猪劈离式实验原位肝脏移植模型的建立及探讨

陈国勇,孙建军,曲青山,苗书斋,刑 利,蔡文利 (郑州市人民医院移植科,河南 郑州 450003)

[摘 要] **目的** 制作猪肝脏劈离式原位肝脏移植模型,为临床肝脏移植提供稳定的模型基础。**方法** 采用改良的原位肝脏移植20例,对供肝沿Taira线劈离,对断面修整后,分别行原位移植,观察血流动力学及血液生化和温度的变化。**结果** 手术时间(220±31) min及无肝期(35±6) min动物术后肝功能恢复顺利,手术成功率50%,10例动物存活时间均超过48 h。**结论** 采用猪同种异体原位劈离式肝脏移植模型(沿Taira线)具有操作简便,标准化程度及手术成功率高,重复性和稳定性好的优点,是大动物肝移植系列研究的较理想动物模型,为充分利用有限的器官资源提供理论支持。

[关键词] 肝脏移植;猪;动物模型;劈离式

[中图分类号] R657.3 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2009)01-0011-03

Establishment and investigation of experimental splitting procine model of living doner liver transplantation

CHEN Guo-yong, SUN Jian-jun, QU Qing-shan, MIAO Shu-zhai, XING Li, CAI Wen-li (Department of Explantation, The People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou Henan 450003, China)

Abstract: Objective To establish and investigate a experimental splitting procine mode of living doner liver transplantation. **Methods** Twenty domestic pigs of both sexes, splited through Taira line protected the portal vein and hepatic vein of orthotopic liver transplantantion. The changes of hemodynamics, metabolism and temperature were investigated. **Results** The survival rate after one week was 50%, operative time of recipient was (220±31) min. The recipient underwent anhepatic period was (35±6) min. **Conclusion** The result indicated that the model was reliable in the study of splitting through Taita line Procine mode of living doner liver transplantation.

Keywords: liver transplantation; pig; animal model; splitting

劈离肝移植就是将一个尸体或活体供肝分割成两半,分别移植给两个受体或切取半肝移植给另一受体。这种技术在不损害成人供肝库的前提下,对供肝的紧缺有一定的缓解作用,具有显著的优点,但也存在着术后胆道并发症发生率高、左内侧叶缺血坏死等问题[1]。为了进一步开展劈离式肝脏移植的研究,我院建立了劈离式猪肝脏移植模型,沿Taira线劈离(膈面位置从肝中静脉右缘至胆囊床中点,脏面位置从胆囊床中点出发与门静脉旁正中支近乎平行的直线构成的平面),让外科手术人员学习和掌握活体肝脏移植的技术和技巧。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

40只健康良种幼猪,雌雄不拘,体重25~30 kg,受体组20只,供体组10只,另取成猪20只为供血组,按每窝猪随机配成20对。每对猪以体重重者为供体,轻者为受体。

[作者简介] 陈国勇(1971-),男,河南省郑州市人,副主任医师,学士,主要从事器官移植基础及临床方面的研究。电话:(037)65390000-6256,E-mail:sunjiandy@sohu.com

[收稿日期] 2008-10-10 [修回日期] 2008-11-15

1.2 方法

1.2.1 动物准备 术前实验猪禁食12 h,禁饮6 h。麻醉成功后右颈内静脉切开置管监测中心静脉压(CVP),右颈内动脉切开置管监测动脉压(ABP)。于切肝前10 min、阻断后10 min、供肝插入开放门静脉后30 min取门静脉血,测电解质、全血缓冲碱(BB)及标准碳酸氢根(SB)。

1.2.2 劈离式原位肝移植模型及体外转流建立 供体全身肝素化(3 mg/kg)后,行腹主动脉插管,门静脉插管。腹腔动脉上方阻断腹主动脉,以4 ℃ UW液经腹主动脉(1 500 mL)及门静脉(2 000 mL)向肝脏行重力灌注,速度为连续滴注但不成线,开始灌注后即剪开膈肌剪断胸腔内肝上下腔静脉,并剪断肝下下腔静脉,肝周冰屑降温,灌洗完毕后见肝脏呈黄白色。于肝十二指肠韧带向腹腔动脉方向游离肝固有动脉,结扎各动脉分支,直至腹主动脉,于腹腔动脉根部的腹主动脉两侧离断。完全离断肝周韧带,移出供肝,立即置于4 ℃ UW液中。在水浴中沿Taira线行劈离手术,结扎并离断相应的血管蒂和胆道。仔细检查肝断面,发现渗漏处及时缝闭。供肝准备完成前在肝脏的断面涂以纤维蛋白胶。受体先行脾切除术,全身肝素化后,预置并连接脾静脉、股静脉和颈外静脉转流管,接离心泵,转流方式为将门静脉(脾静脉)和股静脉血流转至颈外静脉。转流开始,流量约20~30 mL/kg,同时阻断肝上下腔静脉、肝下下腔静脉及肝十二指肠韧带,保留足够长度肝上、下下腔静脉、门静脉及胆总管切断取出肝脏,将供肝半肝(左或右)植

人,肝周冰屑降温,右半肝供肝肝上下腔与受体肝上下腔静脉行端端吻合,吻合时间15~20 min,供肝肝下下腔静脉与受体肝下下腔静脉行端端吻合,供肝门静脉与受肝门静脉行端端吻合,吻合时间10~15 min;左半肝肝左与肝中静脉汇合成一支后,与受体下腔静脉行端侧吻合,门静脉左支与受体门静脉行端端吻合术,成功后停止转流,开放肝上下腔静脉、肝下下腔静脉,开放门静脉循环,热缺血时间为0 min,冷缺血时间为(30±4.0)min。游离受体脾动脉,于结肠后与供体肝动脉端端吻合,重建动脉血供,胆总管行端端吻合。

2 结果

20次猪劈离式原位肝移植术术后10只受体猪存活,手术成功率50%。术后无明显胃肠道淤血,术中、术后血流动力学和生化指标较平稳,且存活时间长,超过48 h(分别于术后3 d、5 d及7 d人为处死)。另外10只受体猪术中因开放门静脉血流时肝脏再灌注损伤,致高钾血症及严重酸中毒、出血、胆漏等,术后4~48 h死亡。受体猪手术时间3~5 h,出血量600~3 000 mL。血流动力学情况及酸碱平衡及电解质变化情况见表1、表2。结果用均数±标准差表示,采用方差分析和t检验。

表1 血流动力学情况($\bar{x}\pm s$)

	HR(次/分)	MAP(mmHg)	CVP(cmH_2O)
麻醉后阻断前	132±15	90.5±10.8	7.6±2.8
开放后3 min	157±12	65.5±14.8	4.1±1.2
阻断后3 min	980±33	71.2±15.3	4.1±1.8
开放后30 min	148±14*	62.5±18.1*	5.3±2.2*

*:与开放前比较,$P<0.05$

表2 酸碱平衡及电解质变化情况($\bar{x}\pm s$)

	PH	BB(mmol/L)	SB(mmol/L)	K^+(mmol/L)
麻醉后阻断前	7.403±0.21	42±7.0	12±3.0	4.17±1.08
阻断后3 min	7.107±0.33	38±4.3	18±3.4	3.19±0.36
开放后3 min	7.275±0.35*	31±4.0*	11±3.7*	5.78±1.64*

*:与开放前比较,$P<0.05$

3 讨论

从理论上讲,劈离式原位肝移植有不少优点,既可保证足够的空间、提供充足的门静脉血供,又可充分利用日益有限的肝脏资源。因此,我们希望建立一种较理想的大动物劈离式原位肝移植模型,以探索手术方式及效果。猪门静脉系统发达,其下腔静脉循环总量约占总循环量的60%,阻断后势必影响循环功能,因此本实验中采取脾静脉、股静脉至颈外静脉的体外静脉——静脉转流,以维持必需的血液回流,防止门静脉系统淤血及维持血流动力学稳定[1-3]。此外术中适当的输血、补液以维持必要的回心血量是维持术中血流动力学稳定性的一个重要方面[2-4]。本组10例受体在死亡或出现严重并发症后均行受体解剖分析,发现肝移植有近期的技术性和非技术性并发症。6例腹腔内出血及血管性并发症以术后48 h内最多见,表现为持续性的引流管血性液体、腹胀、进行性血压下降及红细胞比容降低,主要是由于手术操作失误引起,肝上下腔静脉和左半肝与下腔静脉的吻合是肝移植手术操作中的难点,尤其是后壁出血修补困难,应尽可能一次吻合成功。左半肝与下腔静脉吻合处可出现出血或渗血,因为操作空间小,修补后仍不满意,故要力争吻合一次完成。本组在结束无肝期时有4例发生肝上下腔静脉吻合口出血,其中后壁出血3例,经放置明胶海绵和局部加固缝合后基本止血;1例为前壁和侧角部出血,加补缝合后止血。导致吻合口缩窄的主要原因是连续缝合时缝线收得过紧,扭曲的原因主要是血管对合不良或保留过长。纠正吻合口缩窄,扭曲的惟一办法是切除吻合口,重新缝合,这将大大延长无肝期时间。左半肝与下腔静脉吻合处有2例出现出血或渗血,导致吻合口出血的主要原因是针距过大或血管壁撕裂,一般可以缝合修补止血。对于大血管吻合口漏血,则需重新在吻合口两端放置无损伤血管夹,使吻合口处于无张力状态,进行补针才不至于造成更大的撕裂。胆道并发症最常见的为胆漏。本组有3例接受右半肝受体术后腹腔引流管有较多胆汁样液体流出,经解剖发现2例为吻合口漏,1例为劈离式肝脏断面漏胆。2例吻合口漏为供、受体胆总管粗细大小不等,胆总管外缝合不够紧密所致。因此,注意吻合口的质量。对于严重的吻合口破裂,则应重新吻合,胆总管端端吻合应改为胆总管空肠吻合。采用胆总管空肠吻合术的胆漏,则应拆除原吻合口,消除供肝胆总管无活力的管壁并剪去近吻合口的空肠壁,再进行胆肠吻合术。供体为左半肝胆管采用胆总管空肠吻合术。本组受体中有2例出现肝动脉吻合口扭曲、成角并局部栓塞形成,解剖发现供肝血管管腔较小,吻合时血管外膜内翻。常见的危险因素有肝动脉直径小于3 mm吻合技术缺陷和术后缺乏有效抗凝治疗等,均可增加肝动脉血栓发生率。此外,移植术后是否使用阿司匹林目前尚存在争议,因为后者也是引起术后出血的原因之一。有6例受体术后出现少尿,可能与术中出血、低血压、补液不足有关,补液量应在明确的血流动力学参数指导下进行,以便维持一个满意的肺动脉楔压[5-8]。

全肝阻断时,肝脏代谢功能消失,形成无肝期,下腔静脉、门静脉中断使血流淤滞于下肢及门静脉系统。植入肝血流开放后,供肝内大量高钾保存液的释

放使受体出现明显的内环境系统紊乱，表现为严重的代谢性酸中毒和高钾血症[3]。本实验表明植入肝开放后SB、BB明显下降，血K^+升高，其中1例甚至因明显的高钾血症而出现突发的心动过缓，即测血K^+为7.38 mmol/L，经积极处理后虽有好转，但仍于术后不久死亡。因此积极预防纠正再灌注后酸碱平衡失调及电解质失衡也是提高受体成活率的关键之一。低体温是肝移植中普遍存在的现象[2-3]，可导致明显的生理功能异常，如凝血功能紊乱、严重心律失常、严重的代谢性酸中毒、苏醒困难等。本实验中因创面大，散热量较大；供肝需在低温(4 ℃)中保存；输血、输液量较大。所以受体体温下降十分明显。在静脉与静脉转流期间，可利用变温器控制保持体温，故体温下降不明显。在转流停止、供肝血流开放后，失去了体外循环保温，且大量冷灌注血液回流入体循环，故体温下降明显。此时，采取各种措施保持体温尤为重要，如变温毯，温水灌洗腹腔、输入加温的液体等。

通过以上20例次猪劈离式原位肝移植的手术操作、术中及术后处理，我们总结出以下经验和教训：①精湛的血管外科技术和良好的外科基本功，是保证肝移植手术成功的前提；②沿Taira线进行劈离，可减少管道系统损伤，是行猪肝劈离式肝移植的可行方案[4-6]；③处理好供肝断端，尤其是管道系统，对于术后严重并发症的发生率的降低有着至关重要的作用；④尽可能缩短供肝的热缺血时间和冷保存时间；⑤供、受体术前的全面评价、良好的麻醉技术以及无肝期血流动力学的稳定等都是手术成功的重要因素；⑥水、酸、碱、电解质及凝血功能的及时纠正也是重要的环节[5]。利用猪肝移植技术训练了手术队伍，同时可解决许多临床肝移植过程中碰到的难题，因此，开展动物的肝移植实验对于临床肝移植和肝脏移植的基础研究仍然有着不可替代的地位。

[参考文献]

[1] 卿德科，韩本立，董家鸿，等. 小型猪原位肝移植模型的建立与评价[J]. 消化外科，2003，2(5)：314－317.
[2] 郑树国，冯晓彬，董家洪，等. 非转流型小猪原位肝移植模型的建立与评价[J]. 中国普外基础与临床杂志，2005，12(5)：451－454.
[3] 尹震宇，李 宁，黎介寿，等. 猪肝小肠联合移植模型的建立[J]. 中华器官移植杂志，2004，25(2)：86－88.
[4] 宿华威，韩德恩，李玉兰，等. 家猪肝脏劈离的应用解剖学研究[J]. 解剖学杂志，2002，25(2)：187－189.
[5] Brady CW，Smith AD，Stechuchak KM，et al. Frequency and predictors of de novo hepatocellular carcinoma in patients awaiting orthotopic liver transplantation during the model for end-stage liver disease era[J]. Liver Transpl，2008 14(2)：228－234.
[6] 蒲森水，钟世镇，石 瑾. 猪活体肝脏移植的应用解剖[J]. 中国临床解剖学杂志，2003，21(1)：74－76.
[7] 刘 菲，刘雁冰，陈锡美，等. 异种肝细胞移植进展[J]. 国际消化病杂志，2007，27(1)：27－30.
[8] 刘全达，周宁新. 重视肝脏移植术后肝动脉并发症的防治[J]. 局解手术学杂志，2004，13(3)：C002.

(编辑：周小林)

(上接第8页)

2.2 体位护理

一旦发生脑脊液漏，应及时抬高床脚20～30 cm，取头低脚高位。同时取俯卧位对手术后脑脊液漏的治疗至关重要[2]。可以让病人俯卧位和侧卧位交替进行，即俯卧1 h后，侧卧10 min，降低胸腰段压力以减少渗出。若引流量逐渐少至100 mL以下，3 d引流管无脑脊液流出，则为脑脊液漏已痊愈。在脑脊液漏愈合前，禁止坐起或下床活动[3]。

2.3 切口护理

脑脊液漏时由于切口渗出较多，切口敷料潮湿，脑脊液中含有大量葡萄糖，为细菌的生长繁殖提供了充足的条件。不但漏口皮肤切口难以愈合，而且容易引起逆行感染，甚至波及颅内危及生命。因此，应杜绝一切可能引起感染的因素，应尽快拔除引流管，更换敷料，保持局部干燥，换药时应严格无菌操作，必要时局部加压包扎或加密缝合。对已有感染的脑脊液漏，不能抬高床脚及腹带加压包扎，以免下腰部炎性脑脊液流向脑部或椎管其他部位，形成或加重脑膜炎。本组无1例病人术后发生感染。

3 预防

术中避免损伤硬脊膜，术后经切口椎旁肌放置引流管，并严密缝合腰背筋膜。术后返回病房，护士应安置患者于正确体位，避免脊柱扭曲，正确放置引流袋位置，应低于切口部位，防止逆流。术中已发生硬脊膜损伤或疑有脑脊液流出者，术后不宜负压引流，可接无菌引流袋常压引流，并严密观察引流液量及性状。护士应向医师了解术中情况，有无硬脊膜损伤及硬脊膜缝合情况，做到心中有数，进行针对性护理。

[参考文献]

[1] 刘卫华，盖 芸. 颈椎前路手术治疗颈髓损伤患者80例护理体会[J]. 河北医学，2003，8(3)：270.
[2] 孙垂国，陈仲强，齐 强，等. 胸椎黄韧带骨化手术并发硬脊膜损伤造成脑脊液漏的原因及防治[J]. 中国脊柱脊髓杂志，2003，13(12)：724.
[3] 支立娟，吴新军. 脊柱侧凸围手术期护理体会[J]. 局解手术学杂志，2006，15(3)：212.

(编辑：余汇洋)