



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.02.011
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.02.011
Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(2):211-215.

· 基础研究 ·

腹腔镜犬胆道梗阻模型研究

薛飞^{1,2,3}, 吕毅^{1,2,3}, 虢宏昌^{4,5}, 马锋^{2,3}, 陆建文^{1,2,3}, 李建鹏^{1,2,3}, 白纪刚^{1,2,3}, 刘亚雄^{4,5}

(1. 西安交通大学第一附属医院 肝胆外科, 陕西 西安 710061; 2. 陕西省再生医学与外科工程技术研究中心, 陕西 西安 710061; 3. 西安交通大学先进外科技术与工程研究所, 陕西 西安 710061; 4. 西安工程大学机电工程学院, 陕西 西安 710048; 5. 西安交通大学机械系统国家重点实验室, 陕西 西安 710049)

摘要

目的: 探讨应用腹腔镜微创技术制作胆道梗阻模型的动物模型的可行性。

方法: 用6只杂种犬进行腹腔镜下胆总管结扎手术, 记录手术及术后情况, 检测术前与术后(3、7、10 d)白细胞(WBC)、肝功能指标、C反应蛋白(C-RP)、血清降钙素原(PCT)水平, 术后10 d观测胆道扩张情况及肝脏病理学改变。

结果: 总手术时间、麻醉苏醒时间、首次进食与排便时间分别为(39.17±3.4) min、(59.17±12.8) min、(3.5±0.63) h、1 d。WBC水平在术后3 d明显升高(P<0.05), 但随后快速恢复正常(P>0.05); 术后C-RP与PCT保持正常水平(均P>0.05); 术后转氨酶水平先升后降, 但均明显高于术前(均P<0.05); 胆红素水平呈持续升高(均P<0.05)。术后10 d, 肉眼可见胆总管扩张明显, 病理学显示微胆管扩张。

结论: 利用腹腔镜技术建立犬胆道梗阻模型简便、微创、可行, 该造模方法为今后的实验研究提供了便利。

关键词

胆汁淤积; 腹腔镜; 模型, 动物

中图分类号: R657.4

Experimental study on canine biliary obstruction using laparoscopic technique

XUE Fei^{1,2,3}, LU Yi^{1,2,3}, GUO Hongchang^{4,5}, MA Feng^{2,3}, LU Jianwen^{1,2,3}, LI Jianpeng^{1,2,3},
BAI Jigang^{1,2,3}, LIU Yaxiong^{4,5}

(1. Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital, Xian Jiaotong University, Xi'an 710061, China; 2. Regenerative Medicine and Surgery Engineering Research Center of Shaanxi Province, Xi'an 710061, China; 3. XJTU Research Institute of Advanced Surgical Technology and Engineering, Xian Jiaotong University, Xi'an 710061, China; 4. School of Mechanical Engineering, Xian Polytechnic University, Xi'an 710048, China; 5. State Key Laboratory of Mechanical System Engineering, Xian Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Abstract

Objective: To investigate the feasibility of using laparoscopic minimally invasive technique to create animal model of biliary occlusion.

Methods: Six mongrel dogs underwent laparoscopic common bile duct (CBD) ligation. The operative and postoperative variables were recorded, the preoperative and postoperative (day 3, 7 and 10) levels of white blood cells, liver function indexes, C-reactive protein (C-RP) and procalcitonin (PCT) were determined, and the CBD dilation and liver pathological changes were observed on postoperative day 10.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51275387); 国家自然科学基金科学仪器专项基金资助项目(81127005)。

收稿日期: 2014-12-11; **修订日期:** 2015-01-23。

作者简介: 薛飞, 西安交通大学第一附属医院博士研究生, 主要从事磁压榨吻合、肝癌、肝移植方面的研究。

通信作者: 吕毅, Email: luyi169@126.com

Results: The overall operative time, time to recovery from anesthesia, time to first food intake and defecation was (39.17±3.4) min, (59.17±12.8) min, (3.5±0.63) h and 1 d, respectively. The WBC level was significantly elevated at postoperative day 3 ($P<0.05$), but soon recovered ($P>0.05$); the postoperative C-RP and PCT levels remained normal (all $P>0.05$); the postoperative transaminase levels were initially increased and then decreased slowly, but all were significantly higher than those of preoperative levels (all $P<0.05$); the postoperative bilirubin levels showed continuous increase (all $P<0.05$). Obvious CBD dilation was seen macroscopically and pathological examination showed marked dilation of the bile capillaries.

Conclusion: Establishment of canine model of biliary occlusion using laparoscopic technique is simple, minimally invasive and feasible, and this method of model creation may facilitate future experimental studies.

Key words Cholestasis; Laparoscope, Models, Animal
CLC number: R657.4

进行大动物胆肠吻合手术、胆道吻合手术前均需要进行胆道梗阻扩张模型的制备，常用方法是开腹胆道结扎^[1]或胆道钳夹法^[2]，增加了手术难度，术后动物恢复较慢。经过探索与实践，现介绍一种微创简便的造模方式，腹腔镜建立犬胆道梗阻模型，避免了传统方式弊端，达到梗阻的效果。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本地杂种犬6只，体质量15~20 kg，雌雄不限，西安交通大学医学院动物实验中心提供。实验过程对动物的处置符合动物伦理学标准，实验方案获西安交通大学动物实验伦理委员会批准。实验中应用的手术器械及耗材均经过高温高压灭菌处理，使用的腹腔镜设备及器械，均购置于

KARL STORZ GmbH&Co.KG公司。

1.2 实验方法

实验前常规12 h禁食、6 h禁水。腹腔注射3%戊巴比妥钠（1 mg/kg）全身麻醉。麻醉满意后，动物取仰卧位，腹部剃毛，消毒，铺无菌巾。巾钳2把将脐上缘腹壁提起，切开皮肤、皮下层长约1 cm，垂直穿刺置入气腹针，确定气腹针在腹腔内，接通气腹机。开始充气时，充气速度不宜太快，以1 L/min为宜^[3]。气腹建立完成后于穿刺部位置入10 mm Trocar，为腹腔镜通道。左锁中线肋缘下2 cm穿刺置入10 mm Trocar，右锁中线肋缘下2 cm置入5 mm Trocar。抓钳钳夹盐水纱布撑起肝脏，充分显露肝门部，可见胆总管直径约1~2mm。分离钳钝性分离后于十二指肠上缘以4-0不可吸收丝线结扎（图1）；确切止血后关闭各Trocar孔，术后常规对症治疗。

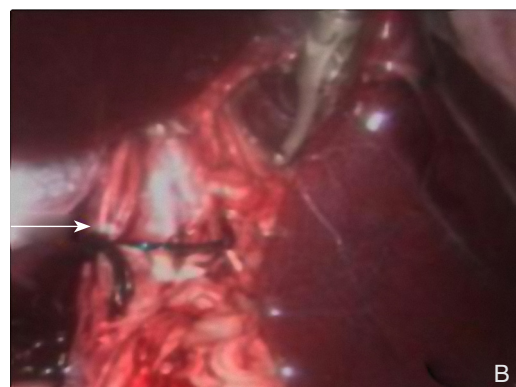
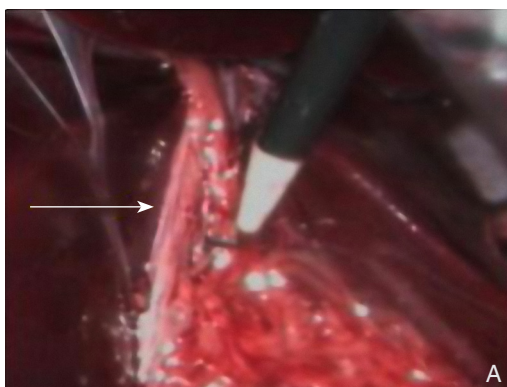


图1 术中所见（箭头所示为胆总管）

A: 分离胆总管; B: 结扎后的胆总管

Figure 1 Intraoperative views (arrow showing the common bile duct) ligation

A: Isolation of the common bile duct; B: Common bile duct after

1.3 观察指标

(1) 外周血检测：分别于术前1 d与术后3、7、

10 d采集动物外周血，检测白细胞（WBC）、谷丙转氨酶（ALT）、谷草转氨酶（AST）、直接胆

红素 (DBIL)、间接胆红素 (IBIL)、总胆红素 (TBIL)、C-反应蛋白 (C-RP) 及血清降钙素原 (PCT) 水平。(2) 手术时间: 记录手术从开始至结束所需要的时间。(3) 术后恢复情况: 记录术后动物麻醉苏醒时间、术后首次进食时间及术后首次排便时间。(4) 术后胆道直径测量: 术后 10 d 再次全麻行开腹手术, 观察肝外胆管扩张情况。并用游标卡尺测量扩张胆总管外径 (结扎部位上方约 1.5 cm 处)。(5) 手术前后肝脏病理分析: 分别于结扎当日与术后 10 d 取小块肝脏组织 10% 甲醛固定、石蜡包埋、切片行 HE 染色, 光学显微镜观察并进行对比。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 17.0 统计软件分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 统计分析采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 手术及术后情况

手术开始切皮至缝合 Trocar 孔的总手术时间为

(39.17 ± 3.4) min, 动物麻醉术后至自主意识恢复时间为 (59.17 ± 12.8) min, 首次进食时间为 (3.5 ± 0.63) h, 术后首次排便时间为 1 d。

2.2 术后胆道直径测量

正常家犬胆总管直径约 1~2 mm。结扎 10 d 后, 结扎部位以上肝内外胆管均有不同程度扩张, 测量扩张胆总管直径 (结扎部位上方约 1.5 cm 处) 为 (9.5 ± 0.84) mm。

2.3 外周血检查结果

WBC 水平在结扎后 3 d 明显升高 ($P < 0.05$), 随后快速恢复至术前水平 ($P > 0.05$), C-RP 及血清降钙素原保持正常水平 (均 $P > 0.05$); ALT、AST 水平明显升高, 随后缓慢降低, 但均高于术前水平 (均 $P < 0.05$); 术后 DBIL、IBIL、TBIL 水平均呈持续升高 (均 $P < 0.05$) (表 1)。

2.4 组织学观察

取手术前后小块肝脏组织行 HE 染色, 可见胆汁淤积在微胆管区、肝巨噬细胞及小叶中心, 微胆管扩张, 肝组织内可见炎性细胞浸润, 肝细胞肿胀、变性、坏死, 小胆管增生 (图 2)。

表 1 血液学指标

Table 1 Hematological indexes

指标	术前	术后 3 d	术后 7 d	术后 10 d
WBC ($10^9/L$)	5.83 ± 0.9	$9.9 \pm 1.43^{1)}$	6.8 ± 1.32	5.88 ± 0.75
C-RP (mg/L)	<3.44	<3.44	<3.44	<3.44
PCT (ng/mL)	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
ALT (mmol/L)	53.3 ± 45.4	$590.2 \pm 144.1^{1)}$	$172.1 \pm 41.5^{1)}$	$133.1 \pm 37.1^{1)}$
AST (mmol/L)	39.3 ± 20.07	$166.4 \pm 42.4^{1)}$	$97.7 \pm 38.4^{1)}$	$79.3 \pm 46.3^{1)}$
DBIL (mmol/L)	1.86 ± 1.7	$24.7 \pm 4.64^{1)}$	$31.7 \pm 4.39^{1)}$	$40.2 \pm 33.1^{1)}$
IBIL (mmol/L)	1.37 ± 1.02	$3.07 \pm 1.01^{1)}$	$4.6 \pm 0.6^{1)}$	$5.0 \pm 2.6^{1)}$
TBIL (mmol/L)	3.23 ± 2	$27.7 \pm 5.15^{1)}$	$36.3 \pm 4.61^{1)}$	$45.2 \pm 34.9^{1)}$

注: 1) 与术前比较, $P < 0.05$

Note: $P < 0.05$ vs. preoperative value

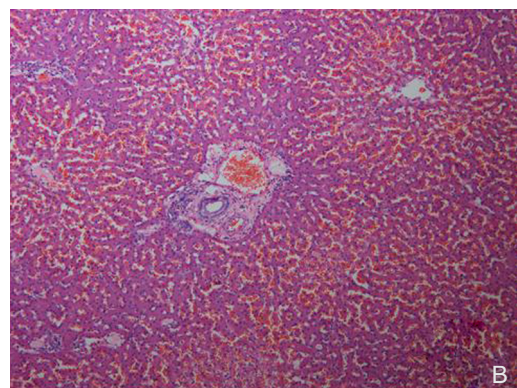
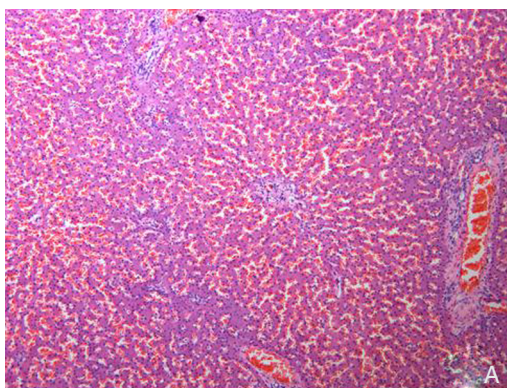


图 2 肝脏组织 HE 染色 ($\times 100$) A: 术前正常肝脏组织; B: 结扎 10 d 后胆管扩张肝脏组织

Figure 2 HE staining of liver tissue ($\times 100$) A: Normal liver tissue before surgery; B: Liver tissue at 10 d after the common bile duct

3 讨 论

正常成年犬胆总管外径约1~2 mm, 过于细小, 因此在进行胆道疾病研究和手术训练时常需建立胆总管梗阻模型。常用的方法包括胆总管钳夹法^[2]和胆总管结扎法^[4], 但这些方法均须在开腹下实施, 费时费力、创伤大、术后恢复慢增加了手术及术后的风险性。因此, 笔者通过实验, 设计出一种微创的、简便的、快捷的方式来建立犬胆总管梗阻模型。

本实验在腹腔镜下行胆总管结扎, 以达到微创化胆总管梗阻的目的, 极大地简化了动物模型制备的过程。本实验通过不同测定时间段肝酶水平以及10 d后开腹测量胆总管直径, 证实了6例梗阻动物模型均成功建立, 无任何胆道及其他并发症的发生, 说明腹腔镜胆道梗阻模型制备是可行的。血象作为反应机体炎症程度的指标, 与创伤程度有明显关系。当机体手术后, 会应激性增高, 严重影响着预后^[5-6]。白细胞是血象的重要组成部分, 起着抵御病原微生物的作用, 也是最能直接反应炎症感染程度的指标。无论开腹还是腹腔镜手术, 白细胞均会升高, 但腹腔镜手术后白细胞升高轻微且恢复较快^[7], 亦有研究^[8]表明腹腔镜术后WBC升高不明显 ($P>0.05$), 开腹组术后WBC明显升高 ($P<0.01$)。这可能由于腹腔镜手术微创, 也可能是因为白细胞低敏感性。C-RP也能够反应手术创伤大小且更为敏感。C-RP由肝脏合成, 应激状态下升高且与创伤程度呈正比^[9-11]。PCT在正常人中浓度极低 (<0.1 ng/mL), 细菌感染后浓度升高, 用于评估创伤后感染水平方面具有高度的敏感性及特异性^[12], 现有研究^[13-15]证实CRP及PCT在腹腔镜组中均明显低于开腹组。本实验中检测各时间点白细胞水平轻度升高, 且恢复较快, CRP, PCT无明显变化。充分证实了腹腔镜手术创伤小、炎症较轻的优势。

开腹手术过长的手术时间及麻醉吸入通常导致术后麻醉复苏较慢、术后恢复时间长等, 增加了手术难度也加大了术后风险。腹腔镜手术简便微创, 减少了麻醉剂不必要的摄入, 利于术后麻醉的复苏。大量文献^[16-17]也报道其方便、快捷以及更为清晰的操作视野大大缩短的手术时间, 提高胃肠道功能恢复, 术后并发症也有着明显优势^[18-20]。本研究中记录了平均手术时间、麻醉复苏时间以及术后进食时间, 均明显缩短, 动物状态恢复良

好, 降低了手术风险性。

此种简便的造模方式, 大大降低了术后腹腔粘连, 便于二次手术操作。这种方式也希望能给日后动物模型建造带来启示, 更多的微创化、简便的造模方式还有待于进一步探索。

参考文献

- [1] 郭若涵, 白彬. 大型动物实验性肝纤维化及肝硬化模型的研究进展[J]. 世界华人消化志, 2013, 21(5):421-426.
- [2] 刘仕琪, 雷鹏, 崔晓海, 等. 钳夹法制作犬良性胆道梗阻模型[J]. 中华普通外科杂志, 2012, 27(7):594-595.
- [3] 刘运枫. 犬腹腔镜技术的基础研究及其在临床中的应用[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2008:24.
- [4] 刘汝文, 陈丽玲, 陈洁. 两种动物胆管损伤实验研究中的比较[J]. 临床和实验医学杂志, 2010, 9(2):84-85.
- [5] Jakeways MS, Mitchell V, Hashim IA, et al. Metabolic and inflammatory responses after open or laparoscopic cholecystectomy[J]. Br J Surg, 1994, 81(1):127-131.
- [6] 尹作文, 喻军, 王永, 等. 腹腔镜辅助下胃癌D2根治术对患者血清炎症因子的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(3):383-385.
- [7] Jacobi CA, Ordemann J, Zieren HU, et al. Increased systemic inflammation after laparotomy vs laparoscopy in an animal model of peritonitis[J]. Arch Surg, 1998, 133(3):258-262.
- [8] 张建萍, 卢丹, 王维. 妇科腹腔镜术与剖腹手术对机体应激反应的比较研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2000, 16(10):615-616.
- [9] 杜成雄. 两种手术方式直肠癌术后应激反应期胃饥饿素的动态变化及其临床意义[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(10):1440-1443.
- [10] Haq Z, Rahman M, Siddique MA, et al. Interleukin-6(IL-6) and tumor necrosis factor-alpha in open and laparoscopic cholecystectomy[J]. Mymensing Med J, 2004, 13(2):153-156.
- [11] Almagor M, Mintz A, Sibirsky O, et al. Preoperative and postoperative levels of interleukin-6 in patients with acute appendicitis: comparison between open and laparoscopic appendectomy[J]. Surg Endosc, 2005, 19(3):331-333.
- [12] 谢卫星, 时兢, 宋秀琴, 等. 降钙素原在鉴别感染性和非感染性全身炎症反应综合征中的意义[J]. 内科急危重症杂志, 2004, 10(3):143-145.
- [13] Nishiguchi K, Okuda J, Toyoda M, et al. Comparative evaluation of surgical stress of laparoscopic and open surgeries for colorectal carcinoma[J]. Dis Colon Rectum, 2001, 44(2):223-230.
- [14] Hildebrandt U, Kessler K, Plusczyk T, et al. Comparison of surgical stress between laparoscopic and open colonic resections[J]. Surg Endosc, 2003, 17(2):242-246.
- [15] Nguyen NT, Goldman CD, Ho HS, et al. Systemic stress response after laparoscopic and open gastric bypass[J]. J Am Coll Surg, 2002,

- 194(5):557-566.
- [16] 张衍胜, 高翔宇. 腹腔镜辅助全胃切除术与开腹全胃切除术治疗胃癌的疗效及早期预后比较[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(10):1447-1449.
- [17] Dulucq JL, Wintringer P, Stabilini C, et al. Laparoscopic and open gastric resections for malignant lesions: a prospective comparative study[J]. Surg Endosc, 2011, 19(7):933-938.
- [18] 夏永红. 腹腔镜胆囊切除术和开腹胆囊切除术后并发症发生率的比较[J]. 中国普通外科杂志, 2012, 21(8):1010-1012.
- [19] 杨家新, 刘祥尧, 彭延春, 等. 腹腔镜与开腹手术治疗结直肠癌术中及术后并发症发生率的比较[J]. 中国普通外科杂志, 2012, 21(12):1590-1592.
- [20] 任克彦. 经腹腔镜下直肠癌根治术与开腹手术的近期疗效比较[J]. 中国普通外科杂志, 2013, 22(3):374-376.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 薛飞, 吕毅, 魏宏昌, 等. 腹腔镜犬胆道梗阻模型研究[J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(2):211-215. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.02.011

Cite this article as: XUE F, LU Y, GUO HC, et al. Experimental study on canine biliary obstruction using laparoscopic technique[J]. Chin J Gen Surg, 2015, 24(2):211-215. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.02.011

本刊常用词汇英文缩写表

C-反应蛋白	CRP	甲型肝炎病毒	HAV	心电图	ECG
Toll 样受体	TLRs	碱性成纤维细胞转化生长因子	bFGF	心脏监护病房	CCU
氨基末端激酶	JNK	聚合酶链反应	PCR	血管紧张素 II	AngII
白细胞	WBC	抗生物素蛋白-生物素酶复合物法	ABC 法	血管内皮生长因子	VEGF
白细胞介素	IL	辣根过氧化物酶	HRP	血管性血友病因子	vWF
半数抑制浓度	IC ₅₀	链霉抗生物素蛋白-生物素酶复合物法	SABC 法	血红蛋白	Hb
变异系数	CV	磷酸盐缓冲液	PBS	肌酐	SCr
标记的链霉抗生物素蛋白-生物素法	SP 法	绿色荧光蛋白	GFP	血尿素氮	BUN
表皮生长因子	EGF	酶联免疫吸附测定	ELISA	血小板	PLT
丙氨酸转氨酶	ALT	美国食品药品监督管理局	FDA	血压	BP
丙二醛	MDA	脑电图	EEG	血氧饱和度	SO ₂
丙型肝炎病毒	HCV	内毒素/脂多糖	LPS	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸	NADPH
超氧化物歧化酶	SOD	内皮型一氧化氮合酶	eNOS	严重急性呼吸综合征	SARS
磁共振成像	MRI	内生肌酐清除率	CCr	一氧化氮	NO
极低密度脂蛋白胆固醇	VLDL-C	尿素氮	BUN	一氧化氮合酶	NOS
低密度脂蛋白胆固醇	LDL-C	凝血酶时间	TT	乙二胺四乙酸	EDTA
动脉血二氧化碳分压	PaCO ₂	凝血酶原时间	PT	乙酰胆碱	ACh
动脉血氧分压	PaO ₂	牛血清白蛋白	BSA	乙型肝炎病毒	HBV
二甲基亚砜	DMSO	热休克蛋白	HSP	乙型肝炎病毒 e 抗体	HBeAb
反转录-聚合酶链反应	RT-PCR	人类免疫缺陷病毒	HIV	乙型肝炎病毒 e 抗原	HBeAg
辅助性 T 细胞	Th	人绒毛膜促性腺激素	HCG	乙型肝炎病毒表面抗体	HBsAb
肝细胞生长因子	HGF	三磷酸腺苷	ATP	乙型肝炎病毒表面抗原	HBsAg
干扰素	IFN	三酰甘油	TG	乙型肝炎病毒核心抗体	HBcAb
高密度脂蛋白胆固醇	HDL-C	生理氯化钠溶液	NS	乙型肝炎病毒核心抗原	HBcAg
谷胱甘肽	GSH	世界卫生组织	WHO	异硫氰酸荧光素	FLTC
固相 pH 梯度	IPG	双蒸水	ddH ₂ O	诱导型一氧化氮合酶	iNOS
核糖核酸	RNA	丝裂原活化蛋白激酶	MAPK	原位末端标记法	TUNEL
核因子-κB	NF-κB	四甲基偶氮唑盐微量酶反应	MTT	杂合性缺失	LOH
红细胞	RBC	苏木精-伊红染色	HE	增强化学发光法	ECL
红细胞沉降率	ESR	胎牛血清	FBS	肿瘤坏死因子	TNF
环氧化酶-2	COX-2	体质量指数	BMI	重症监护病房	ICU
活化部分凝血活酶时间	APTT	天冬氨酸氨基转移酶	AST	转化生长因子	TGF
活性氧	ROS	脱氧核糖核酸	DNA	自然杀伤细胞	NK 细胞
获得性免疫缺陷综合征	AIDS	细胞间黏附分子	ICAM	直接胆红素	DBIL
肌酐	Cr	细胞外基质	ECM	总胆固醇	TC
基质金属蛋白酶	MMP	细胞外调节蛋白激酶	ERK	总胆红素	TBIL
计算机 X 线断层照相技术	CT	纤连蛋白	FN		