

- maps to a region encoding growth factors and receptors. *Science* 1988;239:497-500
- 16 Zareie M, Singh PK, Irvine EJ, Sherman PM, McKay DM, Perdue MH. Monocyte/macrophage activation by normal bacteria and bacterial products: implications for altered epithelial function in Crohn's disease. *Am J Pathol* 2001;158:1101-1109
- 17 Grimm MC, Pavli P, Van de PE, Doe WF. Evidence for a CD14+ population of monocytes in inflammatory bowel disease mucosa--implications for pathogenesis. *Clin Exp Immunol*

- 1995;100:291-297
- 18 Rugtveit J, Haraldsen G, Hogasen AK, Bakka A, Brandtzaeg P, Scott H. Respiratory burst of intestinal macrophages in inflammatory bowel disease is mainly caused by CD14+L1+ monocyte derived cells. *Gut* 1995;37:367-373
- 19 Ma Y, Ohmen JD, Li Z, Bentley LG, McElree C, Pressman S, Targan SR, Fischel-Ghodsian N, Rotter JJ, Yang H. A genome-wide search identifies potential new susceptibility loci for Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 1999;5:271-278

编辑 王谨晖 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

## 可逆型梗阻性黄疸动物模型探讨

王天然, 周 伟, 黄 海, 胡小丽, 李继红, 曾祥元

王天然, 周伟, 黄海, 胡小丽, 李继红, 曾祥元, 成都军区总医院中心实验科  
四川省成都市 610083

通讯作者: 王天然, 610083, 四川省成都市天回镇, 成都军区总医院中心实验科, wtr1957@126.com

电话: 028-86570224

收稿日期: 2005-01-21 接受日期: 2005-03-03

### 摘要

目的: 建立可逆型梗阻性黄疸实验动物模型。

方法: 将兔麻醉、开腹, 以 15 cm 止血钳钳夹胆总管, 闭腹。3、7、14、30 d 测定血清胆红素(TBIL 和 DBIL)、胆汁酸(BA)。

结果: 术后 7 d, 不施钳夹的假手术对照组 TBIL、DBIL 为  $5.90 \pm 1.50$ 、 $1.60 \pm 0.58$  mmol/L、BA 为  $21.10 \pm 13.50$   $\mu$ mol/L, 与正常兔无明显差异( $P > 0.1$ ); 钳夹实验组 TBIL、DBIL 为  $31.10 \pm 16.90$ 、 $16.70 \pm 9.20$  mmol/L, BA 为  $61.50 \pm 24.50$   $\mu$ mol/L, 显著高于对照组( $P < 0.01$ )。钳夹时扣二格、夹 3 min 以上, 全部实验兔 TBIL、DBIL 和 BA 都高于正常兔上限。术后 3-30 d, 各实验组 TBIL、DBIL、BA 均逐渐增加。与对照组比较, 实验组均发生胆管损伤性炎症, 造成胆管阻塞; 30 d 时胆管损伤有所恢复。

结论: 以止血钳钳夹胆总管可造成实验动物可逆型梗阻性黄疸。该病理模型适用于梗阻性黄疸及其对机体各器官、细胞损害和防治研究。

王天然, 周伟, 黄海, 胡小丽, 李继红, 曾祥元. 可逆型梗阻性黄疸动物模型探讨. 世界华人消化杂志 2005;13(12):1454-1456

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1454.asp>

### 0 引言

梗阻性黄疸是一种常见临床病症, 可引起诸多器官、组织

不同程度损害, 严重危害机体健康甚至生命。近年对梗阻性黄疸对肝、肾、心等器官的损害及防治的研究较多<sup>[1-5]</sup>, 实验方法均为结扎胆总管造成梗阻性黄疸。此种实验模型是不可逆胆管阻塞, 与多数临床梗阻性黄疸症病情不相符, 故研究结论受到限制。我们旨在建立一种可逆型梗阻性黄疸实验动物模型。

### 1 材料和方法

1.1 材料 新加坡长耳白兔, 雌雄兼用, 体重 2.5-3.5 kg。共 99 只。标准饲养条件常规饲养。实验开始前禁食 1 d。

1.2 方法 各实验组兔以盐酸氯胺酮(上海第一生化药业有限公司生产; 剂量 20-25 mg/kg, iv) 麻醉, 剪去上腹部毛, 严格消毒皮肤。沿腹壁中线切开约 4-5 cm 开腹, 轻轻翻出十二指肠, 在胆总管结合点上游约 1 cm 处钝性分离胆总管。用 15 cm 止血钳中部钳夹胆总管。然后立即消毒, 缝合创口, 注射硫酸庆大霉素(乐山三九长征药业股份有限公司生产; 剂量 0.8 万单位/只, im), 常规饲养。实验分三批进行。第一批造模时止血钳扣 3 格, 钳 6 min, 分别于术后 3、7、14、30 d 观察, 每时间点 5 只; 每时间点均设假手术对照 5 只。第二批造模时止血钳扣 3 格, 钳 0.5、3、6 min 各 5 只, 对照组 5 只; 术后 7 d 观察。第三批造模时止血钳分别扣 1、2、3 格各 5 只, 钳 3 min, 对照组 5 只; 术后 7 d 观察。各实验组若有死亡, 均以同批实验兔及时补充。各对照组除不钳夹胆管外, 手术过程相同。

观测指标: 血清总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)和胆汁酸(BA)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶

表1 造模后不同时间血清TBIL、DBIL、BA含量( $n = 5$ )

术后时间	组别	TBIL(mmol/L)	DBIL(mmol/L)	BA( $\mu$ mol/L)
	正常	$4.6 \pm 1.5$	$0.82 \pm 0.20$	$16.7 \pm 4.1$
3 d	对照组	$6.3 \pm 0.8$	$6.3 \pm 0.8$	$15.7 \pm 5.8$
	模型组	$9.2 \pm 2.5^a$	$4.29 \pm 2.50^a$	$7.8 \pm 4.1^a$
7 d	对照组	$5.9 \pm 1.5$	$1.60 \pm 0.58$	$21.1 \pm 13.5$
	模型组	$31.1 \pm 16.9^b$	$16.70 \pm 9.20^b$	$61.5 \pm 24.5^b$
14 d	对照组	$5.4 \pm 1.8$	$2.21 \pm 0.82$	$20.0 \pm 8.5$
	模型组	$58.9 \pm 29.1^b$	$30.10 \pm 15.30^b$	$68.1 \pm 38.9^a$
30 d	对照组	$5.7 \pm 1.0$	$2.30 \pm 1.38$	$16.6 \pm 3.3$
	模型组	$91.9 \pm 38.2^c$	$42.6 \pm 18.2^c$	$144.2 \pm 58.7^c$

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ , <sup>c</sup> $P < 0.001$  vs 对照组.

(GGT):心脏取血,以贝克曼全自动生化分析仪测定.胆管病理组织学检查:动物取血后立即处死,开腹,在靠近钳夹处上端剪取约2 mm长胆总管,甲醛固定,石蜡包埋制片,HE染色,光镜下观察.

**统计学处理** 各指标测定结果均以平均数 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示.使用SPSS10.0软件进行 $t$ 检验,检验各实验组与相应对照组差异显著性.

## 2 结果

### 2.1 实验兔死亡情况

2.1.1 死亡数量 (1)各时间对照组及术后3 d各实验组无死亡.(2)术后7 d各实验组共死亡2只,分别为扣3格钳夹3、6 min.(3)术后14 d各实验组:共死亡4只,分别为扣3格钳夹3 min 3只,扣3格钳夹30 s 1只.(4)术后30 d各实验组:共死亡8只,为扣3格钳夹3、6 min各4只.

2.1.2 死亡时间和原因 以上死亡均发生在术后3~10 d,原因全是胆管破裂.

### 2.2 造模对血清肝胆功能生化指标的影响

2.2.1 造模后不同时间 实验结果显示,钳夹胆总管造成了

胆道梗塞,形成了黄疸症;黄疸在30 d内逐步加重(表1).梗阻性黄疸症可引起肝脏损害,损害在约1~2 wk达到高峰(表2).

2.2.2 造模钳夹时间 结果显示,钳夹时间越长造成梗阻性黄疸和对肝脏损害也越严重;钳夹3min就足以造成全部实验兔梗阻性黄疸(表3).

2.2.3 造模钳夹力度 结果显示,钳夹时扣1格就足以造成梗阻性黄疸和肝脏损害(表4).

### 2.3 梗阻胆管组织学改变(钳夹6 min,扣3格).

2.3.1 各时间对照组 胆管腔大小无明显变化,腔内衬单层柱状上皮,排列整齐,胞核位于底部,无细胞缺失.上皮下偶见淋巴细胞(LC).管壁各层结构清楚,上皮下散在少量固有腺体.

2.3.2 术后3 d实验组 各标本胆管腔不同程度扩大.腔内衬上皮大部分完整,有的区域脱落;上皮下少量炎细胞浸润,以LC为主.管壁各层疏松水肿.固有腺数量增加.

2.3.3 术后7 d实验组 胆管腔与对照组相比显著扩大,光镜下目测扩大3~5倍.内衬上皮有单层、假复层,有的区域上皮脱落消失,基底膜裸露;有的区域上皮呈乳头状增生,使腔面高低参差不齐.固有腺体增生,数量增加,有的腺腔明显扩张,间质大量炎细胞浸润,有的区域灶性退变坏死.腔壁平滑肌、纤维及脂肪组织明显增生,致管壁增厚.

2.3.4 术后14 d实验组 见管腔扩大;上皮不全脱落;腔面亦见增生修复上皮,即呈单层和复层排列,细胞紧密,有的呈乳头状;有的区域见灶性上皮及基底膜退变坏死.管壁固有腺体数量增加,间质炎细胞浸润,疏松水肿,纤维及脂肪增生.

2.3.5 术后30 d实验组 胆管腔与对照组相比亦明显扩大.上皮各层次病变与术后7 d、14 d较为相似,但见腔面上皮大部趋于完整,单层排列,细胞紧密、平坦,即分布参差不齐现象明显减少.固有腺数量仍较正常者为多,间质不同程度炎细胞浸润,仍见不同程度水肿.退变坏死已不明显.

## 3 讨论

近年研究梗阻性黄疸对肝、肾、心等器官的损害及其

表2 造模后不同时间血清肝功测定结果( $n = 5$ )

术后时间	组别	TP(g/L)	ALB(g/L)	ALT(nkat/L)	AST(nkat/L)	GGT(nkat/L)
	正常	$764.9 \pm 5.0$	$37.8 \pm 1.2$	$1\ 028.5 \pm 323.4$	$790.2 \pm 211.7$	$198.4 \pm 53.3$
3 d	对照	$59.6 \pm 5.5$	$36.9 \pm 1.3$	$958.5 \pm 233.4$	$533.4 \pm 73.3$	$233.4 \pm 30.0$
	模型	$58.2 \pm 3.2$	$35.0 \pm 1.3^a$	$1\ 773.7 \pm 503.4^b$	$860.2 \pm 128.4^c$	$745.1 \pm 205.0^c$
7 d	对照	$60.7 \pm 4.7$	$37.3 \pm 4.5$	$1\ 141.9 \pm 251.7$	$821.8 \pm 153.4$	$185.0 \pm 35.0$
	模型	$62.9 \pm 4.7$	$35.6 \pm 2.9$	$2\ 890.6 \pm 1\ 040.2^b$	$3\ 579.0 \pm 1\ 873.7^b$	$1\ 663.7 \pm 818.5^b$
14 d	对照	$60.1 \pm 2.2$	$37.5 \pm 1.2$	$871.8 \pm 225.0$	$778.5 \pm 203.4$	$291.7 \pm 68.3$
	模型	$59.4 \pm 3.9$	$35.4 \pm 1.3^a$	$2\ 452.2 \pm 715.1^c$	$1\ 597.0 \pm 626.8^a$	$2\ 390.5 \pm 1\ 195.2^b$
30 d	对照	$64.6 \pm 2.6$	$39.0 \pm 0.9$	$965.2 \pm 251.7$	$848.5 \pm 296.7$	$185.0 \pm 41.7$
	模型	$62.3 \pm 4.2$	$25.7 \pm 4.9^c$	$1\ 020.2 \pm 1128.5$	$833.5 \pm 248.4$	$1\ 391.9 \pm 703.5^b$

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ , <sup>c</sup> $P < 0.001$  vs 对照组.

表3 造模时不同钳夹时间组血清肝胆相关生化测定结果( $n = 5$ )

	对照	0.5 min	3 min	6 min
TP(g/L)	60.7 ± 4.7	63.4 ± 3.8	59.8 ± 4.1	62.9 ± 4.7
ALB(g/L)	37.3 ± 4.5	37.5 ± 2.7	35.2 ± 1.8	35.6 ± 2.9
TBIL(mmol/L)	5.9 ± 1.5	9.5 ± 5.5	26.8 ± 12.3 <sup>b</sup>	58.0 ± 28.1 <sup>b</sup>
DBIL(mmol/L)	1.60 ± 0.58	3.84 ± 2.21	15.2 ± 8.6 <sup>b</sup>	29.1 ± 14.3 <sup>b</sup>
BA(μmol/L)	20.0 ± 8.5	42.5 ± 28.1	57.4 ± 35.9 <sup>a</sup>	68.4 ± 35.9 <sup>a</sup>
ALT(nkat/L)	1 141.9 ± 251.7	1 685.3 ± 436.8 <sup>a</sup>	2 813.9 ± 796.8 <sup>b</sup>	2 890.6 ± 1 040.2 <sup>b</sup>
AST(nkat/L)	821.8 ± 153.4	955.2 ± 128.4	1 827.0 ± 655.1 <sup>b</sup>	3 579.0 ± 11 878.7 <sup>b</sup>
GGT(nkat/L)	185.0 ± 35.0	681.8 ± 293.4 <sup>b</sup>	1 323.6 ± 476.8 <sup>c</sup>	1 663.7 ± 818.5 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ , <sup>c</sup> $P < 0.001$  vs 对照组.表4 造模时不同钳夹力度组血清肝胆相关生化测定结果( $n = 5$ )

	对照	1 格	2 格	3 格
TP(g/L)	60.7 ± 4.7	62.6 ± 2.9	61.6 ± 2.9	59.8 ± 4.1
ALB(g/L)	37.3 ± 4.5	34.7 ± 1.1	35.5 ± 1.6	35.2 ± 1.8
TBIL(mmol/L)	5.9 ± 1.5	14.0 ± 6.9 <sup>a</sup>	15.1 ± 6.9 <sup>a</sup>	26.8 ± 12.3 <sup>b</sup>
DBIL(mmol/L)	1.60 ± 0.58	9.26 ± 5.46 <sup>a</sup>	9.15 ± 5.65 <sup>a</sup>	15.2 ± 8.6 <sup>b</sup>
BA(μmol/L)	20.0 ± 8.5	61.5 ± 24.5 <sup>b</sup>	42.5 ± 28.1	57.4 ± 35.9 <sup>a</sup>
ALT(nkat/L)	1 141.9 ± 251.7	2 908.9 ± 541.8 <sup>a</sup>	3 102.3 ± 1138.6 <sup>b</sup>	2 813.9 ± 796.8 <sup>b</sup>
AST(nkat/L)	821.8 ± 153.4	1 940.4 ± 398.4 <sup>c</sup>	2 603.9 ± 818.5 <sup>c</sup>	1 827.0 ± 655.1 <sup>b</sup>
GGT(nkat/L)	185.0 ± 35.0	1 316.9 ± 425.1 <sup>c</sup>	1 373.6 ± 610.1 <sup>c</sup>	1 323.6 ± 476.8 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ , <sup>c</sup> $P < 0.001$  vs 对照组.

防治的实验研究较多,方法均为结扎胆总管造成梗阻性黄疸<sup>[1-5]</sup>.其胆道梗阻不可逆,与多数临床梗阻性黄疸症病情不符,研究结果的临床意义也有局限性.我们建立的可逆型梗阻性黄疸实验模型,更接近临床症状,更适于进行此类防治研究.根据本组实验结果,用15 cm直端止血钳扣2格钳夹胆总管3~6 min,1 wk后实验兔即发展为梗阻性黄疸.若扣3格,则对胆管损伤过重,部分实验兔因胆管破裂死亡.

本组实验结果表明,用止血钳对兔胆总管实施钳夹,从钳后3 d开始,其血清TBIL、DBIL就显著增多;钳后7 d开始,全部实验兔血清TBIL、DBIL都高于正常兔上限,而且在1 mo内逐渐增加;钳后7 d开始,实验兔血清BA也显著增加,1 mo内逐步增高.这些结果证明,该方法造成了实验兔梗阻性黄疸症.实验兔胆总管病理学检查发现,各手术组动物胆管均有不同程度的病变,尤以术后7 d、14 d明显.主要包括:胆管扩张;内衬上皮脱落、增生;腔面灶性坏死;固有腺体增生;间质以淋巴细胞为主的炎细胞浸润;管壁平滑肌、纤维及脂肪组织不同程度增生致管壁增厚;有的管壁疏松水肿.上述结果表明,用止血钳钳夹胆总管造成胆管损伤,发生炎症、坏死及随后的修

复性增生,引起胆道梗阻,从而形成梗阻性黄疸.由于这种胆管损伤是可以修复或治疗的,因此其胆道梗阻是可逆的,这种梗阻性黄疸症也是可逆型的.

本组实验中测定了全部实验兔血清肝脏相关生化指标.结果显示:梗阻黄疸兔血清TP没有明显异常;ALB有降低倾向;TBIL、DBIL和BA持续显著升高;ALT、AST明显增加,至1 mo时基本恢复正常;GGT最敏感,显著增高,1 mo时也已回降但尚未恢复.说明梗阻黄疸对肝实质细胞有所损害,与文献[1-5]报道相符.同时表明该实验模型也可用于梗阻性黄疸对机体其他器官、细胞的损害及防治研究.

#### 4 参考文献

- 1 蒋飞照,屠金夫,黄秀芳,陈必成.梗阻性黄疸大鼠可溶性Fas与肝肾功能改变的关系.肝胆胰外科杂志 2004;16:88-89
- 2 丁佑铭,程邦昌,戴峰,谭海燕.梗阻性黄疸鼠肝脏血红素氧化酶-1及一氧化碳含量的研究.中华实验外科杂志 2003;20:1081-1082
- 3 杨光,吴德全,王海波.梗阻性黄疸时TNF- $\alpha$ 对大鼠肝、肾的影响.哈尔滨医科大学学报 2003;37:143-146
- 4 巩鹏,王忠裕,王洪江,陈海龙,关凤林.黄芩对梗阻性黄疸大鼠心肌TNF- $\alpha$ 及SOD基因mRNA表达的影响.中国中西医结合外科杂志 2003;9:165-169
- 5 方文成,寇治民,张有成.梗阻性黄疸大鼠脂多糖结合蛋白的变化及其意义.中国普外基础与临床杂志 2004;11:328-330