文章编号:1000-5404(2005)23-2351-03

论著

改良犬原位背驮式肝移植模型的建立

喻智勇,王曙光,杨占宇,李 昆,刘永康,郑秀海,禹建峰,刘念州 (第三军医大学西南医院全军肝胆外科研究所,重庆400038)

提 要:目的 介绍一种改良犬背驮式原位肝移植(PBOLT)动物模型。**方法** 选择40只本地杂交犬,体质量10~17 kg,供体质量小于受体3~5 kg,共实施改良PBOLT 20例次。供体手术依次游离肝脏、冷灌注、切肝、修肝和4 ℃ Euro-Collins保存。受体手术切除门静脉左支供血的肝叶,以供肝肝上腔静脉与受体肝左静脉端端吻合,供肝门静脉主干与受体门静脉左支端端吻合,端端吻合肝动脉,胆道置管外引流,最后结扎门静脉右支,切除剩余的肝叶。**结果** 20例肝移植术后全部苏醒,存活时间48 h以上4例、24 h以上6例、24 h内死亡10例。手术无肝期0 min,失血(190±55) ml,输血(300±100) ml,术中血流动力学稳定,无胃肠淤血发生。**结论** 改良犬PBOLT模型术中无需转流或分流,血流动力学稳定,胃肠道无淤血,肾功能保护好,可用于临床前技术训练和实验研究。

关键词:肝移植;背驮式;动物模型;犬
中图法分类号:R-332;R617;R657.3 **文献标识码**:A

A revised orthotopic piggyback liver transplantation in a canine model

YU Zhi-yong, WANG Shu-guang, YANG Zhan-yu, LI Kun, LIU Yong-kang, ZHENG Xiu-hai, YU Jian-feng, LIU Nian-zhou (Institute of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To introduce a revised orthotopic piggyback liver transplantation (PBOLT) in a canine model. **Methods** A total of 20 revised PBOLTs were performed between pairs of local mongrels, weighing 10-17 kg, of which donors were 3-5 kg less than recipients. In the donor, liver dissociation, cold perfusion *in situ*, hepatectomy and liver preserving in EuroCollins solution were performed by routine method. In the recipient, first of all, the left hilar structure including portal vein, bile duct and hepatic artery were dissected and ligated respectively, the left hepatic vein were cross-clamped with a Debaker clip, and then left liver lobes were removed. Next, the donor liver were placed orthotopically, an end-side caval anastomosis was performed between the donor suprahepatic *vena cava* and the cuff fashioned from the recipient's left hepatic veins. Another end-to-end suture between donor portal trunk and recipient's left reshaped portal branch was done. The liver artery reconstruction imitated portal vein method. The bile duct was drained by placing a silica duct. Finally the remained right liver lobes were removed. **Results** All (20/20) animals came to consciousness soon after operation. The animals that survived more than 48 h were 20% (4/20), more than 24 h 30% (6/20), less than 24 h 50% (10/20). The anhepatic period was 0 min. The total blood loss was (190±55) ml and the transfusion was (300±100) ml during operation. The hemodynamic state was stable during the procedure, as well as no gastrointestinal congestion occurred. **Conclusion** It can be concluded that the revised PBOLT technique without shunt or bypass in a canine model is appropriate and feasible.

Key words: liver transplantation; piggyback; animal model; canine

背驮式原位肝移植(piggyback orthotopic liver transplantation, PBOLT)是近年来受到重视的一种肝移植新术式,与经典的肝移植术式相比,具有无需静脉转流、对受术者血流动力学干扰小的优点。目前尚缺乏用于实验研究理想的动物PBOLT模型[1],为建立PBOLT动物模型并观察其病理生理学变化,我们于2004年10月至2005年8月进行了改良犬PBOLT研

作者简介:喻智勇(1970-),男,四川省仁寿县人,博士研究生,主治医师,主要从事器官移植方面的研究,发表论文13篇。电话:(023)68754181,E-mail:rsyby@medmail.com.cn
通讯作者:王曙光,电话:(023)68754181
收稿日期:2005-08-24;修回日期:2005-10-17

究。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康本地杂交犬40头，雌雄不限，体质量10～17 kg，供体质量小于受体3～5 kg，购自第三军医大学实验动物中心。术前动物禁食18 h以上，不禁水。供体组和受体组手术先后进行。

1.2 供体手术

股静脉插管静滴乳酸林格氏液，输液300 ml后经股动脉采血约200～300 ml，采血时加快输液速度。采血后静脉肝素化(300 IU/kg)。腹部大"十"字切口，充分显露术野。左侧翻转肠管，显露肠系膜上静脉后结扎远肝门端，近端插管至门静脉主干，4 ℃ EuroCollins液灌注，剪开膈肌，离断胸腔内腔静脉，阻断胸内主动脉，肝脏表面辅以冰屑降温。腹主动脉近心端插管灌注。灌注高度：门静脉30～40 cm，主动脉100 cm；灌注量：门静脉2 500～3 000 ml，主动脉500 ml。术中切开胆囊底部，用50 ml EuroCollins液冲洗胆道。灌注期间，充分游离肝脏，观察肝脏呈均匀土黄色、灌洗液清亮后，由膈上紧贴脊柱向下切取肝脏及其附带腹腔干、胆总管、门静脉和腔静脉等结构，肝脏出入管道保留足够长度。供肝离体后，识别修整肝上腔静脉，肝上腔静脉壁菲薄并与膈腱膜融合，小心避免损伤；缝闭肝下的腔静脉；修剪腹腔干和肝动脉，勿损伤肝动脉分支(一般为4支)，结扎胃十二指肠动脉；修剪门静脉，结扎胃左静脉、脾静脉和胰腺小静脉属支；胆总管不予游离。用冲洗器检查腔静脉、门静脉和肝动脉管道，修补破口。完毕后以4 ℃ EuroCollins液保存供肝待植入受体。

1.3 受体麻醉与手术

0.08～0.1 ml/kg速眠新麻醉诱导，6F气管插管，呼吸机A-C模式控制呼吸，FiO_2 30%，潮气量10～15 ml/kg，f 12次/min。术中0.3%氯氨酮复合麻醉，0.1%司可林维持肌松。颈外静脉切开插管连接三通，用于输液、输血和中心静脉压监测；切开同侧颈内动脉，连接多通道有创监护仪，监测心率，血压。术中补充乳酸林格液10 ml·kg^{-1}·h^{-1}并适时调整。

上腹部奔驰状切口进腹。游离肝脏。解剖、结扎肝固有动脉、门静脉左支和胆管左支，保留门静脉右支。结扎肝中静脉；显露肝左静脉共干，用Debake钳阻断保留约0.5 cm长度予以切断，切除门静脉左支供血的左半肝(Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ叶)。用3-0无损伤带针尼龙线端端连续吻合供肝肝上下腔静脉与受体肝左静脉，重建肝静脉流出道；修剪受体门静脉左支成斜面开口以扩大吻合口径，5-0无损伤带针尼龙线与供肝门静脉主干端端吻合，依次开放肝静脉、门静脉。用8-0无损伤带针尼龙线端端吻合肝动脉。切除胆囊，胆总管置管外引流。4 ℃乳酸林格氏液经门静脉灌注直至肝静脉重建完成。结扎受体门静脉右支，切除剩余的右肝(Ⅵ、Ⅶ叶)。检查术野无渗血、漏血后，适当固定肝周韧带。右上腹置管引流。关腹。

1.4 检测指标

术中测定门静脉压力，术中术后连续监护有创动脉压、心率、中心静脉压，直至犬清醒；适时检测动脉血气分析、电解质和肾功；术前置尿管记录尿量。术后常规抗感染、补液。

2 结果

2.1 动物术后存活时间

20例次肝移植无术中死亡，术后4～6 h后全部苏醒，存活时间48 h以上4例，24 h以上6例，24 h内死亡10例。

2.2 供受体各手术指标平均值

供肝热缺血时间0 min，冷缺血时间(直至复流前)180 min。获得无肝素的动脉全血300 ml。受体手术时间210 min，无肝期0 min；术中失血190 ml，输血300 ml；术中输液1 400 ml(包括5%碳酸氢钠110 ml)。

2.3 门静脉压力

开腹后测定为(12±2.5)cmH_2O(正常值为10～20 cmH_2O)；门静脉左支阻断后迅速升至(20±1.5)cmH_2O，10 min左右下降至(16±1.8)cmH_2O。术中观察胃肠道无明显淤血水肿，肠管色泽红润。

2.4 血流动力学和血气分析

平均动脉压切肝前为(122±8.5)mmHg，肝静脉吻合完成时为(115±5.5)mmHg，移植肝复流后1 h为(110±10.6)mmHg；相同时相点中心静脉压分别为(1.2±0.011)cmH_2O、(1.18±0.009)cmH_2O、(1.22±0.018)cmH_2O。术中血压变化幅度小，血流动力学指标相对稳定。术中血气分析常见代谢性酸中毒和低钙血症；血钾变化范围大，低钾常见。

2.5 肾功能

术中术后尿量大于1 ml·kg^{-1}·h^{-1}，尿素氮与肌酐无升高。

3 讨论

1952年Frank首次描述了犬肝切除保留肝后下腔静脉的术式，1959年Starzl再次描述了相似的术式，1967年，Fonkalsrud在犬肝移植过程中切除受体肝脏同时保留肝后下腔静脉，并把此项技术称作"背驮式(piggyback)"；次年Calne将此技术应用于临床。虽然背驮式技术在肝移植早期的实验研究中就被提出来，其实际应用直至20年后的1989年Tzakis才将此技术再次应用于临床。由于背驮式技术保持术中血流动力学稳定，因此很快被应用于儿童与成人的肝移植，并在全世界各大肝移植中心推广应用[2]。但是，由于犬肝全部切除同时保留肝后下腔静脉被认为很困难，甚至比人的PBOLT术式还困难，PBOLT的实验研究仍被排斥在实验室之外。

近年来，人们又在继续探索建立大动物PBOLT模型。苗雄鹰等[3]建立猪PBOLT的动物模型，手术成功率83.3%，术中失血(1 200±200)ml。实际上，猪肝解剖学特殊，肝后下腔静脉完全走形于尾状叶内，肝实质间有非常密集的肝短静脉直接汇入后下腔静脉，使肝内

下腔静脉管壁几乎呈筛状壁，壁薄易损伤，猪 PBOLT 异常困难[4]。而犬肝的解剖学结构适宜 PBOLT，其肝后下腔静脉未被肝组织完全包裹，肝短静脉数目少。

犬对门静脉阻断的耐受性差，因此，解决无肝期门静脉系统淤血是建立犬 PBOLT 模型的关键。宋世兵等[5]利用自制的腹腔内静脉转流管实现无肝期门静脉系统血液的减压，转流管涂层破裂形成血栓是其缺陷，与实际 PBOLT 操作也有区别[6]。叶启发等[7]先将肠系膜下静脉与右肾平面以下的下腔静脉行侧侧吻合，建立门-腔血流通路后再行原位肝移植术，我们在实验中发现，犬肠系膜下静脉较细，与腔静脉之间建立或拆除分流操作不易，且增加手术时间。2002 年，Castro 等[1]探索犬 PBOLT 模型，认为犬 PBOLT 模型可用于临床前训练，还可用于肝移植肝脏生理病理的研究，但是作者未报告手术操作。

我们在观察犬肝解剖学结构时发现，犬右叶的Ⅵ、Ⅶ叶肝脏，体积仅占全肝 30% 左右，对新肝植入的手术操作影响小；门静脉右支与门静脉左支直径相当，阻断左支门静脉后仍可充分回流门静脉系统血液，无明显腹部脏器淤血发生；肝静脉左支共干粗大，与供肝肝上下腔静脉吻合不妨碍肝静脉血液回流；犬右肝Ⅵ、Ⅶ叶覆盖肝后下腔静脉，肝短静脉支数目少，切除右肝容易。上述特点是我们建立改良犬 PBOLT 的解剖学依据。

我们建立的改良犬 PBOLT 模型与常用的经典式犬肝移植比较，具有如下优点：术中血流动力学稳定，无明显腹内脏器淤血，无需转流或分流，术中出血少，术中术后肾功能良好，机体内环境相对稳定，不受门静脉或腔静脉阻断耐受时限的限制。建立此模型选用精细的手术器械十分必要。供体肝稍小于受体肝，有利于新肝植入的手术操作和管道重建。

一般认为，杂交犬肝移植术后存活时间短[8]。国内 20 世纪 70 年代末期的一组大宗杂交犬经典式肝移植，术式定型的 96 只犬术后清醒存活仅 21 例[9]；1999 年 1 组 15 例杂交犬经典式肝移植[10]，术中死亡 6 例，术后存活 1 d 4 例、2 d 3 例、3 d 2 例。我们建立的模型术中犬全身情况稳定，无术中死亡，取得了一定进展。国外犬肝移植多采用 Beagle 犬并可获得术后长期存活[8]，我们推测以 Beagle 犬建立 PBOLT 模型术后存活时间可能会显著改善。本实验围手术期未用免疫抑制剂，也是影响术后存活的重要因素。

总之，我们建立的改良犬肝背驮式移植模型是一种简化的、内环境相对稳定、重复性好的动物肝移植模型。此模型可应用于肝移植缺血-再灌注损伤研究和临床肝移植前的技能训练，存在的问题是需要进一步改善术后存活时间。

参考文献：

[1] Castro e Silva O Jr , Ramalho F S, Pacheco E G. Total hepatectomy with preservation of the inferior vena cava: piggyback technique in the dog[J]. Acta Cir Bras, 2002, 17(Suppl 3): 79 - 82.

[2] Tzakis A G, Todo S, Starzl T E. Orthotopic liver transplantation with preservation of the inferior vena cava[J]. Ann Surg, 1989, 210(5): 649 - 653.

[3] 苗雄鹰，赵　华，齐海智，等. 猪背驮式原位肝移植的动物模型[J]. 湖南医科大学学报，1999，24(1)：77 - 79.

[4] 冷建军，董家鸿，韩本立，等. 巴马小型猪肝脏应用解剖学观察[J]. 消化外科，2004，3(3)：181 - 184.

[5] 宋世兵，侯宽永，张同琳，等. 改良腹腔内静脉转流管用于驮式肝移植的实验研究[J]. 北京医科大学学报，1998，30(6)：525 - 527.

[6] 莫一我，傅德庄，孙志为，等. 成人原位背驮式肝移植——附 8 例报告[J]. 消化外科，2002，1(5)：365 - 367.

[7] 叶启发，文志向，曾凡军，等. 保留门静脉-腔静脉血流的肝移植实验研究[J]. 中华器官移植杂志，1998，19(3)：156 - 158.

[8] Todo S, Kam I, Lynch S, et al. Animal research in liver transplantation with special reference to the dog[J]. Semin Liver Dis, 1985, 5(4): 309 - 317.

[9] 夏穗生，杨冠群，朱文惠，等. 130 例狗原位肝移植手术的分析[J]. 中华外科杂志，1978，16(5)：269 - 272.

[10] 苟建军，张水军，金中奎，等. 犬同种异体原位肝移植 15 例手术体会[J]. 河南医科大学学报，1999，34(2)：4 - 5.

（编辑　陈聪连）

关于修回稿件附软盘的说明

为缩短学报出版周期，减少编排错误，请作者根据学报编辑部提出的意见对文稿修改后，将修改稿以 Word 格式存入软盘，并请标明软盘中的文件名、作者姓名及稿件编号，连同修改稿一并送交本刊编辑部或 E-mail：aammt@mail.tmmu.com.cn（校外稿件请邮寄）。

本刊编辑部