其中第一个α螺旋和第4个α螺旋与IL-3生物学活性及与IL-3受体结合能力的高低可能相关。本室利用PCR技术对hIL-3 cDNA进行定点突变[5],以期改变其所编码的氨基酸序列,在hIL-3的空间结构中,增强其功能基团的生物学活性。用PCR进行目的DNA的定点突变,有利于我们对细胞因子的生物活性,按预想的要求进行改变。

单链构象多态性分析技术是目前检测单个碱基或多个基因改变的非常敏感的方法,具有简便,快速,准确的特点,敏感性较高。在变性剂的作用下,双链DNA部分或全部被裂解为单链DNA,当在非变性的聚丙烯酰胺凝胶电泳时,单链DNA的电泳迁移率除与DNA的长短有关外,更主要的取决于DNA单链所形成的空间构象。相同长度的hIL-3 cDNA由于发生了基因突变,单个碱基的改变,导致了DNA序列的空间构象改变,亦导致了电泳速度的改变。

聚丙烯酰胺SSCP技术电泳后,以前多采用放射自显影或溴化乙锭(EB)染色的方法来鉴定有无碱基突变的存在,前者耗时,价格昂贵,而且同位素易导致放射性污染;后者则由于EB对单链DNA的结合能力远比与双链DNA的结合能力差,所以易造成假阳性。本实验采用的银染法[6]与上两种方法相比,有以下优点:①灵敏度高,只需几微升cDNA液即可进行银染操作,结果直观,保存时间较长;②需要时间短,1~2 h即可完成全部操作;③不需特殊的试剂和仪器,操作简便,一般实验室均可开展。

因此,我们采用的银染单链构象多态性技术(SSCP)为检测基因突变和DNA多态性提供了一种简便、快捷、灵敏的方法。

关键词:单链构象多态性(SSCP);人白细胞介素-3(hIL-3);基因突变
中图法分类号:R394-33 文献标识码:B

参考文献:

[1] Lendeckel U, Wex T, Arndt M, *et al*. Identification of point mutations in the aminopeptidase N gene by SSCP analysis and sequencing[J]. Hum Mutat, 1998, (Suppl 1): 158-160.
[2] 谭 峻,刘 昕主编.基因工程技术及其实验原理[M].北京:科学技术文献出版社,1994.78-91.
[3] 王 燕,朱锡华.人的IL-3突变体的构建及其在大肠杆菌中表达的研究[J].第三军医大学学报,1997,19(1):63-64.
[4] Barry S C, Bagley C J, Phillips J. Two contiguous residues in humun interleckine-3, Asp21 and Glu22, selectively interact with the α- and β-chains of its receptor and participate in function[J]. J Biol Chem, 1994, 269(11): 8488-8492.
[5] 王 燕,刘 昕.用PCR对人IL-3cNDA进行定点突变的方法研究[J].解放军医学杂志,1999,24(2):152-153.
[6] Zhang Q, Minoda K. Detection of congenital color vision defects using heteroduplex-SSCP analysis[J]. Jpn J Ophthalmol, 1996, 40(1): 79-81.

(编辑 谢义霞)

文章编号:1000-5404(2001)11-1359-02

技术方法

活体肝移植肝脏移植物的获取及修剪

Procurement of liver graft and back-table preparation for the graft in living-related liver transplantation

杨占宇[1],董家鸿[1],范上达[2],廖子良[2] ([1]第三军医大学附属西南医院全军肝胆外科研究所、西南肝胆外科医院,重庆 400038;[2]香港大学玛丽医院外科学系)

提 要:目的 总结活体肝移植肝移植物的获取及修剪经验。方法 回顾性分析2000年11月完成的1例活体肝移植术中右肝移植物的获取及修剪过程。供受体体重相近,切取含中肝静脉的右半肝为移植物。在术前血管造影、术中多谱勒超声、术中胆道造影的指导下,确定离断肝组织的切面。解剖第一、第二、第三肝门,以CUSA2000超声刀离断左右肝间的肝组织桥。移植物离体后实施冷灌注。结果 肝移植物植入后功能良好,供体术后恢复顺利。结论 切取活体肝移植物时应仔细解剖第一、二、三肝门,以超声止血刀离断肝组织。

活体肝移植已被广泛应用于治疗儿童和成人的终末期肝病患者[1,2]。获取功能良好的肝脏移植物是保证活体肝移植成功的关键步骤之一。本所于2000年11月完成1例活体肝移植,总结供肝切取及修剪经验。

1 临床资料

1.1 一般临床资料

受体男性,37岁,体重67 kg,身高169 cm。诊断:慢性重型乙型病毒性肝炎,肝性脑病Ⅱ度;肝肾综合征。供体男性,35岁,体重60 kg,身高170 cm。肝功能正常,乙型肝炎病毒标记物阴性,肝穿刺活检提示肝脏正常,腹腔动脉造影见肝动脉无变异,螺旋CT扫描见肝脏大小、质地正常,引流肝脏Ⅷ段有一支较粗大的静脉支,见图1。

基金项目:重庆市科学技术委员会攻关资助重点项目(2000847)
作者简介:杨占宇(1966-),男,河北省唐山市人,博士研究生,主治医师,讲师,主要从事肝脏移植的临床及基础方面的研究,发表论文11篇。电话:(023)68752653
收稿日期:2001-01-23;修回日期:2001-04-11

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

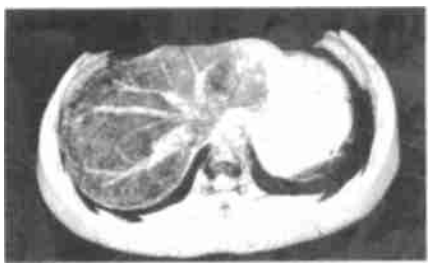


图 1 供体肝脏螺旋 CT 扫描
在中肝静脉与右肝静脉间可见引流肝脏Ⅷ段的静脉支

1.2 供肝切取及修剪

供体平卧，取上腹部“人”型切口入腹。经 Winslow 孔探查无变异的右肝动脉。应用术中多谱勒超声探查肝血管结构。离断肝圆韧带、镰状韧带，解剖 Calot 三角，切除胆囊。经胆囊管插管行胆道造影，显示肝内外胆管，左右肝管汇合无变异。

沿 Calot 三角的深面解剖右肝蒂，寻及右肝动脉、右肝管、右肝门静脉支，见图 2。游离肝右动脉到胆总管的右侧，在左右肝管汇合部的右侧离断右肝管(注意保护其周围的 Glisson 鞘)，充分显露其后方的门静脉，离断向尾状叶及左内叶的分支，使右肝门静脉支游离长度达到 1.5 cm。以 5/0 Mexon® 缝线连续缝合右肝管的断面。

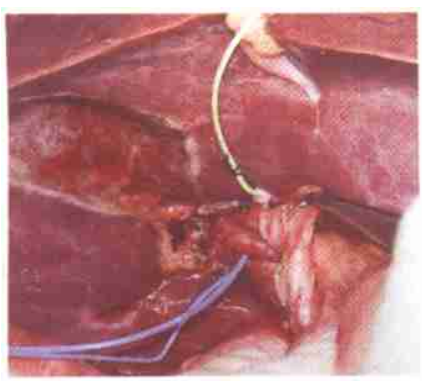


图 2 在 Calot 三角的深面解剖右肝蒂
兰色悬吊带牵引的为右肝门静脉支，其上方依次为右肝动脉及右肝管

离断右肝冠状韧带，以彩色多谱勒超声探测中肝静脉走向并在肝脏膈面作出标记。以超声刀解剖第二肝门，显露中、右肝静脉汇入下腔静脉处。

离断右肝三角韧带、肝肾韧带，充分游离右肝，解剖第三肝门，离断引流右肝及肝脏尾状叶的肝短静脉支，使右半肝与肝后下腔静脉分离，向上解剖出右肝静脉向下腔静脉的汇入点。分别阻断右肝门静脉支、右肝动脉后，显示右肝缺血区域，由此确定左、右半肝分界线。以此分界线为标记，高频电刀切开肝包膜确定切开肝脏的界线，以 CUSA2000 超声刀分离左右肝之间的肝组织桥，使右半肝仅在第一、二肝门处靠右肝动脉、右肝门静脉支、右肝静脉、中肝静脉与供体连接。在肝中静脉处保留约 0.5 mm 厚的肝组织。

靠近左右肝门静脉分叉处结扎门静脉右支，向其远端插入灌注管，连接 4 ℃平衡液，向肝脏内滴注 4 ℃平衡液时，立即阻断右肝动脉、中肝静脉、右肝静脉，离断上述血管支，将获取的移植物置于无菌冰生理盐水中，立即经右肝门静脉支灌注 4 ℃ UW 液约 1 500 ml、经肝动脉灌注 4 ℃ UW 液约 100 ml，并用 UW 液冲洗胆道。将移植物置于盛有 4 ℃ UW 液的无菌塑料袋中。

以 5/0 Prolene® 缝线连续缝合关闭中肝、右肝静脉的汇入口及门静脉的断端。肝动脉断端结扎。肝断面止血后，逐层关腹，未放置引流。

将供肝置于 4 ℃ UW 液中，以 6/0 Prolene® 缝线将右肝静脉与引流肝脏Ⅷ段的静脉支做整形，形成一共同开口，备与受体吻合。

1.3 肝移植物植入手术

将受体的肝中静脉、肝右静脉的开口修剪整齐后以 5/0 Prolene® 缝线与移植物的对应血管对端连续缝合，完成第二肝门的重建。供肝的门静脉右支与受体的门静脉主干，以 6/0 Prolene® 缝线实施血管对端连续缝合。应用受体的肝固有动脉，与供肝的肝右动脉以 9/0 Prolene® 缝线间断缝合，实现动脉血管内膜对内膜的对端吻合。修剪供肝右肝管开口，建立 Roux-en-Y 游离肠袢，以 6/0 Dexon® 缝线完成胆肠吻合。

1.4 结果

术后 26 h 受体清醒，每日多谱勒超声扫描提示肝动脉、门静脉及肝静脉血流正常。血清 ALT、TB、PT 分别从术前的 458 IU/L、403 μmol/L、40.0 s 降至术后 1 周时的 288 IU/L、107 μmol/L、15.2 s。因肺部感染、ARDS、全身性脓毒症，受体于术后第 8 天死亡。供体术后无并发症，恢复顺利。

2 讨论

在我国，脑死亡法尚未确立，开展活体肝移植有着特别重要的意义。活体供肝的缺血时间可缩短到最小，肝脏移植物质量能够得到保证。肝脏移植物的切取量要保证供体能够恢复健康，防止肝功能衰竭与并发症的发生，同时对受体来说，肝脏移植物也应有足够大小，以维持受体的肝功能。通常根据供受体体重比例选择切取供体的部分肝脏。当供体与受体体重比为 10∶1 时，切取供体的左外叶，3∶1 时切取左半肝为移植物，近于 1∶1 时宜切取右半肝(通常含中肝静脉)作为移植物。

肝移植物切取术前应对供体行全面的检查和社会心理评估，除了常规的术前准备外，应行以下特别准备：①腹部超声及 CT 检查，了解肝脏的大小、形态及胆道系统，并估计移植肝的体积；做血管造影了解肝动脉、门静脉和肝静脉的解剖行程。②肝脏穿刺活检，结合体液检查资料，确定供体是否适合做肝切除术及供肝。如果供体活检发现有 10%～15%以上的肝细胞有脂肪变性，此供体不应选用[3]。

在供肝切取及修剪手术过程中应注意：①切开肝实质及分离肝静脉周围的肝组织时必须使用超声刀。在接近肝静脉部位使用超声刀时要减小超声刀功率，谨慎操作，有时需要多次做术中的多谱勒超声检查以明确肝切面的确切部位及肝静脉和下腔静脉的解剖结构，以免损伤静脉，引起不可控制的大出血。②获取移植肝过程中不能阻断门静脉血流，以免引起肝脏缺血性损伤。③取肝时，应精细钳夹无损伤血管钳。在阻断门静脉左干或右干时不能太靠近门静脉主干，以免

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

引起门静脉狭窄,导致供体门静脉高压症。而在阻断肝静脉时,不能太靠近肝左静脉和肝中静脉的共干,否则易导致供体 Budd-Chiari 综合征。④在行右半肝移植时,如果存在较大的肝右下静脉应予保留,在植入时应予重建,否则会影响肝静脉血的回流。本例供体有一支引流肝脏Ⅷ段的静脉支,即与右肝静脉的主干整形缝合在一起,与受体的右肝静脉吻合。⑤由于左肝静脉与中肝静脉常有解剖变异,二者入下腔静脉前常常有共同干,所以应特别注意二者连接处的解剖。

关键词: 活体肝移植; 肝移植物

中图法分类号: R657.3 文献标识码: B

参考文献:

[1] Rogiers X, Broering D C, Mueller L, *et al*. Living-donor liver transplantation in children[J]. Langenbecks Arch Surg, 1999, 384(6): 528-535.
[2] Miwa S, Hashikura Y, Mita A, *et al*. Living-related liver transplantation for patients with fulminant and subfulminant hepatic failure [J]. Hepatology, 1999, 30(6): 1 521-1 526.
[3] 范上达, 王伟林. 活体肝移植外科处理[J]. 中华肝胆外科杂志, 2000, 6(4): 253-255.

(编辑 薛国文)

文章编号: 1000-5404(2001)11-1361-02

技术方法

复方泛影葡胺在子宫输卵管造影中的应用价值

Evaluation on the application of compound meglumine diatrizoate in uterotubography

王玉锦, 王文献, 马琼英, 孙清荣 (第三军医大学附属新桥医院放射科, 重庆 400037)

提 要: 目的 总结复方泛影葡胺对子宫输卵管造影的价值。方法 应用 60%~76%复方泛影葡胺 8~10 毫升加温后经通液器注入宫腔,在透视下观查显影满意后摄片,之后取出通液器,嘱咐患者在台上翻身 4~5 次后再摄第二片。结果 50 例复方泛影葡胺子宫输卵管造影均显影满意。结论 复方泛影葡胺子宫输卵管造影有一定的临床价值,与传统的碘化油造影剂相比有明显的优越性。

目前,尽管 US、CT、MRI 等影像诊断技术的发展如日中天,但对子宫输卵管内部形态、先天畸形以及输卵管是否通畅等的检查,子宫输卵管造影术仍具有重要价值。近年来,国外对子宫输卵管造影剂的应用趋于以水溶性造影剂取代油性造影剂,根据我们的实际情况,应用水溶性造影剂,安全低廉、吸收充分无残留、显影清晰且对比度好的复方泛影葡胺作此项检查取得了良好的效果。并和碘化油进行子宫输卵管造影相比较,结果发现其优点大于碘化油。

1 资料和方法

50 例中原发不孕 39 例,年龄 23~34 岁;继发不孕 11 例,年龄 29~35 岁。X 光机为 SHIMADZ 800 mA 专用机。

复方泛影葡胺子宫输卵管造影:造影剂浓度为 60%或 76%。受检者于月经干净后 7 d 进行该项检查,检查前按常规查有无滴虫及霉菌感染。并以 30%的复方泛影葡胺(信谊药厂,上海)做碘过敏试验,阴性者方可接受检查。术前排空大小便,肌注阿托品 0.5 mg。受检者仰卧于 X 线检查台上,取截石位,常规阴道消毒,查清子宫位置,探查宫腔深度,固定通液器。将造影剂加温到 37 ℃后吸进针管,向通液器导管内注射 1~2 ml 造影剂,将导管内空气排出,针管内造影剂备用;透视观察下,将金属通液器导管插入宫颈口内约 2 cm,针管与通液器连接,缓慢注入造影剂约 8~10 ml,在透视下注意观察子宫、输卵管的位置、形态、大小及是否通畅。一旦子宫、输卵管充盈后立即点片,以免造影剂向周围弥散引起遮挡和显影不良,影响诊断。对输卵管不显影者,可保持压力或加大注射量,透视观察显影满意后再点片,以排除输卵管痉挛之情况。对推注造影剂阻力大,造影剂外溢,病人感腹痛者,可保持压力以利于粘连分离,待输卵管充盈后再摄片,输卵管通畅者,摄取第 1 张片后即可将通液器取出,并叫受检者在检查台上翻身 4~5 次,见盆腔内造影剂弥撒均匀后摄第二片,造影即结束。0.5 h 后透视复查,造影剂完全吸收。若有输卵管积水、慢性盆腔炎症者,摄第一片后,患者可离开检查室,每隔半小时透视 1 次,观察造影剂是否进入盆腔,必要时 24 h 后再复查。

2 结果

本组 50 例复方泛影葡胺子宫输卵管造影均显影清晰,子宫输卵管充盈满意。50 例中 30 例正常,14 例异常,其中鞍形和弓形子宫 3 例,双角子宫 2 例,单角子宫 1 例,宫体过度倾屈者 2 例,宫角部梗阻的有 10 例,输卵管积水并伴伞端呈囊状梗阻者 3 例,伞端不全梗阻并有粘连和盆腔内有造影剂弥散者 5 例。

复方泛影葡胺造影剂的弥散与吸收:造影剂注入宫腔后输卵管通畅者,1~2 min 造影剂即可进入盆腔,呈云雾状或细条状。20 min 后,80%~90%的造影剂被吸收。18 例输卵管通畅,盆腔内有造影剂弥散者,给予跟踪透视观察,30 h 内造影剂全部被吸收,3 例输卵管积水,跟踪观察 24 h,仍有部分造影剂未被吸收。

60%和 76%复方泛影葡胺的比较及副作用:两种复方泛影葡胺均能清晰显示子宫、输卵管的轮廓,由于 76%的浓度较高,透视下显示子宫、输卵管的形态更清晰,但受检者的下腹痛较明显。50 例复方泛影葡胺行子宫输卵管造影有 10 例出现下腹轻微疼痛,2

作者简介: 王玉锦(1951-),女,江苏省徐州市人,副主任技师,主要从事放射技术方面的研究。电话: (023)68755315

收稿日期: 2000-12-01; 修回日期: 2001-05-31

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net