

文章编号:1005-6947(2008)07-0716-02

· 简要论著 ·

大鼠自体原位肝移植灌注模型的技术改良

熊力^{1,3}, 王玉柱^{2,3}, 叶启发³, 明英姿³, 文字¹

(1. 中南大学湘雅二医院 普通外科, 湖南长沙 410011; 2. 河南省人民医院 器官移植科 河南 郑州 450003; 3. 中南大学湘雅三医院 移植医学研究院、卫生部移植医学工程技术研究中心, 湖南长沙 410013)

摘要:目的 探讨大鼠自体原位肝移植灌注模型的改进。方法 参照文献模拟临床肝移植过程以改良大鼠自体原位肝移植原位灌注模型。在体持续低温灌洗肝脏, 留取样本送病理和电镜观察。结果 20例模拟肝移植原位灌注模型中1例因上腔静脉出血手术失败, 模型成功率95%。HE染色和透射电镜检查发现大部分肝细胞排列整齐, 形态结构无明显变化。结论 改良后的模型模拟了肝移植原位灌注的全过程, 为研究自体原位肝移植提供了基础。

[中国普通外科杂志, 2008, 17(7): 716-717]

关键词: 肝移植/方法; 移植, 自体; 灌注; 模型, 动物

中图分类号: R 617

文献标识码: B

肝移植是目前治疗终末期肝病的有效方式。移植术的基础研究主要围绕异体肝移植动物模型展开, 而对于自体原位肝移植的报道较少。笔者等在马凯等^[1]的基础上建立了改良大鼠自体原位肝移植灌注模型, 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

20只雄性SD大鼠, 购于中南大学湘雅医学院实验动物学部, 体重190~220g, 普通喂养, 自由进食, 术前禁食8~12h, 不禁水。乙醚棉球及自制麻醉筒、阿托品, 和含有肝素钠(50 U/mL)、地塞米松(10 mg)、三磷酸腺苷(ATP, 100 mg)的0~4℃乳酸林格液, 8-0和9-0无损伤prolene血管缝线, 显微外科器械1套及微电脑输液泵。

1.2 在体灌注前的准备工作

大鼠术前0.5h肌内注射阿托品0.03mg, 乙醚吸入麻醉。取腹部正中切口, 暴露胸骨柄, 显露剑突后。用自制拉钩拉开腹壁, 进腹后逆时针方向游离肝脏: 切断左三角韧带, 结扎、切断左膈静脉; 轻柔向左翻转肝脏, 并用裁剪合适的湿纱布保护肝脏; 打开右侧后腹膜, 在下腔静脉深面游离肝裸区, 解剖出肝上下腔静脉(SHVC); 游离右肾上

腺静脉, 不予结扎切断; 恢复肝脏解剖位置后进一步游离肝下下腔静脉(IHVC), 暂不剪开血管壁; 暴露第一肝门, 剪开肝十二指肠韧带, 从肠系膜下静脉和脾静脉汇合处向上游离门静脉(PV)至肝门部, 并将PV壁鞘膜分离干净; 因肝动脉和胆道关系紧密, 将两者一同游离。

1.3 肝脏在体灌注及自体原位肝移植的施行

在肠系膜上静脉和脾静脉汇合处上微血管夹, 用4号针头刺入PV, 输入肝素盐水(30 U/mL)5mL, 驱使肝内血液进入体循环。输液完毕后, 固定针头, 另用4号针头穿刺腹主动脉末段, 固定穿刺针, 于腹腔干以上和穿刺点以下上血管夹阻断, 以便后继灌注肝动脉。

开始冷灌前, 参照赵宏峰等^[2]的方法分别在SHVC和IHVC上微血管夹, 注意钳夹SHVC时尽量少钳夹膈肌, 以免造成呼吸运动障碍; 并在IHVC血管夹稍上方静脉壁剪开约1mm作灌注液流出道。微电脑静脉输液泵以1.5 mL/min的速度缓慢、持续灌注; 分别经PV和腹主动脉穿刺处同时在体灌注乳酸林格液20mL。灌注的同时用冰林格液浇注肝脏表面以降温。供肝全部变为土黄色示灌注完成。灌注后拔出穿刺针, 用9-0prolene修补PV和腹主动脉穿刺点, 用8-0prolene修补IHVC流出道, 检查确认修补成功后, 分别松开SHVC, IHVC和腹主动脉的微血管夹, 结束无肝期。同时用温热生理盐水浇注肝脏快速复温。

1.4 标本处理及病理观察

肝脏恢复血流再灌注前取肝左前叶, 分别用

收稿日期: 2008-05-08; 修订日期: 2008-06-14。

作者简介: 熊力, 男, 中南大学湘雅二医院住院医师, 主要从事普外及器官移植方面的研究。

通讯作者: 熊力 E-mail: lixioghn@163.com

10% 甲醛和 2.5% 戊二醛溶液固定,送 HE 染色和透射电镜检查,观察肝细胞形态学变化。

2 结果

2.1 模型概况

定型改良大鼠自体原位肝移植模型 20 例。除 1 例因肝上下腔静脉损伤出血失败外,其他手

术成功,手术成功率 95.0% (19/20)。

2.2 光镜及电镜所见

HE 染色光镜下见肝小叶完整,除少部分可见肝细胞水肿变性外,大部分肝细胞排列整齐,形态结构无明显变化(图 1);透射电镜下肝细胞膜完整,线粒体轻度肿胀,内质网轻度扩张,核膜、核仁无明显改变(图 2)。

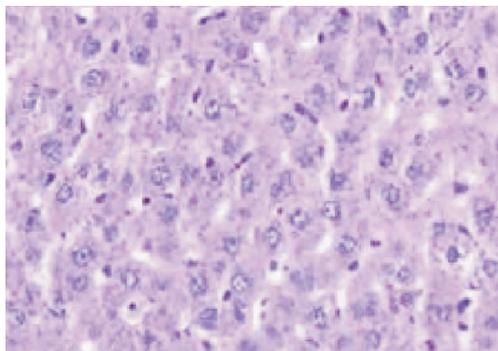


图 1 肝左叶切片光镜下所见(HE × 200)

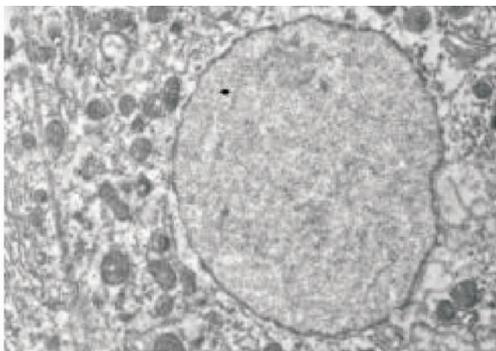


图 2 肝左叶切片电镜下所见(透射电镜 × 5 000)

3 讨论

随着离体肝切除、自体原位肝移植手术的逐步开展,自体肝移植相关基础研究亟待深入,而动物模型的建立是前提之一。目前研究肝低温灌注、再复流损伤通常采用两种方法,一是对离体肝脏行人工或机械灌注法,其不足是虽然模仿低温灌注过程,但不能产生血液再复流过程;二是原位肝脏移植法^[3]。Lee 等最早创建大鼠自体原位肝移植模型,由于其手术操作要求高、成功率低,学者们陆续开发了“套管成形插入法、袖套缝合法、支架管过渡显微缝合法”等技术,但手术仍较复杂。据报道培养一名合格的大鼠肝移植术者需经 4 个阶段长达 3 个月的专门训练^[4],而且主要是针对大鼠异体肝移植,需要成对的大鼠,耗资亦较多。所以原位肝移植法虽模拟肝低温灌注再复流全过程,但成本高,成模率低。

马凯等^[1]最早报道建立下腔静脉内分流法大鼠自体原位肝移植模型,即用“卜”型管行门腔静脉临时性分流,保持下腔静脉及 PV 血流通畅的情况下在体持续低温灌洗保存肝脏。该法不予缝合手术难度较大的肝上、肝下下腔静脉、肝动脉和胆总管等,简化了手术步骤,更符合解剖生理要求,故其成模率较高。

笔者等在马凯的基础上,不用“卜”型管行下腔静脉内分流,最大程度模拟临床肝移植原位灌注的过程,步骤简单明了。此外,本组选择乙醚

作为麻醉剂。乙醚吸入麻醉具有操作方便、诱导期短、易于控制麻醉深度、术后易苏醒、对肝脏质量损伤小等优点^[5-6]。另外术前肌肉注射阿托品减轻副反应,减少了并发症。随着肝脏外科技术的不断进步,对于原来无法手术切除的部分肿瘤患者,少数医院陆续开展了离体、半离体肝切除、余肝自体原位肝移植的手术。但相关的基础和临床研究尚处于起步阶段。笔者这种模型对于开展自体原位肝移植的基础及临床研究均具有现实意义。

参考文献:

- [1] 马凯,戴显伟,王仁平,等. 下腔静脉内分流法大鼠自体原位肝移植模型的建立[J]. 中国医科大学学报, 1998, 27(4):356-358.
- [2] 赵宏峰,周杰. 大鼠自体原位肝移植胆道缺血再灌注损伤模型的建立[J]. 第二军医大学学报, 2006, 27(4):429-430.
- [3] 胡建平,钱建民,王学浩,等. 大鼠原位肝脏低温灌注和复流模型的建立及意义[J]. 中华实验外科杂志, 2001, 18(4):366-367.
- [4] Kobayashi E, Kamada N, Goto S, et al. Protocol for the technique of orthotopic liver transplantation in the rat[J]. *Microsurgery*, 1993, 14(8):541-546.
- [5] Kamada N, Calne RY. A surgical experience with five hundred thirty liver transplants in the rat[J]. *Surgery*, 1983, 93(1 Pt 1):64-69.
- [6] 彭勇,龚建平,刘长安,等. 大鼠原位肝移植模型制作过程中麻醉方法的选择[J]. 中国普通外科杂志, 2003, 12(9):673-676.