

猪胆道缺损修补实验动物模型的建立

陈刚, 白建华, 朱新锋, 王帆, 刘其雨, 李立
(昆明医科大学附属甘美医院, 云南昆明 650011)

[摘要] **目的** 建立猪胆管缺损修补模型, 比较脱细胞基质修复胆管缺损与胆肠吻合术的优缺点. **方法** 建立猪胆管缺损模型, 并使用脱细胞基质进行修补, 对修补组与常规胆肠吻合组进行比较. **结果** 成功建立猪胆道缺损修补实验动物模型, 成功率为 91%. 在手术时间及中位生存期方面, 修补组与常规手术组相比 ($P < 0.05$), 修补组明显优于常规手术组. **结论** 较短的手术时间, 较低的手术后并发症, 较长的存活时间均提示脱细胞真皮基质修复胆道效果良好.

[关键词] 胆道缺损; 模型; 脱细胞基质

[中图分类号] R-332 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 12-0038-04

Establishment of Pig Model for Common Bile Duct Repair

CHEN Gang, BAI Jian-hua, ZHU Xin-feng, WANG Fan, LIU Qi-yu, LI Li

(The Affiliated Ganmei Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650011, China)

[Abstract] **Objectives** To establish the model of common bile duct repair in pig and compare the acellular dermal with biliary intestinal anastomosis. **Methods** Common bile ducts were removed partly or completely, and then their common bile ducts were repaired by acellular dermal matrix (ADM), the repair effects were compared between the acellular dermal matrix and Biliary intestinal anastomosis. **Results** In 33 normal experiment pigs, 30 pigs survived over 2 weeks postoperation. The success rate of operation was 91%. The operation time of ADM group was obviously shorter than Biliary intestinal anastomosis group ($P < 0.05$). Median survival time of ADM group was obviously longer than Biliary intestinal anastomosis group ($P < 0.05$). **Conclusion** Shorter operation time, fewer complications and longer survival time all imply that the effect of ADM for repairing common bile duct is good.

[Key words] Defect of bile duct; Model; Acellular matrix

胆道损伤是腹部手术中常见的并发症, 给病人带来严重的伤害, 虽然行多次手术处理后, 仍然反复出现胆道感染、结石、肝硬化等多种并发症, 因此寻找一种新的治疗方法, 成为当前一个热点. 本实验通过脱细胞基质进行胆道修补, 保留了 Oddi 括约肌功能, 能有效预防胆道感染等并发症, 现报告如下.

1 材料与方法

1.1 实验动物

滇南小耳猪 33 头, 由昆明医科大学动物科提供, 8~11 月龄, 体重约 15~20 kg, 雌雄不限.

1.2 实验分组

胆管横断组 (Bile duct transaction, BDT): 于胆总管下段距胆囊管开口 1 cm 处将胆总管横断, 使其整段缺损长度为 1.2 cm, 用相当横断长度的脱细胞真皮基质补片制成直径稍宽管状进行修补.

部分缺损组 (Part defect of bile duct, PDBD): 于胆总管下段距胆囊管开口 1 cm 处, 剪去部分胆总管前壁 (1.0 cm × 0.5 cm), 用略大于缺损的脱

[作者简介] 陈刚 (1969~), 四川阆中市人, 医学博士, 副主任医师, 主要从事肝胆疾病的基础与临床研究工作.

[通讯作者] 李立. E-mail: ynkmli@yaho.com

细胞真皮基质补片进行修补。

胆肠吻合组 (Biliary intestinal anastomosis, BIA): 于胆总管下段将其切断, 下端封闭, 近端与空肠行端侧吻合, 并行空肠侧侧吻合。

1.3 实验器材及设备

脱细胞真皮基质补片、外科手术放大镜、外科手术器械、显微外科手术器械

1.4 实验方法

1.4.1 动物实验 修剪补片: 将补片制备成所需要



图 1 整段缺损组补片修剪成管状, 长约 1.2 cm

Fig. 1 The patch was prepared to be tubiform (1.2 cm × 0.5 cm) in complete defect of bile duct group



图 2 部分缺损组补片修剪成梭形约 1.0 cm × 0.5 cm

Fig. 2 The patch was prepared to be fusiform (1.0 cm) in partial defect of bile duct group

的形状见图 1、2、

1.4.2 术前准备 滇南小耳猪于术前 12 h 禁食, 3%的戊巴比妥钠 (1 mL/kg) 耳缘静脉缓慢注射麻醉, 5 min 后麻醉显效, 呼吸平稳, 根据术中情况给予肌肉注射安定 5~10 mg。备皮 (一次性备皮刀剔除胸部及整个腹部的毛) 后抬入手术室, 将其平放于手术台上, 仰卧位后绷带固定四肢。头偏向一侧, 在口腔中塞一牙垫, 将舌牵出后用胶布固定, 防止舌后坠及发生窒息。使用医用碘伏消毒手术区域皮肤, 上起胸部, 下至脐下 5 cm, 两侧至腋中线。

1.4.3 术前及术中用药 术前 30 min 经耳静脉给

予庆大霉素 16 万 U, 术中给予头孢曲松钠 3.0 g。

1.4.4 手术步骤 (1) 胆道修补组 (图 3、4): 取上腹部小入字形切口, 长度约 10 cm, 电凝止血。显露第一肝门, 见胆总管为浅蓝色, 位于第一肝门右前侧, 外径约为 0.4~0.6 cm。以 4 号穿刺针于胆总管前壁进行试穿, 抽出金黄色胆汁, 确定为胆管, 于胆总管下段横断胆总管使其缺损长度约为 1.2 cm, 或胆管前壁部分缺损, 缺损面积为 1.0 cm × 0.5 cm, 造成人工缺损。行端端外翻缝合或局部缺损修补术, 连续吻合。部分缺损时双针于梭形补片上极穿入打结左右侧缝合至下极再打结, 线结打在管腔外、打结时使两断端对拢即可, 不用力收结。吻合完成后仔细检查腹腔, 确认无胆漏及活动出血后逐层关腹。送入动物科饲养室, 24 h 后正常饲养; (2) 胆肠吻合组 (图 5、6)。

主要过程: (1) 分离胆总管: 切开肝十二指肠韧带, 显露胆总管, 注意勿损伤肝动脉及门静脉, 在贴近十二指肠处, 将胆总管的两侧缝两针线牵引, 在缝线以下将胆总管切断。然后封闭胆总管远段; (2) 切断空肠上段: 提起横结肠, 顺其系膜向下, 找到十二指肠空肠曲。在距十二指肠韧带 20 cm 处切断空肠, 分离、切断、结扎空肠系膜, 使空肠远段有足够的游离度, 将游离的空肠远侧端以 0 号丝线双层缝合关闭。在中结肠动脉的右侧, 切开横结肠系膜无血管区, 经此切口将远段空肠在十二指肠的前方向上提至肝门处; (3) 空肠近段与远段空肠端侧吻合: 在离远侧断端 50~60 cm 处的侧面与空肠近端行端侧吻合, 吻合口内层用丝线间断全层缝合, 外层用丝线间断浆肌层缝合, 缝合完毕后将空肠近段与空肠远段上端作浆肌层并行缝合 7~10 cm, 使之同步。空肠系膜予以缝闭, 横结肠系膜裂孔也予关闭; (4) 胆总管与空肠行端侧吻合: 在离空肠断端 3~4 cm 处肠系膜的对侧缘的侧方切一小口, 方向与肠管长轴平行, 大小与整修后的胆总管口径相应。以细线将空肠切口后壁与胆总管切口后壁做一层间断的全层缝合, 待全部缝妥后, 将空肠送至肝门处, 将缝线依次结扎。再以细线作全层间断缝全吻合口的前壁, 结扎缝线时, 将空肠粘膜翻至肠腔内。最后将空肠断端缝合固定于附近肝门处, 将横结肠系膜切口边缘与空肠缝合固定, 关闭肠吻合后所形成的裂隙; (5) 清理腹腔, 确保无异物存留, 放置引流管, 术毕。

1.4.5 术后管理 术后单笼饲养, 注意保温, 当天禁食, 自由饮水。术后第 2 天即可正常进食, 术后 5 d 内每天经静脉给予头孢曲松钠 4.0 g, 甲

硝唑 0.25 g 预防感染.

1.4.6 实验观察方法及指标 (1) 方法: 术后存活超过 2 周, 无发热, 皮肤、巩膜无黄染, 进食良好, 精神状态良好, 大小便正常, 切口无感染, 则视为手术成功, 符合本实验的要求; (2) 指标: 手术时间, 存活时间, 手术成功率.

1.5 统计学分析

用 SPSS13.0 统计软件包进行统计分析, 所有数据均以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析, 两两比较, 若各组方差齐, 则采用 LSD 检验, 方差不齐则行 Dunnett'T3 检验, 术后动物每组取 6 头, 观察 52 周生存情况, 进行 Kaplan-Meier 生存分析, 评价各组间的生存时间, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 术后一般情况及生存情况

本实验行 33 次动物实验, 手术平均时间为 (76.9 ± 15.7) min, 术后存活时间以超过 2 周为手术成功, 本实验中两例因术前麻醉过深, 抢救无效死亡, 1 例 1 周死亡, 解剖查明原因, 为手术操作致胆管梗阻、胆瘘、胆汁性腹膜炎死亡. 余 30 头均存活超过 2 周, 无发热, 皮肤、巩膜无黄染, 进食良好, 精神状态良好, 大小便正常, 切口无感染, 手术成功率为 91%.

2.2 各组手术时间的比较

BDT 与 PDBD 组手术时间明显短于 BIA 组 ($P < 0.05$), BDT 与 PDBD 组无统计学差异 ($P > 0.05$), 见表 1.

2.3 各组生存时间比较

BDT 与 PDBD 组相比, 中位生存期无统计学差异, 但前两组中位生存期明显长于 BIA 组, 见表 2、表 3.



图 3 胆总管整段缺损, 与补片端端吻合完毕

Fig. 3 End-to-end anastomosis with patch in complete defect of bile duct group

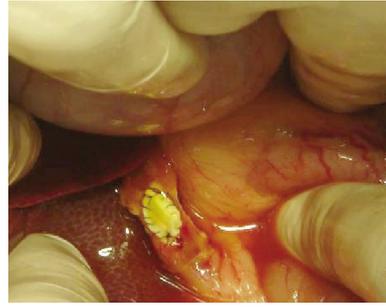


图 4 胆总管部分缺损与梭形补片连续吻合

Fig. 4 Continuous anastomosis with patch in partial defect of bile duct group

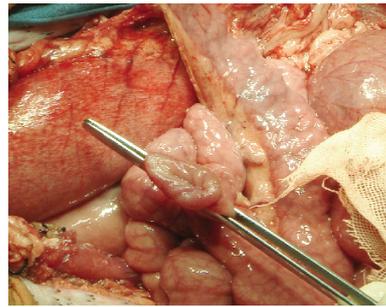


图 5 距 Treiz 韧带 20 cm 处切断空肠

Fig. 5 The jejunum was cut at 20cm distance to Treiz ligament

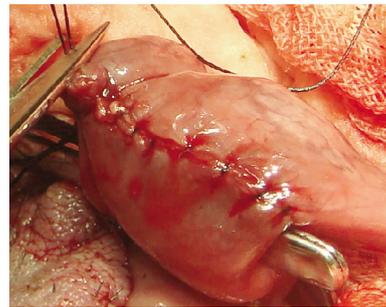


图 6 空肠近段与远段空肠端侧吻合

Fig. 6 End-to-side anastomosis of near and distal segment of jejunum

表 1 各组手术时间 [min, ($\bar{x} \pm s$)]

Tab. 1 The operation time of each group [min, ($\bar{x} \pm s$)]

分 组	手术时间
BDT 组	70 \pm 8
PDBD 组	60 \pm 7*
BIA 组	105 \pm 11

与 BDT 组比较, * $P < 0.05$.

表 2 各组 52 周时的存活率 (%)

Tab. 2 The 52W survival rate of animals in each group (%)

分 组	<i>n</i>	死亡 (<i>n</i>)	存活 (<i>n</i>)
BDT	6	3	3(50.0)*
PDBD	6	3	3(50.0)*
BIA	6	5	1(16.7)

与 BIA 组比较, * $P < 0.05$.

表 3 不同手术方法下各组中位生存期

Tab. 3 The median survival time of animals in each group

分 组	中位生存期
BDT	50.00*
PDBD	50.00*
BIA	7.00

与 BIA 组比较, * $P < 0.05$.

3 讨论

胆道疾病, 最常见的严重并发症是医源性胆道损伤. 近 10 余 a 来, 由于腹腔镜胆囊切除术在各医院不断的被推广, 手术中或手术后发生胆道损伤并发症的情况越来越多, 如今发生率已经超过了 15%^[1]. 胆道一旦发生损伤, 无论对于病人还是医生, 都是一种“意外”和附加伤害, 甚至远比原发病还要严重, 如果发现不及时、处理不合理, 均会给患者及术者造成不可想象的后果, 甚至给患者造成所谓的“胆道残废”胆管损伤的最佳处理时机是术中及时发现及时处理. 术后发现胆管损伤, 再次手术时间以术后 1~3 个月内为宜, 过长的等待将造成严重的肝功能损害, 甚至造成不可逆的胆汁性肝硬化^[2]. 胆管空肠吻合或胆管端端吻合重建胆管的方法均有可能发生吻合口狭窄或瘘, 胆管端端吻合优点在于: 首先 Oddi 括约肌功能得以保留, 可以阻止肠道内容物的反流, 也可使术后行 ERCP 检查更加方便; 其次, 减少了空肠吻合引起的腹腔内出血和感染的可能; 最后胆管端端吻合术后并发症的处理比胆肠吻合组要方便^[3]. 在临床上, 相当部分的胆管缺损病例缺损时之近端胆管往往较细, 并不扩张, 难以做到大口径吻合, 其应用受到一定的限制.

不难看出传统的胆肠吻合术和胆管端端吻合术应用上都有各自的局限性, 迄今没有一个应对胆管损伤较满意的方法. 若能保留奥狄括约肌功能的前提下, 选择适当的材料, 修复替代缺损较大或损伤较长的胆管, 不仅可以维持胆流的正常生理机制, 而且能够避免因绕过奥狄括约肌的胆管重建所引起的逆行感染. 脱细胞真皮基质具有以下特点: (1) 有效去除了引起免疫排斥反应的细胞表面抗原, 植入体内后生物相容性良好; (2) 是无细胞的天然组织支架, 植入后很快即有新生血管和成纤维细胞长入, 可很快血管化; (3) 质地柔软, 与人体软组织十分相近, 易于塑形, 无毒副作用,

吸收性好. 已经广泛应用于临床^[4].

本实验率先采用脱细胞真皮基质补片修复急性胆管损伤, 成功建立胆管缺损修复模型, 并进行手术时间及生存情况的比较.

3.1 各组手术时间的比较

手术时间的长短是一个对预后有着重要的影响指标, 控制手术时间, 对术后 ACTH 和皮质醇血浆浓度升高的峰值和回落都有改善, 可减少患者术后的痛苦和促进术后恢复. 本实验各组中胆肠吻合手术时间最长, 整段缺损或部分缺损不行胆囊造瘘者手术时间最短, 因此对动物预后影响小, 恢复快. 另外手术时间缩短也可大大减少费用, 对临床有重要的意义.

3.2 不同手术对生存时间的影响

手术方法对猪的预后乃至生存时间有较大的影响, 本实验术后死亡原因全部为胆道梗阻, 反复胆道感染和肝脓肿. 胆肠吻合组死亡率最高, 可能为肠道细菌进入胆道造成; 脱细胞真皮基质部分缺损和整段缺损组发生感染较少, 其原因在于最大限度地保留了胆道系统的完整性, 更符合生理, 所发生的胆道狭窄和胆瘘均较少, 生存时间明显优于其他各组 (52 周存活率均为 50%), 特别是以部分缺损组效果最优, 推测其损坏胆管周围血管丛较少, 对胆道血供影响相对较小, 使胆道得以快速修复, 因此发生胆瘘和胆道狭窄率低, 有报道称损坏胆管血供是术后发生吻合口狭窄的重要原因, 也证明了这一点.

笔者认为脱细胞真皮基质组修补猪胆道缺损有其独特的优势, 较短的手术时间, 较低的手术后逆行感染, 提示该方法是修补缺损胆道最佳的方案.

[参考文献]

- [1] 崔宾, 闫平钊, 王建华. 医源性胆道损伤的处理及再次手术时机[J]. 吉林医学, 2011, 32(31): 6 561 - 6 563.
- [2] 李海民, 高志清. 医源性胆管损伤再手术原因分析及防治[J]. 中华肝胆外科杂志, 2002, 8(6): 340.
- [3] TAKATSUKI M, YANAGA K, OKUDAIRA S, et al. Duct to duct biliary reconstruction in adult-to-adult living donor liver transplantation [J]. Clinical Transplantation, 2002, 16: 345 - 349.
- [4] 李健, 李志强, 杨汉林. 脱细胞异体真皮基质口腔组织补片在颌面外科的应用 [J]. 医学临床研究, 2004, 9 (21): 1 070.

(2014-10-13 收稿)