DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.08.043

文章编号:1000-5404(2001)08-0965-03

论著

猪单纯门静脉血流阻断安全时限的研究

赵建勇,董家鸿,詹国清,王槐志,杨占宇 (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 通过对猪单纯门静脉血流阻断,全面评估猪耐受门静脉血流阻断的安全时限。**方法** 将18只健康荣昌种猪随机分为假手术组(SO)、单纯门静脉阻断45 min(PVC-45')、60 min(PVC-60')组,通过对门静脉血流阻断,了解其存活情况、血流动力学改变、肝脏及肠道病理改变等。**结果** ① SO、PVC-45'、PVC-60'组长期存活率分别为100%、100%、66.7%;②PVC组阻断前后血流动力学参数波动较大;③PVC-45'、60'组均有肝脏缺血再灌注损伤,但PVC-60'组病理损害比45'组重;④PVC组肠粘膜的病理损伤是随门静脉阻断时间延长而加重;⑤PVC组肠粘膜通透性明显升高,肠系膜淋巴结肠道菌属培养阳性率及门静脉血内毒素随阻断时间延长而上升。**结论** 在本实验条件下正常猪耐受单纯门静脉阻断的安全时限为45 min。

关键词: 门静脉;猪;安全时限
中图法分类号: R333.4;R619.1;R657.3 **文献标识码:** A

Study on the tolerance of portal vein occlusion in pigs

ZHAO Jian-yong, DONG Jia-hong, ZHAN Guo-qing, WANG Huai-zhi, YANG Zhan-yu (Institute of Hepatobiliary Surgery of PLA, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To evaluate the tolerance of portal vein occlusion in pigs. **Methods** A total of 18 Rongchang pigs were divided into three groups randomly: ①Sham operating group (SO), ②45 min portal vein clamping group PVC-45'), ③ 60 min portal vein clamping group (PVC-60'). The survival rate, hemodynamic changes, pathological changes of liver and intestine, and biochemical changes were analysized. **Results** ①Survival rate of groups SO, PVC-45', PVC-60' was 100%, 100% and 66.7% respectively. ②The hemodynamics of PVC groups after PV clamping were quite different from that of PV unclamped. ③The pathological changes of liver in PVC-60' group is greater than that in PVC-45' group. ④ Pathological impairment of intestinal mucosa membrane was exacerbated progressively with the prolonged duration of portal vein clamping. ⑤The permeability of intestinal mucosa membrane and positive rate of mesenteric lymph node bacterial cultures rose significantly in PVC pigs when duration of portal vein clamping prolonged. **Conclusion** The safety time limit of portal vein clamping in pigs is 45 minntes under the condition of this study.

Key words: portal vein; pig; safety time limit

本研究在保持肝动脉对肝脏供血的情况下,通过猪单纯门静脉血流阻断,从其生存情况、血流动力学改变、肝肠组织病理等方面的影响,全面评估猪耐受单纯门静脉血流阻断的安全时限,为临床提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康荣昌种猪18头,体重30~40 kg,雌雄不拘,由重庆市种猪场提供。

1.2 主要实验仪器及试剂

PTM-7型测压仪(西安永红机器厂,中国);Beckman CX7全自动生化分析仪(Beckman clinical system,美国);Waters-810高效液相色谱仪(Waters Company,美国);乳果糖、甘露醇(辽宁丹东市康复制药厂,标准品为Sigma公司产品),内毒素鲎试剂盒(厦门鲎试剂厂,批号990630,中国)。

1.3 实验动物分组及实验方法

1.3.1 动物分组 将18头猪随机分为3组:假手术组(SO)、单纯门静脉阻断45 min(PVC-45')、60 min(PVC-60')组,每组动物均为6头。

1.3.2 实验方法 ①动物术前禁食24 h,不禁饮,动物臀部肌肉注射氯胺酮(10 mg/kg体重)、阿托品1 mg诱导麻醉,耳缘静脉穿刺,1%戊巴比妥钠(0.5 ml/kg体重)缓慢推注全麻,气管插管接呼吸机。②颈外静脉插入可保留的深静脉插管12~15 cm深,试抽回血后外接三通固定,颈动脉插动脉测压管,接测压仪。③腹部正中切口逐层入腹,从门静脉一属支置入门静脉测压管到门静脉。④行胃及耻骨上膀胱造瘘。⑤分离肝十二指肠韧带,游离门静脉,在阻断前取材及各指标的观测后,用心耳钳阻断门静脉。⑥到设计的阻断时间(即复流前),重复取材及指标的观测,松开心耳钳,恢复门静脉血流。⑦复流后1 h重复前述的观测。⑧拔除门静脉测压管,缝合腹部切口;将尿液排净后,用10%乳果糖与5%甘露醇混合液100 ml,从胃造瘘管注入到胃肠,收集6 h尿液作肠粘膜通透性检测。⑨假手术组除不阻断门静脉外,其余步骤均同上,观测指标相同,时相点为进腹后、关腹前(间隔2 h)两点。

1.4 观察指标及检测方法

1.4.1 动物的存活率,以15 d为限,如≥15 d视为长期存活。

1.4.2 肝、小肠的组织病理学观察。

1.4.3 术中血流动力学指标的监测 监测术中的平均动脉压(Mean arterial pressure, MAP)、中心静脉压(Central venous pressure, CVP)及门静脉压(Portal venous pressure, PVP)变化。

1.4.4 门静脉血内毒素检测 用无菌、无致热源的注射器取门静脉血2 ml,置于无菌、无致热源装有0.2 ml肝素盐水

作者简介:赵建勇(1966-),男,贵州省贵阳市人,硕士,主治医师,主要从事缺血再灌注肝、肠损伤方面的研究,发表论文11篇,现在贵阳市第一人民医院肝胆外科工作。电话:(0851)5812792

收稿日期:2001-05-08;修回日期:2001-06-15

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

(125 U/ml)的EP管内,500×g低速离心10 min,分离出上清置于同样EP管内,-20 ℃冰箱保存,集中按所购鲎试剂盒说明书行内毒素检测。

1.4.5 细菌 无菌操作下取小肠系膜淋巴结,培养后菌落计数和细菌类别鉴定。

1.4.6 血清肝细胞酶活性测定 在阻断前,复流前,复流后1 h,术后1、2、3、7 d测定谷草转氨酶(AST)活性。

1.4.7 肠粘膜通透性检测 将收集6 h的尿液,计量,混匀后取5 ml尿液,5 000×g离心10 min,取上清液用"煮沸醋酸法"去除蛋白质。参照MiKi[7]的方法适当修改,采用美国Waster'S公司高效液相色谱仪测定尿中乳果糖(Lactulose,L)与甘露醇(Mannitol,M)含量。

1.5 统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验。

2 结果

2.1 动物的存活率

SO、PVC-45'组术中无死亡,术后长期存活,长期存活率100%;PVC-60'组术中死亡2头,余4头术后长期存活,长期存活率66.7%。

2.2 光镜观察

2.2.1 肝脏组织病理特点 门静脉血流阻断后,PVC-45'、60'组肝索结构正常,出现以中央静脉为中心的肝细胞胞浆疏松、空泡化。复流后1 h后两组出现局灶性坏死,肝窦内红细胞、中性粒细胞聚集,PVC-60'组略重。处死时各组病理变化已恢复正常。

2.2.2 小肠组织病理特点 门静脉血流阻断后,PVC-45'、60'组肠绒毛结构基本正常,可见绒毛顶端肠上皮细胞坏死脱落,固有层间质水肿,毛细血管充血,中性粒细胞浸润,60'组以上改变重于45'。复流后1 h PVC-45'组肠绒毛顶端上皮细胞片状坏死脱落,PVC-60'组绒毛顶端上皮广泛剥脱。处死时各组已恢复正常结构。

2.3 血流动力学参数

PVC-45'、60'组阻断后MAP、CVP明显下降,PVP即刻上升,与阻断前比较差异均有显著性($P<0.05$);复流后恢复接近阻断前水平。两组间同时点相比,差异无显著性($P>0.05$),见表1。

表1 术中血流动力学变化(p/kPa)

Tab 1 Changes of hemodynamics during operation(p/kPa)

Group	Before-PVC			Before-restore			After-restore		
	MAP	CVP	PVP	MAP	CVP	PVP	MAP	CVP	PVP
SO	14.00±0.4	1.38±0.2	2.03±0.2						
PVC-45'	14.89±1.2	1.42±0.1	2.12±0.2	8.66±1.8*	0.61±0.1*	4.52±0.2*	13.43±1.0	1.29±0.1	1.91±0.4
PVC-60'	15.13±2.8	1.61±0.2	2.23±0.2	9.81±2.8*	0.75±0.1*	4.55±0.5*	13.97±2.3	1.50±0.2	2.17±0.3

*: $P<0.05$ *vs* Before-PVC

2.4 门静脉血内毒素(LPS)变化

PVC-45'、60'组阻断后LPS比阻断前明显升高($P<0.05$),两组同时相点比,其阻断后,复流后1 h PVC-60'组均高于45'组($P<0.05$),见表2。

表2 门静脉血内毒素含量(EU/ml)

Tab 2 Changes of lipopolysaccharide level in portal vein (EU/ml)

Group	Before-PVC	Before-restore	1 h after-restore
SO	0.34±0.01		
PVC-45'	0.33±0.01	0.97±0.22*	0.72±0.13*
PVC-60'	0.43±0.09	1.28±0.08*#	1.27±0.16*#

*: $P<0.05$ *vs* Before-PVC; #: $P<0.05$ *vs* PVC-45'

2.5 肠系膜淋巴结细菌培养结果

SO组细菌(指肠道菌属)培养阴性,PVC-45'、60'组分别有2例,4例为阳性,阳性率分别为33.3%,66.7%,随阻断时间延长而逐渐升高。

2.6 血清谷草转氨酶(AST)变化

AST在PVC-45'、60'组呈阻断后上升至复流后达峰值到术后7 d降至阻断前水平的变化趋势,见表3。

2.7 尿乳果糖(L)、甘露醇(M)排出率比值(L/M)

PVC-45'、60'组L/M均明显高于SO组($P<0.05$),见表4。

表3 血清AST值变化(IU/L)

Tab 3 Changes of serum AST (IU/L)

Group	Before-PVC	Before-restore	1 h after restore	Time after operation			
				1 d	2 d	3 d	7 d
PVC-45'	35±6	151±43.5*	274±118.5*	101.5±4.8*	55.5±1.5*	37.75±1.8	30.75±0.9
PVC-60'	35.17±6.2	145.33±36.6*	244±101.3*	413.33±7.7*#	204.17±2.9*#	78.17±3.9*#	31±6.3

*: $P<0.05$ *vs* Before-PVC; #: $P<0.05$ *vs* PVC-45'

表4 尿液中乳果糖、甘露醇排出率比值(L/M)

Tab 4 Results of L/M ratio in urine

	SO	PVC-45'	PVC-60'
L/M	0.089±0.01	0.654±0.17*	0.873±0.27*

*: $P<0.05$ *vs* SO

3 讨论

3.1 单纯门静脉血流阻断与肝脏的缺血再灌注损伤

门脉系统是肝脏的主要循环系统和功能血管床,占肝脏供血量的70%~80%,供氧的50%,同时含有特殊营养作用的肝细胞营养因子。本研究显示,从组织病理学看,阻断后两组的病理改变较轻,但复流后含大量的内毒素的PV血进入缺血后的肝脏,进一步加重肝脏的再灌注损伤[2],AST在复流后明显升高到达峰值,以后逐渐下降,至术后7 d恢复正常。这说明,单纯门静脉阻断,对肝脏的病理和功能均有损伤,在全肝血流阻断对肝脏缺血再灌注损伤中,门静脉血流是最为重要的因素。

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

3.2　门脉系统淤血对肠屏障功能的影响

肠屏障功能(Barrier function)，是指肠道阻止肠道内细菌及其分解产物经肠壁逸至机体内的功能；而门静脉阻断造成的门脉系统淤血除导致全身血流动力学及生理机能紊乱[3]外，还可引起肠粘膜缺血、缺氧而受损，导致肠屏障功能障碍，促使肠源性内毒素产生和移位[4]，从而造成内毒素血症[5]；淤滞的门静脉再循环还可进一步加重肝脏的损伤。本研究中，是以乳果糖(L)、甘露醇(M)为探针来测定其尿中排出率比值(L/M)间接但准确地反映肠粘膜通透性的改变[6,7]。乳果糖主要通过肠粘膜细胞间的紧密连接透过肠粘膜，这也是细菌及毒素通过肠粘膜的途径；甘露醇主要通过肠粘膜细胞膜上的水溶性微孔透过肠粘膜。在肠粘膜受损时，主要是上皮细胞间的结构发生改变而使通透性增高，乳果糖吸收就增多，而甘露醇吸收量变化不大，因此 L/M 值增大。肠粘膜通透性升高被认为是肠屏障功能受损的早期表现和重要指标[8]，是间接诊断细菌、毒素移位的重要手段。本研究显示，PVC-45'、60'组 L/M 值均明显高于 SO 组，说明阻断后，肠粘膜缺血/缺氧，肠屏障功能障碍，通透性增高；从门静脉血中内毒素的测定及肠系膜淋巴结细菌培养也直接证实了有细菌和内毒素的移位，两种结果是一致的。

3.3　单纯门静脉血流阻断的安全时限

Tashiro 等[9]临床病例报道肠瘀血时间超过 45 min，即使门静脉再通也会发生广泛肠粘膜坏死，认为其阻断时限为 30 min；Nakao 等[10]也通过临床病例观察认为门静脉阻断时间不宜超过 20 min。

本研究显示，假手术组和门静脉阻断 45 min 组动物均长期存活，而 60 min 组存活率为 66.7%。据此，可以初步认为猪耐受单纯门静脉血流阻断的安全时限为 45 min。虽说 PVC-45'、60'两组的血流动力学、血气等指标无明显差异，这除与样本量有关外，还与术中麻醉、输液等多种因素有关；但从组织病理学改变看，肠粘膜的损害在 PVC-60'组明显重于，细菌培养、内毒素及肠粘膜通透性检测指标 L/M 也高于 45 min 组。这些结果也支持单纯门静脉血流阻断安全时限为 45 min 这一结论。但应该指出，本研究所提出的安全时限是基于本动物实验条件下取得的，所以仅为临床提供一些借鉴和参考。

参考文献：

[1] Miki K, Butler R, Moore D, *et al*. Rapid and simultaneous quantification of rhamnose, mannitol and lactulose in urine by HPLC for estimating intestinal permeability in pediatric practice[J]. Clin Chem, 1996, 42(1): 71 - 75.

[2] Wang X D, Andersson R, Ding J W, *et al*. Reticuloendothelial system function follwing acute liver failure induced by 90% hepatectomy in the rat [J]. HPB Surg, 1993, 6(3): 151 - 162.

[3] Delva E, Barberousse J P, Nordlinger B, *et al*. Hemodynamic and biochemical monitoring during major liver resecton with use of hepatic vascular exclusion[J]. Surgery, 1984, 95(3): 309 - 318.

[4] Ferri M, Gabriel S, Gavelli A, *et al*. Bacterial translocation during portal clamping for liver resection: a clinical study[J]. Arch Surg, 1997, 132(2): 162 - 165.

[5] Shibayama Y. The relation of endotoxaemia to the cause of death and fetal hepatic damage following obstruction of the portal vein[J]. J Pathol, 1990, 160(4): 355 - 360.

[6] Dumas F, Aussel C, Pernet P, *et al*. Gas chromatography applied to the lactulose-mannitol intestinal permeability test[J]. J Chromatogr B, 1994, 654(2): 276 - 281.

[7] Shippee R L, Johnson A A, Ciofi W G, *et al*. Simultaneous determination of lactulose and mannitol in urine of burn patients by gas-liquid chromatography[J]. Clin Chem, 1992, 38(3): 343 - 345.

[8] Travis S, Menzies I. Intestinal permeability: functional assessment and significance[J]. Clin Sci, 1992, 82(5): 471 - 488.

[9] Tashiro S, Uchino R, Hiraoka T, *et al*. Surgical indication and significance of portal vein resection in biliary and pancreatic cancer[J]. Surgery, 1991, 109(4): 481 - 487.

[10] Nakao A, Harada A, Nonami T, *et al*. Regional vascular resection using catheter bypass procedure for pancreatic cancer [J]. Hepatogastroenterology, 1995, 42(7): 734 - 739.

（编辑　潘式文）

消息

欢迎订阅《中国药理学通报》

《中国药理学通报》是国家级核心期刊和权威的文献源期刊，主要刊登药理学研究论文，多次荣获国家及华东地区优秀科技期刊奖，被国家权威机构认定为医学类、药学类核心期刊，并被几乎所有国内检索期刊及数十种国外著名检索期刊收录、利用。1997 年曾名列美国《CA》收录的中国医药期刊第 1 名。

《中国药理学通报》为双月刊，大 16 开 120 页，印刷质量高，每期定价 12.00 元，全年 72.00 元。邮发代号：26 - 52，请及时向当地邮局订阅，漏订读者请直接汇款至我刊编辑部，免收邮寄费。

地址：安徽省合肥市安徽医科大学校内《中国药理学通报》编辑部　**邮编**：230032　**联系人**：武明静

电话：0551-3667273　**电子信箱**：huanghs@mail.hf.ah.cn

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