。现在我们首先于肝下填塞纱布, 再使十二指肠沿肠腔纵轴方向顺时针旋转 90°～120°, 进一步将十二指肠缝至腹壁。经上述方法处理后, 乳头可以得到充分显露, 12 h 内十二指肠无缺血表现, 既保持十二指肠的完整性又最大限度地接近生理状态。

3.2　双极电极的选择与放置

文献[1, 2] 报道使用康铜合金、铂金烧铸电极或玻璃电极, 材料及工艺均要求较高。我们选择了自制双极钩状不锈钢电极。不锈钢毫针导电性能良好, 弹性适中, 价格低廉。于毫针尖端 0.05 cm 弯曲 90°呈钩状, 有利于电极固定。整个电极用丝线悬吊, 电极悬吊状态对于避免电极因呼吸运动损伤组织和减少呼吸干扰极为关键。

我们曾尝试使用不同电极置入方法进行实验。第一种为敞开接触组即切开十二指肠暴露 Oddis 括约肌, 从括约肌开口处置入接触式电极或将电极直接刺入 Oddis 括约肌内; 第二种为封闭插入组即不打开十二指肠从浆膜层将无钩电极刺入 Oddis 括约肌内; 第三种为钩状电极刺入组即从浆膜面将钩状金属电极直接刺入 Oddis 括约肌内。前二组因电极接触不良或脱落而造成信号不稳定, 同时敞开十二指肠因消化液分泌与排泄而影响信号采撷。只有钩状电极刺入组电极不易脱落且可获得长时间稳定的 Oddis 括约肌肌电信号。

浆膜层钩状电极置入法, 可避免敞开十二指肠暴露 Oddis 括约肌所致的创伤加重、血供不良、消化液溢出等因素所致的实验误差。

3.3　非括约肌肌电信号的排除

Oddis 括约肌肌电的采集受许多因素的影响, 主要是胃肠活动及呼吸活动的影响。Oddis 括约肌肌电变化往往淹没于上述干扰波形之中。正因为如此, 使得 Oddis 括约肌肌电记录面临许多困难。

调整电极的方向及悬吊紧张度可有效地减少呼吸活动的影响。另外, 实验参数的调整对 Oddis 括约肌肌电的采集有着重要意义, 其中扫描速度、灵敏度、滤波频率最为重要。扫描速度太快会使波形变异而难以辨认, 太慢胃肠活动更显突出而 Oddis 括约肌肌电被掩盖; 灵敏度太低, Oddis 括约肌肌电波幅太小, 太高基线过粗; 滤波频率太低, 胃肠活动及呼吸活动难以滤掉, 太高则将 Oddis 括约肌肌电滤掉。一般而言, 参数选择扫描速度 500 ms/div、灵敏度 1.0 mV/div、时间常数 1 s、滤波频率 10 Hz, 同时再次叠加 10 Hz 高通滤波, 便可以得到较满意的 Oddis 括约肌肌电波形。

建立稳定的采撷 Oddis 括约肌肌电变化的实验方法, 不仅有利于其动力与电生理之间的关系的研究, 一些新药对于 Oddis 括约肌的作用机制也会得到深入的阐明。

关键词: Oddis 括约肌; 电生理; 家兔
中图法分类号: R337.5　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Woods C M, Schloithe A C, Simula M E, *et al*. Proximal and distal segments of the possum sphincter of Oddi respond differently to neural and cholecystokinin octapeptide stimulation *in vitro*[J]. Dig Surg, 2000, 17(3): 241－249.

[2] 刘传勇, 刘京璋, 李自英, 等. 红霉素对兔消化间期胆囊运动的兴奋作用[J]. 基础医学与临床, 2000, 20(4): 48－51.

[3] Hillsley K, Mave G M. 5-HT is present in nerves of guinea pig sphincter of Oddi and depolarizes sphincter of Oddi neurons[J]. Am J Physiol, 1998, 275(5 Pt 1): G1018－1027.

[4] Bayguinov O, Vogalis F, Morris B, *et al*. Patterns of electrical activity and neural responses in canine proximal duodenum[J]. Am J Physiol, 1992, 263(6 Pt 1): G887－894.

（编辑　张大春）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net