

谷氨酰胺强化肠外营养对大鼠小肠黏膜缺血再灌注损伤的影响

彭利盼 李乐平 靖昌庆 孙景福

山东大学附属省立医院 胃肠外科 (山东 济南 250021)

【摘要】目的:构建大鼠小肠缺血再灌注模型,观察谷氨酰胺强化肠外营养对小肠黏膜屏障作用的影响,并探讨其作用机制。**方法:**30只雌性Wistar大鼠,随机分为正常对照组(N组)、传统肠外营养组(TPN组)和谷氨酰胺强化肠外营养组(TPN+Gln组)3组,每组10只。TPN组和TPN+Gln组构建小肠缺血再灌注模型后予完全肠外营养5d。观察3组小肠黏膜形态、血浆D-乳酸、内毒素、TNF- α 、IL-6水平及小肠黏膜HO-1 mRNA和蛋白的表达。**结果:**TPN+Gln组与TPN组相比,小肠黏膜组织形态明显改善,血浆D-乳酸、内毒素、TNF- α 和IL-6水平均显著性降低,HO-1 mRNA及蛋白表达水平明显增高。**结论:**谷氨酰胺强化肠外营养可以明显减轻大鼠缺血再灌注小肠黏膜屏障损伤及炎症反应,保护黏膜屏障完整性,并促进HO-1 mRNA表达及HO-1合成。HO-1及其代谢产物的抗氧化、抗凋亡及抗炎作用可能是谷氨酰胺保护缺血再灌注损伤小肠的作用机制。

【关键词】胃肠外营养·谷氨酰胺·再灌注损伤·小肠·大鼠·Wistar

【中图分类号】R605.979;R656.7

【文献标识码】A

【文章编号】1009-9905(2009)10-0837-05

Effects of glutamine enriched parenteral nutrition on mucosal ischemia and reperfusion injury of small bowel in rats

PENG Li-pan, LI Le-ping, JING Chang-qing, SUN Jing-fu

Department of Gastrointestinal Surgery, Affiliated Provincial Hospital of Shandong University (Jinan 250021, China)

【ABSTRACT】Objective: Small bowel IRI models in rats were established to explore the effect of glutamine enriched parenteral nutrition on mucosal barrier, and to discuss the probable mechanisms.

Methods: Thirty Wistar rats were randomly assigned into 3 groups: The control group (N group, $n=10$), conducted fictitious operation and fed with common forage, TPN group ($n=10$) and TPN+Gln group ($n=10$). The morphous of mucous, serum and intestinal mucosal Gln concentration, levels of D-lactate, endotoxin, TNF- α , IL-6, HO-1 positive ratio and HO-1 mRNA were detected. **Results:** Glutamine obviously improved the structure of intestinal mucosal and decreased the expressions of D-lactate, endotoxin, TNF- α and IL-6. And enhanced the expressions of HO-1 mRNA and HO-1.

Conclusion: Glutamine enriched parenteral nutrition can alleviate small intestinal IRI and inflam-

【作者简介】彭利盼(1983-05-),男,山东泰安人,硕士,研究方向:胃肠外科及临床营养支持。

Tel: 13031711204 E-mail: plp1983@126.com

matory reaction and enhance the HO-1 and HO-1 mRNA expressions. HO-1 and its metabolin's anti-oxygen, anti-apoptosis, anti-inflammatory action may be the mechanism of the protective action of Gln on mucosal barrier of small bowel.

[KEY WORDS] Parenteral nutrition•Glutamine•Reperfusion injury•Intestine•Rats,Wistar

全胃肠外营养 (total parenteral nutrition, TPN) 能够为无法经胃肠道摄食的患者提供有效的营养支持。但由于传统营养液配方中缺乏营养肠黏膜细胞的物质等原因, TPN 不可避免地造成小肠黏膜一定程度的萎缩和功能低下^[1]。谷氨酰胺 (glutamine, Gln) 是小肠黏膜细胞、淋巴细胞等增生代谢旺盛细胞的主要能源^[2]。在严重创伤、感染及应激状态下, 机体对 Gln 的消耗大量增加。本研究通过构建大鼠小肠缺血再灌注模型, 观察 Gln 强化的 TPN 对缺血再灌注损伤 (ischemia-reperfusion injury, IRI) 大鼠的肠黏膜结构及其屏障作用的影响, 并尝试揭示 Gln 的作用机制, 为临床应用提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 动物分组及模型构建 6~8 周龄雌性 Wistar 大鼠 (山东大学实验动物中心提供) 30 只, 体质量 175~220 g, 平均 (195.3±6.8)g。室温下常规混合饲料适应性喂养 5 d。

30 只大鼠随机分为 3 组: 正常对照组 (N 组), 传统肠外营养组 (TPN 组) 和谷氨酰胺强化肠外营养组 (TPN+Gln 组), 每组 10 只。

适应性喂养 5 d 后, 以 10% 水合氯醛 (3.0 mL/kg) 腹腔内注射麻醉, 无菌条件下经腹正中切口入腹, 暴露肠系膜上动脉。N 组只轻柔地翻动空肠数次后置回腹腔; 另外 2 组用无创动脉夹夹闭肠系膜上动脉 30 min, 松开止血夹再灌注 4 h 后关腹。3 组均行上腔静脉置管。参照 Steiger 等^[3]的方法, 取右侧前纵行切口, 暴露颈外静脉后将硅胶管向心插入 1.0~1.5 cm, 达上腔静脉后固定, 导管经皮下隧道自颈背部引出。插管过程中滴注生理盐水以免导管内血栓或气栓形成。并肌内注射青霉素 30 mg。

置管当日起, TPN 组和 TPN+Gln 组予以完全 TPN, 经静脉置管给予营养液; N 组以常规饲料喂养, 每日从静脉置管滴入生理盐水 5 mL, 保持置管通畅。3 组大鼠均喂养 5 d 后剖杀取材。

1.2 营养液配制 营养液包括 50% 葡萄糖溶液、20% 脂肪乳溶液、8.5% 复方氨基酸、胰岛素、维生素和电解质溶液。其中糖脂比 (糖脂供能与总能量之比) 2:1, 热氮比为 438 kJ:1 g, 葡萄糖和胰岛素之比为 5 g:1 U, 由微量泵匀速滴入。TPN 组每天给予热

量 105 kJ·kg⁻¹·d⁻¹, TPN+Gln 组在上述营养液的基础上, 按 0.5 g·kg⁻¹·d⁻¹ 予以 20% L-丙氨酸-L-谷氨酰胺溶液 (华瑞制药有限公司提供, 静脉输注后迅速分解为 Gln 和丙氨酸), 剩余氮量由氨基酸溶液提供, 保证总氮量和 TPN 组相同^[4]。

1.3 观察指标

1.3.1 血浆 Gln、D-乳酸和内毒素浓度测定 剖杀前抽取静脉全血 3 mL, 4℃ 3 000 r/min 离心 10 min, 提取上清, 采用高效液相色谱仪测定 Gln, 改良的酶学分光光度法检测血浆 D-乳酸, 偶氮显色剂法测定血浆内毒素水平。

1.3.2 小肠黏膜形态与 Gln 水平检测 距 Treitz 韧带远端 5 cm 处取空肠标本 2 段, 沿肠系膜缘纵向切开。一段用 4% 甲醛固定后, 石蜡包埋固定、切片, 常规 HE 染色, 光学显微镜下观察小肠黏膜厚度、绒毛高度、陷窝深度等。另一段用冰盐水漂洗后刮取黏膜组织约 0.2 g, 电子称量质量, 按 1:10 加入 4℃ 生理盐水并手工研碎, 匀浆预处理后用高效液相色谱仪测定 Gln 含量。

1.3.3 血浆 TNF-α 和 IL-6 的测定 采用 ELISA 法, 严格按试剂盒 (购自武汉博士德公司) 说明操作。

1.3.4 免疫组织化学法检测血红素和 HO-1 (HO-1) 的表达 鼠抗人 HO-1 单克隆抗体、稀释型 SABC 免疫组织化学试剂盒及 DAB 显色试剂盒均购自武汉博士德公司。检测方法按照试剂盒操作说明进行。HO-1 阳性细胞表达为棕黄色颗粒, 呈颗粒状或片状, 主要存在于细胞质中, 细胞膜上也有少量表达。光学显微镜下随机选取 10 个连续不重复的高倍 (×400) 视野, 计算阳性细胞率, 阳性细胞率=阳性细胞数/总细胞数, 取其均数。

1.3.5 RT-PCR 法检测肠黏膜 HO-1 mRNA 的表达 用 Trizol 法提取小肠黏膜组织 RNA。紫外分光光度计测定 RNA 纯度及浓度, 每例标本取总 RNA 5 μg。按照试剂盒 (购自 Fermentas 公司) 操作说明合成第 1 链 cDNA, 以 cDNA 为模板进行 PCR。HO-1 正义序列: 5'-GCTTCACATAGCGCTGCA-3', 反义序列: 5'-CAGGCAGAGAATGCTGAGTTC-3', 产物长度 269 bp; β-肌动蛋白 (β-actin) 正义序列: 5'-GCTTACATCTCTCGATCCACTTAA-3', 反义序列: 5'-CTCGCGC-

TACTCTCTCTTTCTGG-3',产物长度 333 bp。各引物均由上海生工(Sangon)合成,PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司。PCR 反应条件为:94 ℃预变性 5 min,94 ℃变性 45 s,55 ℃退火 45 s,72 ℃延伸 45 s,共扩增 35 个循环,最后 72 ℃延伸 10 min。PCR 产物经 1%琼脂糖凝胶电泳观察,并用 Alpha Imager 2200 凝胶成像系统进行扫描分析,结果以 HO-1 吸光度的比值表示相对表达强度。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 统计软件包进行分析,所有数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较行 *t* 检验。 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

实验过程中,N 组大鼠均存活,TPN+Gln 组中 1 只大鼠因静脉置管脱落被剔除,TPN 组 1 只大鼠于术中死亡。

2.1 血浆及小肠黏膜 Gln 含量 TPN 组血浆及小肠黏膜 Gln 含量均明显低于 N 组;TPN+Gln 组则明显高于 TPN 组和 N 组(P 均 <0.05 ,表 1)。

表 1 3 组大鼠血浆及小肠黏膜 Gln 水平比较($\bar{x}\pm s, \mu\text{mol/L}$)

组别	例数	血浆 Gln 水平	小肠黏膜 Gln 水平
N 组	10	412.2±19.4	1.02±0.12
TPN 组	9	328.2±14.8*	0.67±0.15*
TPN+Gln 组	9	437.3±27.3 [#]	1.39±0.19 [#]

注: * $P<0.05$,与 N 组比较; [#] $P<0.05$,与 TPN 组比较

2.2 小肠黏膜形态观察 N 组黏膜形态基本正常。TPN 组小肠黏膜基底膜水肿,绒毛血管扩张、广泛充血,绒毛变矮,轮廓欠清晰,皱襞少、低平,上皮细胞大小不一,排列紊乱,可见细胞变性、坏死、部分脱落等改变,黏膜上皮及固有层可见多量淋巴细胞及散在中性粒细胞浸润,隐窝变浅,隐窝细胞可见变性、坏死。TPN+Gln 组小肠黏膜组织形态与 TPN 组相比,情况明显改善,绒毛血管仍有充血,轮廓基本正常,上皮及固有层可见少量淋巴细胞,偶见 1~2 个中性粒细胞,未见明显细胞坏死(图 1)。

2.3 血浆 D-乳酸、内毒素、TNF- α 和 IL-6 水平 N 组 D-乳酸、内毒素水平均低于其他 2 组($P<0.05$),而 TPN+Gln 组 D-乳酸和内毒素水平明显低于 TPN

组($P<0.05$,表 2)。

N 组血浆 TNF- α 和 IL-6 水平最低,TPN 组明显增高($P<0.05$),TPN+Gln 组则较 TPN 组降低($P<0.05$,表 2)。

表 2 3 组大鼠血浆 D-乳酸、内毒素、TNF- α 和 IL-6 水平的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	D-乳酸 ($\mu\text{g/mL}$)	内毒素 (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)	IL-6 (ng/mL)
N 组	10	5.03±1.30	6.38±1.84	12.42±0.49	15.26±1.05
TPN 组	9	8.57±1.51*	12.86±2.52*	41.58±2.08*	121.28±2.76*
TPN+Gln 组	9	6.26±1.22 [#]	9.28±2.10 [#]	21.59±1.76 [#]	89.28±1.84 [#]

注: * $P<0.05$,与 N 组比较; [#] $P<0.05$,与 TPN 组比较

2.4 小肠黏膜 HO-1 的表达 3 组大鼠小肠黏膜组织中均有 HO-1 表达。N 组 HO-1 阳性率为 (10.2±1.6)%,TPN 组和 TPN+Gln 组表达明显增高,分别为 (21.7±2.1)%和 (36.3±2.7%)(图 2,表 3)。

表 3 3 组大鼠小肠黏膜 HO-1 阳性细胞率及 HO-1 mRNA 表达的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	HO-1 阳性细胞率(%)	HO-1 mRNA
N 组	10	10.2±1.6	0.202 90±0.019 05
TPN 组	9	21.7±2.1*	0.556 78±0.035 62*
TPN+Gln 组	9	36.3±2.7 [#]	0.714 72±0.012 58 [#]

注: * $P<0.05$,与 N 组比较; [#] $P<0.05$,与 TPN 组比较

2.5 小肠黏膜 HO-1 mRNA 表达 HO-1 mRNA 大小为 269 bp, β -actin 为 333 bp。通过成像系统扫描分析,3 组均有 HO-1 mRNA 表达,TPN+Gln 组较 TPN 组和 N 组明显增高,差异有统计学意义($P<0.05$,图 3)。

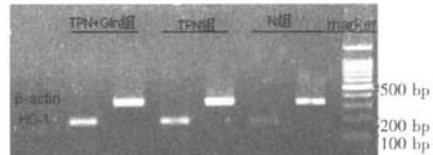


图 3 3 组大鼠小肠黏膜 HO-1 mRNA 的表达

3 讨论

正常的肠黏膜屏障包括机械、生物、化学和免疫屏障,其中最主要的肠黏膜上皮屏障对缺血不耐受。当机体发生严重应激反应时,小肠可因血液灌注不足而发生 IRI,严重影响小肠屏障功能。长期传统 TPN 营养液由于配方中缺乏肠黏膜细胞的营养物质

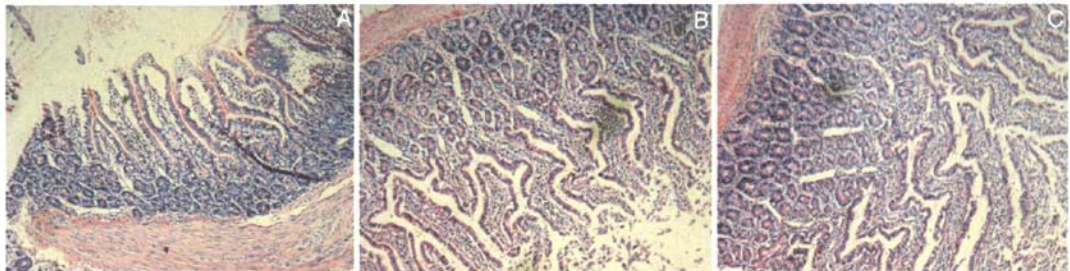


图 1 3 组大鼠小肠黏膜形态(HE,×100)

A: N 组小肠黏膜; B: TPN 组小肠黏膜; C: TPN+Gln 组小肠黏膜

等原因,使得肠黏膜发生不同程度的结构萎缩和屏障功能降低^[5]。Gln作为肠黏膜的主要供能物质,主要在小肠中进行代谢,具有促进氮平衡、保持肠黏膜完整、防止细菌移位和内毒素进入血液、增加肠免疫功能等诸多功效^[6]。在饥饿、创伤、短肠综合征、放化疗、小肠移植等病理状态下,Gln消耗大大增加,体内Gln缺乏,从而诱发或加重肠黏膜损伤。

本研究 TPN 组光学显微镜下病变主要表现为肠黏膜部分绒毛顶端上皮脱落、绒毛变矮、轮廓欠清晰、皱襞少而低平,毛细血管内广泛充血,上皮及固有层可见大量淋巴细胞及散在中性粒细胞浸润,而黏膜下及肌层未见明显变化。TPN+Gln 组肠组织形态基本正常,绒毛高度、表面积明显高于 TPN 组,上皮及固有层内可见少量淋巴细胞,偶见中性粒细胞,说明 Gln 作为肠黏膜细胞的能源物质,对肠黏膜屏障具有保护作用。

内毒素和 D-乳酸是肠道内细菌的分解产物,正常情况下,局限于肠腔内,很少进入血液,当肠道发生急性缺血等损伤,肠黏膜通透性增加时,血浆内毒素和 D-乳酸水平将升高,故血浆中内毒素及 D-乳酸水平可以及时反映肠黏膜损害程度及通透性变化。本研究显示 N 组内毒素和 D-乳酸水平均低于 TPN 组和 TPN+Gln 组,可见缺血再灌注已造成小肠黏膜屏障作用明显受损;而 TPN+Gln 组水平明显低于 TPN 组,说明外源性补充谷氨酰胺可以明显降低小肠黏膜的 IRI。

为探讨 Gln 对全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)的影响,本研究选择了血浆 TNF- α 和 IL-6 作为炎症反应指标。血浆 TNF- α 和 IL-6 水平对判断早期细菌感染和炎症反应有较好的敏感性和特异性^[7]。本研究发现 TPN 组和 TPN+Gln 组 TNF- α 和 IL-6 均高于 N 组水平,提示小肠缺血再灌注导致肠黏膜屏障破坏,肠道内细菌、内毒素移位诱发炎症反应;TPN+Gln 组 TNF- α 和 IL-6

水平较 TPN 组明显降低且差异有统计学意义,提示外源性补充 Gln 能减少炎症因子的释放,对肠源性感染和 SIRS 进程有一定的抑制作用。

HO-1 是诱导型血红素加氧酶,亦称热休克蛋白 32(heat shock protein 32, HSP32),是细胞和组织对应激和损伤产生反应的基础物质,被认为是细胞应激的主要敏感指标之一^[8]。HO-1 过表达可能代表一种针对应激性刺激的外源性调节机制,保护细胞免于应激性伤害。研究证实,在包括移植排斥和 IRI 的多种病理情况下,HO-1 表达上调均具有重要的抗氧化、抗炎及抗凋亡作用^[9]。Uehara 等^[10]在大鼠脓毒症造模前 9 h 静脉给予 Gln,发现脂多糖诱导的肠上皮细胞凋亡和黏膜损伤显著改善,存活率升高,而使用了锡-中卟啉(tin mesoporphyrin, SnMP)的实验组 Gln 的保护作用全部消失。SnMP 是 HO-1 的竞争性抑制剂,由此推测 Gln 通过对肠道 HO-1 的诱导而发挥保护作用。近期实验发现,在 HSF-1 基因缺如的细胞中,Gln 诱导产生 HSP 的反应消失,Gln 的肠道保护作用也丧失^[11]。本研究结果显示,TPN+Gln 组肠黏膜 HO-1 阳性细胞率及 HO-1 mRNA 表达水平均高于 TPN 组,证实 Gln 对 IRI 小肠黏膜细胞 HO-1 表达具有上调作用,可能是 Gln 肠屏障保护功能的作用机制之一。

此外,Gln 还可能通过以下途径保护肠黏膜:1) Gln 可在肠黏膜细胞内氧化生成 ATP,为肠黏膜上皮细胞提供能源;2)Gln 可合成嘌呤、嘧啶和氨基酸,增加肠黏膜 DNA 及蛋白质合成;3)Gln 可促进谷胱甘肽(glutathione, GSH)合成,GSH 有抗氧化、抗细胞凋亡的作用;4)Gln 增强凋亡抑制基因 bcl-2 的表达^[12];5)Gln 可通过多胺途径,与胰岛素样生长因子及表皮生长因子等协同作用,促进黏膜上皮细胞的分裂增殖。

总之,TPN 营养液中添加 Gln 能够加强对小肠黏膜屏障的保护作用,其作用机制可能与 Gln 上调

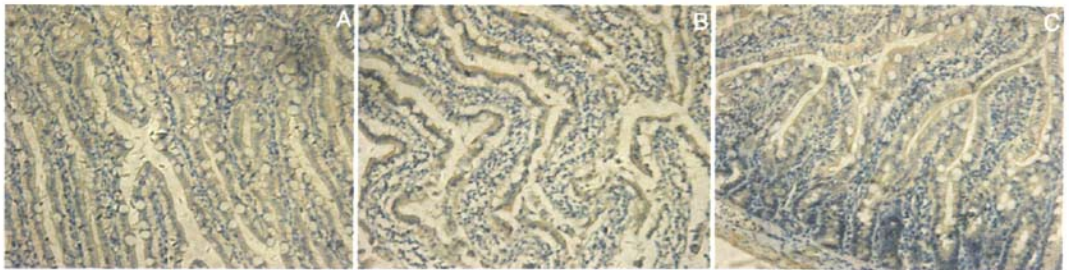


图2 3组大鼠小肠黏膜HO-1蛋白免疫组织化学染色(SABC,×200)

A: N组; B: TPN组; C: TPN+Gln组

IRI 小肠黏膜细胞的 HO-1 表达有关,对 Gln 的临床应用提供了理论依据。

参 考 文 献

[1] Zhang W, Frankel WL, Singh A. Improvement of structure and function in orthotopic small bowel transplantation in the rat by glutamine[J]. *Trans Proc*, 1993,56(3):512-517.

[2] Kelly D, Wishmeyer PE. Role of L-glutamine in critical illness new insights[J]. *Curr Opin Clin NutrMetab Care*, 2003,6(2):217-222.

[3] Steiger E, Vars HM, Dudrick SJ. A technique for long-term intravenous feeding in unrested rats[J]. *Arch Surg*, 1972,104(3):330-332.

[4] 胡军,邓宏勇,梁艳,等.改良大鼠颈静脉长期置管术[J].*上海实验动物科学*,2002,22(1):42-43.

[5] 李乐平,靖昌庆,刘洪俊,等.静脉应用谷氨酰胺双肽对肠外瘘大鼠肠黏膜结构的影响[J].*中国临床营养杂志*,2007,15(3):160-163.

[6] Jiang ZM, Cao JD, Zhu XG, et al. The impact of alany-glutamine on clinical safety, nitrogen balance, intestinal permeability, and clinical outcome in postoperative patients:a randomized,double-blind, controlled study of 120 patients[J]. *JPEN*, 1999,23(5):S62.

[7] Mehr SS, Doyle LW, Rice GE, et al. Interleukin-6 and interleukin-8 in newborn bacterial infection[J]. *Am J Perinatol*, 2001,18(6):313-324.

[8] Bonnell MR, Visner GA, Zander DS, et al. Heme oxygenase-1 expression correlates with severity of acute cellular rejection in lung transplantation[J]. *J Am Coll Surg*, 2004,198(6):945-952.

[9] Braudeau C, Bouchet D, Tesson L, et al. Induction of long-term cardiac allograft survival by heme oxygenase-1 gene transfer[J]. *Gene Ther*, 2004,11(8):701-710.

[10] Uehara K, Takahashi T, Fujii H, et al. The lower intestinal tract-specific induction of heme oxygenase-1 by glutamine protects against endotoxemic intestinal injury[J]. *Crit Care Med*, 2005,33(2):381-390.

[11] Morrison AL, Dinges M, Singleton KD, et al. Glutamine's protection against cellular injury is dependent on heat shock factor-1[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006,290(8):1625-1632.

[12] 刘国平,朱闻溪,杨广顺,等.谷氨酰胺对大鼠肝门阻断后肝脏 Bcl-2 mRNA 表达的影响及其保护作用[J].*中国现代普通外科进展*,2008,11(4):297-300.

(收稿日期:2009-08-25)

(本文编辑:毕秋)

【文章编号】1009-9905(2009)10-0841-01

无张力疝修补术在成人腹股沟疝中的应用

吴德顺 姚乐生 李增德

山东省济阳县人民医院 普外科 (山东 济南 251400)

2007年6月—2009年5月我院采用巴德疝补片治疗腹股沟疝63例,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本组63例,均为男性,年龄21~80岁,平均年龄54.8岁,60岁以上35例。均为斜疝。

1.2 手术方法 所有病例均用连续硬膜外阻滞麻醉,腹股沟斜切口长4~6 cm,腹外斜肌腱膜上下叶分离要足够大,游离精索,将疝囊游离到颈部,高位结扎切断,若内环口较大,可间断缝合缩小内环口。在精索后腹膜前置入并平铺补片,将补片与耻骨结节、腹股沟韧带、联合腱间断缝合固定。术中彻底止血,于精索前缝合腹外斜肌腱膜。

2 结果

本组均痊愈出院,无切口感染。术后疼痛轻,未行术后止痛。无睾丸肿胀、阴囊积液等并发症。术后1 d下床活动,3~7 d出院。52例获得随访,至今未出现复发患者。

3 讨论

腹股沟疝是临床外科常见病。传统的修补术是将2种不同组织强行拉拢缝合,张力大,这些组织再愈合能力差,时间长,存在张力时会被缝线切割,导致高复发率、手术后疼痛不适和康复延迟。文献报道传统腹股沟疝修补术后复发率为10%~15%^[1]。

无张力修补符合腹股沟管的解剖生理,较传统的改变腹股沟管解剖的各种张力性修补更合理、更可靠,明显降低了术后复发率及切口疼痛发生率,因此优于传统手术,更加适合成人腹股沟复发疝患者。单丝聚丙烯网孔>10 μm,中性粒细胞能自由通过,具有较好的抗感染能力。

无张力疝修补术将人工材料补片接于腹内斜肌弓状下缘与腹股沟韧带之间,用其加强腹股沟管后壁,克服了经典手术对正常解剖的干扰,而且缝合无张力,从生物学和生理学角度来解决外科问题。手术操作简单、手术时间短、创伤小、术后疼痛轻、恢复快、并发症少、再复发率低,患者术后能早期下床活动、锻炼、参加工作。非常适合成人复发性腹股沟疝的治疗,尤其是对合并其他慢性疾病的老年复发性腹股沟疝患者。笔者认为无张力疝修补术应推荐为成人腹股沟复发疝再修补术的首选术式。

参 考 文 献

[1] 刘胜利,尹福君,肖元延,等.疝环充填式无张力疝修补术的应用(附102例报道)[J].*中国实用外科杂志*,2000,20(12):741-742.

(收稿日期:2009-08-25)

(本文编辑:周立波)