维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2003)06-0778-03

改进的大鼠原位肝移植术与相关手术技巧

彭 勇,龚建平,刘明忠,刘海忠,尤海波,刘长安

(重庆医科大学第二临床学院肝胆外科,重庆 400010)

【摘 要】目的:改进大鼠原位肝移植的手术方式,并总结出相关手术技巧。方法:用改进的二袖套法共建立 160 例大鼠原位肝移植模型。术中门静脉、肝下下腔静脉用袖套法吻合,肝上下腔静脉用缝合法吻合,胆管内支架法完成胆道重建。结果:采用改进的二袖套法进行大鼠原位肝移植,平均供体手术时间 46min,修整供肝时间 24min,受体无肝期 21min,肝上下腔静脉缝合时间 13min,门静脉套管时间 3min,肝下下腔静脉套管时间 4min,胆管插管时间 3min。术中和术后 24h 内主要死亡原因是气胸、麻醉意外、出血,手术成功率 92.5%。存活超过 24h 者,主要死亡原因为感染、胆道梗阻以及移植肝功能失活。结论:制作大鼠原位肝移植模型需要娴熟的显微外科基本功和耐心细致的手术操作。改进的二袖套法具有无肝期短、手术成功率高的优点,是建立该模型的理想术式。

【关键词】大鼠;原位肝移植;手术技巧

【中国图书分类法分类号】R657.3 【文献标识码】A 【收稿日期】2003-05-20

Improvement in orthotopic liver transplantation in rat and related operation skills

PENG Yong, et al

(*Department of Hepatobiliary Surgery, the Second College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To improve orthotopic liver transplantation in the rat and conclude related operation skills. *Methods*: 160 cases of orthotopic liver transplantation models in the rat were established by improved two-cuff technique. The anastomosis of portal vein between donor and recipient was performed by cuff technique. The same method was used to anastomose infrahepatic vena cava. The suprahepatic vena cava anastomosis was performed by suture and bile duct anastomosis was completed end to end by Teflon catheter. *Results*: The average time of donor operation, preparing graft and anhepatic period was 46min, 24min and 21min respectively. The anastomosis time of suprahepatic vena cava, portal vein, infrahepatic vena cava, and bile duct was 13min, 3min, 4min, and 3min respectively. Main reasons for death during operation were pneumothorax, anesthesia and bleeding, and the successful rate of operation was 92.5%. Infection, obstruction of biliary tract and graft failure were attributed to the main causes for mortality after operation. *Conclusion*: Making orthotopic liver transplantation in the rat requires professional microsurgical techniques and careful operation. The improved two-cuff technique possesses advantages of short anhepatic phase, high operative successful rate, and is an ideal method for establishing this animal model.

【Key words】Rat; Original liver transplantation; Surgical operation skill

1973 年,Lee 等首次报道用"显微缝合法"进行大鼠原位肝移植术并取得成功。之后 Kamada、Miyata 相继用"袖套法"和"三袖套法"完成手术操作[1],大大缩短了无肝期,但仍然存在较多并发症,影响了手术的成功率。我们将传统的二袖套法加以改进,共进行大鼠原位肝移植术 160 例。实验证明该法能提高手术成功率、延长大鼠术后存活时间,是建立该模型的一种高效、稳定的手术方式,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康、成年、雄性 Wistar 大鼠,体重 200g~220g(重庆医

基金项目:国家自然科学基金(30200278),重庆市卫生局([2001]46号)。

作者介绍:彭 勇(1976-),男,博士生,主要研究方向:器官移植。

维普资讯 http://www.cqvip.com

科大学实验动物中心提供)。供、受术前禁食 12h,但不禁饮。

1.2 实验仪器

用于门静脉、肝下下腔静脉的袖套以及胆管内支架由聚乙烯塑料管制成,管径(内径和外径)分别为 1.5mm、2.0mm;2.5mm、3.0mm;0.5mm、0.9mm,长度分别为 3.0mm、3.0mm、4.0mm。采用上海手术器械厂的显微外科手术器械包、Satinsky 钳,8-0 医用无损伤缝合针线。自制的鼠板、麻醉器以及供肝保存器。

1.3 肝移植模型的建立

1.3.1 供者手术

①游离肝周韧带和血管:麻醉成功后取腹部正中切口入腹,切断肝周韧带和血管,分离肝下下腔静脉和肝门部的门静脉、肝动脉及胆总管。用已准备好的胆管支架作胆管内插管。

②灌洗供肝:供体血液充分肝素化后结扎切断肝动脉。穿刺门静脉,用 4℃ 的平衡盐溶液 10ml 缓慢低压灌洗肝脏,灌洗至肝脏变黄时,剪断肝下下腔静脉和门静脉。剪开膈肌,在胸腔内剪断肝上下腔静脉,围绕腔静脉孔环切膈肌。取出供肝,放入 4℃ 的平衡液中待修整。

1.3.2 修整供肝

用已准备好的血管袖套进行门静脉、肝下下腔静脉套管。剪去多余的膈肌,在肝上下腔静脉孔的两角用 8-0 的带针线各缝一针支持线。

1.3.3 受体手术

①切除原肝:入腹后游离肝周韧带和血管。切断胆总管和肝动脉,游离门静脉左右支。阻断肝下下腔静脉,结扎门静脉左右支。用 Satinsky 钳将肝上下腔静脉连同部分膈肌一起钳夹并将之切断。紧贴肝脏切断门静脉左右支和肝下下腔静脉,移去受者肝脏。

②移植供肝:将供肝原位置入受体腹腔内。先端端吻合肝上下腔静脉,再完成门静脉的袖套吻合。吻合完毕,立即开放门静脉和肝上下腔静脉,结束无肝期。完成肝下下腔静脉的袖套吻合后开放体循环。最后,将供肝胆管内支架直接插入受体胆管断端中完成胆道重建。一层关腹,结束手术。

1.4 数据和统计学处理

采用 SPSS 软件分析,结果用均数 ± 标准差表示。

2 结 果

2.1 主要手术过程用时

采用改进的二袖套法进行 160 例大鼠原位肝移植,供体手术时间(46 ± 4)min,修整供肝时间(24 ± 2)min,受体无肝期(21 ± 3)min,肝上下腔静脉缝合时间(13 ± 2)min,门静脉套管时间(3 ± 2)min,肝下下腔静脉套管时间(4 ± 2)min,胆道重建时间(3 ± 1)min。

2.2 术中及术后主要死亡原因

共有 12 例由于气胸(1 例)、麻醉意外(1 例)、术中失血性休克(2 例)和术后渗血(8 例)在术中和术后 24h 内死亡,手术总体死亡率 7.5%(12/160),手术成功率 92.5%(148/160)。存活超过 24h 者,大鼠主要死亡原因为感染(6 例)、胆道梗阻(7 例)以及移植肝功能失活(4 例)。其中,在 1 周以内死亡 7 例,1 周总体生存率为 88.1%(141/160);1 月内共死亡 14 例,1 月总体生存率为 83.8%(134/160;131 只大鼠存活超过 6 个月(半年总体生存率为 81.9%)(图 1)。

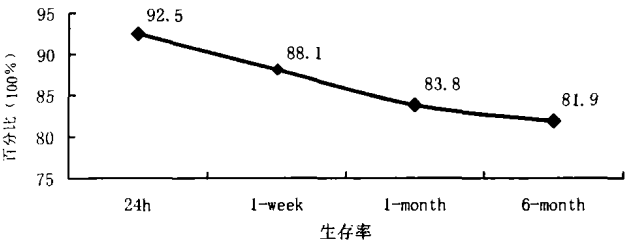


图 1 术后主要时点生存率

3 讨 论

大鼠原位肝移植需要精细的显微外科操作。供、受体任何一个步骤操作失误都会导致手术失败,甚至直接引起大鼠死亡。我们对 Kamada 传统袖套法进行了有益的改良,获得了很好的手术效果,并提出了以下手术技巧和技术改进。

3.1 血管袖套及胆管内支架的准备

导管应管腔大而管壁薄,以保证血流和胆汁流动通畅。我们选用相应大小的医用输液器和硬膜外导管作为袖套和支架的材料来源,很好的满足了以上要求。并且,通过在袖套的外壁作刻痕加强了环扎固定的牢靠性。160 例大鼠,无 1 例发生管腔狭窄或袖套脱落。

3.2 供肝获取技巧

供肝质量的好坏直接影响术后大鼠肝功的恢复情况[2],获取高质量的供肝关键在于减小肝脏损伤、缩短热缺血时间,以及充分灌洗。①减小肝脏损伤和保持肝脏湿润:我们从肝左缘开始,顺时针方向游离肝周血管和韧带,减少了对肝脏的翻动。②充分灌洗:灌洗速度最好控制在每分钟 2~3ml,以手

维普资讯 http://www.cqvip.com

指推注时不感到有明显的阻力、肝不肿胀为宜。灌洗的同时应在供肝周围腹腔内放置碎冰屑,直至供肝取出,以减轻热缺血损伤[3]。我们通过以上手术操作的改进,灌洗后的肝脏呈现均匀的黄色,无"盲区"或挫伤。

3.3 供肝修整技巧

静脉套管时要注意管耳的方向与定位,以防血管扭曲或成角。修肝完毕,经门静脉再一次低压注入少量 4℃ 平衡液以确定各血管是否通畅和袖套安装是否扭曲(对于初学者尤为重要)。整个修肝过程应尽快完成(控制在 30 分钟以内),以缩短供肝的冷缺血和保存时间,减轻对供肝的损伤[4]。

3.4 受体手术技巧

受体手术要点是尽量减少出血、损伤;高效、迅速完成血管的吻合以缩短无肝期。①缩短无肝期时间:Kamada 的研究表明,无肝期超过 26 分钟,大鼠很难存活[5]。因此,迅速完成门静脉和肝上下腔静脉的吻合、恢复肝脏血供至关重要[6]。②提高显微缝合技术:我们采用"两定点"缝合法完成肝上下腔静脉的吻合,先前壁再后壁,共计约 14 针。在结束吻合前用肝素生理盐水冲洗管腔排出气泡,以防发生空气栓塞。③袖套吻合技巧:袖套吻合时容易发生空气栓塞,导致相应肝叶的缺血坏死。我们用边套管,边冲洗管腔的方法有效地避免了空气栓塞的发生。在我们的实验中,经过袖套吻合的静脉未发生 1 例漏血、狭窄或血栓形成。④预防胆道并发症:Lee 将供者胆管植入受者十二指肠内,结果胆管坏死、胆漏、胆管炎的发生率较高[7]。我们采用胆管内支架端端吻合的方法完成胆道重建,保留了 Oddi 括约肌的全部功能,能够有效地预防以上并发症发生。在我们的实验中,无 1 例胆管坏死和胆漏发生。⑤预防术后感染:术中尽快开放肝下下腔静脉以恢复体循环,维持血液动力学的稳定是预防肺部感染的有力保障[8]。

综上所述,大鼠原位肝移植手术难度大,需要娴熟的显微外科技术和耐心细致的手术操作。采用改进的"二袖套法"可以简化手术术式,提高手术成功率,是建立该模型的理想方式。

参 考 文 献

[1] Li J, Dahmen U, Dirsch O, et al. Modified sleeve anastomosis for reconstruction of the hepatic artery in rat liver transplantation[J]. Microsurgery, 2002; 22(2): 62 - 68.

[2] Neumann U, Knoop M, Langrehr JM, et al. Impact of donor factors on postoperative liver function after orthotopic rat liver transplantation[J]. Transplant Proc, 1998; 30(5): 2331 - 2333.

[3] Fudaba Y, Tashiro H, Ohdan H, et al. Prevention of warm ischemic injury in rat liver transplantation by geranylgeranylacetone[J]. Transplant Proc, 2000; 32(7): 1615 - 1616.

[4] Selzner N, Selzner M, Tian Y, Kadry Z, et al. Cold ischemia decreases liver regeneration after partial liver transplantation in the rat: A TNF - alpha/IL - 6 - dependent mechanism [J]. Hepatology, 2002; 36(4 Pt 1): 812 - 818.

[5] Kamada N, Calne RY. Orthotopic liver transplantation in the rat: technique using cuff for portal vain anastomosis and biliary drainge[J]. Transplantation, 1979; 28(1): 47 - 50.

[6] Urata K, Brault A, Huet PM, et al. Effects of portal vein clamping time on rat liver microcirculation following extended cold preservation and transplantation[J]. Transpl Int, 1999; 12(6): 408 - 414.

[7] Lee S, Charters AC, Chandler JG, et al. A technique for orthotopic liver transplantation in the rat[J]. Transplantation, 1973; 16(6): 664 - 669.

[8] Meyer K, Brown MF, Zibari G, et al. ICAM - I upregulation in distant tissue after hepatic ischemia/reperfusion: a clue to the mechanism of multiple organ failure[J]. J Pediatr Surg, 1998; 33(3): 350 - 353.