技术方法

文章编号:1000-5404(2005)19-1988-02

获取大鼠肠淋巴液的技术改进

Improved technique for the collection of mesenteric lymph of rats

顾葆春[1],刘正军[1],李 萍[2],刘良明[2],石汉平[1] ([1]南方医科大学南方医院普通外科,广州 510515;[2]第三军医大学大坪医院野战外科研究所第二研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400042)

提 要:目的 探索顺利获取大鼠肠淋巴液的操作技术。**方法** 分别以文献报道的分离肠淋巴干和我们改进的不分离肠淋巴干两种手术方式引流并获取大鼠肠淋巴液,进行两组成功率比较。**结果** 改进组成功率明显提高,并缩短置管时间,减少损伤。**结论** 不分离肠淋巴干是置管顺利的关键,值得推广应用。

研究肠淋巴液对人们深入认识肠源性感染、肠道免疫功能、肠内营养等临床医学重点问题具有积极意义,大鼠无疑是研究的最佳动物之一,但其肠淋巴干置管引流因操作复杂,对大鼠生理功能干扰大,导致这方面的研究很少。我们结合国内外文献,简化操作,改进方案,普通的技术员能够在20 min左右就可顺利引流出大鼠肠淋巴液。现将操作技术介绍如下,希望对同行有所帮助。

1 材料与方法

1.1 动物

SD雄性清洁级大鼠,60只,体质量200~300 g,由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供。分文献组20只,改进组40只。

1.2 材料和仪器

硅胶管:50-gauge silicone catheter (Dow Corning Midland, Mich);ZT医用胶:广州白云医用胶总公司;Beckman CX7全自动生化分析仪(Beckman Coulter公司)。

1.3 手术操作及分组

文献组:50 mg/kg戊巴比妥钠腹腔麻醉,腹部备皮,剑突下1 cm行正中切口进腹,用小拉钩将肠内容物拉向左侧,暴露位于右肾水平的肠系膜上动脉,肠淋巴干紧贴该动脉,多位于头侧,少数与动脉缠绕或位于尾侧,内含深浅不一乳白色淋巴液,空腹时间过长的大鼠可能只见一透明管型。硅胶管预先充填肝素盐水,将尖端剪成45°,通过16号针头从右侧引入腹腔,用眼科器械小心将肠淋巴干主干分离,在近根部剪开一小口,置入硅胶管见有淋巴液流出后结扎,关腹后在出硅胶管皮肤出口处再用线固定1次。

改进组:开始部分同文献组,暴露肠淋巴干后直接用眼科剪在淋巴管近腹主动脉处剪开浆膜,开口最好小于硅胶管直径,用眼科弯镊将硅胶管插入浆膜层沿淋巴管表面潜行2~3 mm后,将硅胶管直接刺入淋巴管,见有淋巴液流出后,再进1~2 mm后,用医用ZT胶在剪开浆膜处和肾脏表面两处固定硅胶管,关腹。

记录改进组第1小时淋巴液引流量,Beckman CX7全自动生化分析仪测量总蛋白、总胆固醇和甘油三酯含量。

1.4 统计学分析

数值用$\bar{x} \pm s$表示,所获数据录入SPSS 10.0统计软件,用χ^2检验两组间成功引流成功率。

2 结果

文献组成功实施引流约需40 min,需两人协作;改进组1人操作,20 min即可独立完成。两组成功例数见表1。改进组第1小时引流淋巴量为(0.78±0.10) ml、总蛋白为(18.71±3.73) g/L、总胆固醇为(1.56±0.70) mmol/L、甘油三酯含量为(11.73±2.75) g/L。

表1 两组引流淋巴液成功例数

分组	n	成功例数	未成功例数
文献组	20	9*	11
改进组	40	33	7
合计	60	42	18

*:$P<0.01$,与改进组比较

3 讨论

通过对狗、马、羊等一些大型动物的研究,人们发现在涉及全身和肠道变化的病理过程,如休克、脓毒症、肠源性感染、肠道相关免疫、肠内营养支持等,肠淋巴液的变化往往比门脉和中心静脉血更能代表疾病发展规律,因此对肠淋巴液的研究日益受到重视[1],然而顺利获取大鼠这种最常用实验动物的肠淋巴液很困难,从实验技术上大大制约了对此类问题的深入研究。

早在1948年Bollman等[2]就通过在分离肠淋巴

基金项目:广东省自然科学基金资助项目(032887)
Supported by the Natural Science Foundation of Guangdong Province (032887)

作者简介:顾葆春(1966-),男,江苏省南京市人,主治医师,主要从事危重病及普通外科方面的研究。电话:(020)36653483

收稿日期:2004-11-18;修回日期:2005-03-27

干后置管得到大鼠肠淋巴液，以后国内外均有学者在他的基础上改进，如 Edwin 通过将肠淋巴管剪开，让淋巴液流入腹腔，再用海绵吸出淋巴液，或收集切除了肠系膜淋巴结的大鼠胸导管（the thoracic ducts of mesenteric lymphadenectomized rats，XTDLs）淋巴液进行研究[3]；天津张静等[4]自制金属针引流淋巴液；第三军医大学彭毅志等[5]成功制成肠淋巴瘘模型。这些学者在动物模型制作过程中，除部分需自制工具、先期对大鼠实施手术外，均强调要分离肠淋巴干，而分离过程对手术技巧要求极高，普通研究者很难顺利完成。

本组人员均有从事普通外科或动物实验 10 余年的资历，按上述文献报道方法操作能顺利引流肠淋巴液的大鼠不足 50%（9/20），而且需两人协作。一是因为淋巴管本身是由多层上皮细胞构成，壁薄、易碎，不易无损伤分离出来；二是因为肠淋巴干与肠系膜上动脉距离近，有些分支缠绕动脉，分离时肠系膜根部易出血，开始收集的淋巴液会含血液成分，分离中和分离后大鼠血压等生命体征有较大波动，难以立即进行下一步的实验，增加了实验不确定因素。据此我们对手术方法进行了改进，主要强调两点：①不分离肠淋巴干；②改结扎固定使用 ET 医用胶固定。通过改进置管成功率在 80%（33/40）左右，顺利收集 SD 大鼠休克前后的长达 6 h 的肠淋巴液，满足实验要求。一位普通实验员只需 20 min 就可顺利置管引流，甚至在大鼠休克后肠淋巴干不清楚的情况下同样可以引流淋巴液，而且肠系膜根部可以完全无出血，大鼠生命体征无明显变化，可直接进行后续的实验。肠淋巴干收集部分空肠、全部回肠、近端 1/3 结肠的淋巴回流，淋巴液量、所含成分同动物全身状态、肠道局部血流量、肠内容物多少密切相关，实验中发现大鼠肠淋巴液在补液、失血、引流、进食等处理后流量和所含物质的浓度均有较大的变化，因此本实验只给出正常大鼠置管后第 1 小时内淋巴液量（0.78 ml/h，与彭毅志等[5]报道的 14 ~ 19 ml/d相近）及所测总蛋白、总胆固醇及甘油三酯的值。其它病理生理情况下的改变有待进一步研究。

关键词：肠淋巴液；引流；大鼠

中图法分类号：R-332　　**文献标识码**：B

参考文献：

[1] Deitch E A, Adams C, Lu Q, *et al*. A time course study of the protective effect of mesenteric lymph duct ligation on hemorrhagic shock-induced pulmonary injury and the toxic effects of lymph from shocked rats on endothelial cell monolayer permeability[J]. Surgery, 2001, 129(1): 39 - 47.

[2] Bollman J L, Cain J C, Grindlay J H. Technique for the collection of lymph from the liver, small intestine, or thoracic duct of the rat[J]. J Lab Clin Med, 1948, 33(7): 1349 - 1351.

[3] Deitch E A, Shi H P, Feketeova E, *et al*. Hypertonic saline resuscitation limits neutrophil activation after trauma-hemorrhagic shock[J]. Shock, 2003, 19(4): 328 - 333.

[4] 张　静，刘艳凯，姜　华，等. 肠淋巴液对大鼠血压的影响[J]. 生理学报，1997，49(4)：433 - 438.

[5] 彭毅志，肖光夏，马　利，等. 大鼠肠淋巴瘘的制作[J]. 第三军医大学学报，1995，17(5)：420.

（编辑　薛国文）

（上接 1987 页）

的胰腺切除，才能达到根治的目的[1]。近年来，胃癌联合胰腺切除手术逐渐增多，而且取得了较好成绩。詹文华[2]报道 14 例胃癌联合胰头十二指肠切除的 1、3 年生存率分别为 60.9% 和 36.5%。万远廉等[3]介绍 69 例胃癌联合脏器切除（其中胰十二指肠切除 5 例，胰体尾脾切除 14 例）的 5 年生存率达 34.1%，均明显高于姑息组。我院积极开展联合脏器切除术，46 例进展期胃癌联合胰腺切除 1、3、5 年生存率分别为 76.1%、41.3%、28.3%。远期生存与临床分期、根治程度有关，其中 19 例分期较早，癌肿仅侵犯胰腺浅表组织者，行联合脏器根治术后愈后较好，1、3、5 年生存率达到 84.2%、47.4%、34.8%。施行胃癌联合胰腺切除手术，掌握好适应证非常重要，我们控制的标准有两条：①进展期胃癌侵及胰头或胰体尾，而无远处转移（左锁骨上淋巴结转移、血行转移和腹腔种植）。②身体状态良好，无心肺肝肾等重要脏器病变。对年老体弱营养较差者列为手术禁忌。本组病例均严格按上述原则进行。

陈峻青[4]研究认为：43 ℃低渗液将癌细胞浸泡 20 min 可使癌细胞失活。李景武[5]研究认为腹腔化疗是消灭腹腔内游离癌细胞，预防和减少胃癌复发的最佳方法。同时，温热和化疗有明显协同作用。据此我们把这两种疗法结合，应用到胃癌根治术中。经临床 5 年观察，治疗组 1、3、5 年生存率均高于对照组，其中 3、5 年生存率明显提高（$P<0.05$）。

本组病例少，需进一步积累病例并进一步观察疗效。我们认为联合胰腺切除并温热低渗腹腔灌洗化疗治疗进展期胃癌值得尝试。

关键词：胃肿瘤；胰腺切除术；腹腔灌洗

中图法分类号：R735.2　　文献标识码：B

参考文献：

[1] 张雪峰，宗修锟，蒋会勇，等. 胃癌侵及胰腺的外科治疗[J]. 中华胃肠外科杂志，2003，6(2)：82 - 84.

[2] 詹文华. 胰十二指肠切除术在进展期胃癌的应用[J]. 中国实用外科杂志，2001，21(7)：398 - 399.

[3] 万远廉，刘玉村，何坚强，等. 脏器联合切除治疗 T4 期胃癌 69 例分析[J]. 中华外科杂志，2003，41(8)：594 - 596.

[4] 陈峻青，王舒宏，徐惠绵，等. 胃癌根治切除并温热低渗液腹腔灌洗的疗效分析[J]. 中华医学杂志，2001，81(12)：730 - 732.

[5] 李景武，梁　寒. 胃肠恶性肿瘤的腹腔化疗[J]. 国外医学肿瘤学分册，2003，30(5)：378 - 381.

（编辑　薛国文）