

## · 实验研究 ·

## 梗阻性黄疸大鼠胆总管再通对丙泊酚麻醉敏感性的影响

高浩 宋金超 张马忠 鲍杨 张金旻 俞卫锋

**【摘要】目的** 探讨梗阻性黄疸大鼠胆总管再通后对丙泊酚麻醉敏感性的影响。**方法** 清洁级成年雄性 SD 大鼠 24 只, 8 周龄, 体重 200~300 g, 采用随机数字表法分为三组: 假手术组 (S 组)、普通黄疸组 (I 组) 和可逆性黄疸组 (R 组)。分别在术前及术后 3、7、14、21 d 通过尾静脉采集大鼠血液标本检测血清总胆红素 (TBL) 和总胆汁酸 (TBA) 浓度。分别在胆总管结扎前和结扎后 7、21 d 测定大鼠的翻正反射消失时间和恢复时间。**结果** 术后 3、7、14、21 d I 组血清 TBL 和 TBA 浓度, R 组血清 TBA 浓度明显高于 S 组 ( $P < 0.05$ ); 术后 3、7、14 d R 组血清 TBL 浓度明显高于 S 组 ( $P < 0.05$ ); 术后 14、21 d R 组大鼠血清 TBL 和 TBA 浓度明显低于 I 组 ( $P < 0.05$ )。术后 7 d I 组和 R 组的翻正反射消失时间明显短于, 恢复时间明显长于 S 组 ( $P < 0.05$ )。**结论** 梗阻性黄疸时大鼠对丙泊酚的麻醉敏感性增加, 胆管再通后增加的麻醉敏感性会逐渐恢复。

**【关键词】** 可逆性黄疸; 丙泊酚; 麻醉敏感性

**Effect of anesthetic sensitivity to propofol after biliary decompression in common bile duct ligation rats**

GAO Hao, SONG Jinchao, ZHANG Mazhong, BAO Yang, ZHANG Jinmin, YU Weifeng. Department of Anesthesiology, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, The Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

Corresponding author: YU Weifeng, Email: ywf808@yeah.net

**【Abstract】Objective** To investigate if anesthetic sensitivity to propofol will be restored after biliary decompression. **Methods** Twenty-four adult male SD rats were randomly assigned into 3 groups: sham group (group S), irreversible obstructive jaundice group (group I) and reversible obstructive jaundice group (group R). The serum total bilirubin (TBL) and total bile acid (TBA) concentrations were detected in the rat blood samples collected from the caudal vein before and after the operation, 3, 7, 14, 21 d respectively. Propofol was administered to measure the time of loss of righting reflex and recovery pre or 7th and 21th day post ligation. **Results** Serum TBL and TBA in group I and serum TBA in group R were significantly higher than that in group S on 3rd, 7th, 14th, 21th day post-surgery ( $P < 0.05$ ). Compared with group S, serum TBL in group R were significantly high on 3rd, 7th, 14th day post-surgery. Serum TBL and TBA in group R were significantly lower than group I on 14th, 21th day post-surgery ( $P < 0.05$ ). Compared with group S, the time to loss of righting reflex in group I and group R were significantly shortened and the time to recovery were significantly increased on 7th day post-surgery ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Obstructive jaundice could significantly potentiate the ability of propofol to induce a loss of righting reflex, and the increased anesthesia sensitivity will be restored after biliary decompression.

**【Key words】** Reversible obstructive jaundice; Propofol; Anesthesia sensitivity

梗阻性黄疸是肝胆外科常见的一种临床表现, 主要是由肝内、外胆管的机械性梗阻造成的胆汁淤积引起, 常见于胰头癌、肝门部胆管癌等疾病<sup>[1]</sup>。临床试验证明, 梗阻性黄疸患者对吸入麻醉药地氟醚和静脉麻醉药依托咪酯、丙泊酚的麻醉敏感性增

加, 即达到相同的镇静水平, 黄疸患者对麻醉药物的需要量减少, 且与血清胆红素有显著的负性相关关系<sup>[2~4]</sup>。临床中对黄疸较重的患者进行术前减黄来改善阻黄患者的肝功能和减少围手术期的并发症的发生率<sup>[5,6]</sup>。梗阻性黄疸时增高的麻醉敏感性在黄疸减轻后是否发生改变, 目前还不清楚。本研究中使用可逆性黄疸大鼠模型来探讨梗阻性黄疸大鼠胆总管再通对丙泊酚麻醉敏感性的影响。

DOI: 10.12089/jca.2018.01.016

基金项目: 国家自然科学基金 (81371511, 81270414)

作者单位: 200438 上海市, 第二军医大学附属东方肝胆外科医院麻醉科 (高浩、宋金超、鲍杨、张金旻、俞卫锋); 上海交通大学附属上海儿童医学中心麻醉科 (张马忠)

通信作者: 俞卫锋, Email: ywf808@yeah.net

### 材料与方 法

**实验动物** 清洁级成年雄性 SD 大鼠 24 只, 8 周龄, 体重 200~300 g, 由上海第二军医大学实验动物中心提供。空调室内饲养, 室温 22~25℃, 湿度 40%~60%, 昼夜周期各 12 h, 自由进水和食物。实验动物的使用及处理按照国家和第二军医大学实验动物中心的相关条例及规定进行。采用随机数字表法均分为三组: 假手术组(S 组)、普通黄疸组(I 组)和可逆性黄疸组(R 组)。

**模型制备** 腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 60 mg/kg 进行麻醉。使用 10% 聚维酮碘标准溶液进行腹壁的消毒。沿腹壁白线将腹壁剪开约 3 cm 的切口。胆总管暴露完全后进行胆总管的分离。S 组只进行胆总管的分离, 不进行结扎; I 组使用普通外科缝线进行胆总管的结扎; R 组使用可吸收性外科缝线进行胆总管的结扎。结扎方式均为外科结结扎。手术结束后腹腔注射青霉素 8 万单位预防感染。

**翻正反射测试** 在胆总管结扎前和结扎后 7、21 d 分别进行丙泊酚麻醉敏感性的测试。大鼠称重后置于大鼠固定器中, 使用 22 G 密闭式静脉留置针建立尾静脉通道。使用 LSP-2A 微量注射泵按 800  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  速率进行丙泊酚(10 mg/ml)的泵注。记录开始时间, 待大鼠自主活动明显减少后每 20 秒轻轻将大鼠仰卧位放置, 观察其翻正反射消失情况。当置于仰卧位后大鼠不出现翻正反射时定义为翻正反射消失, 记录翻正反射消失时间。翻正反射消失后停止泵注丙泊酚, 之后每隔 20 秒使用鳄鱼夹轻夹大鼠的后肢, 观察大鼠的反应并观察大鼠翻正反射恢复情况。当大鼠的双前肢恢复着地时记为大鼠翻正反射恢复时间。从翻正反射消失到翻正反射恢复的时间定义为恢复时间。

**生化指标检测** 分别在术前及术后 3、7、14、21 d 通过尾静脉采集大鼠血液标本进行血清总胆红素(TBL)和总胆汁酸(TBA)浓度的检测。用于判断梗阻性黄疸模型是否成功。

**病理学观察** 术后 21 d 实验结束后, 分离并剪取胆总管结扎处上下组织后置于 10% 多聚甲醛进行固定。固定后常规进行石蜡包埋, 使用石蜡切片机进行切片, 切片厚度 5  $\mu\text{m}$ 。切片完成后常规使用二甲苯进行脱蜡, 乙醇水洗, 最后使用去离子水清洗干净。使用苏木素伊红染色试剂盒进行 HE 染色。常规脱水后进行封片, 中性树脂封固。

**统计分析** 采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计分析。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, 组间比较采用单因素方差分析和重复测量方差分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

### 结 果

术后 3、7、14、21 d I 组大鼠血清 TBL 和 TBA 浓度明显高于 S 组, 术后 3、7、14、21 d R 组大鼠血清 TBA 浓度明显高于 S 组, 术后 3、7、14 d R 组大鼠血清 TBL 浓度明显高于 S 组(P<0.05); 术后 14、21 d R 组大鼠 TBL 和 TBA 浓度明显低于 I 组(P<0.05)(表 1)。

术后 7 d R 组和 I 组大鼠对丙泊酚的翻正反射消失时间明显短于 S 组, 恢复时间明显长于 S 组(P<0.05)。术后 21 d I 组大鼠对丙泊酚的翻正反射消失时间明显短于, 恢复时间明显长于 S 组(P<0.05)(图 1, 2)。

术后 21 d S 组大鼠胆总管形态基本正常; R 组和 I 组大鼠胆总管结扎点以上明显膨大。HE 染色后可见 R 组大鼠胆管结扎处出现大量新生胆管(图 3)。

表 1 三组大鼠不同时间点血清 TBL 和 TBA 浓度的比较( $\mu\text{mol/L}, \bar{x}\pm s$ )

指标	组别	只数	术前	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d	术后 21 d
TBL	S 组	8	0.7 $\pm$ 0.4	0.9 $\pm$ 0.3	2.5 $\pm$ 1.2	1.9 $\pm$ 0.8	0.8 $\pm$ 0.4
	I 组	8	0.7 $\pm$ 0.3	103.2 $\pm$ 15.8 <sup>a</sup>	134.6 $\pm$ 33.3 <sup>a</sup>	134.2 $\pm$ 23.7 <sup>a</sup>	110.4 $\pm$ 13.1 <sup>a</sup>
	R 组	8	0.7 $\pm$ 0.3	121.1 $\pm$ 19.1 <sup>a</sup>	139.9 $\pm$ 22.3 <sup>a</sup>	29.0 $\pm$ 18.9 <sup>ab</sup>	5.0 $\pm$ 2.5 <sup>b</sup>
TBA	S 组	8	3.9 $\pm$ 1.0	2.5 $\pm$ 1.6	3.7 $\pm$ 1.6	3.0 $\pm$ 1.6	3.2 $\pm$ 1.2
	I 组	8	3.9 $\pm$ 0.7	152.6 $\pm$ 25.0 <sup>a</sup>	122.5 $\pm$ 29.0 <sup>a</sup>	123.5 $\pm$ 16.9 <sup>a</sup>	119.2 $\pm$ 22.3 <sup>a</sup>
	R 组	8	5.5 $\pm$ 2.4	141.4 $\pm$ 13.8 <sup>a</sup>	117.7 $\pm$ 19.9 <sup>a</sup>	47.1 $\pm$ 21.1 <sup>ab</sup>	36.1 $\pm$ 28.5 <sup>ab</sup>

注: 与 S 组比较, <sup>a</sup>P<0.05; 与 I 组比较, <sup>b</sup>P<0.05

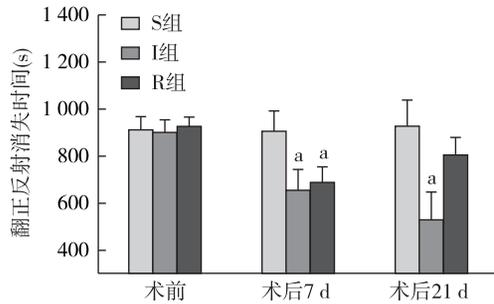


图 1 三组大鼠不同时点翻正反射消失时间的比较

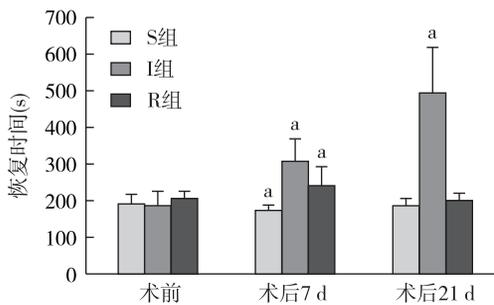


图 2 三组大鼠不同时点恢复时间的比较

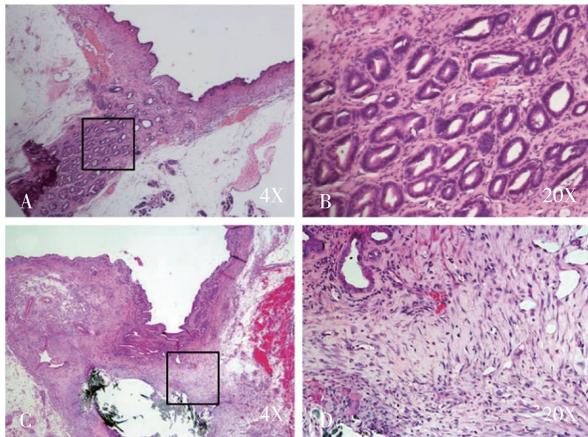


图 3 胆总管结扎后 21 d R 组(A,B)和 I 组(C,D)大鼠结扎处胆总管的组织学改变

### 讨 论

胆总管结扎是用于梗阻性黄疸研究的主要方法。梗阻性黄疸时不仅肝脏功能严重受损,机体其他器官也受到不同程度的损伤。临床研究证明,梗阻性黄疸患者对吸入麻醉药和静脉麻醉药的麻醉敏感性均增加<sup>[2~4]</sup>。临床中对黄疸较重者术前常经鼻导管引流减轻机体黄疸的程度。本实验通过两种不同的梗阻性黄疸模型,研究梗阻性黄疸时丙泊酚麻醉敏感性的增加是否具有可逆性。

胆总管结扎是制作胆汁淤积动物模型的主要方法。最早关于胆汁淤积动物模型制作的描述起源于 1932 年 Cameron 制作的第一例胆总管结扎后离断动物模型。关于可逆性梗阻性黄疸模型的研究还比较少。有研究通过钛夹夹闭或套管包绕结扎胆总管后进行二次手术制作可逆性梗阻性黄疸模型<sup>[7, 8]</sup>。这些方法存在一定的局限性,如再次手术对实验结果的影响、术后腹腔内的组织黏连、再次手术的成功率等。

Kahramansoy 等<sup>[9]</sup> 研究使用快速可吸收缝线进行胆总管结扎制作可逆性梗阻性黄疸大鼠模型。实验证明:术后 21 d 大鼠的血生化学指标和病理学指标均显著改善。本实验建立两种不同的梗阻性黄疸模型,结果显示:I 组术后 TBL 和 TBA 持续维持在较高水平,说明胆总管梗阻持续存在;R 组在术后 14 d 出现 TBL 和 TBA 的显著下降,术后 21 d 出现进一步降低,证明在 7~14 d 结扎的胆管逐渐出现再通。与 Kahramansoy 等<sup>[9]</sup> 研究结果基本一致。

Li 等<sup>[10]</sup> 研究发现,梗阻性黄疸时大鼠会出现白细胞功能障碍,在梗阻解除后受损的白细胞功能具有可逆性,提示梗阻性黄疸引起损伤可能具有一定的可逆性。翻正反射被普遍用来反映动物对麻醉药物的敏感性<sup>[11, 12]</sup>。丙泊酚具有较好的浓度-效应关系以及低的个体变异性。研究证明以  $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  持续输注丙泊酚, 15 min 可以对大鼠实现较好的抑制作用。正常大鼠翻正反射消失时血浆丙泊酚浓度的阈值约为  $(1.70 \pm 0.13) \mu\text{g}/\text{ml}$ <sup>[13]</sup>。Tung 等<sup>[11]</sup> 以  $800 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  进行丙泊酚的泵注时,正常大鼠翻正反射消失的时间约为  $(938 \pm 154) \text{ s}$ 。术后 7 d I 组和 R 组对丙泊酚的翻正反射消失时间明显短于 S 组,这一结果提示梗阻性黄疸时大鼠对丙泊酚的麻醉敏感性增加;术后 21 d I 组对丙泊酚的翻正反射消失时间进一步缩短,而 R 组对丙泊酚的翻正反射消失时间与 S 组相比有统计学差异。说明梗阻性黄疸引起的丙泊酚的麻醉敏感性增加,在梗阻性黄疸解除后可能具有可逆性。

本研究只观察到胆管结扎术后 21 d,没有进行更长时间的观察,可能随着时间的延长,大鼠对丙泊酚的麻醉敏感性会有进一步的恢复;另外,梗阻性黄疸时丙泊酚敏感性增加的机制还没有完全了解,仍需要进一步的研究。

综上所述,梗阻性黄疸时大鼠对丙泊酚麻醉敏感性增加,在梗阻解除后,增加的麻醉敏感性会出

现恢复。

参 考 文 献

[1] Li MK, Crawford JM. The pathology of cholestasis. *Semin Liver Dis*, 2004, 24(1): 21-42.

[2] Song JG, Cao YF, Yang LQ, et al. Awakening concentration of desflurane is decreased in patients with obstructive jaundice. *Anesthesiology*, 2005, 102(3): 562-565.

[3] Song JC, Sun YM, Zhang MZ, et al. The etomidate requirement is decreased in patients with obstructive jaundice. *Anesth Analg*, 2011, 113(5): 1028-1032.

[4] 高浩, 宋金超, 张马忠, 等. 梗阻性黄疸对全麻术中丙泊酚用量的影响. *临床麻醉学杂志*, 2016, 32(11): 1061-1063.

[5] Moole H, Bechtold M, Puli SR. Efficacy of preoperative biliary drainage in malignant obstructive jaundice: a meta-analysis and systematic review. *World J Surg Oncol*, 2016, 14(1): 182.

[6] Farges O, Regimbeau JM, Fuks D, et al. Multicentre European study of preoperative biliary drainage for hilar cholangiocarcinoma. *Br J Surg*, 2013, 100(2): 274-283.

[7] Kirkland JG, Godfrey CB, Garrett R, et al. Reversible Surgical Model of Biliary Inflammation and Obstructive Jaundice in Mice. *J Surg Res*, 2010, 164(2): 221-227.

[8] Oruç MT, Özmen MM, Han U, et al. A new technique for inducing and releasing obstructive jaundice in rats. *Euro Surg Res*, 2009, 43(4): 354-359.

[9] Kahramansoy N, Erkol H, Yilmaz EE, et al. A new model of reversible obstructive jaundice using rapidly absorbable suture materials. *Clin Invest Med*, 2012, 35(6): E351-E357.

[10] Li W, Sung JJ, Chung SC. Reversibility of leukocyte dysfunction in rats with obstructive jaundice. *J Surg Res*, 2004, 116(2): 314-321.

[11] Tung A, Szafran MJ, Bluhm B, et al. Sleep deprivation potentiates the onset and duration of loss of righting reflex induced by propofol and isoflurane. *Anesthesiology*, 2002, 97(4): 906-911.

[12] Alkire MT, McReynolds JR, Hahn EL, et al. Thalamic microinjection of nicotine reverses sevoflurane-induced loss of righting reflex in the rat. *Anesthesiology*, 2007, 107(2): 264-272.

[13] Yang CH, Shyr MH, Kuo TB, et al. Effects of propofol on nociceptive response and power spectra of electroencephalographic and systemic arterial pressure signals in the rat: correlation with plasma concentration. *J Pharmacol Exp Ther*, 1995, 275(3): 1568-1574.

(收稿日期: 2017-05-02)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《临床麻醉学杂志》可直接使用缩略语的词汇

美国麻醉医师学会(ASA)	聚合酶链反应(PCR)	美国纽约心脏病协会(NYHA)
酶联免疫吸附试验(ELISA)	N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)	吸入氧浓度(FiO <sub>2</sub> )
γ-氨基丁酸(GABA)	血浆靶浓度(C <sub>p</sub> )	白细胞介素(IL)
效应室靶浓度(C <sub>e</sub> )	肿瘤坏死因子(TNF)	心率(HR)
血红蛋白(Hb)	血压(BP)	血小板(Plt)
收缩压(SBP)	红细胞压积(Hct)	舒张压(DBP)
红细胞计数(RBC)	心率与收缩压乘积(RPP)	白细胞计数(WBC)
平均动脉压(MAP)	体重指数(BMI)	中心静脉压(CVP)
心肺转流(CPB)	脉搏血氧饱和度(SpO <sub>2</sub> )	靶控输注(TCI)
潮气量(V <sub>T</sub> )	患者自控静脉镇痛(PCIA)	呼吸频率(RR)
患者自控硬膜外镇痛(PCEA)	呼气末二氧化碳分压(P <sub>ET</sub> CO <sub>2</sub> )	患者自控镇痛(PCA)
动脉血二氧化碳分压(PaCO <sub>2</sub> )	呼气末正压(PEEP)	动脉血氧分压(PaO <sub>2</sub> )
间歇正压通气(IPPV)	静脉血氧分压(PvO <sub>2</sub> )	最低肺泡有效浓度(MAC)
静脉血二氧化碳分压(PvCO <sub>2</sub> )	脑电双频指数(BIS)	视觉模拟评分法(VAS)
听觉诱发电位指数(AAD)	重症监护病房(ICU)	麻醉后恢复室(PACU)
四个成串刺激(TOF)	天门冬氨酸氨基转移酶(AST)	心电图(ECG)
丙氨酸氨基转移酶(ALT)	警觉/镇静状态评定(OAA/S)	核因子(NF)
磁共振成像(MRI)	羟乙基淀粉(HES)	计算机断层扫描(CT)
伊红染色(HE)	术后认知功能障碍(POCD)	急性呼吸窘迫综合征(ARDS)