



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.02.013
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.02.013
Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(2):221-225.

· 基础研究 ·

豚鼠不全性胆道梗阻早期 Oddi 括约肌功能的变化

徐贤刚¹, 石承先¹, 汤可立¹, 钟浩丽², 张德林¹, 张帅民¹, 罗丹¹

(1. 贵州省人民医院肝胆外科, 贵州 贵阳 550002; 2. 贵州省贵阳市妇女儿童医院麻醉科, 贵州 贵阳 550001)

摘要

目的: 观察豚鼠胆道不全性梗阻后早期 Oddi 括约肌 (SO) 肌电活动及压力的变化。

方法: 16 只英国短毛豚鼠随机均分假手术组与模型组, 分别行假手术与制作胆总管不全性梗阻模型, 期间测定胆总管直径; 术后 1 周, 再次检测两组胆总管直径、肝功能指标、SO 肌电活动与动力学指标。

结果: 术后假手术组胆总管直径无明显改变 ($P>0.05$), 而模型组较术前明显增大 ($P<0.05$)。与假手术组比较, 模型组血清胆红素、肝酶水平明显升高 (均 $P<0.05$); SO 快波幅度和慢波振幅显著降低 (均 $P<0.05$), 但快波和慢波频率无统计学差异 (均 $P>0.05$); SO 基础压明显升高, 但 SO 峰压明显降低 (均 $P<0.05$), 而 SO 收缩频率无统计学差异 ($P>0.05$)。

结论: 不全性胆总管梗阻可使豚鼠 SO 快、慢波振幅降低, SO 基础压升高、收缩峰压降低, 这可能是胆道不全性梗阻时易诱发急性胆源性胰腺炎的重要机制之一。

关键词

胆汁淤积; 奥狄括约肌功能障碍; 豚鼠
中图分类号: R657.4

Changes of function of sphincter of Oddi after short-term partial bile duct obstruction

XU Xiangang¹, SHI Chengxian¹, TANG Keli¹, ZHONG Haoli², ZHANG Delin¹, ZHANG Shuaimin¹, LUO Dan¹

(1. Department of Hepatobiliary Surgery, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550002, China; 2. Department of Anesthesiology, Guiyang Women's & Children's Hospital, Guiyang 550001, China)

Abstract

Objective: To observe the changes of myoelectric activity and pressure in sphincter function of Oddi (SO) after short-term partial bile duct obstruction in guinea pigs.

Methods: Sixteen English short-hair guinea pigs were equally randomized into sham operation group and model group, and underwent sham operation and establishment of partial obstruction of the common bile duct (CBD) respectively, during which, the CBD diameters were measured. At one week after operation, the CBD diameters were measured again, and the liver function parameters, as well as the electrical activity and dynamic variables of SO were determined.

Results: After operation, the CBD diameter in sham operation group showed no significant change ($P>0.05$), but it was significantly enlarged in model group ($P<0.05$). In model group compared with sham operation group, the serum levels of bilirubin and liver enzymes were significantly increased (all $P<0.05$); the voltage amplitudes of

基金项目: 贵州省高层次人才基金资助项目 [黔科合人字 (2012) 22 号]。

收稿日期: 2014-12-24; 修订日期: 2015-01-25。

作者简介: 徐贤刚, 贵州省人民医院住院医师, 主要从事胆胰疾病基础与临床方面的研究。

通信作者: 石承先, Email: 2845573769@qq.com

both rapid and slow waves of SO were significantly decreased (both $P < 0.05$), while the frequencies of them had no significant difference (both $P > 0.05$); the basal SO pressure was increased but peak SO pressure was decreased significantly (both $P < 0.05$), while the SO contraction frequency showed no obvious difference ($P > 0.05$).

Conclusion: Partial CBD obstruction can cause decrease of voltage amplitudes of rapid and slow waves, basal pressure increase and peak pressure decrease in SO, and these changes may be one of the important mechanisms responsible for being prone to acute biliary pancreatitis in partial CBD obstruction.

Key words Cholestasis; Sphincter of Oddi Dysfunction; Guinea Pigs

CLC number: R657.4

Oddi括约肌 (sphincter of Oddi, SO) 是位于胆管、胰管和十二指肠交汇处的神经肌肉复合体, 在神经和体液因素的调节下, 胆囊和SO的周期性协调运动调节着胆汁和胰液向十二指肠流动, 并防止十二指肠内容物逆流回胆道和胰管。急性胰腺炎约60%为胆源性胰腺炎, 其中大部分为胆道结石所致^[1]。研究^[2]发现, SO功能异常可诱发急性胰腺炎。但胆道结石引起的胆道不全性梗阻对SO是否有影响, 并不完全清楚。近年来, 大量的基础研究使SO的测压技术及SO电信号采集分析技术逐步成熟并成为评定SO运动功能的指标^[3]。本实验以丝线结扎法建立豚鼠胆总管不全性梗阻模型, 通过测豚鼠SO的肌电、压力, 以探讨不全性胆道梗阻对豚鼠SO功能的影响及与急性胰腺炎的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组

16只英国短毛一级豚鼠, 雌雄不限, 年龄4~6个月, 体质量450~650 g, 均购自贵阳医学院实验动物中心, 随机分成假手术组与模型组, 每组8只。

1.2 建立豚鼠不全性胆道梗阻模型

豚鼠禁食12 h以上, 不禁水。3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉 (40 mg/kg, 上海试剂二厂, 批号: 790105)。将豚鼠固定于自制的实验台上, 脱毛膏脱去豚鼠腹部体毛, 常规消毒铺敷。右上腹直肌切口5 cm, 暴露豚鼠肝门部, 沿胆囊管寻找胆总管, 在1×10放大镜下用游标卡尺测定胆总管中段直径, 分别记录。模型组豚鼠开腹后, 于胆总管中段用4-0丝线将直径约1/2豚鼠胆总管的导管与豚鼠胆总管并行捆绑式结扎后拔出导管, 造成胆总管不全性梗阻的动物模型^[4]。对照组单纯触压胆总管, 不结扎胆总管。所有动物术后常规抗感染3 d。按组分笼饲养, 予维生素C 0.2~0.4 mg/L加入饮用水中, 自由进水。饲养环境保持安静, 室

温控制在18~29 °C, 湿度40%~70%^[5]。饲养1周后行各项指标检测。

1.3 测定SO肌电

制作双极金属钩状电极, 将2块有机玻璃切割成长5 cm、宽1 cm、厚0.5 cm条块, 沿纵轴打磨出2条平行凹槽, 间距0.2 cm。取2根长10 cm、直径0.2 mm的绝缘铜丝导线分别放进2条平行凹槽, 2块有机玻璃间用粘合剂粘连; 前端暴露铜丝导线约1 cm, 尖端0.5 cm剪去绝缘皮、暴露铜芯, 用于连接微型电极钩。后端暴露铜芯约1 cm, 用于连接生理仪导联。取7-0带线缝针2枚, 紧贴针尾剪掉带线, 镀银。针尖0.2 cm弯曲120 °C呈钩状。针尾用电烙铁焊接在铜芯前端。在有机玻璃条块中段拦腰打磨出一凹槽, 以备使用丝线悬吊固定^[6]。

术后7 d, 按上述方法麻醉豚鼠, 分别取各组豚鼠尾静脉采血2 mL/只, 用于血清查胆红素及转氨酶检测。取原手术切口入腹, 分离粘连, 在测量胆总管直径后, 确定胆总管进入十二指肠的位置, 找到乳头部, 将豚鼠移入PBG-2型生理实验屏蔽柜 (成都仪器厂, 贵阳中医学院中心实验室)。放大镜 (1×10) 下将双极钩状金属电极刺入乳头处浆膜下约0.2 mm, 不可刺入太深, 防止刺透胆总管壁。2个钩状金属电极间距约2 mm, 然后用丝线悬吊于实验架上维持一定张力, 调整不锈钢万能支架使之保持一定张力和适当的角度; 每隔1 h浆膜表面喷洒少量生理盐水, 防止表面干燥; 2个信号输出端分别接多导生理仪正、负极, 在豚鼠下肢插入1枚金属注射器针头, 连接多导生理仪地极, 屏蔽柜接地以排除外界干扰。双极金属钩状电极采集到的肌电信号, 传入swF-1高阻抗微电极放大器, 信号放大后传入Asb280U型多通道生理仪 (成都仪器厂), 然后进入计算机, 经专门用于胃肠肌电信号采集处理的软件系统处理后储存。设定参数为: 扫描速度500 ms/div、灵敏度200 μV、时间参数1 s、滤波频率10 Hz。肌

电图形最后经10~30 Hz数字滤波处理。用肌电簇(MASO)及锋电位(SPSO)作为观察指标,以SO肌电活动完整周期为100%,以每1个5%的区间为单位计算平均快、慢波幅值、频率^[7]。记录60~80 min。按设置参数平滑滤波滤过胃肠道及呼吸肌肌电波形,待波形稳定后,取40 min时间段做统计分析(图1)。

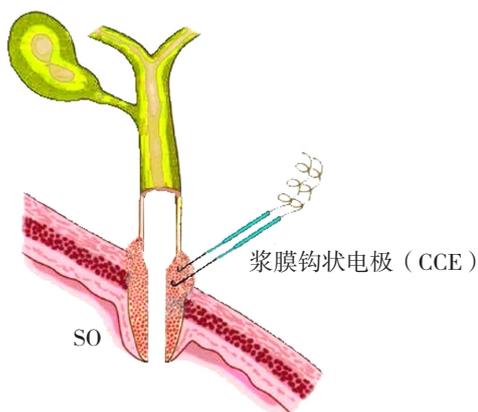


图1 SO肌电信号采集示意图

Figure 1 Collection of the SO electromyographic signals

1.4 测定豚鼠 SO 压力

SO肌电信号采集结束后,拆除肌电信号采集装置;将动物移至屏蔽室,按下列步骤测定豚鼠SO压力(图2)。

取小儿三腔中心静脉导管插管1根(4 F、长30 cm),距末端出水侧孔远端0.2 cm剪断导管,头端处理圆钝,便于插入十二指肠乳头。于该出水侧孔上下2 mm处各开1个直径约0.3 mm的侧孔。于三腔中心静脉导管各头端分别标注测压管腔(a1、a2)、注水管腔(b)。这样就制成了SO动力学检测导管。

1.4.1 测压前准备 (1)胆汁分流:于胆总管上端结扎,此处上0.2 cm插入直接约0.5 cm高顺应性导管近端,并结扎以引流胆汁。距十二指肠乳头远端约5 cm处将导管远端插入十二指肠,4-0丝线荷包缝合固定。(2)胃造瘘:于胃幽门部(距十二指肠乳头约2 cm),用4-0丝线结扎,胃体部造瘘,置入直径约0.5 cm导管荷包缝合固定,备引流胃液。(3)十二指肠造瘘:用4-0慕丝线在距十二指肠乳头约4 cm处十二指肠远端结扎十二指肠。结扎处近端十二指肠造瘘,并置入直接约0.5 cm高顺应性导管,备引流十二指肠液。(4)插入测压导管:于自制多通道测压导管的a1、a2管腔注满去离子水,驱除管腔内的全部气泡,接MLA844生理学

压力换能器;压力换能器再与ML110桥式放大器相接,然后再接上Powerlab(4/25,4通道)主机(澳大利亚ADInstruments PtyLtd公司)以及与之相连接的计算机系统。用空气加压法设定坐标,调零;分别取0 mmHg(1 mmHg=0.133 kpa)和200 mmHg基线校准。并与胆总管下段插入自制多通道测压导管连接。进水管腔头端接袋式输液器,输液器接微量压力泵,袋内注满去离子水250 mL。并用丝线结扎固定该管,待测压。

1.4.2 SO压力记录 将测压导管经十二指肠乳头插入十二指肠腔,以十二指肠腔内压力为基准再次调零。测压管退入壶腹部,打开输液器,开放十二指肠造瘘管远端。微量压力泵调节滴速为4滴/min(15 mL/h),去离子水从导管末端侧孔逸出克服的阻力即SO的基础压力。压力信号的变化通过水流传递到压力换能器感受,并转变为数据信号,直接输入计算机,记录SO收缩频率、SO基础压、SO峰压^[8]。每只动物连续记录60~80 min。

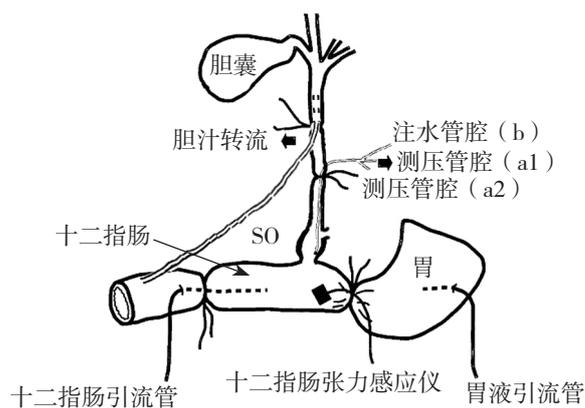


图2 多通道水灌注法胆道压力采集示意图^[9]

Figure 2 Multi-channel infusion system for detection of biliary duct pressure^[9]

1.5 统计学处理

所有数据应用SPSS 17.0软件进行处理。实验结果以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组内与组间样本均数比较采用t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物一般情况

所有豚鼠术后均正常存活。未发生切口感染及严重腹腔感染等并发症。术后均能进食,活动良好。模型组动物术后4 d出现轻度的烦躁,表现为用前爪抓挠面部。

2.2 胆总管的变化

模型组胆总管明显扩张,胆囊肿大,胆管壁明显充血水肿,增厚,胆汁呈黑色,胆总管直径较术前明显增大,差异有统计学意义($P<0.05$);假手术组胆总管直径手术前后差异无统计学意义($P>0.05$) (表1)。

表1 两组手术前后胆总管直径比较 (mm)

Table 1 Comparison of the CBD diameters between the two groups before and after operation (mm)

组别	术前	术后1周
假手术组	1.05 ± 0.12	1.06 ± 0.10
模型组	1.06 ± 0.17	4.26 ± 0.48 ¹⁾

注:与术前比较, $P<0.05$

Note: 1) $P<0.05$ vs. preoperative value

2.3 肝功能的变化

模型组豚鼠术后血清总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、谷丙转氨酶(ALT)及碱性磷酸酶(ALP)均较假手术组明显升高,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$) (表2)。

表2 两组肝功能指标比较

Table 2 Comparison of the liver function parameters between the two groups

组别	TBIL (mmol/L)	DBIL (mmol/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)
假手术组	0.25 ± 0.05	0.18 ± 0.05	36.13 ± 11.87	56.87 ± 26.31
模型组	13.51 ± 4.29 ¹⁾	10.55 ± 3.21 ¹⁾	130.38 ± 17.68 ¹⁾	685.0 ± 304.28 ¹⁾

注:1)与假手术组比较, $P<0.05$

Note: 1) $P<0.05$ vs. sham operation group

2.4 SO电活动变化

模型组豚鼠快、慢波振幅均较假手术组明显降低,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),但两组间两者的频率差异均无统计学意义(均 $P>0.05$) (表3)。

表3 两组SO电活动比较

Table 3 Comparison of SO electrical activities between the two groups

组别	快波振幅 (uv)	快播频率 (次/min)	慢波振幅 (uv)	慢波频率 (次/min)
假手术组	97.98 ± 14.08	19.37 ± 2.50	30.75 ± 6.92	12.87 ± 2.35
模型组	23.25 ± 6.2 ¹⁾	16.50 ± 3.33	16.00 ± 3.70 ¹⁾	11.50 ± 2.87

注:1)与假手术组比较, $P<0.05$

Note: 1) $P<0.05$ vs. sham operation group

2.5 SO动力学变化

模型组豚鼠SO基础压较对照组明显升高,但

SO峰压较对照组明显降低,差异均有统计学意义($P<0.05$),两组SO收缩频率差异无统计学意义($P>0.05$) (表4)。

表4 两组SO动力学指标比较

Table 4 Comparison of the SO dynamic variables between the two groups

组别	SO基础压 (mmHg)	SO峰压 (mmHg)	SO收缩频率 (次/min)
假手术组	13.35 ± 2.02	9.87 ± 2.27	10.15 ± 2.04
模型组	23.11 ± 3.83 ¹⁾	5.76 ± 1.02 ¹⁾	11.88 ± 2.29

注:1)与假手术组比较, $P<0.05$

Note: 1) $P<0.05$ vs. sham operation group

3 讨论

3.1 不全性胆道梗阻模型与胆总管结石梗阻之间的关系

目前关于胆道梗阻的实验研究中,多采用以下方式建立胆道梗阻动物模型:单纯向胆管内注入大肠杆菌的方法^[10];在完全结扎胆总管的基础上向胆管内注入大肠杆菌建立急性重症胆管炎(ACST)模型的方法^[11];打开十二指肠乳头对侧系膜缘后经十二指肠乳头向胆道中置入硅胶管支撑并结扎胆总管法^[12];打开胆总管后放置T管做支撑结扎T管下端胆总管并经T管注射内毒素混浊液,夹闭T管法^[13]。这些分别或是单纯模拟了胆管炎、或造成ACST,动物后死亡率高、或因打开十二指肠术后有发生肠痿的风险。本实验借助放大镜和游标卡尺帮助,选用直径小于豚鼠胆管直径的导管与豚鼠胆总管并行做外支撑,丝线结扎后拔出导管的方法制作胆总管不全梗阻模型,只需游离部分胆总管后壁,对实验动物创伤小,操作简单、方便,无动物死亡;从肝功能、胆红素及胆总管直径等指标分析,与临床不全性胆总管梗阻较符合。

临床上,以胆总管结石为主要病因的胆道良性梗阻大多表现为胆总管不全梗阻,表现为胆总管扩张,胆管壁充血水肿、增厚,或脓性胆汁等征象^[14]。本实验所见胆总管不全梗阻的改变与胆总管结石所致的胆总管梗阻比较相似。

3.2 不全性胆道梗阻对SO运动功能的影响

评价SO功能主要包括肌电测定和压力测定。历经半个世纪的反复研究,SO测压技术目前已成为检查SO运动功能异常的“金标准”^[15]。SO肌电信号的采集方法,根据记录部位的不同分为:消化道腔外电极记录法、消化道腔内电极记录法、

和表面电极记录法。消化道腔外电极记录法,多采用针形电极,消化道腔内电极记录法因干扰大,定位不准确,仅少数研究使用^[16]。所以针形电极经消化道腔外记录法成为SO肌电记录的主要方法。消化道腔内电极记录法目前常用的是黏膜下接触电极。虽有学者^[17]对两种电极采集到SO电信号进行了对比,发现两种不同电极采集的SO电信号波形基本一致,但放置黏膜下接粗电极破坏了胆道十二指肠的自然解剖结构,其结果也受到学界的质疑。本实验在前人的研究基础上,用自制金属钩状微电极测定SO肌电。从本实验结果中可以看出,模型组豚鼠SO快、慢波振幅较假手术组明显降低,可能与细胞的电阻和相邻细胞之间的直接电联系发生改变,其兴奋性的产生和传导都受到了影响,肌细胞动作电位阈值上调,而去极化峰电位降低有关。SO快、慢波振幅明显降低,可能使SO舒张力减弱,SO括约肌压力明显升高也说明这一点。本实验发现,SO括约肌压力明显升高可以导致胰管高压,从而诱发急性胰腺炎^[18-19]。

目前SO压力测定的方法有3种:直接内镜测压、探头传感器测压、间接测压,其中经内镜测压是唯一直接测定SO括约肌运动功能的方法^[20]。常用的内镜测压法又分两种:水灌注式导管法和微传感法。本实验选择了目前常用水灌注式导管测压法测定豚鼠胆总管不全梗阻后SO的压力变化。实验结果显示,胆道梗阻后SO基础压力明显升高,但SO峰压却降低,提示胆总管不全梗阻后,SO的运动功能异常。SO基础压力明显升高,而SO峰压却降低,提示SO舒张功能下降,这也可能是急性胆源性胰腺炎易于发生的重要原因之一。

参考文献

- [1] 包文中,孟翔凌,汤大纬,等.胆囊结石合并急性胰腺炎早期和延期LC临床疗效分析[J].中国普通外科杂志,2013,22(9):1232-1234.
- [2] Chen JW, Saccone GT, Toouli J, et al. Sphincter of Oddi dysfunction and acute pancreatitis[J]. Gut, 1998, 43(3):305-308.
- [3] 黄志强.胆胰肠结合部--外科“遗忘”的角落[J].中国实用外科杂志,2010,30(5):329-331.
- [4] Piccinni G, Angrisano A, Testini M, et al. Diagnosing and treating Sphincter of Oddi dysfunction: a critical literature review and reevaluation[J]. J Clin Gastroenterol, 2004, 38(4):350-359.
- [5] 孙以方,白德成,张文慧.医学实验动物学教程[M].郑州:河南医科大学出版社,1998:229-230.
- [6] 李虎城,董家鸿,陈飞,等. Oddi括约肌肌电活动实验模型的建立[J].中华消化外科杂志,2007,6(5):377-380.
- [7] 陈飞,李虎城,李智华,等.犬 Oddi括约肌肌电的研究[J].消化外科,2006,5(2):125-128.
- [8] Craig AG, Omari TI, Saccone GT, et al. Evaluation of multiple-point measurement of sphincter of Oddi motility in the Australian brush-tailed possum[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2000, 279(4):G837-843.
- [9] Toouli J, Craig A. Clinical aspects of sphincter of Oddi function and dysfunction[J]. Curr Gastroenterol Rep, 1999, 1(2):116-122.
- [10] 苗雄鹰,庄赞根,梁路峰,等.茵陈胆道汤治疗急性胆管炎的实验研究[J].中国中西医结合外科杂志,2000,6(6):406-408.
- [11] 黄鹤光,殷凤峙,石铮.重症急性胆管炎伴肝肾功能不全时的肝肾病理改变[J].中华实验外科杂志,1996,13(5):298-299.
- [12] 薛承锐,李珊珊,寇丽,等.活血清胆中药对实验性胆管炎炎症介质的协同调节作用[C]//第八届全国中西医结合普通外科临床与基础学术会议暨全国中西医结合外科危重病学习班论文汇编.大连:第八届全国中西医结合普通外科临床与基础学术会议暨全国中西医结合外科危重病学习班,2003:215-217.
- [13] 常伟华,李智华,陈飞,等. Oddi括约肌功能异常在兔肝内胆管结石形成中的作用[J].中国普通外科杂志,2009,18(2):131-135.
- [14] 颜禄斌,崔鸿斌,何秋明,等.胆总管结石的诊疗进展[J].中国普通外科杂志,2013,22(8):1074-1077.
- [15] Woods CM, Mawe GM, Toouli J, et al. The sphincter of Oddi: understanding its control and function[J]. Neurogastroenterol Motil, 2005, 17 (Suppl 1):31-40.
- [16] Abell TL, Werkman RF, Familoni BO, et al. Biliary, pancreatic, and sphincter of Oddi electrical and mechanical signals recorded during ERCP[J]. Dig Dis Sci, 1998 43(3):540-546.
- [17] 陈飞,李虎城,李智华,等.黏膜接触电极在家兔Oddi括约肌肌电测量中的应用价值[J].中华肝胆外科杂志,2006,12(8):544-546.
- [18] Chen JW, Thomas A, Woods CM, et al. Sphincter of Oddi dysfunction produces acute pancreatitis in the possum[J]. Gut, 2000, 47(4):539-545.
- [19] Chen JW, Shi CX, Teng MJ, et al. Scorpion venom stimulates biliary/duodenal motility and pancreatic exocrine secretion[J]. Neurogastroenterol Motil, 2004, 16(4):447-454.
- [20] Patsenker E, Popov Y, Stickel F, et al. Inhibition of integrin alphavbeta6 on cholangiocytes blocks transforming growth factor-beta activation and retards biliary fibrosis progression[J]. Gastroenterology, 2008, 135(2):660-670.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式:徐贤刚,石承先,汤可立,等.豚鼠不全性胆道梗阻早期Oddi括约肌功能的变化[J].中国普通外科杂志,2015,24(2):221-225. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.02.013

Cite this article as: XU XG, SHI CX, TANG KL, et al. Changes of function of sphincter of Oddi after short-term partial bile duct obstruction[J]. Chin J Gen Surg, 2015, 24(2):221-225. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.02.013