

论 著

一种建立门脉高压动物模型的新方法

钱骏 冯敢生 梁惠民 杜端明 郑传胜

摘要 目的:探索一条新的、更迅速和有效地建立门脉高压和肝纤维化动物模型的途径。
材料和方法:采取前瞻性研究方法,在15只大耳白兔通过门静脉主干注入不同稀释度的白芨混悬液,栓塞门静脉末梢血管而升高门脉压,术后3~4周采取同法复查测量门脉压,作肝活检病理切片及血管铸形。**结果:**通过兔门静脉注入0.4%白芨混悬液4ml,能使门脉压升高约40%,3周后门脉压仍维持较高水平,病理切片示被白芨栓塞部位出现典型的肝纤维化改变,血管铸形见被白芨栓塞的末梢血管约占全肝末梢血管容积的20%。**结论:**本法操作简便,效果理想,重复性好,药物价格低廉,较其它建立门脉高压动物模型的方法更优越和可靠,有着广泛应用的价值。

关键词 白芨 门脉高压 动物模型

A new method for setting up animal model of portal hypertension Qian Jun, Feng Gansheng, Liang Huimin, et al. Department of Radiology, Xiehe Hospital of Tongji Medical University, Wuhan 430022

Purpose: To explore a new, rapid and effective way to establish a portal hypertension and liver cirrhosis animal model. **Materials and methods:** By using prospective investigating method, various dilute suspensions of Bletilla striata were intravenously injected to embolise peripheral portal vein for increasing portal vein pressure in 15 rabbits. 3~4 weeks and 6~7 weeks after operation, portal vein pressure was determined again; liver tissue biopsy and microscopy were examined; vascular casting was made. **Results:** Portal vein pressure increased by 40% after intravenously administration of 0.4% Bletilla striata 4ml into portal vein. 3 weeks after operation, it was showed that the portal vein pressure was still in high level; typical liver cirrhosis change was observed in the areas of embolism by Bletilla striata in microscopy; the embolised peripheral blood vessels occupied about 20% of total peripheral blood vessels of the liver in vascular casting. **Conclusion:** The method described above showed that it is easy to operate, ideal, reproducible; the price of Bletilla striata is cheap. The method is also reliable and better than others, it has wide useful value.

Key words Bletilla striata Portal hypertension Animal model

门脉高压症(PH)是我国消化系统疾病中最普遍和严重的临床综合征候群,在动物身上建立PH模型,对于PH的发生和发展机制、血流动力学的研究、诊断及治疗都起着不容忽视的作用。建立PH模型的方法较多,各有千秋,将血管栓塞剂白芨运用于PH模型中效果显著,以下对该方法进行详细阐述。

材料和方法

1996年10月~1997年2月,总共15只大耳白兔接受了PH模型制备试验,雄兔8只,雌兔7只,体重为1.9~2.0 kg,自由饮水,普通进食,术前12小时禁食,4小时禁水,测门脉压装置采取德国Hellige心电图监测仪。

制备白芨微粒 ①取优质白芨,经剪碎、

430022 武汉市,同济医科大学附属协和医院放射科
注:本课题受国家自然科学基金资助, No:39570232

表1 经兔门静脉注入白芨混悬液对门脉压影响的结果

编 组	白芨浓度	正常门脉压 (kPa)	注白芨后 10min 门脉压(kPa)	3~4 周后门脉压 (kPa)
第1组(5例)	0.2%	0.51 ± 0.13	0.64 ± 0.13	0.59 ± 0.06
第2组(5例)	0.4%	0.56 ± 0.10	0.83 ± 0.09	0.75 ± 0.07
第3组(5例)	0.8%	0.51 ± 0.17	0.93 ± 0.15	死亡

去皮、重复漂洗后,置于烘箱内烘干(温度范围:45℃~50℃)。②碾磨、过筛,筛选出120~160目(0.097~0.125mm)微粒后,置于洁净安瓿内封口,送110℃高温消毒后备用。

制作 PH 模型 ①麻醉动物并固定,从剑突下正中切口进入腹腔,选择门静脉距肠系膜总静脉与脾静脉交汇点上方1cm处以留置针穿刺,进针2cm后拔出针芯,置留针套管于门静脉主干内,测门脉压并作血管造影和DSA摄片。

②将一定稀释度白芨与生理盐水混悬液缓慢注入门静脉内,剂量4ml(比例详见表1),注射时间2min,注射完毕后维持10min,

再次测门脉压和作血管造影及DSA摄片。

③拔出导管的同时用组织粘合剂异丁基- α -氰丙烯酸盐(IBCA)封合穿刺点,逐层缝合腹壁,术后3天给予氨苄西林钠肌肉注射(0.1g/次,一天一次)。

④术后3~4周再次采用同法对手术动物进行门脉压测定,并作肝脏活检病理切片,观察肝脏体积变化及腹水情况,对部分肝脏作门静脉血管铸形。

结 果

1. 经门静脉注入不同稀释度的白芨混悬液对门脉压产生不同程度的影响,其结果见表1。

其中,第1组与第2组大耳白兔注白芨混悬液后门脉压分别迅速上升20%和40%左右,兔全部存活。第3组则因注射白芨混悬液浓度高,注射后门脉压陡然上升达80%以上,动物于术后0.5~16h相继死亡。

2. 血管造影表现:第1组动物于注射白芨混悬液后门脉末梢血管轻微栓塞,效果不显著。第2组动物于栓塞后示门脉左右支尚清晰,但其以下分支有部分阻塞,效果适中(图1)。第3组动物于栓塞后造成门静脉主干的完全堵塞,血流完全受阻。

3. 病理改变:①肉眼观:注白芨3~4周后,第1组大耳白兔肝脏体积无明显变化,无腹水生成。第2组肝脏体积缩小约20%,栓塞部位呈暗红色,形似扇形分布,表面轻微毛糙不平,边界清晰(图2)。第3组动物注白芨混悬液后不久死亡,肉眼观肝脏颜色暗红。②病理切片:第1组动物于实验第4周肝组织尚无明显病理变化,而第2组动物于实验

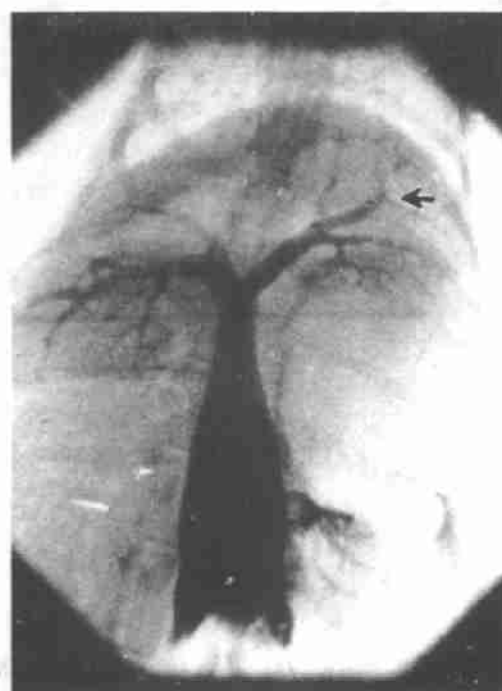


图1 通过大耳白兔门静脉注入0.4%的白芨混悬液4ml,门脉主干及左右支尚清晰、通畅,但其以下分支有部分阻塞(—)。



图2 动物模型大体标本示栓塞部位呈暗红色,略呈扇形分布(—)。

第3周时病理切片见栓塞区肝细胞呈灶状及片状坏死,伴有较多炎性细胞浸润,还可见到不被组织吸收的白芨微粒,门管区结缔组织增生并有小叶间静脉扩张,形成典型的坏死后肝纤维化表现(图3)。

4. 血管铸形结果:门静脉血管铸形标本显示,第1组动物门静脉末梢血管被栓塞范围较小;而第2组被栓塞范围约占全肝末梢血管容积的20%,其周围血管有轻微代偿性扩张(图4);第3组因门静脉主干堵塞而未做血管铸形。

讨 论

1. 白芨作为一种传统的收敛止血药,冯敢生^[1]等首次将其作为血管栓塞剂运用于动物实验和临床,取得了良好的效果。该药作用机理为:①影响凝血因子而缩短凝血时间,促进凝血过程,并增强血小板Ⅲ因子活性,缩短凝血活酶生成时间^[2];②同时还抑制纤维蛋白溶酶活性;③减少梗阻部位的感染^[3]。所以,将其经门静脉注入其分支远端能迅速形成人工栓子而发挥栓塞作用,属门脉窦前阻塞。还可根据需要制成不同大小和粘稠度

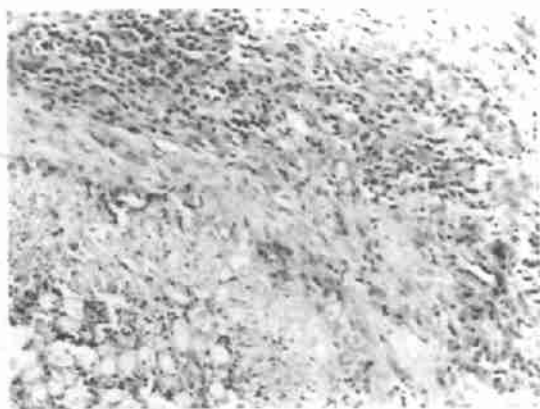


图3 动物模型病理切片示栓塞区肝细胞部分坏死,伴较多纤维结缔组织增生和炎性细胞浸润,并可见不被吸收的白芨颗粒(—)($\times 20$)。

的微粒,具缓慢膨胀性质,栓塞不同管径的血管,在栓塞部位分布均匀^[4]。利用选择性插管技术及掌握白芨浓度可控制病变程度和范围。由于白芨的纤维成份不能被组织吸收,它可作为一种永久性栓塞剂,其作用时间持久,效果稳定,重复性好,价格低廉,简便易行。

2. 研究结果表明:白芨混悬液粘稠度较高,若采取高浓度注射,注射时压力过大,不

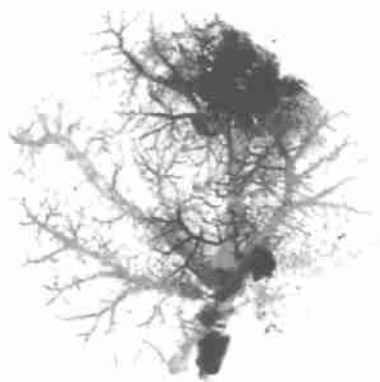


图4 动物模型血管铸形显示被栓塞的末梢血管,其范围占全肝末梢血管容积的20%左右(—)。

易控制,且分布不均,容易堵塞门脉主干。采取低浓度注射法虽无上述缺点,但难以在短期内形成肝纤维化,我们采取第2组四个“4”的方法比较理想,即通过注0.4%的白芨混悬液4ml于兔(4斤)门脉内,使门脉压升高约40%,形成肝纤维化并PH时间缩短,效果持久、稳定,注白芨后10min与3周后门脉压无显著性差异($P>0.1$)。

3. 门脉压的变化情况应结合模型的病理及血流动力学机制进行分析。门脉内注入白芨后引起门脉压升高的因素包括:①门脉末梢血管堵塞,血管阻力增加;②门脉及肝静脉小血管受肝纤维化增生的结缔组织挤压与改道,血管床面积减小;③大量的门静脉-肝动脉吻合支(内伊克氏瘘)开放;④肝细胞受损,单胺氧化酶系活性下降,胺类物质致肝内静脉血管床痉挛性阻塞^[5]。而使门脉压下降的因素,主要是门脉血流经胃冠状静脉等侧支循环以及肝静脉分流。门脉压的高低取决于上述两因素共同作用的结果。在注白芨3~4周后,两者持相对动态平衡状态,故门脉压无明显变化。由于门静脉阻塞及血液循环障碍而致肝细胞变性、坏死,由此而致炎症和成纤维细胞增多,最终形成典型的坏死后肝纤维化表现。

4. 与其它制备PH模型的方法相比较:利用明胶海绵栓塞门静脉的方法同样可取,但唯一不足之处是明胶海绵易被组织吸收,

维持PH时间通常不超过2周;肝毒性药物 CCl_4 皮下注射法运用较广泛,但易同时造成肾脏损害;运用D-氨基半乳糖、二乙基亚硝酸胺等制备PH模型简便易行,但或因形成肝纤维化时间长,或因药物对实验者危害性大而不常采用;外科手术法如胆总管结扎法(CBDL)、多次缩扎门静脉法、门腔分流缩扎门静脉法等各有特色,然而,手术操作复杂,动物死亡率高的问题难以解决;另外,尚有用无水酒精、鱼肝油酸钠、二氧化硅、聚乙烯醇、不锈钢丝圈等栓塞门静脉的方法,但或因须与球囊导管配合使用,质量控制略逊一筹,或因材料昂贵,使用起来有一定局限性。

参考文献

- 1 冯敢生,颜小琼,王丽雅. 中药白芨作为血管栓塞剂的动物实验及其临床应用研究. 中华放射学杂志,1985,19:193.
- 2 Feng XS, Qiu FZ, Xu Z. Experimentelle Embolisation unterschiedlicher hepatischer Gefaesse beim Hund mit Bletilla striata. Journal of Tongji Medical University, 1994, 15:48.
- 3 Feng GS, Kramann B, Zheng CS, et al. Permanente Chemoembolisation des Leberkarzinoms mit dem chinesischen Heilmittel Bletilla striata; Langzeitergebnisse im Vergleich mit Lipiodol-MMC-Gelfoam. Journal of Tongji Medical University, 1996, 16:115.
- 4 冯敢生,郑传胜,周汝明. 白芨与明胶海绵栓塞治疗肝癌疗效的对比研究. 中华放射学杂志,1996,30:135.
- 5 白希清,主编. 病理学. 北京:科学出版社,1992,390.

(1997-08-06 收稿)