

文章编号:1005-6947(2005)02-0125-04

· 实验研究 ·

大鼠原位小肠移植模型的建立与改进

樊林, 车向明, 赵伟, 王曙逢, 张如愿, 张立, 张峰, 王光辉

(西安交通大学医学院第一附属医院 普通外科, 陕西 西安 710061)

摘要: **目的** 探讨建立一种简便稳定存活率高的大鼠原位小肠移植模型。 **方法** 整块切取带有腹主动脉和肠系膜上静脉并门静脉的节段小肠, 术中原位冷灌注, 4℃ 乳酸林格液保存。动脉吻合采用显微外科技术行供体腹主动脉对受体腹主动脉的端侧吻合, 利用 Cuff 套管技术将供体的门静脉与受体的左肾静脉端端吻合。移植肠远、近端分别与受体肠行端端吻合。 **结果** 建立小肠移植模型 16 次, 动脉、静脉吻合时间分别为 (25 ± 5) min 和 (4 ± 1) min。16 只受体鼠中 13 只存活超过 5 d, 平均存活 (10.35 ± 2.84) d, 最长存活时间为 21 d。 **结论** 移植肠的获取、血管吻合技术、肠吻合技术和维持良好的血容量是手术成功的关键。该模型的成功建立, 为小肠移植的基础研究提供了良好的动物模型。

关键词: 肠移植; 疾病模型, 动物

中图分类号: R656.7; R363

文献标识码: A

A modified model of orthotopic small intestinal transplantation in rats

FAN Lin, CHE Xiang-ming, ZHAO Wei, WANG Shu-feng, ZHANG Ru-yuan, ZHANG Li, ZHANG Fen

(Department of General Surgery, The First Hospital, Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

Abstract: **Objective** To establish a simple and stable model of orthotopic small intestinal transplantation (OIT) in rats. **Methods** The harvested en bloc segmental intestine consisted of donor abdominal aorta with superior mesenteric artery and portal vein. After in situ infusion with lactated Ringer's solution, the graft was stored in 4℃ lactated Ringer's solution. The segmental intestine transplantation was performed by end-to-side anastomosis of donor abdominal aorta to recipient abdominal aorta. The donor portal vein was anastomosed to the recipient left renal vein by "cuff anastomosis". The graft was anastomosed orthotopically by continuous sutures. **Results** Sixteen intestine transplantations were performed, the average time for the arterial and venous anastomosis was 25 ± 5 min and 4 ± 1 min, respectively. Among the 16 recipient rats, 13 survived more than 5 days. The average survival time was 10.35 ± 2.84 days; the longest survival time was 21 days. **Conclusions** Graft harvesting, the technique of vascular and intestinal anastomosis and the maintenance of adequate blood volume are the key points for success of the operation. This successfully established model can serve as an excellent animal model for basic research of small intestinal transplantation.

Key words: Intestinal Transplantation; Diseases Models, Animal

CLC number: R656.7; R363

Document code: A

小肠移植是治疗肠衰竭的有效方法。由于小

肠富含淋巴组织, 具有很高的免疫源性^[1], 一直是器官移植的难点。小肠移植的动物模型在促进临床小肠移植的发展中扮演了重要角色。但异位小肠移植肠道不具有连续性, 与生理解剖及临床术式有一定差距, 忽略了消化液、食物、运动功能等对受体的影响, 有一定的局限性。原位小肠移植动物模

收稿日期:2005-02-24; 修订日期:2005-09-01。

作者简介:樊林,男,陕西西安人,西安交通大学医学院第一附属医院主治医师,硕士,主要从事小肠移植基础与临床方面的研究。

通讯作者:樊林 电话:13709190151; E-mail:linnet_fan@yahoo.com.cn。

型的建立对于进一步深入而准确进行小肠移植的有关基础研究显得尤为重要。Kort^[2]于1973年首次建立了一期吻合肠管的原位小肠移植模型,但由于其并发症多、存活率低而未被广泛采用。笔者在此基础上作了一些改进,旨在使其成为一种简便、稳定、成活率高的模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物及术前准备

由西安交通大学医学院实验动物中心提供的成年雄性、健康的封闭群SD大鼠,体重250~300g。供、受体均禁食12h。自由饮用含庆大霉素糖盐水。麻醉药用5%氯胺酮,购自江苏恒瑞医药股份有限公司,术前80mg/kg腹腔注射。

1.2 供体手术

取上至剑突下至耻骨联合的纵形切口,盐水纱布保护肠管,切除全结肠。游离肠系膜上动脉,使其与肠系膜上静脉及门静脉分离。游离肠系膜上静脉、脾静脉和幽门静脉挂线待用,游离门静脉至肝门。在Treitz韧带下5cm结扎切断空肠及其系膜,保留20~30cm近段空肠待移植用,余切除。快速结扎切断脾静脉和幽门静脉,动脉夹于腹腔动脉上阻断腹主动脉,在左肾动脉下方,经腹主动脉插管,以30cmH₂O(1cmH₂O=0.098kPa)压力行小肠原位灌洗。灌洗液为含肝素100U/mL的4℃乳酸林格液,同时将大量冰屑敷于小肠上快速降温。灌洗开始同时,紧贴肝门部剪断门静脉,并将门静脉引入外径2.1mm,内径1.6mm长4mm的Cuff套管^[3]内,翻转静脉内膜于套管外并丝线结扎固定。灌洗至肠系膜和肠壁血管床苍白,门静脉套管端流出液清亮时,在肠系膜上动脉上方腹腔动脉水平切断腹主动脉,置于4℃乳酸林格液中保存;修剪腹主动脉两端平齐,沿对肠系膜上动脉缘纵形剖开腹主动脉(图1),留置待用。

1.3 受体手术

切口与供体相同,游离左肾及左肾动、静脉。结扎左侧输尿管,近腹主动脉处结扎切断左肾动脉,

将左肾翻上留置待用。游离肾下腹主动脉2cm左右。阻断腹主动脉游离段上、下两端,在其前壁开一长径3mm纵行椭圆形孔。移植肠以冰盐水纱布保护置入左侧腹腔。将供体腹主动脉瓣与受体腹主动脉以9-0无损伤线吻合。经左肾静脉缓慢注入温盐水2~3mL,血管夹于左肾静脉根部阻断左肾静脉,沿肾门处切除左肾。两根9-0无损伤线牵开血管残端,开口剪为倒“T”型,将供体带Cuff套管门静脉置入左肾静脉。移除血管夹,可见移植肠迅速变为鲜红色,动脉搏动明显,静脉回流良好。迅速以37℃温盐水腹腔复温。自受体Treitz韧带下5cm切除空、回肠,末端保留距回盲部约5cm回肠。将移植肠近、远端分别与受体近、远端肠吻合,7-0无损伤线全层连续缝合,浆肌层包埋。固定移植肠系膜,温盐水冲洗腹腔至清亮,关腹(图1,2)。再由阴茎背静脉补温盐水2mL。实验鼠麻醉苏醒后可自行翻身爬起。手术共约(4±0.5)h,热缺血2~3min,冷缺血(60±10)min,其中动脉吻合时间(25±5)min,静脉吻合时间(4±1)min,肠管吻合时间(20±5)min。手术均在室温(25±2)℃条件下进行。

图1 原位小肠移植模式图

1.4 术后管理

术后单笼饲养,保暖。当日饲以5%糖盐水,次日流质饮食。3d后恢复正常饮食。术后不用免疫抑制剂。存活超过5d者视为手术成功。术后观察一般状况及体重。术后根据实验设计所要求时间分别于术后14d处死动物取材(图3)。

血流开放移植肠红润 a:动脉吻合口 b:静脉吻合口 c:肠吻合口

图2 血流开放移植血管吻合处

a:肠吻合口 b:血管吻合口 c:移植肠

图3 移植后14d存活后解剖情况

2 结果

在预实验的基础上,行原位小肠移植正式实验16次(对)。2只于48h内死亡,其中低血容量休克1只,不明原因1只。1只于5d死于吻合口瘘。其余13只存活超过5d,占81.25%;最长存活21d。

3 讨论

本模型是在Kort模型基础上的改进而完成。Kort法操作复杂,血管和肠管吻合并发症高,其动、静脉吻合均需在显微镜下缝合,操作难度大。因此,笔者对其动、静脉吻合作了较大的改进。并对手术整个过程作了不同程度的改进。

3.1 供肠切取

供肠开腹后应尽量置于腹腔内,并用湿盐水纱布保护。供肠尽量避免钳夹,减少翻动以免机械性损伤并避免缺血性损伤,失血后应及时补充血容量。注意以下几方面:入腹后,首先游离结扎

左肾下腹主动脉,以增加供肠血液灌注。游离肠系膜上静脉及门静脉时,先分离出脾静脉、胃幽门静脉暂不结扎,防止内脏淤血造成休克,可于灌注前再结扎。门静脉套管吻合时注意防止静脉扭转。肠管原位灌注时压力以维持在30cm H₂O(1cmH₂O=0.098kPa)为宜,压力过大易造成移植植物毛细血管床的大量破坏。灌注速度应均匀,以5mL/min为宜。

3.2 血管吻合

供体取材时应注意充分游离动静脉,使其有足够的长度,防止吻合后成角狭窄及扭转。

动脉吻合采用供体腹主动脉瓣吻合。将供体腹主动脉沿肠系膜上动脉对侧缘纵形剖开,使其成为长方形片状,修整后吻合,该吻合方式吻合口宽大,不易狭窄,更符合血流动力学原理,血流不形成涡流,不易形成血栓。本组无1例发生动脉血栓形成。较之经典吻合方式的优劣见图4所示。其次,动脉开口要居中,使其长度略大于供体的腹主动脉瓣长轴,行两侧连续外翻缝合;沿长轴吻合口两端缝合时注意针距必须要均匀,可适当短些,此处最易发生漏血。缝合时应以肝素盐水冲洗吻合口,防止血栓形成。最后,吻合完成后应将移植肠系膜固定2~3针,防止肠管蠕动及体位变化造成系膜血管扭转。

图4 两种动脉吻合方式比较

静脉吻合采用Cuff套管技术,与传统手工吻合相比可简化手术操作,明显缩短缺血时间,提高移植成功率,具有快速、可靠、稳定的特点,减低了术后并发症^[4]。套管套入时应摆好位置,防止扭转造成静脉回流不畅,同时插入左肾静脉内的静脉套管顶端不宜超过左肾静脉根部平面,以免血栓形成。

3.3 肠管吻合

术前禁食 12h, 以含庆大霉素糖盐水喂饲, 有利于减少术后吻合口感染等并发症。

良好的吻合技术以及肠管良好的血供是减少术后吻合口并发症的关键。应使用 7-0 无损伤缝合线, 缝线过细易切割肠管造成肠痿, 缝线过粗, 则易使缝合组织过多造成术后吻合口狭窄。采用全层连续缝合, 浆肌层包埋。缝线收的不宜过紧, 因易发生切割及狭窄, 以肠管平展自然, 缝线少部分暴露为宜。其次, 处理吻合口两端的肠管系膜时, 应注意肠管血供, 如果肠管出现缺血表现, 应切除不良肠管。同时, 吻合时应注意用纱布保护, 以免肠内容物污染腹腔。

术后合理的管理可使动物 3d 后恢复正常饮食。

3.4 防止低血容量

大鼠血容量少, 手术过程中避免不了出血, 因麻醉后血管床扩张、创面蒸发等因素使得受体极易发生低血容量性休克, 所以保证充分的血容量是手术成功的重要因素之一。以往采用阴茎背静脉补液法仅适用于雄性, 并只能进行 1~2 次穿刺, 如果穿刺失败则无法使用, 并且该法不易掌握。笔者采用

术中两次不同部位补液法, 在静脉套管前利用左肾静脉通路补液, 左肾静脉宽大, 操作简单、可靠, 而且不破坏其他补液通路, 给以后补液留有余地。如果失血较少, 一次补液即可。如不行, 可在关腹后从阴茎背静脉补液以保证充足的循环血量。此外, 注意术中及术后保暖, 保证充分的微循环。

综上所述, 只要注意移植肠的获取、血管吻合技术、肠吻合技术和维持良好的血容量等技术要点, 即能保证建立简便、稳定、可靠的大鼠原位小肠移植模型, 为进一步的研究奠定基础。

参考文献:

- [1] Herlenius G, Krantz M, Finkel Y, *et al.* [Intestinal transplantation-an experimental therapy which has become a realistic alternative][J]. *Lakartidningen*, 2004, 101(38):2874-2878.
- [2] Kort WJ, Westbroek DL, MacDicken I, *et al.* Orthotopic total small bowel transplantation in the rat[J]. *Eur Surg Res*, 1973, 5(2):81-89.
- [3] Wallander J, Holtz A, Larsson E, *et al.* Small-bowel transplantation in the rat with a nonsuture cuff technique. Technical and immunological considerations[J]. *Transpl Int*, 1988, 1(3):135-139.
- [4] 王曙逢, 李国威. 大鼠小肠移植模型的改进[J]. *中国普通外科杂志*, 2003, 12(4):279-282.

中华医学会第八届骨科学术会议暨第一届国际 COA 学会大会通知

为使学术会议规范化, 并扩大国际影响, 经中华医学会骨科学分会常委会讨论, 中国骨科学术年会将每年举行一次, 旨在快速传播知识, 及时分享临床经验, 规范学术交流, 提高学术水平, 逐步与国际接轨, 使之成为具有中国特色的国际知名的品牌学术会议。

中华医学会第八届骨科学会会议暨第一届国际 COA 学术大会将于 2006 年 11 月 12-15 日在北京举办, 此次大会将是中国骨科界迄今最大的学术盛会, 届时, 将邀请欧美、港台、中国大陆等地的著名专家和资深人士出席会议并作专题演讲, 其中参加香港 2006 年骨科年会的全体国外专家将全部出席 COA, 并作精彩的演讲和专题报告。同时大会还将邀请国际知名商家参加。

大会的主题将涉及脊柱、创伤、关节、关节镜及运动医学、骨肿瘤等骨科疾病的临床经验交流及新进展研讨; 骨质疏松、足踝外科和微创技术将融入相应的各个专业。会议将设国际会场、专题讲座、大会报告及展板四种形式, 其中国际会场将进行全英文交流。

骨科基础研究学术大会(CORS)将提前一天举行即 11 日报到, 12 日开会。会议报到及相关事宜通知如下:

网上注册: www.coa.org.cn 通信注册: 北京市海淀区苏州街 18 号长远天地大厦 B2 座 12A08-09(100080)

注册时间: 2006 年 1 月 1 日—2006 年 11 月 12 日 论文截稿时间: 2006 年 8 月 20 日

中华医学会第八届骨科学术年会秘书处:

北京市海淀区苏州街 18 号长远天地大厦 B2 座 12A08-09 室(100080); Tel: 86-10-82609935; 82609925; 82608228-836; 13901203134; Fax: 86-10-82609915; E-mail: lily@coa.org.cn, Larkin@coa.org.cn; 联系人: 温雅歆 李新慧; [Http://www.coa.org.cn](http://www.coa.org.cn)。

北京市东城区帅府园 1 号(100730); Tel: 86-10-65296562; Fax: 86-10-65296081; E-mail: yx@medmail.com.cn 联系人: 杨新宇 张祯