DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.04.022
第23卷第4期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 4
416 2001年4月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Apr. 2001

论著

文章编号:1000-5404(2001)04-0416-03

去交感神经状态对肝部分切除后肝再生的影响

夏 锋,何振平,段恒春,李 昆,陈 莉,王小丽,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 建立去交感神经状态动物模型并探讨去交感神经状态下对肝切除后肝再生的影响。方法 雄性Wistar大鼠共90只,用6-OHDA制作去交感神经状态动物模型。其中30只大鼠分为实验组和对照组各15例。按Higgins和Anderson方法加以改良,作肝左叶和肝中叶切除(约占全肝的68%)。实验组加做去交感神经模型。术后第7天全部动物经抽血处死,计算相对肝重(HMI)、肝再生率的指数(RLR)和有丝分裂指数(MI)。肝脏DNA合成率用^{3}H标记胸腺嘧啶核苷(^{3}H-TdR)掺入法测得。结果 注射6-OHDA后3~14 d,NE含量明显降低。行肝切除后两组大鼠术后7 d均无死亡,实验组大鼠HMI、RLR、MI和^{3}H-TdR DNA掺入量较对照组均明显下降($P<0.01$)。结论 6-OHDA可明显起到化学性去交感神经的效果。交感神经的存在与否对肝切除后肝再生具有明显影响,去交感神经状态可抑制肝再生的进程。

关键词:6-OHDA;交感神经;肝切除;肝再生
中图法分类号:R322.85;R333.4;R657.3 文献标识码:A

Effects of sympathetic denervation on liver regeneration after partial hepatic resection

XIA Feng, HE Zhen-ping, DUAN Heng-chun, LI Kun, CHEN Li, WANG Xiao-li, DONG Jia-hong (Institute of Hepatobiliary Surgery PLA, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To establish the animal model of denervation of sympathetic nerve and to explore the effects of denervation of the sympathetic nerve on liver regeneration after partial resection. Methods The animal model of denervation of sympathetic nerve was made with 6-OHDA. A total of thirty male Wistar rats were divided equally into experimental and control group. The left and middle lobe of liver were resected with improved Higgins and Anderson's method. Meanwhile, denervation was made in the experimental group. All the rats were killed by haemospasia on the 7 th day after operation. HMI, RLR and MI were measured. The rates of DNA synthesis were detected by ^{3}H-TdR method. Results The concentration of NE decreased extremely on day 3 to day 14 after administration of 6-ONDA. No death happened in all the rats 7 days after liver resection. HMI, RLR, MI and ^{3}H-TdR incorporation significantly decreased in experimental group compared with that in control ($P<0.01$). Conclusion The chemical denervation of sympathetic nerve can be aroused by administration of 6-OHDA. Regeneration of the liver is inhibited by the denervation of sympathetic nerves.

Key words: 6-OHDA; Sympathetic nerve; liver resection; liver regeneration

肝脏具有丰富的神经支配已被实验所证实[1]。肝脏神经的调控对肝脏功能的发挥有重要的调节作用。肝脏神经具有感觉和效应(Effector)两种功能。如肝脏对渗透压的感觉调控作用和调控糖原的分解等[2,3]。肝切除后肝再生是肝外科的常见现象,亦是肝脏的重要功能之一。肝脏神经调控对肝再生的发生和发展的影响作用如何目前仍知之甚少,本研究建立了大鼠去交感神经状态模型并探讨在去交感神经状态下肝切除后肝再生的功能变化,为临床肝外科提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 去交感神经状态动物模型的建立

Wistar大鼠60只,雌雄各半,体重(201±9.3)g,由我校实验动物中心提供。6-OHDA(6-hydroxydopamine)(Sigma产品)临用时用灭菌生理盐水配制成100 mg/L的溶液。Wistar大鼠行乙醚吸入麻醉,固定于大鼠手术板上,局部消毒,于腹部正中纵行切开一长1 cm切口,用镊子轻轻夹出小肠,理出空肠段系膜,找到肠系膜血管,用4号半头皮针刺入肠系膜静脉中,并同时注入2 ml 6-OHDA(含200 μg),用棉签压迫针眼约3~5 min后,血止,还纳肠道,缝合腹壁,常规饲养。观察指标:①一般状况:观察毛色变化、活动及饮食情况。定期测体重;②分别于术后3、7、14 d测肝组织匀浆中去甲肾上腺素(Noradrenaline, NE)含量;③去甲肾上腺素的测定,放血处死大鼠,取两叶肝组织,立即制成匀浆,离心取上清1 ml,加抗氧化剂在-20 ℃冰柜中存放1周,用高效液相色谱-电化学检测方法测定去甲肾上腺素的浓度。

1.2 去交感神经状态对肝再生的影响

雄性Wistar大鼠共30只,体重180~220 g,分为实验组和对照组,各15例。乙醚麻醉,正中切口进腹,行肝大部分切除。按Higgins和Anderson方法加以改良,作肝左叶和肝中叶切除(约占全肝的68%)。实验组加做去交感神经模型。手术方法同上。大鼠术前禁食12 h。术前和术后经皮下各注射5%葡萄糖盐水5 ml。术后饲以10%葡萄糖液1 d后自由进食。术后第7天全部动物经抽血处死,称肝湿重和体重,计算相对肝重(Hepatic mass index, HMI)(肝重占体重比率),计算肝再生率的

作者简介:夏 锋(1968-),男,安徽省马鞍山市人,博士,主治医师,讲师,主要从事肝脏功能的调控及评估方面的研究,发表论文8篇。电话:(023)68754168

收稿日期:2000-07-18;修回日期:2001-03-05

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

指数(Rate of liver regeneration, RLR)。

$$\text{估计肝重(g)} = \frac{\text{肝重}}{\text{体重}} \times \text{实验鼠术前体重}$$

取小块肝右叶组织行组织学检查, 油镜下计算 50 个视野中处于有丝分裂前中期的肝细胞所占的比率作为有丝分裂指数(Mitotic index, MI)。肝脏 DNA 合成率用^{3}H 标记胸腺嘧啶核苷(^{3}H-TdR)掺入法测得, 处死前 2 h 从尾静脉注射^{3}H-TdR 74 KBq/ kg 体重, 处死后于固定部位取肝组织, 称量, 经消化脱色后加入闪烁液, 避光放置 24 h 后用 FJ2105 自动液体闪烁计数器测定, 表示为 100 mg 肝组织每分钟的衰变量。

1.3　统计学处理

所有资料的统计学处理均采用 SPSS 统计软件和 Microsoft excel 软件处理, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2　结果

2.1　去交感神经状态动物的一般状况

肠系膜静脉注射 6-OHDA 术后大鼠毛色灰暗、杂乱, 饮食下降, 神情倦怠。分别于术后 1、6、12 d 各死亡 1 只。体重变化呈持续下降, 与对照组比较差异显著, 见表 1。

表 1　术后不同时期大鼠体重($\bar{x} \pm s$)

Tab 1　Changes of body weight in rats($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Body weight(g)
Control	10	201.37±8.63
3 d	15	189.23±9.61 *
7 d	15	185.23±17.37 *
14 d	17	152.76±29.70 *

*: $P < 0.05$ *vs* control

2.2　去交感神经状态动物肝组织 NE 含量测定

肠系膜静脉注射 6-OHDA 术后 3、7 和 14 d 分别留取肝组织标本测定 NE 含量, 注射后 1 h 即可见 NE 下降了 80.9%, 3 d 时已只有正常的 5.3%, 此后继续下降, 到术后 14 d 时开始有上升, 术后 21 d 时已达正常的 16.5%, 见图 1。

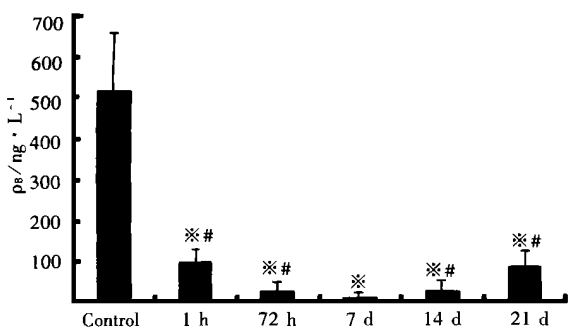


图 1　术后不同时期大鼠肝组织 NE 含量

Fig 1　Changes of NE content in the liver after operation

※: $P < 0.01$ *vs* control; #: $P < 0.01$ *vs* 7 d

2.3　去交感神经状态对肝再生的影响

两组大鼠术后 7 d 均无死亡, 实验组大鼠 HMI 和^{3}H-TdR DNA 掺入量较对照组均明显下降($P < 0.01$)。两组 RLR 和 MI 的差别亦非常明显, 实验组 MI 值只有对照组的一半左右, 这表明交感神经的存在与否对肝切除后肝再生具有明显影响, 去交感神经状态可抑制肝再生的进程, 见表 2。

表 2　大鼠 HMI、RLR、MI 和^{3}H-TdR DNA 掺入量的比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 2　Comparison of HMI, RlR, MI and ^{3}H-TdR incorporation in rats($\bar{x} \pm s$)

Group	HMI(g/100 g)	RLR(%)	MI(%)	^{3}H-TdR incorporation
Control	3.61±0.43	61.32±13.72	0.44±0.13	1 619.87±326.54
Expirmental	2.40±0.31 *	41.43±11.62 *	0.28±0.06 *	1 102.76±113.25 *

*: $P < 0.01$ *vs* control

3　讨论

交感神经可选择性地摄取 6-OHDA, 6-OHDA 可使交感神经支配的组织儿茶酚胺储存持久地耗竭。研究表明 6-OHDA 可引起交感神经节及节后交感神经元的严重变性甚至完全消失。所以应用 6-OHDA 可引起所谓"化学性交感神经切除"[4,5]。Haeusler 等[5] 报告应用 6-OHDA 后 1 h 内交感神经末梢便丧失了其发挥作用的能力。本实验应用 6-OHDA 从肠系膜静脉注入后很快即进入门静脉系统而至肝脏, 从而破坏肝脏内交感神经节后纤维, 达到化学性切除肝脏交感神经的目的[6]。实验表明去交感神经的效果非常明显。同时伴有体重的下降, 这表明 6-OHDA 作用后可能引起了肝功能的变化, 从而影响了大鼠的生理功能。本实验表明作用后 3 ~14 d 其去交感神经状态处于最佳时段, 可在此段进行相应的各项实验。近来有报道从腹腔内注射、体静脉注射或皮下注射 6-OHDA[6], 这种作用过于广泛, 影响范围太广。虽对肝脏神经可产生作用, 但这只是在全身作用下的一种改变, 尚不适合针对肝脏的实验。另外也有用狗的脾静脉作为注药途径的报道。该模型的优点在于操作较简便, 且效果明确, 不失为一种研究肝脏去交感神经状态的理想的动物模型。

神经调节对肝再生的影响目前报道较少[7]。Houck 的实验认为在肝再生的过程中去甲肾上腺素可能参与了早期 DNA 合成的起动以及随后当 TGFβ 的表达增强时, 去甲肾上腺素又可抑制肝细胞对 TGFβ 的反应性, 使 TGFβ 的抑制增生的效应减弱。去甲肾上腺素可促进 EGF 的促 DNA 合成作用, 启动肝细胞从 G_0 期进入 G_1 期[8]。其机制可能是部分肝切除后残余肝脏中的单胺氧化酶的含量减少, 而此酶能分解血液中的儿茶酚胺, 故血液中的儿茶酚胺会迅速增加并刺激 α_1 受体, 加强促肝细胞分裂原的作用, 降低抑制因子的作用。NE 可以引起 c-fos、c-myc 等原癌基因的表达, 可以推测此表达在启动肝再生中有重要作用[9]。本实验结果表明在去交感神经状态下 HMI、RLR、MI 和^{3}H-TdR DNA 的掺入率均明显较对照组下降亦支持上述观点。肝脏的再生可能是交感和副交感神经的一种协同作用, 涉及到神经和体液多种因素, 如在切除部分肝组织后, 肝迷走神经放电明显增强。所以交感和副交感神经是相辅相成的, 在早期或全过程中两种神

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

经调控作用的重要性的大小尚难定论。但在这一有机组成中去除其中一种都将不利于肝脏的再生,均会对肝再生造成不良的影响[10]。

参考文献:

[1] Mann R, Bhathal P S, Bell C. Sympathetic innervation of the liver in man and dog: an immunohistochemical study[J]. Clin Auton Res, 1991, 1(2): 141—145.

[2] Morita H, Nishida Y, Hosomi H. Neural control of urinary sodium excretion during hypertonic NaCl load in conscious rabbits: role of renal and hepatic nerves and baroreceptors[J]. J Auton Nerv Syst, 1991, 34(2): 157—169.

[3] Morita H, Ohyama H, Hagiike M, *et al*. Effects of portal infusion of hypertonic solution on jejunal electrolyte transport in anaesthetized dogs[J]. Am J Physiol, 1990, 259(12): R1 289—1 294.

[4] Huang Q H, Takaki A, Arimura A. Central noradrenergic system modulates plasma interleukin-6 production by peripheral interleukin-1[J]. Am J Physiol, 1997, 273(2 Pt2): R731—738.

[5] Haeusler G. Early pre-postjunctional effects of 6-hydroxydopamine[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1971, 178(1): 49—62.

[6] Allman F D, Rogers E L, Caniano D A, *et al*. Selective chemical hepatic sympathectomy[J]. Crit Care Med, 1982, 10(2): 100—103.

[7] Tanaka K, Ohkawa S, Nishino T, *et al*. Role of the hepatic branch of the vagus nerve in liver regeneration in rats[J]. Am J Physiol, 1987, 252(3): G439—444.

[8] Henriksen J H, Moller S, Ring-Larsen H, *et al*. The sympathetic nervous system in liver disease[J]. J Hepatol, 1998, 29(2): 328—341.

[9] Taub R. Liver regeneration: transcriptional control of liver regeneration[J]. FASEB J, 1996, 10(4): 413—427.

[10] Tiniakos D G, Lee J A, Burt A D, *et al*. Innervation of the liver: morphology and function[J]. Liver, 1996, 16(2): 151—160.

(编辑 王 红)

经验与短篇

文章编号: 1000-5404(2001)04-0418-01

46例新生儿缺氧缺血性脑病临床与CT相关性分析

Analysis on the correlation between CT and clinical manifestation in 46 cases of neonatal hypoxic ischemic encephalopathy

张姝娟[1], 史 源[2] ([1]解放军253医院, 呼和浩特 010051; [2]第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所儿科, 重庆 400038)

新生儿缺氧缺血性脑病(Hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE)是新生儿常见疾病和主要死亡原因之一,也是引起婴幼儿神经系统后遗症的重要原因。为进一步加深认识,现将我们对46例HIE的临床及CT观察资料报告如下。

1 对象与方法

选择1996年11月至1999年4月收治的HIE患儿46例,男30例,女16例,男女之比为1.87∶1。早产儿18例,低体重儿11例,巨大儿1例。年龄为生后20 min至3 d。胎龄30~33周7例,34~37周11例,38~42周28例。Apgar评分:出生1 min≤3分16例,4~7分24例,8~10分6例;出生5 min≤3分7例,4~7分21例,8~10分18例。

诊断标准:HIE的临床诊断及分度,根据1989年全国新生儿座谈会纪要所订的标准分为轻度、中度、重度。CT分度根据白质密度范围,将CT改变分为轻度、中度、重度[11]。全部病例在生后3~5 d检查,使用德国Plus CT扫描机,130 kV、70 mA,层距10 mm,层厚10 mm,扫描时间1.0 s,全部平扫。扫描前30 min静注鲁米那钠促其安睡。检查时婴儿安静仰卧,未使用血管造影剂。

2 结果

头颅CT所见,额叶、枕叶低密度影均已排除新生儿正常发育现象及髓鞘发育障碍等发育异常,检查结果见表1。

表1 46例HIE的CT改变

临床分度	例数	低密度改变			颅内出血			
		轻	中	重	SAH	SDH	IVH	IPH
轻度	11	6	5					
中度	20	4	12	4	2	1	2	1
重度	15	2	3	10	7	1	3	2
合计	46	12	20	14	9	2	5	3

SAH:珠网膜腔出血;SDH:硬膜下出血;IVH:脑室出血;IPH:脑实质出血

3 讨论

3.1 CT对HIE诊断的价值

HIE的CT改变主要为脑室周围脑白质呈弥漫或两侧不对称性的低密度改变,伴灰白质界限模糊或消失,或灰白质密度反转,侧脑室变窄。据此利用CT诊断HIE时,反映低密度的定量指标CT值十分重要。正常脑白质CT值为25~40 Hu,≤18 Hu为低密度[11]。采用此标准,本组46例患儿经CT检查均显示不同程度的低密度改变,诊断阳性率达100%,表明CT为诊断HIE的一种可靠的方法。

3.2 CT对颅内出血诊断的价值

中重度HIE常合并颅内出血(ICH),在CT中表现为密度增高(CT值>40 Hu)。本组资料19例颅内出血中13例为重度、6例为中度HIE。出血部位以蛛网膜下腔(SAH)占首位,其中以纵裂池、天幕多见,其次为脑室出血(IVH)及脑实质出血(IPH)。Ⅰ级11例,Ⅱ级3例,Ⅲ级2例,Ⅳ级3例。SAH 9例中6例、

(下转421页)

作者简介:张姝娟(1963—),女,辽宁省锦州市人,主治医师,主要从事儿内科方面的研究,发表论文6篇。电话:(023)68812908

收稿日期:2000-07-21;修回日期:2000-12-25

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