

文章编号:1005-6947(2006)01-0037-03

· 实验研究 ·

# 肝缺血再灌注后肝内血流动力学的变化

侍阳, 李向农, 李文美, 丁伟

(徐州医学院附属医院 普通外科, 江苏 徐州 221002)

**摘要:** **目的** 探讨肝脏缺血再灌注(I/R)后肝内分流(IHSF)和功能性肝血流(FHBF)的变化。**方法** 健康雄性SD大鼠12只,作右侧颈动脉、颈静脉插管;开腹后,经回结肠静脉作门静脉插管,分别用以输血、输液、给药、留样、检测等。大鼠经部分肝I/R制模后,随机分为2组(每组6只):(1)正常对照组(对照组),术中只分离肝周围韧带,不作肝门阻断及再灌注。(2)缺血再灌注组(I/R组,实验组),进行45 min的肝门阻断及60 min的再灌注。然后两组均经门静脉输注D-山梨醇(10 mmol/L, 0.2 mL/min), 2 min后同时取颈动脉、门静脉、肝静脉血各1 mL。测定门静脉血流量(PVF)、肝动脉血流量(HAF)。计算肝脏山梨醇摄取率、FHBF和IHSF。**结果** 两组PVF, HAF及总肝血流量(THBF)无明显统计学差异;与对照组比较,I/R组肝脏山梨醇摄取率和FHBF减少,IHSF增加( $P < 0.01$ )。**结论** 肝I/R后,肝内血流动力学变化表现为肝内门-体分流开放,功能性肝血流减少。

**关键词:** 再灌注损伤/血液; 肝缺血

**中图分类号:** R619.9; R333.4

**文献标识码:** A

## Changes of intrahepatic hemodynamics after liver ischemia reperfusion in rats

SHI Yang, LI Xiang-nong, LI Wen-mei, DING Wei

(Department of General Surgery, the Affiliated Hospital, Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221002, China)

**Abstract:** **Objective** To study the changes of intrahepatic shunt flow (IHSF) and functional hepatic blood flow (FHBF) after liver ischemia reperfusion in rats. **Methods** 12 healthy male SD rats were anaesthetized and heparinised. The right carotid artery, jugular vein and two distal ileocolic veins were cannulated for blood transfusion, volume compensation, drug infusion, and blood sampling respectively. Rats were randomly divided into 2 groups. Group 1 was the sham operation control group. Group 2 rats was ischemic/reperfusion (I/R) group, subjecting to 45 min liver lobar ischemia and 60 min reperfusion. Both groups received infusion of D-sorbitol (10 mmol/L, 0.2 mL/min) via portal venous, and blood samples (1 mL) were drawn simultaneously from the carotid, portal venous, and hepatic venous catheters. Portal venous flow (PVF) and hepatic arterial flow (HAF) were measured via flow probes. Hepatic sorbitol uptake rate, FHBF and IHSF were calculated. **Results**

There were no significant differences between the two groups in PVF, HAF and total hepatic blood flow (THBF). Compared to control group, hepatic sorbitol uptake rate as well as FHBF were decreased and IHSF was increased in I/R group ( $P < 0.01$ ). **Conclusions** After liver ischemia reperfusion in rats, intrahepatic portal systemic shunts were opened and FHBF was reduced.

**Key words:** Reperfusion Injury/blood; Liver Ischemia

**CLC number:** R619.9; R333.4

**Document code:** A

肝缺血再灌注(ischemia-reperfusion, I/R)损伤见于许多临床病理过程和肝脏手术过程,肝内微循

环障碍的发生与其有关<sup>[1]</sup>。研究表明,正常大鼠肝脏存在肝内门-体分流(IPSS)。当肝窦阻力增加时,如门静脉内注射乳胶微球造成肝内窦前梗阻或其他病理状态,肝内门-体分流量(IHSF)可高达门静脉血流量的70%。其有效阻止门静脉压力升高的同时,也可增加肝脏的无效灌注,减少肝脏功能性血流量(FHBF)<sup>[2-3]</sup>。本实验旨在观察大鼠肝I/R后的IHSF, FHBF等肝内血流的变化。

**基金项目:**江苏省卫生厅医学科技发展基金重大课题(H200204)。

**收稿日期:**2005-01-17; **修订日期:**2005-12-24。

**作者简介:**侍阳,男,江苏泗阳人,徐州医学院附属医院主任医师,主要从事肝胆外科基础与临床方面的研究。

**通讯作者:**侍阳 电话:0516-5207266; E-mail: shiyang999@126.com。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物及动物模型的建立

1.1.1 实验动物 健康雄性SD大鼠,体重300~400g,徐州医学院实验动物中心提供。

1.1.2 动物模型的建立 采用部分肝I/R模型,参考李向农<sup>[3]</sup>山梨醇摄取率实验。大鼠术前禁食12h,自由饮水;20%乌拉坦作腹腔注射麻醉[0.5mL/100g(体重)]。麻醉生效后,尾静脉给予肝素200U/kg缓慢注入。分别作右侧颈动脉和颈静脉分离、插管并接血管三通阀;颈动脉插管通过换能器连于多道生理仪监测平均动脉压(MAP)、心率(HR),以及用于颈动脉血样留取。颈静脉插管用于输液、输血、容量补充。正中切口开腹,选2根回结肠静脉插管;其中1根插入1cm,连于已装载山梨醇注射液的微量输液泵用于门静脉输注山梨醇,另1根导管插入门静脉主干用于测量门静脉压力(PVP)和留取门静脉血样。22G套管针穿刺肝中叶潜行至左、右肝静脉汇合部,用于留取肝静脉血样。仔细分离门静脉和肝动脉,置入口径合适的电磁血流量计探头,以测定血流量。游离肝左外侧叶周围韧带,显露肝左外叶肝蒂。显微手术用动脉夹阻断第5叶肝蒂,令该叶(约占肝总容积的30%)进入缺血状态;然后恢复被阻断肝叶血供,即建立部分肝I/R模型。

### 1.2 分组及实验设计

实验动物随机分成2组:(1)假手术对照组(对照组)6只,术中只分离肝周围韧带,不作肝门阻断及再灌注;(2)缺血再灌注组(I/R组,实验组)6只,施行45min的肝门阻断及60min的再灌注。

完成动物模型手术,待I/R组再灌注60min后,两组于相同时点经门静脉输注山梨醇(10mmol/L,0.2mL/min),2min后同时经颈动脉、门静脉、肝静脉导管取血1mL。为防止循环波动及血样溶血,须缓慢抽取10min。上述血样离心15min(3000r/min),取血清保存于-20℃待测山梨醇浓度。输注山梨醇期间分别测肝动脉血流量(HAF)和门静脉血流量(PVF)。为补偿容量损失,取血前手术过程适当补充生理盐水约4mL,取血期间则经颈静脉输注预先准备的肝素化新鲜鼠血(0.1mL/min)。

### 1.3 检测指标及方法

1.3.1 PVF和HAF 用电磁血流量计测,取描记稳定后的平均值为该指标所得值。

1.3.2 山梨醇浓度测定 用酶分光光度法测定颈动脉、门静脉、肝静脉血的山梨醇浓度。0.15mL 10%的冷高氯酸加至0.3mL血浆中,于4℃保存

24h至血浆蛋白沉淀。再离心,0.2mL上清液用0.05mL 2mmol/L K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>中和。15min后,再离心,取上清液0.2mL,加1mL缓冲液(49.6mg/mL Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>,pH 9.5)、山梨醇脱氢酶(0.28mg/mL)及烟酰胺嘌呤二核苷酸。20℃保存60min,340nm处读吸收率。

1.3.3 各指标的记录与计算方法 PVF和HAF以mL/[min·100g(体重)]表示。总肝血流量(THBF)等于PVF+HAF。因颈动脉和肝动脉血中山梨醇浓度相等,肝脏山梨醇摄取率、FHBF和IHSF分别按下列公式计算<sup>[3]</sup>:

$$(1) \text{ 肝脏山梨醇摄取率}(\%) = [(PVF \times S_{PV} + (HAF \times S_{CA})] - [(PVF + HAF \times S_{HV})] / (PVF \times S_{PV} + (HAF \times S_{HV}))$$

(S<sub>PV</sub>, S<sub>CA</sub>, S<sub>HV</sub>分别代表门静脉、颈动脉、肝静脉的山梨醇浓度)

$$(2) \text{ FHBF} = \text{THBF} \times \text{肝脏山梨醇摄取率}$$

$$(3) \text{ IHSF} = \text{THBF} - \text{FHBF}$$

### 1.4 统计学处理

数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。使用统计软件Stata4.0和Excel 2000,配对设计t检验,检验水准 $\alpha = 0.01$ 。

## 2 结果

### 2.1 山梨醇摄取率

对照组肝山梨醇摄取率近乎完全。I/R组,肝静脉山梨醇浓度(S-hv)和颈动脉山梨醇浓度(S-ca)均较对照组明显增高( $P < 0.01$ ),而肝脏山梨醇摄取率较对照组明显降低( $P < 0.01$ )(表1)。

表1 两组肝脏山梨醇摄取率及门静脉、肝静脉、颈动脉的山梨醇浓度

组别	山梨醇浓度(mmol/L)			梨醇摄取率(%)
	门静脉	肝静脉	颈动脉	
对照组	0.434±0.007	0.006±0.000	0.005±0.001	98.3±0.1
I/R组	0.446±0.009	0.084±0.010	0.067±0.017	76.1±2.6
P值	>0.01	<0.01	<0.01	<0.01

### 2.2 肝脏血流动力学

两组PVF,HAF,THBF无统计学差异。对照组IHSF很小,THBF几乎等于FHBF。I/R组IHSF明显增加,而FHBF明显下降( $P < 0.01$ )(表2)。

表2 两组肝血流检测结果mL/[min·100g(体重)]

组别	PVF	HAF	THBF	IHSF	FHBF
对照组	1.63±0.37	0.41±0.10	2.04±0.45	0.035±0.009	2.01±0.44
I/R组	1.26±0.26	0.41±0.07	1.68±0.26	0.401±0.075	1.28±0.21
P值	>0.01	>0.01	>0.01	<0.01	<0.01

### 3 讨论

传统认为,经典的肝脏血循环通路是:门静脉和肝动脉血流入肝后,经肝窦入肝静脉,汇入下腔静脉。肝内有时存在“解剖性门体分流”,以门脉左支与副脐静脉交通最为常见,但被认为是一种较为罕见的疾病<sup>[4-5]</sup>。

Li等<sup>[2-3]</sup>报道,正常大鼠及肝硬变大鼠除经典通路外还存在固有的“肝内门-体分流(IPSS)”,亦有别于“肝内解剖性门体分流”,其起源于窦前I区,绕过肝窦而直接注入肝静脉,并用放射性微球测出其直径小于15 $\mu\text{m}$ 。生理情况下肝窦阻力极低,肝内门-体分流处于关闭状态,门静脉血全部流经肝窦。但当肝窦阻力增加时,如门静脉内注射乳胶微球造成肝内窦前梗阻或其他病理状态,肝内门-体分流量(IHSF)可高达门静脉血流量的70%。其作用主要在于防止PVP的异常升高,是生理情况下PVP和肝血流的重要调节机制之一。

流经肝窦、与肝细胞或库普弗细胞(Kupffer cell)进行正常物质交换的血流为功能性肝血流(FHBF)。肝内分流(IHSF)是通过肝脏但绕过肝窦、逃避肝内代谢而功能无效的那部分肝血流。由于“肝内解剖性门体分流”罕见,且实验证实大鼠肝内直径大于15 $\mu\text{m}$ 的分流管道分流量不足肝总血流量的1%<sup>[3]</sup>,由肝动脉血流量(HAF)及门静脉的血流量(PVF)组成的总肝血流量(THBF)应等于FHBF与IHSF之和。本实验基于此,通过检测肝脏山梨醇摄取率计算出FHBF,进而推测IHSF。

使用山梨醇测量肝血流量的依据是:山梨醇在体内的生物转化通过山梨醇脱氢酶的作用,后者主要存在于肝脏,体内其他组织含量极少;山梨醇具有很高的肝脏摄取率,其固有清除率远超平均的肝血流量;有相当大的安全剂量范围,在其范围内的代谢符合一级动力学;无肠肝循环,且容易测得<sup>[6-7]</sup>。肝代谢功能的改变对山梨醇摄取率的影响很小。当肝脏的代谢容量下降一半时,山梨醇摄取率仅从0.93下降到0.73;当肝脏代谢容量增加1倍时,山梨醇摄取率仅上升到0.99<sup>[8]</sup>。因此,本实验采取的部分肝缺血模型,仍可认为山梨醇摄取率的改变主要是肝血流改变的结果。经肝内门-体分流途径的山梨醇,虽入肝但不与肝细胞接触因而不被摄取,这部分血流即IHSF;流

经肝窦与肝细胞发生物质交换和代谢反应的FHBF中的山梨醇则被完全摄取,摄取率反映了FHBF的大小。本实验采取门静脉连续输注山梨醇的方法,检测计算肝脏摄取率,进而得出FHBF和IHSF。正常大鼠肝脏对山梨醇近乎完全摄取 $[(98.3 \pm 0.1)\%]$ ,THBF约等于FHBF,说明对照组大鼠的入肝血流几乎全部流经肝窦,成为功能性肝血流。而实验组山梨醇摄取率明显下降 $[(76.1 \pm 2.6)\%]$ ,I/R大鼠的肝血流有一部分并未流经肝窦。本研究结果显示,两组THBF并无明显差异,而FHBF和IHSF差异显著,大鼠肝脏经历I/R后,肝内门-体分流开放,FHBF减少。

有学者<sup>[9]</sup>研究指出,肝脏I/R过程中有血小板的活化及扣留现象,组织炎症反应和内皮细胞受损;组织学检查也发现I/R损伤后存在肝窦明显狭窄,纤维素沉积和红细胞、白细胞附壁等微循环紊乱的现象。这些病理改变是否会造成肝窦阻力增加,进而引起肝内门-体分流开放,尚待以后的研究证实。

#### 参考文献:

- [1] Teoh NC, Farrell GC. Hepatic ischemia reperfusion injury: pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2003, 18(8): 891-902.
- [2] Li X, Benjamin IS, Alexander B. The relationship between intrahepatic portal systemic shunts and microsphere induced portal hypertension in the rat liver [J]. *Gut*, 1998, 42(2): 276-282.
- [3] Li X, Benjamin IS, Naftalin R, et al. Location and function of intrahepatic shunts in anaesthetized rats [J]. *Gut*, 2003, 52(9): 1339-1346.
- [4] Tanoue S, Kiyosue H, Komatsu E, et al. Symptomatic intrahepatic portosystemic venous shunt: embolization with an alternative approach [J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2003, 181(1): 71-78.
- [5] Oguz B, Akata D, Balkanci F, et al. Intrahepatic portosystemic venous shunt: diagnosis by colour/power Doppler imaging and three-dimensional ultrasound [J]. *Br J Radiol*, 2003, 76(907): 487-490.
- [6] Molino G, Avagnina P, Belforte G, et al. Assessment of the hepatic circulation in humans: new concepts based on evidence derived from a D-sorbitol clearance method [J]. *J Lab Clin Med*, 1998, 131(5): 393-405.
- [7] Susanne K, Eva E, Peter O. D-sorbitol as a test substance for measurement of liver plasma flow in humans [J]. *Hepatology*, 1998, 27(1): 50.
- [8] Avagnina P, Martini M, Terzolo M, et al. Assessment of functional liver mass and plasma flow in acromegaly before and after long-term treatment with octreotide [J]. *Metabolism*, 1996, 45(1): 109-113.
- [9] 李涛, 邹志森, 万仁华. 肝缺血再灌注损伤对大鼠血小板功能状态的影响 [J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(8): 624-626.