

文章编号:1005-6947(2008)01-0054-03

· 基础研究 ·

双袖套法结合显微外科技术建立大鼠肝肾联合移植模型

余思, 何晓顺, 马毅, 胡安斌, 李军

(中山大学附属第一医院 器官移植科, 广东 广州 510080)

摘要:目的 总结制作大鼠肝肾联合移植模型的技巧。方法 健康雄性SD大鼠为供、受体,以肝肾联合切取法切取供体器官;供肝移植参考Kamada的双袖套法;供肾移植采用供肾动脉与受体右肾动脉、供肾输尿管与受体右肾输尿管分别行端端吻合的方法。结果 共完成60例大鼠肝肾联合移植模型,成功50例,手术成功率83.3%。结论 此方法能提高手术成功率,缩短手术时间,降低术后并发症,是一种简便、稳定、可靠的大鼠肝肾联合移植模型。

[中国普通外科杂志,2008,17(1):54-56]

关键词: 双袖套法; 显微外科技术; 肝肾联合移植; 大鼠

中图分类号:R 617 文献标识码:A

Construction of combined liver-kidney transplantation model in rats using a two-cuff microsurgery technique

YU Si, HE Xiaoshun, MA Yi, HU Anbin, LI Jun

(Department of Organ Transplantation, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: **Objective** To investigate the techniques of establishment of a model of combined liver-kidney transplantation in rats. **Methods** Healthy male SD rats were used as donors and recipients. The donor liver and kidney were resected simultaneously. The donor's liver was transplanted on the basis of Kamada's cuff technique. The donor's renal artery and ureter were respectively anastomosed end-to-end to the recipient's right renal artery and right ureter. **Results** 60 cases of combined liver-kidney transplantation in rats were performed, among which 50 cases were successful. The successful rate was 83.3%. **Conclusions** This model of combined liver-kidney transplantation in rats can increase the success rate of operation, shorten the operation time and decrease the rate of postoperative complications. It is convenient, stable and reliable.

[Chinese Journal of General Surgery, 2008, 17(1): 54-56]

Key words: Two-cuff Technique; Microsurgical Technique; Combined Liver-kidney Transplantation; Rats

CLC number: R 617 **Document code:** A

脏器联合移植是器官移植领域的难点和热点,而大鼠肝肾联合移植模型最适合于研究联合移植术后的免疫机制^[1-3]。但由于其操作复杂,

成功率低,国内外文献报道不多。笔者在熟练掌握大鼠肝移植和肾移植模型的基础上,进一步探讨了大鼠肝肾联合移植的手术技巧。现报告如下。

1. 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物 供、受体均为健康雄性SD大鼠,各60只,体重300~350g,SPF级,由中山大学实验动物中心提供。

1.1.2 器械 SXP-1B单人双目手术显微镜(上

基金项目:China Medical Board in New York(06837)。

收稿日期:2007-10-26; 修订日期:2007-12-07。

作者简介:余思,男,中山大学附属第一医院博士研究生,主要从事器官移植方面的研究。

通讯作者:何晓顺 E-mail:gdtc@163.com

海医用光学仪器厂),显微手术器械(宁波医疗器械厂),8k-0及11-0无创单股尼龙缝合线,22G静脉留置针,外径1mm的硬膜外麻醉导管,6,7#的动脉导管外鞘。

1.1.3 实验场所 中山大学实验动物部清洁级动物实验手术室。供受体手术均为清洁手术,单人操作。

1.2 实验方法

1.2.1 准备 切取5mm长硬膜外麻醉导管2段,两端削成锐角,分别作为供体和受体胆道支架管,其中受体胆道支架管仅作为临时支撑胆道用,端端吻合时弃去。分别切取5mm长的6#和5.5mm长的7#动脉导管外鞘,尾部占2mm,体部表面均刻有浅槽,作为门静脉及下腔静脉袖套。

1.2.2 麻醉 供体术前不禁食;受体术前禁食12h。供体用10%水合氯醛腹腔内注射,3mL/kg。受体以乙醚麻醉,麻醉前10min以阿托品0.03mg大腿肌内注射。

1.2.3 联合切取供肝及供肾 供体麻醉后即从阴茎背静脉注射1mL肝素盐水(含肝素1250U/mL)行全身肝素化。取腹部大十字切口,进入腹腔后顺时针游离肝脏,依次结扎切断左膈下静脉、肝食管支静脉,游离出肝尾状叶。肝门暂不处理。游离肝下腔静脉、右肾静脉、右肾动脉、右肾输尿管上段、左肾静脉,游离右肾周围,结扎、切断右肾上腺血管;游离肝脏左侧缘。然后游离出左肾动脉下方之腹主动脉,灌注管穿刺准备灌注;剪开膈肌,于胸腔内钳夹阻断胸主动脉,并将胸腔内下腔静脉剪破放血;立刻经腹主动脉灌注4℃肝素乳酸林格液(含肝素50U/mL),可见肝脏、肾脏等内脏逐步变为灰黄色。灌注量约为20mL,直至从下腔静脉流出的液体清亮为止。充分显露肝门,置入胆道支架管,支架管上端要低于肝管分叉部;然后断胆总管,结扎切断肝固有动脉。在右肾动脉根部剪断右肾动脉;在右输尿管上段斜形剪断输尿管;结扎左肾静脉,在左肾静脉下方处剪断下腔静脉,紧贴膈肌环水平剪断肝上下腔静脉,取出肝脏及右肾,置于冰盐水中。在手术显微镜下安装门静脉、肝下腔静脉袖套,修整肝上下腔静脉,于左右各缝1针8-0无损伤血管缝线备用。

1.2.4 受体手术 肝脏游离顺序同上。将供体胆总管支架管受体的胆总管,胆管外壁打滑结备用。门静脉需要游离至左右分叉部上方。然后游离左肾静脉以上肝下腔静脉部分、右肾动脉、右肾静脉、右肾输尿管、右肾周围、结扎并切断断右肾上腺血管。以1mL注射器经右肾动脉注入生

理盐水1mL,将肾内血液驱入体循环。在右肾动脉根部用无损伤血管夹阻断,在远侧端切断右肾动脉;结扎、切断右肾静脉,留内侧线尾以利于下一步安装袖套;在输尿管上段斜形切断右侧输尿管,移去受体右肾。以无损伤血管夹阻断门静脉后,从门静脉注入2ml生理盐水,将肝内血液驱入体循环;立即用另一把血管夹在左肾静脉上方阻断肝下腔静脉,以Satinsky钳阻断肝上下腔静脉。在门静脉左右分叉部上方切断门静脉,在右肾静脉开口上端水平切断肝下腔静脉;紧贴肝脏上方切断下腔静脉,移去受体肝脏。接着植入供肝及供肾,在手术显微镜下以8-0无损伤线连续缝合肝上下腔静脉,将供体带袖套管的门静脉插入受体门静脉中并固定,开放门静脉及Satinsky钳,结束无肝期。接着安装肝下腔静脉袖套。注意先阻断右肾静脉以避免血流开放后静脉逆流。以11-0无损伤线行供肾动脉与受体右肾动脉端端吻合;开放肾脏血流;以11-0无损伤线行供肾输尿管与受体右输尿管端端吻合。接着采用单管内支架端端吻合法完成胆总管吻合。腹腔内温生理盐水冲洗,检查无出血点,套管无扭曲,肝肾颜色鲜红,右侧输尿管充盈,关腹。

1.2.5 术后处理 经大鼠阴茎背静脉注射2mL生理盐水;灯照保温4h。术后清醒即可饮水,1d后正常饮食。术后即刻及3d内给予青霉素 $20 \times 104 \text{U}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 肌内注射。术后3d切取左肾,取左侧腰部肋下直切口。

2 结果

共进行大鼠肝肾联合移植模型60例。供体手术时间(35 ± 6)min,受体手术时间(92 ± 8)min,无肝期(20 ± 3)min;供器官热缺血时间为0,供肝冷缺血时间(55 ± 6)min,供肾冷缺血时间(66 ± 5)min。移植术后6d(即左肾切除术后3d)存活者为手术成功。成功50例,成功率83.3%。失败的原因为:供肝无功能1例,术后1d死亡;门静脉袖套脱落和下腔静脉袖套脱落各1例,均在术后1d死亡;移植肝胆道阻塞2例,术后2d死亡;腹腔感染2例,术后3d死亡;移植肾动脉血栓形成2例,输尿管狭窄1例,均在术后5d死亡。所有死亡大鼠均经活检证实。截至资料统计时为止,所有手术成功大鼠的存活时间都在1个月以上,最长时间已达3个月,体重495g。

3 讨论

大鼠的肝肾联合移植模型是一个复杂的模型,某一环节处理不慎就可能失败。笔者在

熟练掌握大鼠肝移植及肾移植模型的基础上^[4-5],进一步学习大鼠肝肾联合移植模型,并在数个环节上做了改进,取得了满意的效果。

3.1 手术方法的改进

既往文献报道的大鼠肝肾联合移植模型都是分别切取供肝和供肾,在受体上分别移植。Kamada^[6]先进行左肾原位移植,再进行肝脏原位移植;马毅等^[7]先进行肝脏原位移植,再行左肾原位移植,均存在手术时间长、术后并发症多的缺点。而本模型最大的改进,就在于利用了肝脏与右肾通过下腔静脉相连的解剖特点,联合切取供肝和供肾,并在受体上利用改良的双袖套法同时移植供肝和供肾:门静脉袖套的安装基本相同,但下腔静脉袖套的位置移到右肾静脉下方,因此一个袖套即可完成右肾静脉和肝下下腔静脉的回流,无需吻合右肾静脉,降低了手术难度,减少了手术时间及出血并发症。

3.2 结合显微外科技术

有些学者认为肉眼即可完成大鼠肝移植模型,但我们认为,借助手术显微镜可以使操作更细致,大大减少了出血,提高了手术成功率。本模型中,门静脉和腔静脉袖套的安装、肝上下腔静脉吻合、胆总管端端吻合、肾动脉及输尿管的吻合均在10倍手术显微镜下进行。供肾动脉与受体右肾动脉端端吻合时,间断缝合8针即可,开放肾脏血流后如果出血很多则补针,少许出血用棉棒压迫数分钟。供肾输尿管与受体右输尿管端端吻合时,间断缝合4针即可,无需再多吻合以防止输尿管狭窄。

3.3 不保留膈肌环的肝上下腔静脉吻合

肝上下腔静脉吻合占无肝期大部分时间,是手术的难点。文献报道无肝期超过26min,大鼠生存率将明显下降^[8]。本实验不保留肝上下腔静脉周围的膈肌,由于无膈肌存在,血管可塑性好,吻合口大小足够。吻合时先缝合两个角,结打在管腔外,接着后壁,然后前壁,连续缝合。本实验平均肝上下腔静脉吻合时间17min,而且开放血流后无1例漏血。

3.4 完善袖套安装及吻合技术

切断供体门静脉和肝下下腔静脉时,在脾静脉分叉处剪断门静脉及在下腔静脉向后发出一支小的腰静脉处切断下腔静脉;而对于受体,在门静脉左右分叉处剪断门静脉,以及在右肾静脉开口水平断肝下下腔静脉。以上技巧均可扩大静脉开口,利于袖套安装及吻合。门静脉袖套吻合有困难时,可在门静脉前壁以8-0无损伤线悬吊一针作牵引。而下腔静脉袖套的吻合也应利用留置的右肾静脉结扎线作牵引。

3.5 预防出血

大鼠的血容量为6.41mL/100g(体重)^[9],1只300g大鼠出血量超过3mL即可导致失血性休克,所以预防受体出血至关重要:(1)取腹部正中纵行切口。大鼠腹壁血管分布在两侧,因此正中纵行切口相对于横切口或“人”字行切口,明显减少了出血。(2)本实验在切除受体右肾及肝脏前均施行“自家输血”,总共可以将约3mL的血液驱入体循环。(3)操作细如无把握将其游离,应采取以8-0无损伤缝针缝扎后离断的方式。下腔静脉、门静脉都很菲薄,严禁牵拉。

3.6 预防栓塞并发症

肝上下腔静脉吻合、供肾动脉与受体右肾动脉吻合最后1针时,均用1mL注射器接致轻柔。大鼠肝脏细嫩,轻微触碰即可导致出血,故严禁以器械触碰。处理左膈下静脉时,钝针头往吻合口里注射生理盐水以驱除气泡;安装门静脉及下腔静脉袖套前均须向袖套一端和静脉一端注射少许生理盐水。

虽然大鼠肝肾联合移植模型的技巧要求很高,但只要实验者耐心、细致地操作,不断总结自己成功的经验和失败的教训,经过50~60例的练习,是能够熟练掌握该模型的。

参考文献:

- [1] Jeyarajah DR, Gonwa TA, McBride M, *et al.* Hepatorenal syndrome: combined liver-kidney transplants versus isolated liver transplant [J]. *Transplantation*, 1997, 64(12): 1760-1765.
- [2] Neumann UP, Lang M, Moldenhauer A, *et al.* Significance of a T lymphocytotoxic cross match in liver and combined liver-kidney transplantation [J]. *Transplantation*, 2001, 71(18): 1163-1168.
- [3] 马毅,胡安斌,熊俊.大鼠肝肾联合移植供体DC细胞迁移诱导的免疫保护作用[J].*中华实验外科杂志*, 2006, 23(6): 750-752.
- [4] 马毅,何晓顺,陈规划,等.大鼠原位肝移植模型的手术技巧及并发症的预防[J].*中华显微外科杂志*, 2003, 26(1): 45-47.
- [5] 李军,陈立中,王长希,等.大鼠原位肾移植模型建立的手术技巧[J].*实用医学杂志*, 2006, 22(10): 1112-1113.
- [6] Kamada N. A description of cuff technique for renal transplantation in the rat used in studies of tolerance induction during combined liver grafting [J]. *Transplantation*, 1985, 39(1): 93-95.
- [7] 马毅,何晓顺,陈规划,等.应用显微外科技术建立大鼠一期肝肾联合移植模型[J].*中华显微外科杂志*, 2004, 27(3): 208-209.
- [8] Kamada N, Clane RY. A surgical experience with five hundred thirty liver transplantation in the rat [J]. *Surgery*, 1983, 93(1): 64-69.
- [9] 施新猷,顾为望.大鼠生物学特性及应用[A].见:施新猷.现代医学实验动物学[M].北京:人民军医出版社,2000. 82-93.