

建立大鼠部分肝移植动脉化模型的技术改进

黄新立, 张峰, 张业伟, 王学浩

■背景资料

活体部分肝移植的研究由于供肝来源的缺乏而日益受到重视, 与活体部分肝移植相关的重要研究是建立稳定的动物模型。

黄新立, 张峰, 张业伟, 王学浩, 南京医科大学第一附属医院肝脏移植中心 江苏省南京市 210029
江苏省重点学科建设基金资助项目(苏卫科教), No. [2001]31
通讯作者: 王学浩, 210029, 江苏省南京市, 南京医科大学第一附属医院肝脏移植中心. wangxuehao8713@163.com
收稿日期: 2006-11-30 接受日期: 2006-12-18

Technique modification in establishing rat model of partial liver transplantation with hepatic rearterialization

Xin-Li Huang, Feng Zhang, Ye-Wei Zhang, Xue-Hao Wang

Xin-Li Huang, Feng Zhang, Ye-Wei Zhang, Xue-Hao Wang, Liver Transplantation Center, the First Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by the Key Subject Program Foundation of Health and Science Education Department of Jiangsu Province, No. [2001]31

Correspondence to: Xue-Hao Wang, Liver Transplantation Center, the First Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. wangxuehao8713@163.com

Received: 2006-11-30 Accepted: 2006-12-18

Abstract

AIM: To develop and modify a rat model of partial liver transplantation with hepatic rearterialization.

METHODS: Two-cuff technique, described by Kamada and Howden, was applied with some modification and hepatic rearterialization between the donor's celiac artery and the recipient's right renal artery was performed in Sprague Dawley rats. The graft reduction was performed *ex situ* by resecting the left lateral lobe, the left portion of the median lobe, and the caudate lobes.

RESULTS: Of the 48 rats received liver transplantation, 5 cases died during operation, and the warm ischemia time for the donor liver was 1.0 ± 0.5 minutes. The 1-week survival rate of the recipients was 85.4%.

CONCLUSION: The modification used in this study provides a more practical and stable ex-

perimental model.

Key Words: Liver transplantation; Model; Rat

Huang XL, Zhang F, Zhang YW, Wang XH. Technique modification in establishing rat model of partial liver transplantation with hepatic rearterialization. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(6):622-624

摘要

目的: 建立大鼠部分肝移植动脉化模型的技术改进。

方法: 采用改良二袖套法建立大鼠部分肝移植模型, 并进行供体的腹腔动脉与受体的右肾动脉端端吻合。供肝予以切除尾叶、肝左叶及肝中叶的左半。

结果: 48例正式实验中, 有5例于术中死亡, 供肝热缺血时间为 1.0 ± 0.5 min。大鼠部分肝移植术后1 wk存活率为85.4%。

结论: 通过技术改进, 提高了模型建立的稳定性。

关键词: 肝移植; 模型; 大鼠

黄新立, 张峰, 张业伟, 王学浩. 建立大鼠部分肝移植动脉化模型的技术改进. *世界华人消化杂志* 2007;15(6):622-624
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/622.asp>

0 引言

临床上肝移植已成为治疗终末期肝病和先天性肝胆疾病的有效治疗手段^[1-3], 活体部分肝移植也由于临床上供肝来源匮乏的原因而得到关注和不断发展, 与活体部分肝移植相关的重要研究是建立稳定的动物模型。

1 材料和方法

1.1 材料 ♂ SD大鼠, 体质量260-280 g, 购于江苏省动物实验中心, 术前禁食20 h, 不禁水, 术前称体质量, 使每对供、受体大鼠体质量相差 ≤ 10 g。手术显微镜(镇江光学仪器厂生产)下清

洁手术, 胆总管支架管采用硬膜外导管制成, 长约5.0 mm, 外径0.8 mm. 肝下下腔静脉及门静脉袖套管采用输液皮条拉制而成, 直径分别为2.4-2.6 mm和1.8-2.0 mm, 长约3.0 mm, 袖套管外壁刻烙痕.

1.2 方法

1.2.1 供体手术 盐酸氯胺酮ip麻醉(100 mg/kg), 仰卧位, 十字切口进腹, 离断镰状韧带、左三角韧带及肝胃韧带, 结扎左膈下静脉以及左肝至食管的交通血管, 游离肝下下腔静脉至左肾静脉平面, 游离右肾静脉并用9-0丝线紧贴腔静脉将其单独结扎切断, 游离右肾动脉并结扎, 结扎右肾上腺静脉, 离断肝右后侧所有韧带. 将肝向头侧翻起, 游离胆总管, 在左右肝管汇合处以下约5 mm处切开前壁并行胆总管插管, 游离门静脉, 结扎切断幽门静脉, 用9-0丝线紧贴门静脉结扎脾静脉并切断, 游离肝固有动脉, 肝总动脉及腹腔干, 结扎切断胃十二指肠动脉, 胃左动脉以及脾动脉. 在腹腔干分支上方阻断腹主动脉, 在肠系膜上动脉分支下方切开腹主动脉前壁并插管, 以每毫升含10 U肝素的4℃生理盐水灌注, 灌注总量约40 mL, 同时在左肾静脉平面横断下腔静脉使血液排出, 剪断肝上下腔静脉并保留其周围膈肌环, 依次剪断左肝至食管的交通血管、右肾上腺静脉、胆总管、肠系膜上静脉及腹腔干, 取出供肝, 放入4℃的生理盐水中.

1.2.2 供肝准备 在4℃的生理盐水中修肝, 修整门静脉及肝下下腔静脉, 并分别外翻套在袖套管上, 5-0丝线结扎固定, 在外翻血管的过程中应注意避免血管扭曲, 靠近袖套管下端用小血管夹夹住肝下下腔静脉, 修剪肝上下腔静脉周围多余的膈肌, 但应保持膈肌腔静脉孔的完整, 用8-0的无损伤缝线在腔静脉左右两侧各悬吊一针, 以备吻合用. 用血管夹在肝固有动脉处阻断, 从腹腔干端注入生理盐水, 如有渗漏则予以吻合结扎. 结扎尾叶的肝蒂并切除尾叶, 缝线切除肝左叶及肝中叶的左半^[4]. 修肝结束后供肝置4℃的生理盐水中并放入冰箱冷藏.

1.2.3 受体手术 麻醉后仰卧位, 碘伏消毒腹部, 正中切口入腹, 剪断肝周韧带, 结扎左膈静脉及左肝至食管的交通血管, 于左右肝管汇合处结扎切断胆总管, 结扎切断肝固有动脉, 游离门静脉左右分叉处至幽门静脉水平, 游离肝下下腔静脉, 右肾静脉及右肾动脉, 结扎右肾上腺静脉, 以血管夹阻断门静脉和肝下下腔静脉, 自门静脉左右分叉处穿刺推注生理盐水2 mL, 随即用

小Satinsky钳将肝上下腔静脉连同部分膈肌一起夹住, 在门静脉左右分叉处剪断门静脉, 保留3 mm肝后段下腔静脉, 剪断肝下下腔静脉, 紧贴肝脏剪断肝上下腔静脉, 靠肝侧剪断右肾上腺静脉及左肝至食管的交通血管, 移去肝脏. 然后原位置入供肝, 用悬吊在供肝腔静脉左右两侧的缝线与受体腔静脉相应部位各缝一针并结扎, 行腔内连续缝合后壁至对侧与另一悬吊缝线在血管腔外打结, 然后同法连续缝合前壁, 缝合结束前用生理盐水排出血管腔内空气, 将供肝门静脉袖套管插入受体门静脉, 5-0丝线结扎固定, 移去门静脉血管夹和Satinsky钳, 结束无肝期. 肝下下腔静脉袖套管插入受体下腔静脉, 5-0丝线结扎固定, 松开肝下下腔静脉血管夹, 将胆总管支架管插入受体胆总管中并结扎固定. 靠近肝下下腔静脉结扎切断右肾静脉, 血管夹阻断右肾动脉, 近肾门处剪断右肾动脉, 结扎并剪断右侧输尿管, 摘除右肾, 行供体腹腔动脉干与受体右肾动脉端端吻合, 移去右肾动脉血管夹, 恢复肝动脉血流. 冲洗腹腔后关腹, 阴茎背静脉推注乳酸钠林格溶液2 mL, 肌注青霉素40万单位, 灯照复温20 min, 术后自由饮水, 12 h后进食.

2 结果

48例正式实验中, 供体手术时间 35 ± 2.4 min, 供肝热缺血时间 1.0 ± 0.5 min, 体外修肝时间 11 ± 1.2 min, 受体无肝期时间 17 ± 2.5 min, 受体手术时间 80 ± 9.5 min. 有5例于术中死亡, 其中2例死于肝上下腔静脉吻合口出血, 1例死于腹腔动脉干吻合口出血, 1例死于门静脉气体栓塞, 1例死于供肝断面出血, 存活率为89.6%. 43例成活大鼠2例分别于术后第5天和第6天死于胆汁性腹膜炎, 术后1 wk存活率为85.4%. 术后1 wk处死大鼠时仅发现2例腹腔动脉栓塞.

3 讨论

1973年Lee *et al*^[5]首次建立了大鼠原位肝移植模型, 此模型包含肝动脉重建. Kamada *et al*^[6]采用袖套技术并不进行肝动脉重建, 大大简化了肝移植模型的建立, 并取得较高的手术成功率, 以后此模型被广泛采用. 由于临床肝移植需行肝动脉重建, 因此理论上讲, 未行肝动脉重建的肝移植模型所得到的实验结果不能照搬于临床^[7-8]. 参照Kamada *et al*^[6]和Howden *et al*^[9]介绍的大鼠肝移植模型建立的方法并作改进, 建立了较稳定的大鼠部分肝移植动脉化模型, 并且获得了

■同行评价

本研究采用改良二袖套法建立大鼠部分肝移植模型, 并进行供体的腹腔动脉与受体的右肾动脉端端吻合, 研究表明通过技术改进, 提高了模型建立的稳定性, 本技术改进对活体部分肝移植研究有指导参考价值.

89.6%的成活率和85.4%的术后1 wk存活率,这与其他文献报道相一致^[10-11]。相关文献报道建立部分肝移植静脉化模型的成活率为90%,术后1 wk存活率为83.3%^[12]。建立肝移植动脉化模型比建立肝移植静脉化模型手术难度大,手术时间长,成活率会受到一定影响,而我们较高的术后1 wk存活率可能与肝动脉重建有关,恢复供肝的完整血流对移植肝的长期存活及减少胆道系统并发症会有一定的好处^[13-15]。

建立的大鼠部分肝移植动脉化模型在以下方面做了技术改进: (1)供体手术时肝动脉的血供维持到灌注前的最后时刻,减少了供肝的缺血损伤; (2)供体腹腔动脉干与受体右肾动脉端端吻合,其与腹主动脉吻合比较避免了肾脏的急性缺血损伤; (3)在用小Satinsky钳将肝上下腔静脉连同部分膈肌一起夹住时应稍提起肝脏以便能够夹住肝上下腔静脉下缘的膈肌,有利于肝上下腔静脉的吻合,提高吻合的速度,缩短无肝期; (4)供肝准备时,无损伤缝线在肝上下腔静脉左右两侧各悬吊一针,有利于受体手术时腔静脉吻合的完整,提高吻合的速度; (5)尽量少游离供肝胆管周围的组织,留短供肝胆管的长度,有利于避免术后胆管坏死; (6)采用腹主动脉灌注,有利于避免肝动脉术后栓塞,较门静脉灌注缩短了热缺血时间,灌注更均匀彻底; (7)切除肝左叶时结扎点不能过与靠近左叶的根部,我们采取缝扎的方式,避免了静脉回流的受阻; (8)吻合动脉时尽量不损伤内膜,行连续吻合,以免术后动脉血栓形成。

4 参考文献

1 陈知水, 王海瀛. 中国肝癌肝移植的现状与展望. 世界

华人消化杂志 2006; 14: 939-941

2 夏穗生. 我国肝移植现状. 世界华人消化杂志 1999; 7: 645-646

3 汤钊猷. 肝癌外科治疗的进展. 世界华人消化杂志 2003; 11: 249-254

4 Omura T, Ascher NL, Emond JC. Fifty-percent partial liver transplantation in the rat. *Transplantation* 1996; 62: 292-293

5 Lee S, Charters AC, Chandler JG, Orloff MJ. A technique for orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* 1973; 16: 664-669

6 Kamada N, Calne RY. Orthotopic liver transplantation in the rat: technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage. *Transplantation* 1979; 28: 47-50

7 Gao W, Lemasters JJ, Thurman RG. Development of a new method for hepatic rearterialization in rat orthotopic liver transplantation. Reduction of liver injury and improvement of surgical outcome by arterialization. *Transplantation* 1993; 56: 19-24

8 Reck T, Steinbauer F, Steinbauer M, Schwille PO, Wittekind C, Hohenberger W, Kockerling F. Impact of arterialization on hepatic oxygen supply, tissue energy phosphates, and outcome after liver transplantation in the rat. *Transplantation* 1996; 62: 582-587

9 Howden B, Jablonski P, Grossman H, Marshall VC. The importance of the hepatic artery in rat liver transplantation. *Transplantation* 1989; 47: 428-431

10 周学平, 杜隽铭, 李济宇, 杨勇, 陆炯炯, 全志伟. 大鼠原位肝移植模型制作的术后稳定存活率. 上海交通大学学报(医学版) 2006; 26: 603-606

11 陈耿, 张玉君, 杨程, 郑树国, 李昆, 董家鸿. 重建肝动脉血液供应和胆道外引流的大鼠原位肝移植模型的建立. 中华器官移植杂志 2006; 27: 40-43

12 钱晓峰, 王学浩, 张峰, 李相成, 王科, 成峰, 刘军. 大鼠减体积肝移植模型的技术改进及肝再生的初步观察. 南京医科大学学报(自然科学版) 2003; 23: 221-223

13 孙鹏, 蔡端, 张群华, 芮晓晖. 非协调性异种肝移植动物模型的建立: 动脉化模型与静脉化模型的比较. 中华肝胆外科杂志 2001; 7: 422-424

14 王国栋, 马毅, 陈规划. 改良的套叠缝合重建肝动脉的大鼠原位肝移植模型. 中华实验外科杂志 2006; 23: 1088-1089

15 马毅, 何晓顺, 陈规划, 陈细桃, 黄洁夫. 重建肝动脉血供大鼠原位肝移植模型的术式探讨. 中华实验外科杂志 2004; 21: 110-111

电编 张敏 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

世界华人消化杂志在线办公系统

本刊讯 自2005-12-15起, 世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(<http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。凡在在线办公系统注册的用户, 将可获得世界华人消化杂志最新出版消息。