

文章编号:1005-6947(2007)03-0236-04

· 基础研究 ·

大鼠心跳停搏供肝在原位肝移植术中损伤的预防

邵堂雷, 杨卫平, 彭承宏, 蔡伟耀, 李宏为

(上海交通大学附属瑞金医院 外科, 上海 200025)

摘要:目的 探讨预防和减轻大鼠心跳停搏供肝在原位肝移植术中的损伤,以提高手术成功率。
方法 雄性SD大鼠随机分为心跳停搏热缺血30min(N-30)和45min(N-45)两组;每组分别行原位肝移植术30只次。同时,根据是否对供体手术方法进行改进又分为常规组和改良组。**结果** (1)常规组和改良组的冷缺血时间分别为(70.04±1.48)和(70.36±1.42)min($P > 0.05$),无肝期均为(16.40±0.73)min,肝下腔静脉阻断时间均为(22.75±1.16)min,受体手术时间均为(90.58±3.76)min。(2)N-30和N-45常规组分别有5和9只受体术后死于原发性移植肝无功能,而改良组仅为1和2只(40%:12%, $P < 0.05$);(3)N-30和N-45组因术中分别出现供肝损伤致再灌注后供肝大量渗血、无肝期过长、切除受体肝脏时麻醉过深,而各有5和7,2和1,2和2只受体术后死亡。(4)N-30和N-45组术后1周存活率分别为50%和30%($P < 0.05$)。**结论** 预防心跳停搏供肝游离时损伤、供肝再灌注后渗血、无肝期过长和切除受体肝脏时麻醉过深是大鼠心跳停搏供肝原位肝移植手术成功的关键。
[中国普通外科杂志,2007,16(3):236-239]

关键词: 肝移植; 供体; 心脏停搏; 供肝损伤/预防与控制

中图分类号: R657.3 **文献标识码:** A

Prevention of injury to non-heart-beating donor liver in rat orthotopic liver transplantation

SHAO Tang-lei, YANG Wei-ping, PENG Cheng-hong, CAI Wei-yao, LI Hong-wei

(Department of Surgery, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China)

Abstract: Objective To investigate how to prevent injury to non-heart-beating donor (NHBD) in rat orthotopic liver transplantation and improve the success rate of operation. **Methods** Male SD rats were divided into non-heart-beating time 30min (N-30) and non-heart-beating time 45min (N-45) group randomly. Thirty liver transplants were performed in each group. Meanwhile, a routine operation group and a modified operation group were also set up according to the surgical procedure of donor operation. **Results** (1) In routine operation and modified operation group cold ischemia time was (70.04±1.48) and (70.36±1.42)min ($P > 0.05$) respectively, but anhepatic phase, IVC clamping time and recipient operation time in both groups was (70.32±1.53)min, (16.40±0.73)min, (22.75±1.16)min and (90.58±3.76)min, respectively; (2) In N-30 and N-45 groups, there were 5 and 9 recipients who died of primary graft non-function (PGN) in normal group, but only 1 and 2 recipients, respectively, died of PGN in modified operation group (40% Vs 12%, $P < 0.05$). (3) In N-30 and N-45 groups, 5 and 7, 2 and 2, 2 and 1 recipients, respectively, died of grafted liver bleeding after reperfusion, deep anesthesia, and prolongation of anhepatic phase. (4) One-week survival rate was 50% and 30% in N-30 and N-45 group respectively ($P < 0.05$). **Conclusions** The key to improve the success rate of rat orthotopic liver transplantation is to prevent these factors, including injury in donor removal, grafted liver bleeding after reperfusion, deep anesthesia, and prolongation of anhepatic phase.

[Chinese Journal of General Surgery, 2007, 16(3): 236-239]

收稿日期:2005-11-15; 修订日期:2006-08-08。

作者简介:邵堂雷,男,江苏无锡人,上海交通大学附属瑞金医院副主任医师,主要从事肝、脾疾病及门静脉高压症方面的研究。

通讯作者:邵堂雷 E-mail:shaotl_@hotmail.com。

Key words: Liver Transplantation; Donor; Non-heart-beating; Donor Liver Injury/prev

CLC number: R657.3

Document code: A

在我国脑死亡尚未立法的情况下,心跳停搏供体(non-heart-beating-donor)仍是供肝来源的主要途径。因此,对心跳停搏供肝热缺血损伤的研究对我国肝移植成功率的提高意义重大。为此,实验研究必须建立大鼠心跳停搏供肝的动物模型,而大鼠心跳停搏供肝移植的模型又与正常供肝的模型存在着一定的差异。国内外^[1-3]虽有大鼠心跳停搏供肝原位肝移植术模型建立的报道,但对如何提高手术成功率,减少此类热缺血供肝术中损伤的介绍并不十分详尽。本文结合笔者在施行大鼠心跳停搏供肝原位肝移植术的经验,就如何预防其术中损伤、提高手术成功率作一介绍。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组

清洁级、4周龄雄性SD大鼠120只(购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司),进入清洁级饲养室喂养4周。饲养环境为恒温动物房(18~25℃),12h光照和12h黑夜交替。喂养标准参照卫生部颁布的《医学实验动物全价营养饲料标准》。大鼠体重增至220~250g时配为供、受体;受体大鼠略重于供体。动物被随机分为心跳停搏热缺血30min(N-30)和45min(N-45)(心跳停搏热缺血时间从夹闭供体心脏底部至供体死亡算起,直至冷灌注开始即刻止)两组,每组各行原位肝移植术30只次。手术室温度控制在22~25℃。

1.2 手术方法

手术采用乙醚吸入麻醉,直视下清洁手术。所有操作均由单人裸眼完成。

1.3.1 供体手术

1.3.1.1 常规手术组 N-30和N-45组分别有20和15只次供肝游离参照 Xu^[1]的方法,即在常温下(冷灌注开始前)游离肝脏。供体开胸夹闭心脏底部致心跳停搏供体死亡后,游离胆总管并行胆总管插管。随后分别游离结扎并切断右肾、幽门和脾静脉以游离肝下下腔静脉(IVC)和门静脉(PV)。然后离断肝周各韧带以游离供肝。至预定热缺血时间,用4℃乳酸林格液经腹主动脉低压、低速灌注供肝(1 mL/min),并迅速

剪开IVC和胸腔内下腔静脉作为流出道。灌注结束后贴近膈肌处剪断肝上下腔静脉(SVC),并在脾静脉内脏端剪断PV取下供肝,置于4℃乳酸林格液中保存。

1.3.1.2 改良手术组 N-30和N-45组另有10和15只次供肝的游离进行改动,即在冷灌注后游离肝脏。由于行胆总管插管和游离IVC及PV需要一定的时间且不需翻动供肝,所以,改良组在热缺血期间先行胆总管插管和IVC及PV的游离,至预定热缺血时间与常规组一样经腹主动脉冷灌注供肝,随后再快速离断肝周各韧带以游离和切取供肝,并置于4℃乳酸林格液中保存。

1.3.2 供肝准备 同 Kamada 法^[4]。分别用5F和7F心导管外鞘分别完成PV和IVC的套管准备,随后将肝叶复位并置于4℃乳酸林格液中备用。

1.3.3 受体手术 基本同 Kamada 法^[4]。受体肝脏充分游离后,停止乙醚麻醉,阻断IVC,分别结扎PV左右分支,将受体肝脏向下牵引,用小Satinsky钳将SVC连同部分膈肌一起夹闭。紧贴肝缘剪断SVC,然后剪断PV左右分支和近肝侧的IVC,移出受体肝脏,将供肝原位植入。用7-0线缝合SVC,套管法分别吻合PV和IVC,并恢复血流。胆总管的吻合采用插管法。关腹前用37℃温生理盐水反复冲洗腹腔直至干净后逐层关腹。

1.3.4 术后处理 术后2h内灯照加温,单笼饲养。术后当天禁饮食,但给予10%葡萄糖水口服。第2天起恢复饮食。不用抗生素。死后即时尸检。

1.4 统计学处理

数据的组间差异采用 Fisher 确切概率法和 *t* 检验,SPSS 12.0 软件进行数据分析。

2 结果

2.1 手术时间

供肝热缺血时间已分别设定为30和45min。常规组和改良组的冷缺血时间分别为(70.04 ± 1.48)和(70.36 ± 1.42) min (*P* > 0.05),无肝期均为(16.40 ± 0.73) min,肝下下腔静脉阻断时间均为(22.75 ± 1.16) min,受体手术时间均为(90.58 ± 3.76) min。

2.2 心跳停搏供肝再灌注后外观及动物死亡情况

N-30 和 N-45 常规组大多数供肝于再灌注后仍较肿胀,色泽深红,充盈缺损区较多;而改良组大多数供肝于再灌注后有所缩小,色泽粉红,充盈缺损区少。N-30 和 N-45 常规组分别有 5 和 9 只次受体死于术后原发性移植肝无功能(PGN),而改良组仅有 1 和 2 只次受体死于 PGN(40%:12%, $P < 0.05$)。

此外, N-30 和 N-45 常规组各有 2 只次受体因在心跳停搏期间游离供肝而致肝包膜和肝实质损伤,再灌注后因供肝大量渗血而死亡;而改良组则无。

2.3 术后供肝损伤及死亡情况

N-30 和 N-45 组各有 5 和 7 只次受体,因术中损伤供肝包膜和实质致再灌注后供肝出现不可控制渗血,于术后早期死亡。其中 N-30 和 N-45 组除各有 2 只次是于供肝游离时损伤外,还各有 3 和 4 只次系因缝合 SVC 时缝针针尾钩破供肝而造成损伤。此外, N-45 组还有 1 只次系因术中不经意间损伤了供肝而引发再灌注后出血。

2.4 无肝期时间、苏醒时间、死亡情况和生存率

N-30 和 N-45 组各有 2 和 1 只次受体术中出现无肝期过长,超过 17 min,分别为 18 min 的 2 只次和 19 min 的 1 只次。这些受体术后苏醒时间延长(正常情况受体均于术后 0.5 ~ 1 h 左右苏醒,该 3 只次受体则分别于术后 5 ~ 6 h 苏醒),醒后神志淡漠,并均于术后 12 h 内死亡。N-30 和 N-45 组各有 2 只次在切除受体肝脏过程中出现麻醉过深。术后受体呼吸均变深、慢,且无法苏醒,并分别于术后 3 h 内死亡。术后 1 周 N-30 组存活率大于 N-45 组($P < 0.05$)。存活情况和受体近期死因结果见附表。

附表 N-30 和 N-45 组术后 1 周存活率和近期死因

组别	总例数	1 周存活 例数(%)	近期死亡原因(例数)
N-30	30	15(50)	移植肝无功能(6) 无肝期过长(2) 受体切肝时麻醉过深(2) 供肝渗血(5)
N-45	30	9(30)	移植肝无功能(11) 无肝期过长(1) 受体切肝时麻醉过深(2)
P 值	<0.05		供肝渗血(7)

3 讨论

由于心跳停搏供肝和正常供肝两者的质地不同,决定了术中损伤所造成的后果有差别。在正常肝移植术中不会使供肝遭受再灌注后渗血和无肝期过长等致命性打击。本文仅就心跳停搏供肝在原位肝移植术中损伤的预防作一探讨。

3.1 供肝游离损伤的预防

由于心跳停搏后供肝淤血肿胀、张力高,且其暴露于空气中,可因水分丧失而造成肝包膜皱缩、变脆。若此时游离供肝除加重供肝淤血损伤,增加术后原发性移植肝无功能(PGN)的发生外,还易损伤肝包膜。而冷灌注后由于流出道开放,淤积于供肝内的血液已经排出,故供肝肿胀程度有所减轻、张力亦减小;再加上不断以 4℃ 乳酸林格液浇灌供肝以缓解其表面失水状态,这样不仅可减小供肝游离损伤还可避免损伤肝包膜。此观点可从改良组 PGN 的发生率要低于常规组可得到佐证。故笔者认为冷灌注后游离供肝是减少其游离损伤的最佳方法。

3.2 供肝再灌注后渗血的预防

心跳停搏供肝包膜和实质受损是造成供肝再灌注后渗血的主要原因,其主要发生在供肝游离、供肝植入缝合 SVC 和受体手术中器械对供肝不经意损伤等过程中。由于心跳停搏供肝质地脆、嫩,术后凝血功能较差且恢复迟,同时供肝包膜完整性遭破坏,故受损处常在再灌注后出现不可控制的大量渗血,从而使受体因失血过多处于休克状态,甚至于术后早期死亡。所以,在手术过程中必须绝对避免对供肝的损伤,包括应在冷灌注后游离供肝以减少撕裂肝包膜和实质的几率。缝合 SVC 时所选择的供肝体积不要过大,缝合过程中适当调整供肝位置使其不过分靠近受体 SVC,并最好使用弧度较大的缝针以减少缝合时针尾钩破肝包膜和实质;在受体手术过程中动作必须轻柔、仔细,并严防器械对供肝的损伤。

3.3 无肝期过长损伤的预防

无肝期过长可促发各种炎症因子对供肝造成损伤^[5]。由于心跳停搏供肝术后功能较差、恢

复迟,所以更易受到无肝期各种病理生理改变的损伤而影响存活率。虽然正常供肝移植时无肝期安全时限为26 min^[4],但对心跳停搏供肝而言无肝期应越短越好,最好能控制在17 min内。

3.4 切除受体肝脏过程中麻醉过深的预防

因乙醚麻醉不易控制吸入量,故在切除受体肝脏过程中会出现麻醉过深。此时过量的麻醉药(乙醚)因无肝期而不能正常代谢在受体内蓄积,再灌注后因心跳停搏供肝功能较差且恢复慢,故在体内残留的乙醚会导致受体苏醒延迟,甚至死亡。因此,在受体手术过程一旦发现呼吸变浅、变慢,血液颜色变深,立刻拉出受体舌根开放气道,及时纠正麻醉过深状态。

综上所述,虽然心跳停搏供肝原位肝移植术较正常供体肝移植术难度高,但只要能充分认识手术过程中可能出现的各种损伤因素并积极预防之,提高手术成功率是完全有可能的。

参考文献:

- [1] 马毅,何晓顺,陈规划,等.不同热缺血时间对大鼠移植肝功能状态及其存活期的影响[J].中华实验外科杂志,2003,20(4):322-324.
- [2] 何建宏.经升主动脉灌注的无心跳供体大鼠原位肝移植模型的建立[J].中国普通外科杂志,2005,14(7):489-491.
- [3] Xu HS, Jones RS. Study of rat liver transplantation from non-heart-beating cadaver donor [J]. J Am Coll Surg, 1995,181(3):321-326.
- [4] Kamada N, Calne RY. A surgical experience with five hundred thirty liver transplantation in the rats [J]. Surgery, 1983,93(1):64-92.
- [5] Goto M, Takei Y, Kawano S, et al. Tumor necrosis factor and endotoxin in the pathogenesis of liver and pulmonary injuries after orthotopic liver transplantation in rat [J]. Hepatology, 1992,16(4):487-495.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

关于一稿两投和一稿两用问题处理的声明

近来本刊编辑部发现仍有个别作者一稿两投和一稿两用,为了维护本刊的声誉和广大读者的利益,本刊就一稿两投和一稿两用问题的处理声明如下。

1. 一稿两投和一稿两用的认定:凡属原始研究的报告,同语种一式两份投寄不同的杂志,或主要数据和图表相同、只是文字表达可能存在某些不同之处的两篇文稿,分别投寄不同的杂志,属一稿两投;一经为两杂志刊用,则为一稿两用。会议纪要、疾病的诊断标准和防治指南、有关组织达成的共识性文件、新闻报道类文稿分别投寄不同的杂志,以及在一种杂志发表过摘要而将全文投向另一杂志,不属一稿两投。但作者若要重复投稿,应向有关杂志编辑部作出说明。

2. 作者在接到收稿回执后满3个月未接到退稿通知,表明稿件仍在处理中,若欲投他刊,应先与本刊编辑部联系。

3. 编辑部认为文稿有一稿两投或两用嫌疑时,应认真收集有关资料并仔细核对后再通知作者,在作出处理决定前请作者就此问题作出解释。编辑部与作者双方意见发生分歧时,由上级主管部门或有关权威机构进行最后仲裁。

4. 一稿两投一经证实,则立即退稿,对该作者作为第一作者所撰写的论文,2年内将拒绝在本刊发表;一稿两用一经证实,将择期在杂志中刊出作者姓名、单位以及该论文系重复发表的通告,对该作者作为第一作者所撰写的论文,2年内拒绝在本刊杂志发表。本刊将就此事向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。