DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.01.018

大鼠肝硬变门脉高压症不同术式后肝脏储备功能的研究

吴 刚* 蔡景修 董家鸿 段恒春 (第三军医大学附属西南医院肝胆外科中心) 重庆,400038

提 要 目的:研究门脉高压症的不同术式对肝硬变病人肝脏储备功能的影响。方法:用四氯化碳诱导的大鼠肝硬变模型分为4组:① 选择性远端脾腔分流术(DSCS);② 门奇断流术(PAD);③ 肠腔侧侧分流术(MCS);④ 肝硬变组。在术后1、3、5周进行口服糖耐量试验(OGTT)、动脉血酮体比值(KBR)的测定,比较各组肝脏储备功能的变化。结果:术后第1周 DSCS、PAD、MCS组与肝硬变对照组 OGTT 120 min血糖值互相比较差异不显著($P > 0.05$);而术后第3、5周 DSCS、PAD、MCS组 OGTT 120 min血糖值分别降至肝硬变对照组的62%、63%、93%和59.2%、62.9%、92.6%;KBR分别增至肝硬变对照组的139.4%、144.5%、100.1%和171.6%、189.8%、97%。DSCS和 PAD组与肝硬变对照组比较有差异不显著($P < 0.05$),MCS组与肝硬变组对照组比较差异不显著($P > 0.05$)。结论:DSCS和 PAD组大鼠肝脏储备功能明显优于 MCS组和肝硬变对照组组。

关键词 肝脏储备功能;口服葡萄糖耐量试验;动脉血酮体比值
中图法分类号 R657.3

目前认为对肝脏储备功能的影响是评价各种手术方式远期疗效的重要因素之一,而临床沿用常规肝功能检测方法难以精确反映肝功能储备。近年研究表明:口服糖耐量试验、动脉血酮体比值是预测肝储备功能的一个可靠指标[1~4]。本实验对肝硬变门脉高压症的不同术式采用上述指标动态观测各种术式对肝脏储备功能的影响,旨在为正确评价各种手术方式对肝硬变门脉高压症的治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

采用 Wistar大鼠300只,应用 CCl_4/乙醇诱导形成肝硬变门脉高压症模型[5] 220只,动物死亡 80只。

将肝硬变模型大鼠220只随机分为3组按 30 mg/kg 体重腹腔内注射1%戊巴比妥钠后,分别行肠腔侧侧分流术(MCS)、选择性远端脾腔分流术(DSCS)和门奇断流术(PAD)。手术完成前后各测门脉压力1次。

分组:① 正常组 7只;② 肝硬变组 20只;③ 手术组 200只又分为 MCS 60只、DSCS 60只、PAD 80只3个亚组。手术组动物又死亡 54只,存活大鼠均观察术前及术后1、3、5周共4个时相点。每组每时相点各选择7只鼠,其余大鼠另作研究。

1.2 观察指标及检测方法

1.2.1 口服糖耐量试验 禁食 12 h后取血 0.5 ml,而后于胃内灌注葡萄糖(1.75 g/100g体重)后60、120 min,分别取血 0.5 ml 血标本均肝素抗凝离心分离血浆,按葡萄糖氧化酶-过氧化物酶比色法测定血浆糖浓度。

1.2.2 动脉血酮体浓度和酮体比值(Ketone body ratio, KBR) 采取动脉血 1 ml,迅速与等体积预冷至4℃的10% $HClO_4$ 混匀;3000 r/min,4℃离心 15 min;上清以 5 mmol/L K_2CO_3调至 pH6.0;3000 r/min,4℃离心 5 min,取上清,采用离心式自动生化分析仪,参照 Li等[6]方法测定其中乙酰乙酸(AC-AC)和β-羟丁酸(β-OHB)浓度,并按下式计算得 KBR。

$$KBR = (AC\text{-}AC)/\beta\text{-}OHB$$

2 结果

病理改变及门脉压力:肝硬变门脉高压症大鼠肝脏缩小,表面呈结节状。光镜下可见典型假小叶结构。自由门脉压力(FPP):肝硬变组为 1.45± 0.06 kPa,正常对照组为 0.76± 0.04 kPa,两组比较差异显著($P < 0.01$)。

门脉压力:MCS组术后 FPP显著下降,DSCS组术后轻微下降,而 PAD组术后轻微上升或下降。

口服葡萄糖耐量试验(OGTT):各组服糖前血糖值大致相仿,差异表现在60和120 min两个时相上。糖负荷后120 min血糖值是否下降以及能否降至8.3 mmol/L与肝脏储备功能有明显关系。依据糖负荷后120 min血糖值的下降情况,OGTT曲线可分为3种类型:P_1型:血糖值≤ 8.3 mmol/L,糖耐量正常;P_2型:血糖值有所下降,但徘徊在8.3 mmol/L以上者为糖耐量稍差;L型:血糖值> 9.3 mmol/L,继续上升者为糖耐量差。经统计学处理,结果:术后第3、5周 DSCS、PAD与 MCS及肝硬变组比较有差异不显著($P < 0.05$),与正常组比较有高度差异不显著($P < 0.01$)。然而,MCS组术后第3、5周与肝硬变组比较差异不显著($P > 0.05$)。术后第1周 MCS、DSCS、PAD组 120 min血糖值与肝硬变组比较差异也不明显($P > 0.05$),但与正常组相比则差异有非常显著性($P < 0.001$),见表1。

* 吴 刚,男,34岁,主治医师,讲师,博士研究生

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

表 1 OGTT血糖值的变化 ($\bar{x}\pm s$, $n=7$)

Tab 1 Changes of blood glucose value(BG) of OGTT ($\bar{x}\pm s$, $n=7$)

Group	Blood glucose values (mmol/L)		
	0 min (hunger)	60 min	120 min
Normal	6.0± 0.4	9.0± 0.8	6.0± 0.7
Cirrhosis	5.6± 0.7	15± 2*	13.5± 2.5*
DSCS(1w)	5.7± 0.5	13.5± 3*	11.2± 2.8*
PAD(1w)	5.6± 0.7	14.1± 2.9*	11.4± 2.4*
MCS(1w)	5.7± 0.8	14.1± 2.7*	13.0± 2.0*
DSCS(3w)	5.6± 0.7	11.7± 2.0*△	8.5± 3.0*△
PAD(3w)	5.6± 0.5	12.0± 2.8*△	8.6± 3.2*△
MCS(3w)	5.7± 0.8	14.8± 2.7*	12.6± 3.0*
DSCS(5W)	5.5± 0.5	11.5± 2.6*△	8.0± 3.0*△
PAD(5w)	5.7± 0.6	12± 2*△	8.5± 3.2*△
MCS(5w)	5.6± 0.8	14± 2.5*	12.5± 2.8*

*: $P<0.05$ *vs* normal; △: $P<0.05$ *vs* MCS and cirrhosis at the same time

动脉血酮体浓度及酮体比值 (KBR),见表 2

表 2 肝硬变及不同手术后动脉血酮体浓度及酮体比的变化 ($\bar{x}\pm s$, $n=7$)

Tab 2 Changes of arterial ketone body content and ratio (KBR) after operation ($\bar{x}\pm s$, $n=7$)

Group	AC-AC	β-OHB	KBR
Normal	0.029± 0.003	0.032± 0.003	0.888± 0.078
Cirrhosis	0.035± 0.005	0.104± 0.007*	0.335± 0.075*
DSCS(1w)	0.034± 0.008	0.101± 0.007*	0.340± 0.081*
PAD(1w)	0.033± 0.006	0.101± 0.013*	0.349± 0.083*
MCS(1w)	0.033± 0.006	0.102± 0.007*	0.326± 0.068*
DSCS(3w)	0.033± 0.007	0.072± 0.008*△	0.467± 0.076*△
PAD(3w)	0.034± 0.006	0.073± 0.011*△	0.484± 0.083*△
MCS(3w)	0.034± 0.006	0.10± 0.006*	0.335± 0.054*
DSCS(5w)	0.034± 0.008	0.059± 0.008*△	0.575± 0.088*△
PAD(5w)	0.034± 0.009	0.053± 0.008*△	0.636± 0.087*△
MCS(5w)	0.036± 0.007	0.11± 0.005*	0.325± 0.061*

*: $P<0.01$ *vs* normal; △: $P<0.05$ *vs* MCS at the same time

3 讨论

3.1 用肝硬变大鼠模型研究肝脏储备功能的合理性

四氯化碳 (CCl_4)加乙醇诱导肝硬变模型,其主要机制是: CCl_4引起肝细胞的损害: 肝细胞脂肪变性和坏死、线粒体异常、内质网扩张、核蛋白体解聚等。线粒体受损后使辅酶I (NAD+)与 ATP在肝内生成减少,脂肪酸氧化受到抑制。乙醇为一种酶的诱导剂,能够增强 CCl_4的毒性。

CCl_4 乙醇诱导的肝硬变门脉高压大鼠模型在肝脏能量代谢和形态学方面都类似于人类肝硬变并且模型较稳定[7,8]。因此,采用此模型研究硬变肝脏储备功能是可行的。

3.2 OGTT和 KBR能反映肝储备功能

肝硬变导致肝实质损害,有效肝组织容量减少,肝细胞结构和完整性受到影响,引起线粒体异常和功能的显著下降,由线粒体提供足够能量来维持肝脏能量平衡的应变反应这个重要作用减弱,三羧酸循环转送率和葡萄糖氧化受到抑制,肝细胞内 ATP合成量下降。因而糖耐量降低,酮体比值下降。

胰岛素在肝硬变时不降低反而升高,其可能机制是:① 肝细胞损害导致胰岛素分解降低的结果;② 自发性或外科分流存在;③ 胰岛分泌功能增强。肝硬变时,肝脏对胰岛素有抵抗作用,这可能是肝细胞膜胰岛素受体受到损害,胰岛素结合力下降的结果。文献报道,OGTT、KBR能够反映有效肝组织容量,肝细胞结构和完整性、肝细胞线粒体能量代谢状态和线粒体内细胞色素 a+ a_3的含量,是预测肝储备功能的可靠指标[2,3]。

3.3 DSCS PAD手术能改善和保存肝脏储备功能

MCS术后,肝有效门脉血灌注锐减,胰腺分泌的胰岛素、表皮生长因子和细胞因子以及肠道来的营养物质明显减少甚至丧失,结果阻碍了肝细胞的再生过程,加重线粒体功能障碍,不利于改善肝脏的储备功能。DSCS PAD术后加强了有效门脉血流灌注,调节肝细胞再生过程的许多因子以及肠道来源的营养物质得到利用,有利于残存肝细胞再生,线粒体功能改善,从而保存肝脏储备功能。

综上所述,本组结果表明实验性肝硬变本身引起线粒体异常和功能的显著下降与文献报道相符合[9],同时肝细胞线粒体提供足够能量来维持肝脏能量平衡的应变反应这个重要作用减弱;自体分流和外科分流又加重了线粒体的功能障碍,肝细胞产能水平降低,葡萄糖耐量下降,酮体比值减低,肝脏储备功能下降。MCS术后门脉压力明显下降,肝脏储备功能下降,使葡萄糖耐量、酮体比值进一步减低; DSCS PAD术后保存了向肝门脉血流,有利于肝细胞的稳定或再生,肝组织容量和线粒体功能得到改善,有助于保存肝脏的储备功能。因此,可以认为 DSCS PAD有助于保存肝脏的储备功能,是一种比较合理的手术方式。

参考文献

1 葛西洋一,中西昌美,柿田章.术前の risk 判定一硬变合并肝癌を中心に一.临床外科,1983;38(9):1289

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

2 文天夫,郑光琪.糖耐量和胰岛素分泌试验对预测肝癌手术风险的价值.中华外科杂志,1989; 27(10): 597
3 Yamasaki H. The arterial ketone body ratio and serum alphafetoprotein level in patients with acute hepatic failure. Liver, 1995; 15(4): 219
4 吕明德,黄洁夫.肝癌手术前肝储备功能预测的临床研究.中华外科杂志,1993; 31(9): 532
5 吴孟超,杨广顺.大鼠肝硬变模型复制的研究.中华实验外科杂志,1984; 1(4): 145
6 Li P. Direct, fixed-time kinetic assays for β-hydroxy rate and acetoacetate with a centrifugal analyzer or a computer-backed spectrophotometer. Clin Chem, 1980; 26: 1713
7 Krahenbuhe S, Reichen J. Decreased hepatic glucose production in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. J Hepatol, 1993; 19: 64
8 Francois M, Alain G, Elisabeth A *et al*. Carbon Tetrachloride-induced cirrhosis in rats: influence of the acute effects of the toxin on glucose metabolism. Hepatology, 1996; 23: 582
9 Krahenbuhl S, Reichen J. Adaptation of mitochondrial metabolism in liver cirrhosis. Scand J Gastroenterol, 1992; 27 (suppl): 193

(收稿: 1997-07-14;修回: 1998-01-07)
(编辑 仇玉福)

Effects of different types of operation on hepatic reserve function in rats with cirrhotic portal hypertension

Wu Gang, Cai Jingxiu, Dong Jiahong, Duan Hengchun (Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To investigate the effects of different types of operation on hepatic reserve function in cirrhotic portal hypertension. Methods: The Wistar rats with cirrhotic portal hypertension induced with carbon tetrachloride/ethanol were divided into four groups: 1) DSCS; 2) PAD; 3) MCS and 4) the control. The changes of hepatic reserve function were observed with oral glucose tolerance test (OGTT) and arterial ketone body ratio (KBR) determination. Results: 1) At the end the 1st week, blood glucose (BG) values of OGTT in the four groups were 11.2, 11.4, 13.0 and 13.5 and KBR were 0.340, 0.349. 0.326 and 0.335 respectively. 2) At the end of the 3rd and 5th week, BG in the first three groups were decreased to 62%, 63%, 93% and 59.2%, 62.9%, 92.6% of that in the control and KBR was increased to 139.4%, 144.5%, 100.1% and 171.6%, 189.8%, 97% to that in the control respectively. Conclusion: DSCS and PAD are better than MCS in protecting the hepatic reserve function in rats with cirrhotic portal hypertension.

Key words liver cirrhosis; hepatic reserve function; arterial ketone body ratio; rat

炎症诱导性表达载体的构建及白介素-10基因转染对烫伤内毒素血症小鼠保护作用的实验研究*

Construction of inflammation inducible expression vector and protection of experimential IL-10 gene transfection on endotoxemia and scald mouse

太光平** 汪仕良 黎 鳌 刘 欣*** 罗向东 (第三军医大学附属西南医院烧伤研究所)重庆,400038

失控性炎症细胞因子、过量的介质释放介导、推动系统性炎症反应(SIRS)、脓毒性反应及多器官功能衰竭.开发、寻求新的抗炎症因子策略以处理失控性炎症反应是当今烧伤、创伤及外科领域的迫切任务。白细胞介素-10(IL-10)又名"细胞因子合成抑制因子(CSIF)"广泛抑制多种炎症介质的合成提示 IL-10可能用于感染性休克、脓毒症及 SIRS的抗介质综合治疗。

(下转 42页)

* 国家自然科学基金资助项目,No. 39600140
** 太光平 男,30岁,主治医师,博士研究生 *** 基础医学部分子遗传学教研室 重庆,400038

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