大鼠胃旁路手术模型建立及影响因素

曾松华[1],吴良平[2],戴晓江[2],张红兵[2],黄永滔[2],黎 飞[1],李海贞[2],张玉新[2] (1. 南方医科大学,广东 广州 510515;2. 广州军区广州总医院甲状腺糖尿病外科中心,广东 广州 510010)

[摘 要] **目的** 建立 SD 大鼠胃旁路手术模型,分析 SD 大鼠胃旁路手术的影响因素及其预防措施,为进一步建立糖尿病大鼠(GK 大鼠)胃旁路手术模型提供经验和技术积累。**方法** 对 30 只 SD 大鼠实施胃旁路手术,分析影响建模成败的各种因素。**结果** 大鼠建模成功 17 只,死亡 13 只,死亡率 43.3%。3 只大鼠在术中死亡,其中麻醉因素致死 2 只,心衰致死 1 只;1 只因吻合口出血在术后 2 h 死亡;8 只在术后第 3 天死亡,其中感染致死 2 只,小肠坏死致死 2 只,吻合口狭窄或梗阻致死 4 只;1 只大鼠在术后第 5 天因误食固体食物致吻合口瘘死亡。本组大鼠无切口裂开等其他并发症。**结论** SD 大鼠胃旁路手术模型作为 GK 大鼠胃旁路手术模型的预实验是经济可行的。麻醉及围手术期管理、手术技巧、感染防治是建模成败的主要影响因素,加强相关因素的控制可以提高建模成功率。

[关键词] SD 大鼠;胃旁路手术;动物模型

[中图分类号] R656.6;R587.1 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2016)01-0005-04

Establishment of gastric bypass surgery model on rats and influence factors

ZENG Song-hua[1], WU Liang-ping[2], DAI Xiao-jiang[2], ZHANG Hong-bing[2], HUANG Yong-tao[2], LI Fei[1], LI Hai-zhen[2], ZHANG Yu-xin[2] (1. Southern Medical University, Guangzhou Guangdong 510515, China; 2. Surgical Center of Thyroid Diabetes, Guangzhou General Hospital of Guangzhou Military Command of PLA, Guangzhou Guangdong 510010, China)

Abstract: Objective To establish gastric bypass surgery model with SD rat and analyze the influence factors and preventive measures so as to accumulate experience and skills for further developing gastric bypass surgery model on diabetic rat (GK rat). **Methods** Gastric bypass surgery was operated on 30 SD rats. Summarized modeling experience and analyzed various factors affecting modeling success. **Results** 17 rats weresuccessfully survived after surgery and 13 failed, with the mortality rate 43.3%. Three rats died during operation, including two for anesthesia and one for heart failure; one died due to anastomotic bleeding two hours after surgery. Eight died in the third day after surgery, including two for infection, two for intestinal necrosis, four for anastomotic stenosis or obstruction. One died because of anastomotic leakage caused by mistaking and satiety the fifth day after surgery. There were no other complications such as wound dehiscence occurred in this group. **Conclusion** Establishing models of gastric bypass surgery with SD rats which is regarded as pre-experiment of building models of gastric bypass surgery with GK rats is economical and feasible. Anesthesia and perioperative management, surgical techniques and infection prevention and control are the main factors affecting modeling. The survival rate of rat model could be increased if related factors well controlled.

Keywords: SD rats; gastric bypass surgery; animal model

胃旁路手术作为治疗肥胖 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus,T2DM)的有效方法,2009 年被美国糖尿病协会(American Diabetes Association,ADA)写入糖尿病治疗指南[1],目前在国外已广泛开展。中国刘金刚等[2]于 2014 年 11 月在《中国实用外科杂志》首次发布了“中国肥胖和 2 型糖尿病外科治疗指南”[2]。但手术治疗糖尿病的机制尚不明确,机制研究成为当前的热点,成功建立动物手术模型是进行机制研究的前提。我们通过 SD 大鼠胃旁路手术模型的预实验,总结 SD 大鼠建模过程中的经验教训,并探讨影响建模成败的因素,为建立 GK 大鼠胃旁路手术模型提供经验和技术积累。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本实验是在广州军区广州总医院动物实验伦理委员会授权下进行的。SPF 级雄性 SD 大鼠 30 只(分两批购进,每批 15 只),周龄 5 ~ 6 周,体质量 160 ~ 220 g,广东省实验动物中心提供[生产许可证号:SCXK(粤)2013-0002],实验地点是在广州军区广州总医院动物实验中心屏障环境[使用许可证号:SYXK(粤)2014-0100]。室内平均温度 26 ℃,相对湿度 40% ~70%,12 h 昼夜交替光照。适应性喂养 1 周,禁

doi:10.11659/jjssx.03E015052

[基金项目] 广东省科技计划项目(2011B050400041);广东省自然科学基金资助项目(S2011010000472)

[通讯作者] 张玉新,E-mail:zhangyuxin-53825@163.com

[收稿日期] 2015-09-11 [修回日期] 2015-09-26

食、不禁水2~3 d后手术。

1.2 动物饲料成分

主要原料:玉米、面粉、麸皮、秘鲁鱼粉、豆粕、碳酸氢钙、石粉、植物油、盐、赖氨酸、蛋氨酸、维生素和复合矿物质等。饲料由广东省实验动物中心配制[SCXK(粤)2013-0002/GB14924.1-2001,GB14924.3-2010]。

1.3 实验用品

物品及器械:大鼠固定板、电子天平(TH-9801,max:1 000 g,d:1 g)、电动备皮刀、持针器1把、眼科镊(无齿)2把、眼科镊(有齿)1把、眼科剪(线剪、组织剪)各1把、不锈钢弯盘1个、换药碗2个、医用缝合小圆针(1/2,5×10 mm)、小角针(1/2,4×12 mm)、医用无菌刀片、蚊式钳2把。手术耗材:灭菌注射器(1 mL、2 mL和10 mL)、无菌纱布、3-0/6-0丝线等。药品:10%水合氯醛[广州军区广州总医院,(2011)B01002]、碘伏、注射用头孢唑啉钠(哈药集团制药总厂、0.5 g/支)、0.9%氯化钠注射液。

1.4 方法

术前2 h予2.5%头孢唑啉按10 mg/100 g肌肉注射。电子称称重,按300 mg/kg计算10%水合氯醛用量,以1 mL注射器抽取后注入大鼠腹腔,3 min左右起效。腹腔麻醉后,将大鼠仰卧于固定板,固定四足及门齿,电动备皮刀手术区域备皮,腹部皮下按5 mL/100 g注射0.9%氯化钠溶液防止脱水和失血休克,腹部消毒铺巾后,取上腹部2.5 cm正中切口,逐层剪开皮肤、白线进入腹腔,用巾钳固定无菌纱布保护切口。离断肝胃韧带及脾胃韧带,于贲门下0.5 mm、胃体积1/3处横断胃,闭合胃远端。在Treitz韧带下方20 cm处离断空肠,勿损伤血管和系膜。远端空肠上提,残端消毒后与残胃吻合,吻合口直径以5~10 mm为宜。于胃肠吻合口下方20 cm处行近端空肠与远端空肠的侧侧吻合(图1a、b)。缝合方法采用单纯间断缝合或"8"字缝合。手术过程中暴露的肠管及胃用生理盐水纱布覆盖保护。常规0.9%生理盐水5 mL冲洗腹腔,予4-0可吸收线逐层关腹。

1.5 术后护理

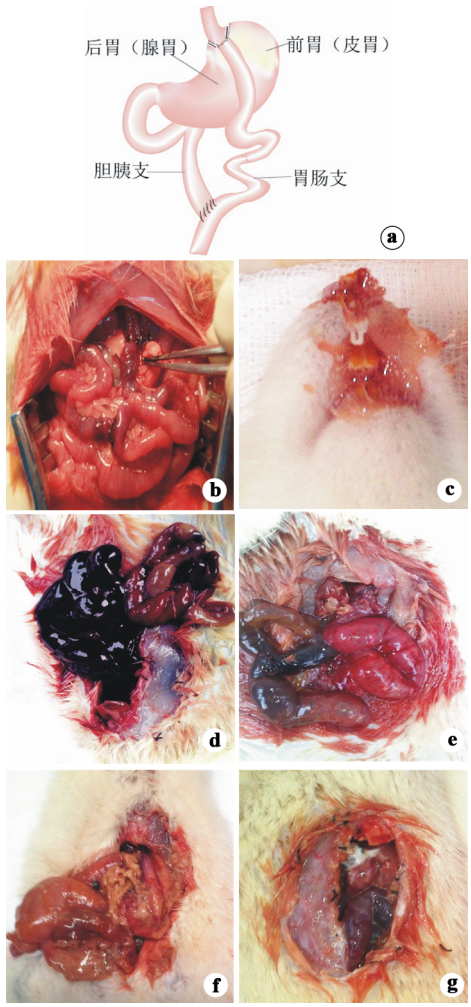
大鼠术后予生理盐水5 mL/100 g皮下注射避免脱水,术后24 h禁食水,24 h后饮10%的葡萄糖液30 mL。术后前3日,每日2次按上述方法皮下注射生理盐水,并肌肉注射2.5%头孢唑啉按10 mg/100 g,每日2次。术后第4天开始饲喂牛奶,术后第7天,正常喂养大鼠固体饲料。

2 结果

两批次共30只大鼠,28只完成手术(2只因麻醉意外停止手术),手术平均用时约130 min。大鼠存活2周以上视为存活,共17只(56.7%)大鼠术后存活,术后死亡情况见表1、大鼠手术情况见图1c~g。

3 讨论

胃旁路手术治疗肥胖T2DM在国外已广泛开展,其效果经临床医生多年随访证实[3-4]。21世纪初,手术治疗糖尿病的理念进入国内,一些学者在此领域进行了有益的探索[5-6]。吴良平等[7]对体重指数不小于28 kg/m^{2}接受胃旁路术糖尿病患者进行了为期3年的随访,结果显示,所有入选患者糖化血红蛋白达标(小于6.5%)比例达91.7%,结果令人鼓舞。张弘伟等[8]对137例接受胃旁路手术中位随访时间18个月的T2DM患者分析,发现术后糖脂代谢指标较术前显著改善。但目前手术治疗糖尿病的机制尚不明确,这成



a:大鼠胃旁路手术示意图;b:建模术中;c:心衰后粉红色泡沫状痰;d:坏死小肠,与正常组织区别明显;e:吻合口狭窄/梗阻,胃肠支明显胀气,胆胰支及小肠下段无胀气,同时可见小肠部分坏死;f:吻合口瘘致食糜膨出;g:吻合口感染示脓性分泌物

图1 大鼠胃旁路手术模型及致死原因

表 1 大鼠术后死亡情况

死亡原因	大鼠(只)	比例(%)	死亡时间
麻醉	2	6.7	术中
急性左心衰	1	3.3	术中
出血	1	3.3	术后 2 h
感染	2	6.7	术后第 3 天
小肠坏死	2	6.7	术后第 3 天
吻合口狭窄/梗阻	4	13.3	术后第 3 天
吻合口瘘	1	3.3	术后第 3 天

为制约糖尿病外科发展的主要障碍。

动物模型的建立对研究降糖机制具有十分重要的意义,在目前临床实验研究中,受人群样本和伦理学要求的限制,前瞻性临床随机对照实验难以大范围开展,许多验证性的临床随机对照实验不经过动物实验而直接在人群上进行研究,在伦理学上是严格禁止的。糖尿病大鼠(GK 大鼠)模型可以通过高脂高糖饮食来诱导,这同 2 型糖尿病发病机理相似。对这类大鼠实施胃旁路手术,探讨手术对肥胖下胰岛素抵抗的影响,较为合理可行,这同时也符合伦理学的要求。众多学者通过动物模型提出了许多假说并以动物手术模型进行了验证。Habegger 等[9]就以肥胖大鼠为模型发现了消化液与食物对近端小肠的作用(前肠假说)。但对许多实验者而言,在大鼠身上实施胃旁路手术操作难度大,而 GK 大鼠昂贵,直接进行 GK 大鼠胃旁路手术实验存在众多不确定因素。因此,应用 SD 大鼠造模为初学者提供经验和技术积累是较为经济的办法。

本研究成功建立了 SD 大鼠胃旁路手术模型,发现麻醉及围手术期管理、手术技巧、感染防治是影响建模的主要因素。麻醉是建模过程中的一个重要因素,既要避免麻醉剂量过大引起动物死亡又要避免剂量过小引起动物早醒。本研究中,2 只大鼠因麻醉死亡。这是由于前期建模过程中我们经验不足所致,所有大鼠同时禁食,导致部分大鼠在正常禁食期过后仍因等待手术禁食时间过长致使其营养不良、内环境紊乱,对麻药的耐受降低而死亡。我们建议应根据手术进程分批分时间禁食,这样既可以避免大鼠禁食时间过长,又可以及时分析建模失败大鼠的死亡原因,以期再次手术时改进。在我们手术过程中,也有大鼠提前苏醒情况发生,一般补充 10% 水合氯醛 0.05 ~ 0.1 mL 即可。要强调的是,补充麻醉药一定要小剂量,仔细观察大鼠反应后再确定是否需要给药。

在手术过程中要注意术中管理和提高手术技巧尽快完成手术。我们观察到,在胃肠吻合和肠肠吻合的时候,大鼠的小肠在腹外暴露于空气中的时间不宜超过 30 ~ 40 min,时间过长易使小肠血供不好,吻合时应将盐水纱布覆盖暴露肠管,减少暴露时间。在肠吻合时,我们的经验是选择系膜对侧缘肠管,不游离系膜,避免肠管缺血坏死;大鼠小肠的特点决定了其不可能有大量出血,切开肠管壁时检查有无活动性出血,少量渗血时适当压迫即可,然后尽快吻合,吻合完毕后检查远、近端小肠血运是否良好。在胃肠吻合时应注意大鼠胃血管沿食管下行至贲门后呈发散状,其与切口缘垂直,单纯间断缝合有时不易止血,此时需用“8”字缝合加强,本研究中出现了 1 例大鼠术后 2 h 因胃断端广泛性渗血而死亡。良好的手术技巧是手术成功的保障,缝合、止血操作要轻柔,要注意吻合口的大小。本实验中吻合口狭窄/梗阻的发生率高达 13.3%,死亡后大鼠尸体解剖可见吻合口以上肠管明显胀气、坏死。后来我们将肠肠端侧吻合改进为侧侧吻合,吻合口直径从 5 mm 改为 8 mm 后就避免了吻合口狭窄。术毕常规生理盐水冲洗腹腔,减少术后腹腔粘连,利于下次手术取样。本组大鼠有 1 例在冲洗过程中突发呼吸困难,鼻孔处观察到粉红色泡沫状痰,可能因冲洗及手术刺激致急性左心衰竭、肺水肿而死亡。

围手术期间,除术前分批禁食、分批手术,避免内环境失稳外,术后管理也很重要。经历禁食和手术失血,大鼠体内酸碱、水电解质可能失衡,我们的做法是术后前 3 d 每日 2 次皮下注射 5 mL/100 g 生理盐水,避免脱水。同时观察大鼠术后 24 h 饮葡萄糖液情况,如无异常才逐渐过渡到流质饮食→半流质饮食→固体饮食。本组 1 只大鼠在术后第 5 天因误食固体饲料致吻合口瘘死亡,术后解剖见胃极度膨胀,固体食物未消化,瘘口周围广泛粘连,腹腔内可见脓性分泌物,估计因感染性休克致死,所以不建议过早进食固体饲料。

感染是建模成功与否的重要因素,建模全程都应防治感染。层流手术室和外科无菌术是预防感染的前提;术前需预防性使用抗生素,本组 2 只发生感染的大鼠均是在早期未预防性使用抗生素时而致建模失败。术中注意胃肠切口边缘消毒及周围组织的保护,尽量缩短手术时间,减少腹腔暴露。术后亦需要抗感染,一般是术后前 3 d 肌肉注射 2.5% 头孢唑啉按 10 mg/100 g,每日 2 次。头孢唑啉便宜,抗感染效果好,现配现用,可以较好地防治感染。

总之,对大鼠实施胃旁路手术是可行的,限于手术水平不高和经验匮乏,本组实验大鼠死亡率较高。总结SD大鼠胃旁路手术致死因素并加以改进是本次实

猪肺支气管树三维可视化模型的构建及意义

黄海龙[1],符伟平[2],龚达聪[1] (1. 肇庆医学高等专科学校形态学研究室,广东 肇庆 526020;2. 肇庆市第二人民医院影像科,广东 肇庆 526060)

[摘 要] **目的** 探讨构建猪肺支气管树三维可视化模型的方法及意义。**方法** 采用改良环氧树脂混合液-氧化铅填充剂对新鲜完整猪肺标本进行灌注并铸型,并在铸型基础上行CT扫描获取原始二维断层图像数据集,利用Mimics 15.0软件构建猪肺支气管树三维可视化模型。**结果** 构建猪肺支气管树三维可视化模型的三维效果逼真,不但清晰地显示肺支气管树的各叶分支走行及分布,而且可以在三维空间内任意缩放、平移及以任意轴为中心行任意角度旋转。此外,还可以对各叶支气管管径和距离进行测量。**结论** 基于CT数据集,利用三维重建技术构建猪肺支气管树三维可视化模型,为解剖学教学提供形态学参考和后期的虚拟手术奠定基础。

[关键词] 支气管树;铸型标本;三维重建;可视化模型;猪肺
[中图分类号] R816.8 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2016)01-0008-03

Construction and significance of three-dimensional visual model in bronchial tree of pig lung

HUANG Hai-long[1], FU Wei-ping[2], GONG Da-cong[1] (1. Department of Morphologic Lab, Zhaoqing Medical College, Zhaoqing Guangdong 526020, China; 2. Department of Imaging, the Second People's Hospital of Zhaoqing, Zhaoqing Guangdong 526060, China)

Abstract: Objective To explore the method and significance for constructing three-dimensional visual model in bronchial tree of pig lung. **Methods** A set of pig lung specimen was infused with epoxy resin-lead oxide through the trachea, and then casted. The Mimics 15.0 was used to construct three-dimensional visual model in bronchial tree of pig lung by utilizing CT data of the cast specimen. **Results** In the reconstructed three-dimensional visual model of bronchial tree, the three-dimensional effect was realistic. This model not only clearly showed each lobar direction and distribution of bronchial tree, but also allowed three-dimensional arbitrary scaling, shifting or rotating at any angle, and the diameter and distance of each lobar bronchus could be measured with the sofeware. **Conclusion** The three-dimensional visual model in bronchial tree of pig lung can be successfully reconstructed from the CT dataset by using related sofeware like Mimics, which can bring morphological reference to anatomical teaching and will be helpful to the development of virtual operation.

Keywords: bronchial tree; cast specimen; three-dimensional reconstruction; visual model; pig lung

doi:10.11659/jjssx.09E015126
[基金项目] 肇庆市科技创新项目(2014E281)
[收稿日期] 2015-09-17 [修回日期] 2015-09-28

验的目的,以期为建立GK大鼠胃旁路手术模型提供经验和技术积累。同时应用SD大鼠造模大大节约了实验成本,利于初学者进行练习和预实验,也给临床研究提供了一些有益的思考。

[参考文献]

[1] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2009[J]. Diabetes Care, 2009, 32(S1): S13-S61.
[2] 刘金刚,郑成竹,王 勇. 中国肥胖和2型糖尿病外科治疗指南(2014)[J]. 中国实用外科杂志,2014,34(11):1005-1010.
[3] Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP, et al. Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes: 3-year outcomes[J]. N Engl J Med, 2014, 370(21): 2002-2013.
[4] Sjostrom L, Peltonen M, Jacobson P, et al. Association of bariatric surgery with long-term remission of type 2 diabetes and with microvascular and macrovascular complications[J]. JAMA, 2014, 311(22): 2297-2304.
[5] 黎 飞,张玉新,吴良平,等. 不同体重指数的2型糖尿病腹腔镜胃旁路术后临床疗效对比研究[J]. 局解手术学杂志,2015,24(2):150-153.
[6] 杨纪才,梁自文,吴绮楠,等. 腹腔镜胃转流术治疗2型糖尿病合并高血压[J]. 局解手术学杂志,2012,21(4):387-388.
[7] 吴良平,文其武,曾松华,等. 腹腔镜胃旁路术治疗2型糖尿病44例疗效分析[J]. 中国实用外科杂志,2014,34(11):1060-1063.
[8] 张弘玮,于浩泳,狄建忠,等. 减重手术治疗肥胖合并2型糖尿病疗效分析[J]. 中国实用外科杂志,2014,34(11):1064-1067.
[9] Habegger KM, Al-Massadi O, Heppner KM, et al. Duodenal nutrient exclusion improves metabolic syndrome and stimulates villus hyperplasia[J]. Gut, 2014, 63(8): 1238-1246.

(编辑:左艳芳)