良好的反差，这与样品的制备技术密切相关。

PDLLA/HA/DBM生物复合材料的孔隙率为71.3%，孔径100～400 μm，支架有效空间大，有利于种子细胞黏附、分化和生长。采用2.5%戊二醛单固定、使用直接移液法进行脱水置换的样品，细胞表面皱缩、体积缩小，这可能与戊二醛对细胞膜蛋白的作用，引起细胞膜内外渗透压的改变有关，从而导致渗透压升高引起细胞脱水收缩。使用2.5%戊二醛和1%锇酸双重固定、采用直接移液法进行脱水置换的样品，镜下显示材料无变形，孔隙大小及颗粒大小无改变，细胞无塌陷皱褶，表面结构丰富清晰（图1）。这可能与锇酸对细胞结构中的蛋白质等成分有良好的固定作用有关，使生物膜结构的主要成分磷脂蛋白稳定。同时由于锇酸具有强烈的电子染色作用，所以用它固定的样品图像反差较好。同时根据材料多孔性的特征以及孔隙较深、对放大倍率要求不高的特点，在电镜观察中采用较低的加速电压（20 kV）和较长的工作距离（28 mm），使得图像不仅具有较强的立体感，而且结构清晰，能很好地观察到孔洞底部的微细结构。

结果表明，采用戊二醛、锇酸双重固定、使用直接移液法进行脱水、置换的样品，细胞无塌陷皱褶、表面结构丰富清晰，同时具有良好的反差，效果理想，对类似于细胞与生物材料共培养的样品制备具有一定的指导意义。

关键词：细胞；生物材料；细胞培养；扫描电镜
中图法分类号：R318.08 文献标识码：B

参考文献：

[1] Sammarco V J, Chang L. Modern issues in bone graft substitutes and advances in bone tissue technology[J]. Foot Ankle Clin, 2002, 7(1): 19-41.
[2] Rose F R, Oreffo R O. Bone tissue engineering: hope vs hype[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2002, 292(1): 1-7.
[3] 赵建华，廖维宏，王远亮，等. 消旋聚乳酸/羟基磷灰石/脱钙骨基质的制备及其体外进解特性研究[J]. 中国修复重建外科杂志，2003, 17(1): 61-64.
[4] 郭春福，赵建华，卢佳友. PDLLA/HA/DBM复合生物材料对成骨细胞增殖活性的影响[J]. 第三军医大学学报，2004, 26(10): 905-907.
[5] 路 菊，陶思芬，叶金后，等. 悬浮状物质的样品制备及扫描电镜观察[J]. 第三军医大学学报，2007, 29(4): 368-369.

（编辑 龙 亮）

文章编号：1000-5404(2007)14-1447-02

技术方法

部分肝血流阻断器在腹腔镜肝切除术中的应用

朱新生[1]，章跃民[1]，李柏红[2]，王成友[3]，田 进[1]（[1]武警广东总队医院外一科，广州 510507；[2]湖南省湘阴南湖中心医院外科，湘阴 8548500；[3]深圳市第二人民医院肝胆外科，深圳 518035）

提 要：目的 通过动物实验评价部分肝血流阻断器在腹腔镜肝切除术中的作用。**方法** 采用血流阻断器阻断局部肝血流后，实施腹腔镜下猪左肝切除术。**结果** 连续8例猪左肝叶切除术中局部血流阻断均成功，术中阻断器操作耗时平均1.48 min；术中断肝出血量平均135 ml，未发生与操作有关的并发症。**结论** 部分肝血流阻断器应用于腹腔镜下肝切除术是可行的，具有对血流动力学影响小，止血彻底，术野清晰的特点。

自1991年Reich等首先报道腹腔镜肝脏切除术以来，腹腔镜肝切除术报道日益增多，但其仍然处于探索阶段，难以推广应用[1]。究其原因主要是受到术中出血难以控制等因素的限制[2]。因此，如何控制术中出血是目前肝脏外科成功实施腹腔镜肝切除术的主要问题之一[3]。本研究借鉴开腹肝切除经验，自行研制了腹腔镜用血流阻断器，初步探讨了腹腔镜肝切除术中，运用局部肝血流阻断技术的可行性和实用性。

1 材料与方法

1.1 动物准备

成年杂种猪8头（市售）：雄性5头，雌性3头，体质量52～74 kg。术前3 d进行流质饮食，术前8 h禁食水。

1.2 实验器械准备

新型腹腔镜用肝血流阻断器（杭州市桐庐江南医光总厂制造），见图1；腹腔镜及成像系统（STOZE，德国），包括0°、30°和45°镜；全自动连发钛夹钳；腹腔镜超声刀；Driger麻醉机及血流动力学监测系统；秒表（国产）。

1.3 手术方法

严格遵循操作流程进行，左肝叶局部血流阻断8例。具体

基金项目：广东省自然科学基金(04005274)
Supported by Natural Science Foundation of Guangdong Province (04005274)
作者简介：朱新生(1968-)，男，安徽省岳西县人，硕士，副主任医师，主要从事肝胆外科临床和医学工程学方面的研究。电话：(020)61627157，E-mail：zhubin92@126.com
收稿日期：2007-04-09；修回日期：2007-05-26

流程为:麻醉诱导后,迅速行气管切开,气管内插管,吸入全麻,取仰卧位。人工 CO_2 气腹,腹内压为 14 mmHg。腹腔镜肝脏拉钩牵开肝右、中叶,显露左外肝叶。在腹壁选择适当穿刺点穿刺置入 10 mm 阻断器。将该阻断器中的环形阻断带绕过拟行切除肝叶的近心端的适当位置。拉紧阻断带,根据器鞘上的拉力刻度,分别观察 5、10 kg 拉力下,局部肝脏颜色的变化。然后距阻断带 1 ~ 2 cm 锐性断肝,暂不钳夹管道结构,观察肝断面止血效果。用钛夹夹闭管道结构,松解阻断器,处理肝脏断面至无明显出血。结束气腹、开腹观察受到阻断带压迫的肝组织损伤情况。

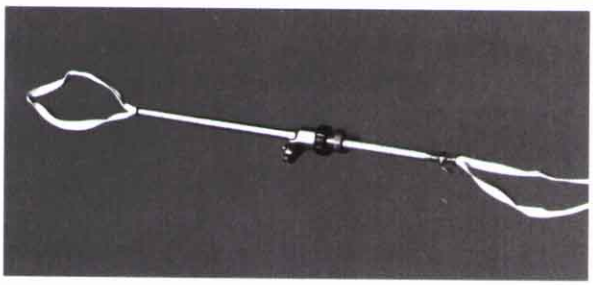


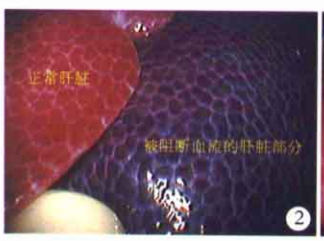
图 1 新型腹腔镜用肝血流阻断器

1.4 观察指标

记录手术过程中猪的生命体征(呼吸、脉搏、血压),手术技术参数(术中气腹维持情况、术者操作该阻断器耗时、肝脏切面止血效果、阻断器有否滑脱或松开等情况、阻断带压迫肝组织损伤情况)。

2 结果

全部标本在手术过程中血压、呼吸、心率稳定。气腹维持稳定。运用新型肝脏血流阻断器,术中操作该阻断器耗时平均 1.48 min;术中断肝出血量平均 135 ml。8 例肝切除在 5 kg 时均实现了部分肝血流阻断,见图 2、3。逐步降低该阻断器的拉力,记录恢复血流时的阻断器显示拉力为 2 ~ 3.5 kg。该阻断器绕肝位置与正中线之间逆时针方向夹角为 0 ~ 30°。未见阻断器滑动或松开。全部手术中,未见受压肝组织及肝周结构切割性、压迫性、撕裂性损伤。



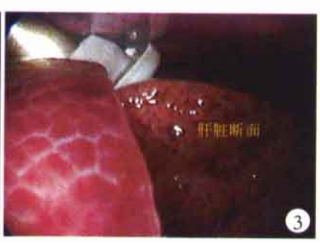


图 2 肝左叶局部血流阻断后颜色变化与正常肝组织对比组
图 3 肝左叶局部血流阻断后肝脏断面止血效果图

3 讨论

开腹肝切除术中常用的血流控制法各种各样,有学者归纳为 3 类,即:局部肝血流控制法、入肝血流控制法和全肝血流控制法[4]。但在腹腔镜下因为失去了手的灵活性和术者操作空间的变化,导致解剖肝门的操作较复杂,增加了手术难度,延长了手术时间。此外,因为腹腔镜下断肝困难,普遍耗时较长,肝门阻断会造成肝脏的再灌注损伤,影响术后早期恢复,不符合微创的总体思想要求等。因此,各种开腹肝切除术中常用的肝血流控制法技术在腹腔镜条件下必须重新探索和定位。

就肝局部血流控制法而言,它适用于大部分开腹肝切除术[5],不仅具有控制术中出血的作用,而且符合腹腔镜下切肝时间较长,需要预防 CO_2 气栓和避免热缺血再灌注损伤等技术要求。

我们分析腹腔镜下肝切除术的特点,设计了新型的肝脏血流阻断器,如图 1 所示:带有拉力刻度标示的穿刺鞘,可以将阻断带通过穿刺进入腹腔;术者用操作钳或辅助手调整阻断带并套住拟行切除肝脏的近心端;然后在腹腔外拉紧阻断带至适当拉力,观察肝脏颜色变化即可断肝;肝脏断面处理完毕后,在腹腔外松开阻断带,抽出穿刺鞘即可。本组实验中我们用锐性断肝,取得了非常满意的效果,如图 2、3。在实验操作中,我们体会有以下 3 个方面:①克服了腹腔镜下术者操作空间的局限性,该阻断器的主要操作均在腹腔外完成。不仅操作难度减小,而且使用方便、耗时少。②该阻断器的鞘外已经表明拉力刻度,利用弹簧秤的原理使阻断拉力得以量化,克服了术者在腹腔外操作,用力大小不易把握的问题,可以避免肝脏副损伤。③因为该阻断器的穿刺鞘与腹壁固定,并与切肝面呈反斜角方向套扎,克服了开腹切肝时阻断带可能滑脱的问题,比开腹肝切除使用类似的阻断带更具有安全性,如图 3。

综上所述,本实验结果提供了腹腔镜肝切除术中运用局部肝脏血流控制法的临床应用基础和相关参考数据。

关键词:腹腔镜;肝切除术;血流控制
中图法分类号:R657.3 **文献标识码**:B

参考文献:

[1] Dulucq J L, Wintringer P, Stabilini C, *et al*. Isolated laparoscopic resection of the hepatic caudate lobe:surgical technique and a report of 2 cases [J]. Surg Laparosc Eendosc Percutan Tech, 2006, 16(1): 32 - 35.
[2] Machado M A, Makdissi F F, Bacchella T, *et al*. Hemihepatic ischemia for laparoscopic liver resection[J]. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech, 2005, 15(3): 180 - 183.
[3] 应声闻, 曹利平. 腹腔镜肝切除术的进展[J]. 科技通报, 2006, 22(5): 630 - 633.
[4] 彭淑牖, 许 斌. 肝切除术中血流控制技术的发展[J]. 四川医学, 2005, 26(3): 275 - 277.
[5] 李海民, 何 勇, 窦科峰. 半肝血流阻断行肝叶切除术的临床应用[J]. 消化外科, 2006, 5(4): 254 - 257.

(编辑 陈聪连)