DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.08.019
第22卷第8期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 8
2000年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2000

文章编号:1000-5404(2000)08-0757-03

论著

入肝血流阻断对正常大鼠部分肝切除术后肝再生的影响

何学军,别 平,段恒春,王晓莉,李 昆 (第三军医大学附属西南医院肝胆外科中心、西南肝胆外科医院,重庆 400038)

提 要:目的 探讨入肝血流阻断对部分肝切除术后正常大鼠肝再生的影响。方法 健康雄性Wistar大鼠随机分为3组:PTC组,肝门阻断15 min切肝组;PH组,部分肝切除组;SO组,假手术组。测定术后肝脏重量的变化;用免疫组化法检测术后24、48、72 h和7 d各时相点PCNA标记指数;观察各组术后血清前白蛋白(PA)的变化。结果 PTC组较PH组术后肝再生率下降;PCNA标记指数降低,高峰延迟;PA水平恢复缓慢;术后动物死亡率增加。结论 阻断大鼠第一肝门15 min可致肝细胞功能受损,肝再生延迟。

关键词:第一肝门阻断;肝叶切除术;肝再生
中图法分类号:R333.4;R657.3 文献标识码:A

Effects of occlusion of blood flow into liver on liver regeneration after partial hepatectomy in rats

HE Xue-jun, BIE Ping, DUAN Heng-chun, WANG Xiao-li, LI Kun (Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital. Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the effects of occlusion of the portal vein and hepatic artery on the liver regeneration after partial hepatectomy in rats. Methods Male Wistar rats were randomized into 3 groups; group PTC, in which the rats received occlusion of the portal vein and hepatic artery at hepatic hilum for 15 minutes and partial hepatectomy was performed, group PH, in which the rats were operated on for partial hepatectomy and group SO in which the rats received a pseudo-operation. The labeling index of proliferating cell nuclear antigen(PCNA)was measured on the 1st, 2nd, 3rd and 7th day after operation. The liver weight was recorded at different time-points postopertively to assess the rate of liver regeneration. The serum level of prealbumin was determined. Results In the group PTC, the rate of liver regeneration was slower than that of group PH, the index of PCNA was decreased with a delayed peak and the serum level of prealbumin was slowly recovered. In addition, the highest mortality rate occurred in group PTC. Conclusion 15 minutes of the occlusion of the portal vein and hepatic artery before partial hepatectomy damages liver functions and delays liver regeneration in rats.

Key words: occlussion; partial hepatectomy; liver regeneration

Pringle手法,是一种简单、有效、最为常用的控制肝脏外科术中出血的方法[1]。普遍认为较为安全的阻断时间为15~20 min[2]。对于肝硬化患者,应用受到限制。肝外科术后是否发生肝衰取决于术前肝功能贮备、术中失血情况、术后残肝再生以及是否有合并症的存在。在其它方面相似的情况下,残肝的再生情况对术后病人顺利恢复起着至关重要的作用[2]。目前关于这项技术对肝再生功能的影响,文献报道较少。本研究就Pringle手法对肝再生的影响进行了动物实验研究。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及模型制作

健康雄性Wistar大鼠100只,体重(180±20) g(购自本校实验动物中心)。随机分为肝门阻断切肝组(PTC),肝叶切除组

作者简介:何学军(1969—),男,宁夏永宁县人,硕士,主治医师,主要从事不同方式入肝血流阻断对肝再生的影响方面的研究。电话:(023)68754000—73110

收稿日期:2000-01-17;修回日期:2000-04-28

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

(PH)和假手术组(SO)。每组取大鼠32只。PTC组动物模型建立:麻醉成功后,正中切口入腹,解剖肝门,以小动脉夹行入肝血流阻断15 min,依据Higgins方法,切除左叶及中叶(约占全肝的70%)。PH组不行肝门阻断仅切除左叶及中叶。SO组只轻微处理肝门即关腹。动物术后均腹腔注射5%GNS 5 ml。术后动物自由进食水。观察术后24、48、72 h及7 d 4个时相点。每个时相点8只大鼠,保证至少5只大鼠预定时相点存活。预定时相点处死大鼠,切除全部肝脏,冲洗后称重,并于右叶取部分肝组织以10%甲醛固定,制作石蜡切片供病理观察及免疫组化用。处死大鼠前经下腔静脉抽血3 ml,留取血清,-20°C低温保存备用。

1.2 肝脏再生指标

1.2.1 增殖细胞核抗原(Proliferating cell nuclear antigen, PCNA)标记指数 石蜡切片按S-P试剂盒(购自福州迈新公司)说明书以PCNA单抗(DAKO公司)进行免疫组化染色,以联苯二氧胺(DAB)显色,甲基绿复染。胞核显示红棕色为PCNA阳性。PCNA标记指数以随机选择高倍视野中至少1 000个细胞,计数的PCNA阳性核的百分数来表示[3](阳性核数目/计数的肝细胞总数×100%)。

1.2.2 术后残肝再生率 额外取10只大鼠,切除全肝称量。全肝重量为(9.85±1.20)g。得出预切除的左叶和中叶占(71.2±1.5)%(n=10)。残肝再生后不同时相点再生率为残肝重量占估计肝重的百分率。

1.2.3 前白蛋白(PA)的测定 采用免疫浊度法在全自动生化分析仪(Pamacia公司)上测量。PA药盒购于福建太阳生物技术公司。PA含量(mg/L)=测定管浊度值/参比管浊度值×参比品的浓度(mg/L)。

1.2.4 统计学分析 资料表达采用$\bar{x}\pm s$,用Microsoft excel软件在微机上进行方差分析、t检验。

2 结果

2.1 PH术后残肝再生率的变化

正常大鼠PH术后残肝重量迅速增加,术后48 h约为术前肝重的50%。以后增加缓慢,7 d时达到80%。而PTC组术后48 h肝重量变化不大,仅为术前肝重的35%。第3天后才开始明显增加,至术后7 d达到术前肝重的70%。两组间第2、3天两时相点差异显著($P<0.05$)。

2.2 PCNA标记指数的变化

PH组术后24 h即明显增加,术后48 h达到高峰,标记指数近60%。此后逐渐下降,至第7天恢复至术前水平。PTC组术后PCNA标记指数增加缓慢,第3天时方达到最高峰,约为45%,仍低于PH术后的最高水平。术后7 d仍在8%左右。PTC组与PH组术后24、48 h两时相点PCNA标记指数差异显著($P<0.05$)。正常对照组即假手术组PCNA标记指数约为2%,术后7 d均无变化。

2.3 前白蛋白(PA)的变化

PTC及PH组术后血清PA水平迅速下降,至第3天约降至术前的一半。此后开始增加,至第7天接近术前水平。但PTC组增加缓慢,第7天水平仍较低。两组PA水平在第7天差异显著($P<0.05$),见表1。

表1 前白蛋白(PA)的变化(ρ_B/mg·L^{-1})

Tab 1 Changes of serum level of PA after operation (ρ_B/mg·L^{-1})

Group	Pre-operation	1 d	2 d	3 d	7 d
PH	275.5±68.4	250.5±33.5	200.5±35.5	150.5±65.5	250.5±85.5
PTC	269.4±71.5	240.5±50.5	180.6±45.6	155.6±67.5	180.6±75.4*

PH: Partial hepatectomy; PTC: Portal-trid-clamping;
*: $P<0.05$ vs PH group

3 讨论

正常大鼠对第一肝门阻断较为敏感,阻断20 min后行70%肝切除,术后死亡率为100%(n=10,预实验结果,本文未列出)。故本实验通过第一肝门阻断15 min后行肝叶切除术,观察了正常大鼠术后的肝再生情况。我们发现肝门阻断造成门静脉回流受阻,胃肠道淤血及缺血再灌注损伤,病理可见肝脏广泛充血、水肿,脂肪变性明显。术后7 d大鼠死亡率较PH组明显增高,PTC组转氨酶及胆红素水平术后明显增高,至术后7 d仍未恢复正常。较PH组而言,PCT组前白蛋白(PA)水平恢复缓慢,这些说明肝门阻断15 min可造成正常大鼠肝细胞功能损害。

PCNA免疫组化法与胸苷掺入法和胸腺嘧啶激酶活性等细胞再生标记物有良好的相关性[5]。是反映肝再生的可靠指标[6]。成年大鼠肝细胞分化成熟,正常情况下绝大多数细胞处于G_0期。PH组和PTC组术后PCNA标记指数变化明显。但较PH组而言,PTC组大鼠部分肝切除术后PCNA标记指数上升缓慢,高峰延迟。术后残肝再生率上升亦较慢,说明15 min的第一肝门阻断一定程度上损伤了正常大鼠的肝细胞再生功能,使细胞增殖活动延迟。

由于阻断时间较短,我们的实验结果似乎不能以缺血再灌注损伤后自由基的产生来解释[7]。因为氧自由基的产生依赖于缺血时间和缺血再灌注过程,研究表明肝脏持续缺血1 h才会产生氧自由基。缺血再灌注60~90 min才可能出现不可逆的肝细胞损伤。短时

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

间的缺血再灌注损伤也不足以产生大量的氧自由基[8]。然而, McKelvey 等[9]发现 22%的酶以次黄嘌呤氧化酶的形式存在, 因此短时间的缺血足以导致明显的损害。氧自由基损害指蛋白多肽, 使脂质过氧化并抑制 DNA 的合成[10]。但由于本实验观察的指标及术后检测时相点较少, 故 PTC 组术后肝细胞合成功能及再生功能下降的原因尚需进一步的探讨。

参考文献:

[1] 梁力建, 赖家明, 黄洁夫. 正确掌握肝血流阻断的时机与时限[J]. 肝胆外科杂志, 1998, 6(5): 261－262.
[2] 黄志强. 现代腹部外科学[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1997. 274－276.
[3] Chijiiwa K, Nakano K, Kameoka N, *et al*. Proliferating cell nuclear antigen, plasma fibronectin, and liver regeneration rate after seventy percent hepatectomy in normal and cirrhotic rats[J]. Surgery, 1994, 116(3): 544－549.
[4] 王小鸣, 李 序, 张 明. 前白蛋白(PA)在肝病检测中的临床意义的评价[J]. 白求恩医科大学学报, 1997, 23(3): 274－275.
[5] Theocharis S E, Skopelitou A S, Margeli A P, *et al*. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression in regenerating rats liver after partial hepatectomy[J]. Dig Dis Sci, 1994, 39(2): 245－252.
[6] Kurki P, Vanderlaan F, Dolbeare J, *et al*. Expression of proliferating cell nuclear antigen(PCNA)/cyclin during the cell cycle [J]. Exp Cell Res, 1986, 166(2): 209－213.
[7] Parks D A, Granger D N. Ischemia-reperfusion injury: A radical review[J]. Hepatology, 1998, 8(4): 680.
[8] Nordstrom G, Seeman T, Hasselgren P. Benificial effect of allopurinol in liver ischemia[J]. Surgery, 1985, 97(6): 679.
[9] McKelvey T G, Hollwarth M E, Granger D N, *et al*. Mechanisms of conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase in ischemic rat liver and kidney[J]. Am J Physiol, 1988, 254(5 Pt 1): G753－G760.
[10] Mccord T M. Oxygen-derived radicals: a link between reperfusion injury and inflammation[J]. Federation Proc, 1987, 46(5): 2 402－2 406.

(编辑 陈聪连)

文章编号: 1000-5404(2000)07-0759-01

经验与短篇

用螺纹钉 BA 桩-冠联合修复后牙残根残冠

Restorations of posterior residual root and crown with spiral pin and BA resin Core-Crown

汪志德, 游古莲, 林景春, 裘松波 (第三军医大学附属新桥医院口腔科, 重庆 400037)

对磨牙大部缺损修复疗法的报道不多[1,2]。我们用螺纹钉 BA 桩-冠联合修复后牙残根残冠 51 例 53 牙, 效果满意。

1 临床资料

1.1 一般资料

51 例中男 32 例, 女 19 例, 年龄 19~63 岁。前磨牙 16 牙, 磨牙 37 牙。53 牙中残根 15 牙, 残冠 38 牙, 全冠 16 牙, 1/2 冠 13 牙, 1/3 冠 9 牙。患牙无松动, 残根面距龈缘 2 mm 以上, 根管充填后 2 周, 无自觉症状。牙片见根周正常, 无根折。

1.2 材料

牙用螺纹钉, 不锈钢结扎丝, BA 树脂。

1.3 方法

固位支架形成, 在残根残冠断面距牙体边缘 1.5~2 mm, 沿根管长轴方向用 0.7~0.8 mm 车针制备针道 2.5 mm 深, 针道间距 2 mm。针道数, 前磨牙, 近远中颊舌(腭)各 1; 磨牙, 近远中颊舌(腭)各 2 个。螺纹钉消毒后旋入针道, 血管钳夹持不锈钢丝, 将各个螺纹钉连接成立体支架, 见图 1。临床冠恢复: BA 树脂包埋支架, 恢复牙体缺损, 见图 2。注意形成窝沟、尖嵴, 使

(下转 768 页)

作者简介: 汪志德(1952－), 男, 湖北省谷城县人, 副主任技师, 主要从事口腔修复方面的研究, 发表论文 10 篇。电话: (023)68755114－74801

收稿日期: 1999-09-25; 修回日期: 2000-06-10

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