DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.04.051
第24卷第4期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 4
488 2002年4月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Apr. 2002

技术方法

文章编号:1000-5404(2002)04-0488-03

肝硬变大鼠肝部分切除术动物模型的制作及评价

Evaluation on the animal model of cirrhotic rats after partial hepatectomy

陈 平,李 昆,董家鸿 (第三军医大学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 制作和评价肝硬变大鼠肝部分切除模型。方法 大鼠皮下注射四氯化碳+口服乙醇诱导成肝硬变后,行70%肝切除,观察大鼠存活率、肝功能、肝细胞线粒体及肝组织学改变。结果 肝硬变大鼠行肝部分切除术后1周内死亡主要在术后48 h内,共死亡12只,手术死亡率为24%;术后肝细胞功能明显受损,特别在术后24 h内变化最为显著。以后逐渐恢复,术后1周时基本恢复至术前水平。肝细胞线粒体功能变化相似。结论 复制的大鼠模型符合早期肝硬变的临床病理表现,是研究慢性肝损害肝切除术后肝再生较好的动物模型。

肝部分切除术动物模型是由Higgin和Anderson首先创建的[1],几十年来一直作为研究肝细胞再生的经典模型,但过去的研究是基于正常肝脏行肝部分切除术,这种正常状态的肝脏其再生能力与具有慢性肝病、肝硬变基础的肝细胞再生可能有很大的差别。在临床工作中,行肝部分切除术的肝脏大多有慢性肝病,因此研究肝硬变大鼠肝部分切除术后肝细胞再生具有重要理论和实际意义。

1 材料和方法

健康、雄性Wistar大鼠,重220~250 g用于本实验。大鼠肝硬变模型制作参考吴孟超等[2]的方法进行,即每5 d每百克体重大鼠皮下注射60%的四氯化碳(CCl_4)油溶液0.3 ml,3%~5%的乙醇代替饮用水,一月半(40 d左右)后停止用药,动物稳定1周后可进行实验。肝部分切除模型采用Higgin的大鼠模型,即到时相点的大鼠在乙醚麻醉下,腹部正中切口入腹,切除大鼠肝脏的左叶和中叶,切除量占全肝70%,见图1。所有模型制作在上午8:00—9:00之间进行。手术后腹腔内注射5%葡萄糖5 ml,大鼠自由进食、饮水。

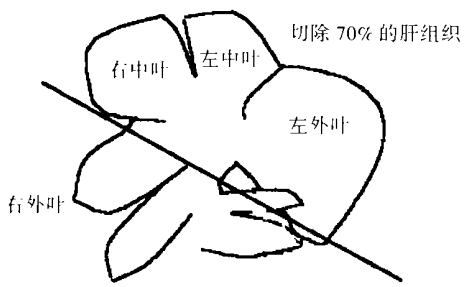


图1 大鼠肝部分切除术示意图

于大鼠术后6、24、48、72 h和术后1周观察如下指标:①模型制作死亡率和手术死亡率;②肝功能测定;③肝硬变大鼠肝部分切除术后线粒体功能测定;④肝脏组织学检查。

作者简介:陈 平(1964—),男,四川省仁寿县人,博士,副主任医师,副教授,主要从事肝胆外科临床及肝再生的实验研究,发表论文30余篇。电话:(023)65318301—73083

收稿日期:2001-09-21;修回日期:2002-03-02

2 结果

2.1 动物死亡率的统计

2.1.1 肝硬变模型制作时死亡情况 共300只雄性Wistar大鼠用于本实验,在模型制作过程中,有52只大鼠死亡,死亡率为17.3%。大鼠死亡最集中的时间是实验15~30 d,死亡大鼠39只,占死亡大鼠的75%(39/52)。另有7只大鼠死于实验前15 d,6只死于实验1月以后。

2.1.2 肝硬变大鼠行肝部分切除术时死亡情况 详细观察和记录了50只大鼠术后生存情况,见表,肝硬变大鼠行肝部分切除术后1周内死亡主要在术后48 h内,共死亡12只,手术死亡率为24%。死亡高峰为术后12 h点(4/50只)和术后36 h点(5/50只)。正常大鼠行肝部分切除术后1周内无死亡。

2.2 肝功能检查结果,见表1

表1 肝硬变大鼠行部分肝切除术后肝功能测定结果

	GOT(IU/l)	GPT(IU/l)	总胆红素(mg/L)	血清白蛋白(g/dl)
术前	138±11	65±8.5	0.05±0.02	2.99±0.09
术后6 h	604±112※	251±21※	0.09±0.03	2.75±0.08
术后24 h	1105±132※	642±56※	0.08±0.01	2.66±0.12
术后48 h	445±94※	392±42※	0.04±0.02	2.70±0.11
术后72 h	169±34	163±29	0.05±0.01	2.80±0.06
术后1周	142±12	51.1±6.1	0.02±0.01	2.85±0.07

※:$P<0.05$与对照组(术前)相比

从表1中可以看出,肝硬变大鼠术前肝细胞功能有一定损害,主要表现在转氨酶轻度升高,血清白蛋白轻度下降,但无黄疸。行肝部分切除术后肝细胞功能损伤进一步加重,特别在术后24 h内变化最为显著,在术后24 h点,转氨酶已高达1 105,且蛋白质合成功能进一步受损,血清蛋白质水平达最低。以后肝功能逐渐恢复,术后1周时基本恢复至术前水平。

2.3 线粒体呼吸控制比测定,见表2

表2 肝硬变大鼠肝部分切除术后肝细胞线粒体功能的测定结果

	RCR	ST3	ADP/O
正常对照	3.04±0.23	6.93±0.38	5.55±0.21
术前	2.83±0.15	7.93±0.8	5.40±0.34
术后6 h	1.77±0.33	6.29±0.93	4.45±0.72
术后24 h	1.75±0.11○	6.32±0.66	5.75±0.47
术后48 h	1.63±0.25※○	7.22±0.7	7.03±0.57※
术后72 h	2.58±0.19	10.93±0.7※○	3.29±0.46
术后1周	1.76±0.36	8.21±0.82	4.46±0.61

※:$P<0.05$与正常对照比较;○:$P<0.05$与术前比较

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

从表 2 中可以看出, 肝硬变大鼠肝细胞线粒体功能受损, 表现在ST3 较正常对照增高, 而呼吸控制比下降, ADP/O 变化不大, ST3 的增高可能是肝细胞受损后线粒体代偿性变化。在肝部分切除术后 24 h 以内, 是线粒体变化最为明显时期, 表现为线粒体功能的明显受损, RCR、ST3 和 ADP/O 均明显下降, 但随着机体的恢复, ST3 和 ADP/O 均出现不同程度的代偿性增高, 以 ST3 在术后 72 h 点和 ADP/O 在术后48 h 点最为显著。术后 1 周基本恢复到术前水平。

2.4　肝脏的病理变化

2.4.1　大体形态变化　　肝硬变模型大鼠其肝脏肿胀、充血, 质地稍硬, 肝表面部分部位可见细小结节。

2.4.2　组织学变化　　在镜下可见正常肝小叶结构被破坏, 代之以大小不等的细胞团, 肝细胞团之间有致密的纤维组织包绕, 形成分隔, 但纤维分隔不完全。肝细胞索排列紊乱, 失去正常放射状排列, 可见肝细胞变性、坏死。细胞以脂肪样变性明显, 成纤维细胞增生, 从汇管区伸出、延伸, 相互交织, 有形成假小叶的趋势, 肝硬变程度较轻, 见图 2.

2.4.3　电镜下肝细胞变型明显, 有局灶坏死。细胞内线粒体肿胀、嵴减少或空泡形成, 内质网肿胀、糖原消失。可见 Kupffer 细胞空泡变性, 见图 3～4。

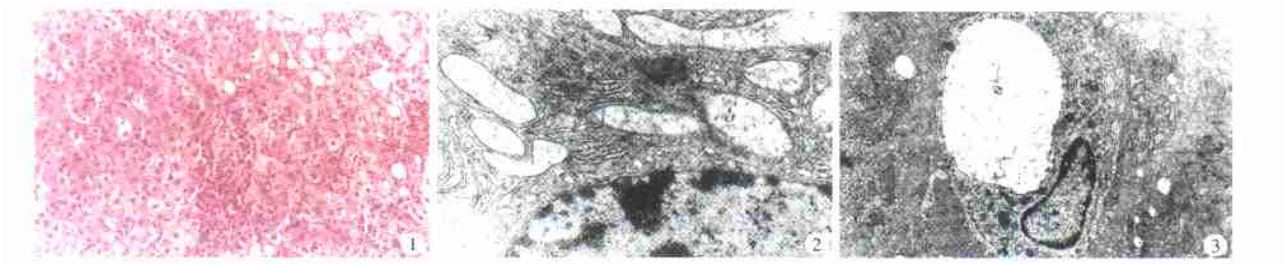


图 **2**　肝硬变大鼠肝组织, 肝细胞排列紊乱, 可见纤维分隔　　(HE× 200)
图 **3**　肝硬变大鼠肝细胞变性明显, 线粒体肿胀　　(× 15 000)
图 **4**　肝硬变大鼠 **kupffer** 细胞空泡样变性　　(×5 000)

3　讨论

复制的大鼠模型符合早期肝硬变的临床病理表现: 复制大鼠肝硬变模型的方法较多。一般有两类: 一类是给予高脂低蛋白低糖饮食造成动物营养不良而形成肝硬变。一类是应用化学毒物如 CCl_4、亚硝胺等造成肝细胞变性坏死、增生而引起肝硬变。后者应用最为广泛。

我们参照吴孟超等的方法进行, 即用 CCl_4 皮下注射加乙醇口服的方法制作大鼠肝硬变。此模型稳定, 其组织学变化大致经历几个时期, 在实验 10～20 d, 肝细胞以变性坏死为主。在实验 30～40 d, 肝细胞变性坏死较以前明显减轻, 但在汇管区之间可见线条状肝细胞变性坏死, 其内成纤维细胞明显增生。在实验 50～60 d 时, 纤维分隔明显增宽, 形成假小叶。由于我们实验的目的是在有慢性肝损害的基础上进行肝部分切除术, 所以对肝硬变程度要求相对低些, 我们采用的模型只作到实验 40 d 即可, 停止使用 CCl_4 和乙醇, 模型稳定 1 周后, 即可开始实验。

结果表明, 在模型制作过程中, 有 52 只大鼠死亡, 死亡率为 17.3%。大鼠死亡最集中的时间是实验 15～30 d, 死亡大鼠 39 只, 占死亡大鼠的 75%(39/52), 其模型制作大鼠死亡率相似于吴孟超等结果。

肝硬变模型大鼠肝细胞功能有一定损害, 主要表现在转氨酶轻度升高, 血清白蛋白合成功能下降, 但无黄疸。肝细胞线粒体功能受损, 表现在 ST3 较正常对照增高, 而呼吸控制比下降, ADP/O 变化不大, ST3 出现代偿性增高。从形态学变化来看, 肝脏肿胀、充血, 质地稍硬, 肝表面部分部位可见细小结节。在光镜下可见肝细胞结构紊乱, 细胞变性、坏死。脂肪样变性明显, 成纤维细胞增生, 从汇管区伸出、延伸, 相互交织, 有假小叶形成, 但纤维分隔不完全, 电镜下肝细胞变型明显, 有局灶坏死。细胞内线粒体肿胀、嵴减少或空泡形成, 内质网肿胀、糖原消失。这些结果均提示大鼠早期肝硬变形成。

这样制作的模型具有所需时间较短(6 周左右), 动物死亡率较低, 模型稳定, 易于复制的特点。

肝硬变大鼠肝切除模型是研究慢性肝损害肝切除术后肝再生较好的动物模型: Higgin 和 Anderson 首先制作了正常大鼠下行肝部分切除动物模型, 以后人们采用此模型对肝再生进行了广泛研究。这个肝切除模型切除大鼠肝脏左肝和中肝, 占全肝 70%, 具有以下优点: ①因为切除的是完整的肝叶, 因此结扎线处没有过多的残留组织, 创面小, 不易感染和出现胆瘘, 其炎症反应较轻。②如果肝切除量大于 90%, 则易发生肝衰, 动物死亡率明显升高, 可高达 30%～50%, 而目前死亡率小于 5%, 因此模型比较稳定。③如果肝切除量小于60%, 对肝再生诱导差, 肝再生变化不明显, 不利于肝再生研究。

过去肝再生研究大多基于正常肝脏切除 70%的体积为动物模型, 对肝硬变基础上行肝部分切除后肝再生缺乏系统研究。从我们研究结果来看, 肝硬变大鼠肝部分切除术后 1 周内 50 只大鼠死亡 12 只, 手术死亡率为 24%, 大于正常肝脏肝部分切除术 5%的手术死亡率。死亡高峰在术后 48 h 内, 48 h 以后无死亡, 其手术死亡率相当于正常肝行 80%～90%肝部分切除术后死亡率。术后肝细胞功能进一步受损, 特别是术后 24 h 内变化最为显著。在术后 24 h 点, 转氨酶已高达 1 105 IU/L, 且白蛋白合成功能进一步受损, 血清白蛋白达最低。术后 24 h 点, 是线粒体变化最为明显时期, 线粒体功能明显受损, RCR、ST3 和 ADP/O 均明显下降。说明本模型能耐

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

受肝部分切除术。术后肝细胞功能受损，代谢超载，能很好诱导肝再生，是研究慢性肝损害基础上肝部分切除术后肝细胞再生较好动物模型。

关键词：肝部分切除术；动物模型；肝再生
中图法分类号：R-332；R657.310.5 文献标识码：B

参考文献：

[1] Higgins G M, Anderson R M. Experimental pathology of the liver: 1. restoration of the liver by the white rat following partial surgical removal[J]. Arch Pathol, 1931, 12: 186—202.
[2] 吴孟超，杨广顺. 大鼠肝硬变模型复制的研究[J]. 中华实验外科杂志，1984, 1(4): 145—147.
[3] Jonson D, Lardy Y H. Isolation of liver or kidey mitochondria[J]. Methods in Enzymology, 1967, 10(2): 94.
[4] Estabrook P W. Michondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP: O ratios[J]. Methods in Enzymology, 1967, 10: 41.

（编辑 王 红）

技术方法

文章编号：1000-5404(2002)04-0490-01

下颌骨曲面全景摄影术

Panoramic photography of mandible

席道友 （第三军医大学附属新桥医院放射科，重庆 400037）

提 要：目的 应用新型口腔全景摄片技术，更加清楚地显示下颌骨整体结构、病变及损伤情况，为临床提供可靠的诊断依据。方法 采用芬兰进口 OP100 型口腔摄片机，选择半自动程序进行摄片。结果 500 例患者中，167 例下颌骨体部骨折，68 例右下颌支骨折，27 例左下颌骨支骨折，32 例右下颌角骨折，21 例左下颌角骨折，6 例下颌骨体肿瘤，56 例门齿骨折，123 例正常。结论 采用该方法，失真度小，图像清晰，患者轻重都能合作，成功率高，可及时准确满足临床诊断需要。

长期以来，X 射线检查下颌骨常规选用后前位及左右侧位，这三种体位摄影缺一不可，常常受到体位、角度及病人合作程度等多种因素影响，经常造成重复摄片，浪费胶片和器材，严重影响诊断要求。

1 材料和方法

1.1 材料

我院从芬兰进口 OP100 型口腔全景摄影机，于 2000 年 2 月应用于临床，同年 3 月至 2001 年 11 月共收集下颌骨曲面全景摄片患者共 500 例。其中，男性 411 例，女性 99 例，最大年龄 67 岁，最小年龄 3 岁。

1.2 摄影方法

先取已装好的胶片，贴好号码及左右标记，让病人正坐或者站立于摄影机的中央，双手紧握手柄，下颌紧贴摄影台，上下门牙紧咬支架槽中，然后压紧头夹，使头颅保持稳定，定位指示线的纵轴对准头颅前正中矢状面，横轴指示水平线在头颅的外耳孔下 0.5 公分处与鼻根连线平行，头夹的后缘与颞颌关节轴成一直线。

1.3 摄影条件

取半自动程序摄影，制式选择 PAN，标记指示为 M，76 kV，17.6 mAS，用柯达 7× 30 英寸配套暗盒，高速增感屏，柯达双面感光乳胶片，嘱患者保持不动，按下摄片开关，当曝光结束后，机器自动关掉曝光开关，这样一次性曝光，可以观察整体下颌骨立体图像，以及两侧下颌角和左右两侧髁状突和喙突全景影像。

2 结果

500 例下颌骨曲面全景摄影，能清晰显示下颌骨整体影像，并能清晰显示两侧下颌角内的结构情况，同时可清楚显示左右两侧髁状和喙突影像，更能清楚显示上下牙齿根部的结构情况。其中下颌骨体骨折 167 例，右下颌支骨折 68 例，左下颌支骨折 27 例，右下颌角骨折 32 例，左下颌角骨折 21 例，下颌体肿瘤 6 例，门齿骨折 56 例，可以清楚显示骨折断裂处，123 例为正常。

3 讨论

下颌骨曲面全景摄影，能在一张 15 cm×30 cm 的胶片上显示上下牙齿及颌骨的全貌影像，可显示牙齿、颌骨及颞颌关节等病变，同时对茎突综合症的诊断也能提供检查依据，这种检查的主要特点是对下颌骨能全面观察，不易漏诊，可准确及时了解病变的范围及性质，同时可了解病变及其周围组织的关系。一次性曝光能解决多个部位的检查，减少病人的痛苦，同时减少了病人及工作人员的 X 线照射量。采用这种新型下颌骨曲面全景机摄片，图像呈立体感觉，失真度小，图像细微组织清晰，摄片自动程度高，一次性摄片成功率高，能准确及时满足临床诊断需要。

关键词：下颌骨；曲面全景摄影术
中图法分类号：R814.3 文献标识码：B

参考文献：

[1] 高 健. 影像技术在鼻咽部血管纤维瘤诊治中的应用[J]. 中国医学影像技术杂志，2000, 12(91): 1 045—1 046.
[2] 霍月峰. 曲面体层摄影的临床应用[J]. 中外医用放射技术杂志，1994, 3(103): 15— 16.

（编辑 王 红）

作者简介：席道友(1954—)，男，湖北省襄樊市人，副主任技师，主要从事临床放射技术工作，发表学术论文 26 篇。电话：(023)68755438

收稿日期：2002-01-05；修回日期：2002-03-11

(C)1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net