维普资讯 http://www.cqvip.com

202 -205

静脉组织碎片镶嵌法离体衬里人工血管的实验研究

张 平* 韩 壮* 段志泉* 毕铁男**

【摘 要】 目的 寻求一种理想的小口径血管代用品。方法 采用同体双侧对照法，以内径 4mm 的涤纶人工血管对 16 条犬进行双侧颈总动脉的间置移植。实验组人工血管用自体颈静脉组织碎片镶嵌后，体外培养 7 天，术后 2、8 周观察移植物的形态学和组织学变化。结果 实验组术后 2 周和 8 周的通畅率均为 87.5%，而同期对照组仅为 50%和 12.5%，差异显著(P<0.01)。对照组人工血管仅在距吻合口 6—8mm 范围内发现有内皮细胞生长，而实验组内腔面完全被有序的内皮细胞覆盖。结论 实验说明自体静脉组织碎片离体衬里人工血管，可以有效地加速人工血管的内皮细胞化，有效地改善其近远期通畅率。

【关键词】 内皮细胞 血管移植 离体衬里

Experimental study of lining small caliber dacron prostheses with autologous venous fragments *Zhang Ping, Han Zhuang, Duan Zhiquan, et al. The First Teaching Hospital of China Medical University, Liaoning* 110001

【Abstract】 **Objective** To find a proper substitute of small blood vessels. **Methods** Sixteen mongred dogs were used. An animal model of prosthetic interposition into the common carotic arteries with 4mm inside diameter, 6cm long dacron prostheses was established. The grafts of the experimental were meshed with autologous, external jugular venous fragments. After seven days culturing, they were transplanted. **Results** At the 2nd weeks and 8th weeks after the operation, the patency rates of the experimental group were both 87.5%, but the control group were 50% and 12.5% respectively, the difference was significant (P<0.01). In the control group, endothelia could be found only within the 6—8mm area from the anastomosis, but the inner surface of the experimental grafts were all covered with endothelia which stood in good order. **Conclusion** This experiment indicated lining small caliber vasculsr grafts with autologous venous fragments could accelerate the endothelization of the protheses and improve the patency rate of grafts higherly.

【Key words】 Endothelium Vascular transplantation Lining

人工血管内皮细胞化是改善小口径血管移植畅通率的重要手段。其中，离体衬里是目前最理想的人工血管内皮细胞衬附方法。我们采用犬自体静脉组织碎片镶嵌法离体衬里人工血管，在动物实验取得了较理想的结果，现报告如下。

材料和方法

选用 16 条健康成年杂种犬，雌雄各半，体重 18—20kg。将内径 4mm，长 6cm 针织涤纶人工血管(苏州织带厂生产)作为移植物。

一、组织碎片镶嵌法离体衬里人工血管：速眠新合剂麻醉后(0.1ml/kg，肌注给药)，切取犬单侧颈外静脉，长度 12.35±2.86cm。将静脉段剪成细小碎片(D<0.1mm)，加磷酸缓冲盐液制成悬液。用注射器以 10kPa 左右压力将其注入一端被夹闭的人工血管，重复几次后，组织

* 作者单位：110001 沈阳市中国医科大学第一临床学院普外三科
** 辽宁省朝阳市第二医院外科

维普资讯 http://www.cqvip.com

碎片便均匀地嵌入人工血管壁内。用肝素液(肝素 1000IU,NS20ml)冲去腔内游离的残物,将其放入 37℃,5%CD_2 细胞培养箱内,加 PPMI-1640 全培养液(含内皮细胞生长因子 400ug/ml),体外孵育 1 周。第 8 天进行犬自体移植。

二、人工血管的移入:行颈部正中切口显露双侧颈总动脉,随机地将其分为实验侧和对照侧。犬全身肝素化后(0.9mg/kg),分别阻断两侧动脉,并切除 6cm 长,间置植入人工血管,采用 5-0 无创缝线进行连续全层对端吻合。确定双侧血管畅通后,关闭切口。术中静脉持续输以平衡盐溶液,并滴注青霉素钠 800 万 u。术后一周内给予口服四环素 0.5g/天,阿斯匹林 500mg/天,潘生丁 50mg/天。

三、移植物的获取及检查:术后 2 周、8 周时进行血管彩超,动脉造影检查,并剖杀,进行尸检。

结 果

一、血管彩超检查结果:见表 1。

二、动脉造影结果:两组人工血管的畅通率与彩超结果相符。实验侧人工血管显影清晰,内腔面光滑,上方的动脉分支均明确显影,未见微小栓塞改变。而对照侧人工血管及其上方的动脉分支均未显影,或人工血管内腔为明显的不规则充盈缺损,为附壁血栓。

表 1 血管彩超检查结果

实验分组	n	2周			8周		
		闭塞率	狭窄率	血流速度(m/s)	闭塞率	狭窄率	血流速度(m/s)
对照组	8	4/8(50%)	1/8(12.5%)	0.3±0.14	7/8(87.5%)	1/8(12.5%)	0.36±0.14
实验组	8	1/8(12.5%)*	0	0.25±0.11	1/8(12.5%)*	1/8(12.5%)	0.29±0.15

注:狭窄标准为管腔内径缩小超过原内径 1/2,* 与对照组比较 $P<0.01$

三、尸检结果:(1)肉眼所见:实验组 2 周时,整个内腔面几乎完全覆盖了白色有光泽层,极少部分有血栓粘附,8 周时内膜无明显增厚。对照组 2 周时,管腔内面不光滑,有较多的血栓粘附,无血栓覆盖区为白色无光亮的假性内膜。8 周时内膜明显增厚,管腔出现不同程度的狭窄、闭塞。(2)量化检查结果见表 2。(3)光镜所见:种植组各段取材,均见与宿主内皮细胞相似的内膜面细胞,连续成线,其下方为排列有序的多层平滑肌细胞,外方为成纤维细胞和胶原纤维共同构成的外膜。而对照组仅距吻合口 6-8mm 范围发现内皮样细胞,其余为纤维素,血球及血小板共同构成的粗糙面。(4)扫描电镜:实验组人工血管腔面有成片的内皮样细胞覆盖,细胞呈梭形,紧密嵌合,呈铺路石样改变,具有极性,细胞长轴与血管长轴一致。对照组血管腔面多由纤维素构成,表面不光滑,有血球,血小板粘附,仅距吻合 6~8mm 范围内见到内皮样细胞。透射电镜:种植组可见扁平的内膜面细胞,核椭圆,胞浆内有 Weibel-Palade 小体,证明为血管内皮细胞,而对照组中段未发现内皮细胞。(6)Ⅷ因子免疫荧光染色检查:实验组人工血管内膜面细胞胞浆呈淡绿色荧光性反应,证明为血管内皮细胞,对照组为阴性。

讨 论

1987 年 Herring 等人[1]首先将衬附静脉内皮细胞的人工血管用于动物实验,取得一定效果。但因接种和植入同期完成,接种的内皮细胞数量有限,细胞附着力弱,脱落多,所以术后早期仍有较高的血栓形成率。本实验采用双期技术,并采用组织碎片镶嵌法来衬里人工血管,使犬小口径血管移植的通畅率得到明显改善。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 2 尸检量化检查结果

实验分组	2周			8周		
	血栓重量(mg)	无血栓面积(%)	内膜厚度(um)	血栓重量(mg)	无血栓面积(%)	内膜厚度(um)
实验组	63±39 *	92±5 *	112±28	65±37 *	93±6 *	134±36 * #
对照组	334±87	42±7	186±48	457±96	39±6	438±92

注：* 与对照组比较 $P<0.01$ # 组内比较 $P<0.01$

一、对内皮细胞获取方法的评价：机械刮取法获取细胞数量少[2]，并且由于细胞间接的存在，不能使内皮细胞均匀分散地衬于人工血管内腔面。酶消化法，1980 年由 Graham 首先应用于动物实验[3]，虽然获取细胞数较多，但所需成本较高，技术也比较复杂，酶的浓度及孵化时间需经反复摸索，而且酶对内皮细胞也造成一定的化学损伤。而组织碎片镶嵌法则简单，价廉，短期内可达到人工血管腔面的内皮化，一般体外培养 1 周，便可形成完整的内皮细胞单层(ECMS)，便于技术的推广和普及。

二、组织碎片镶嵌法的优越性在于：1. 由于人工血管的微孔被组织碎片镶嵌，可以有效防止术中术后渗血，从而减少血管移植的并发症。而且采用本实验方法可以省略人工血管的预凝过程。2. 平滑肌细胞能够分泌 ECGF 等物质促进内皮细胞的生长，内皮细胞再生后，又可以分泌肝素和硫酸肝素等物质，抑制平滑肌细胞的过度增生。用自体静脉组织碎片种植人工血管，既有利于内皮细胞的再生，防止血栓形成，以改善早期通畅率，又可以防止移植后期内膜的过度增生，从而提高远期通畅率。3. 贴壁细胞的抗血流切应力能力对人工血管内皮化具有重要影响，为了提高内皮化效果，近年来有人将各种细胞预衬基质用于实验[4][5]，但其接触血液后，可以激活凝血系统，导致血栓形成。有些基质，如 FN 等可促使 SMC 增殖和向腔内转移，从而造成内膜过度增生而导致移植血管远期阻塞。组织碎片镶嵌法则避免了上述方法的不足，并从三个方面加强内皮细胞的抗血流切应力能力：A)作为内皮细胞生长支架的平滑肌细胞具有加强内皮细胞化的作用；B)组织碎片在人工血管微孔中镶嵌力对提高内皮细胞抗血流切应力能力也有一定的作用；C)实验证明，活体血管内皮细胞主要通过成熟的细胞骨架来保证 ECMS 中细胞的表面联结和牢固固定，以抵抗血流切应力，而细胞骨架要在 7～10 天才能分化成熟。本实验人工血管镶嵌组织碎片后，体外培养 1 周，有利于内皮细胞骨架的分化成熟，从而提高其抗血流切应力能力。4. 本方法种植的人工血管，其内膜为内皮细胞，下方为排列有序的多层平滑肌细胞，尚可见到外膜，在解剖和生理上更接近正常血管，理论上说应更具有正常血管的生物功能，是一种较为理想的血管代用品。

三、血管移植后的早期用药：移植过程中手术操作，不可避免地要损伤一些内皮细胞，移植环境与内皮细胞培养条件有很大差异，将影响内皮细胞的分泌功能，从而使其抗血栓能力有所下降，因此术后早期仍应配合使用祛聚，抗凝疗法，我们应用的剂量是阿斯匹林 500mg/天，潘生丁 50mg/天，取得较好效果。

四、对本实验结果的分析：术后 2 周、8 周时实验组通畅率均为 87.5%，同期对照组仅为 50%和 12.5%，两者差异显著。对照组人工血管仅在距吻合口 6～8mm 范围内发现有内皮细胞生长，而实验组内腔面为完整的内皮细胞层所覆盖，从血栓重量，无血栓面积，内膜厚度等量化检查结果看，组织碎片离体衬里人工血管 2 周内主要靠内皮细胞的光滑界面防止血栓形成，来改善移植血管的畅通率。8 周时除抗血栓作用外，更主要是防止内皮 细胞层下成纤维

维普资讯 http://www.cqvip.com

细胞和平滑肌细胞的过度繁殖，从而抑制内膜增生来改善人工血管的通畅率。

总之，本实验表明，自体静脉组织碎片镶嵌法可以加速人工血管内皮细胞化的过程，并改善小动脉移植的效果。此项技术的应用无疑为解决小口径动脉代用品这一当前血管外科的难题开拓了一条可喜的新途径。

参考文献

1. Herring M, Gardner A, Glover J. A single—staged technique for seeding vascular grafts with autogenous endothelium. Surgery, 1978,84:498.
2. Miyata T, Conte MS, Trudell La, et al. Delayed exposure to pusatile sheer stress improves retention of human saphenous vein endothelial cells on seeded eptfe grafts. J Surg Res, 1991.50:485.
3. Graham LM, Vinter DW, Ford JW, et al. Endothelial cell seeding of prosthetic vascular grafts. Arch Surg, 1980,115:929.
4. Sank A, Rostami K, Weaver F, et al. Evidence and New hope concerning endothelial seeding of vascular grafts. Am J Surg, 1992,64:199.
5. Stanby G, Shukla N, Fuller B, et al. Seeding of human microvascular endothelial cells onto polytetrafluoroethylene graft material. Br J Surg. 1991, 78:1189.

(收稿:1997—06—10)

·个 案·

腹腔穿刺术在外伤性肠破裂的临床应用

廖力强*

腹腔穿刺对于外伤性肠破裂的诊断有重要意义。本文对1985年以来手术病例进行分析，现报告如下。

临床资料：自1985至1986年共收治腹部外伤患者275例，其中经手术证实的外伤性肠破裂74例，患者年龄7～81岁，平均40.5岁，其中13岁以下儿童13例。男性66例，女性8例，入院距受伤时间为30分钟～5小时，全组病例均在入院后立即做腹腔穿刺，31例同时在穿刺前作腹部X线透视对照，首次穿刺阴性者，视腹部体征每隔2～4小时后重复穿刺。

结果：74例中第一次穿刺阳性者66例，占88.9%，第二次穿刺阳性者6例，占8.1%，1～2次穿刺阳性率为97%。2例十二指肠降部破裂者在4天后始出现阳性结果，占3%。穿刺阳性结果中腹腔内得混浊淡血性液体者60例，占81%，脓性液体6例，占8.15%，黄色混浊液5例，占6.75%，粪汁样液3例，占4.1%。全部穿刺液镜检均见细胞，以白细胞和脓细胞为主，2例见有少量食物残渣或蛔虫卵。55例作腹部X线透视检查者仅10例发现有膈下游离气体，阳性率为18.2%。经手术探查发现空肠破裂60例，小肠并结肠破裂6例，十二指肠破裂4例，结肠破裂3例，空肠并胃幽门部破裂1例。

讨论：诊断外伤性小肠损伤较有意义的方法有腹部X线定位检查，诊断性腹腔穿刺(DPP)，诊断性腹腔灌洗(DPI)。有报告DPP已逐渐被DPI代替。DPI优于DPP，其阳性率可高达98%。有高度怀疑腹腔脏器损伤的病人，除常规检查外，应首选DPI检查。本组诊断性腹穿阳性率高达97.8%。本文认为诊断性腹穿仍为一种快速、简便、易于掌握、不需特殊条件的方法，是外伤性肠破裂的早期诊断可靠方法之一。

穿刺方法：采用脐与左髂前上棘连线中外1/3交界处作穿刺点，应避开手术疤痕，肿大的肝脾，充盈的胆囊、膀胱。步骤是先排空小便，取侧卧位45度，皮肤常规消毒，以7～9号针头接30mm注射器，缓慢进针，有落空感时边抽边进针，抽出腹腔液为阳性结果，在抽吸过程中应避免负压过大，针头斜面易被肠壁或网膜等覆盖，造成假阴性。

穿刺液性质鉴别：肠破裂的腹腔穿刺液外观多为混浊液体，与实质性脏器破裂之不凝固血液易鉴别，但少数可呈粪汁样，需与穿刺针误入肠道所致肠内容物仔细鉴别。肠破裂抽出的腹腔液李凡他蛋白试验阳性，本组全部腹穿液均为阳性结果。镜检以白细胞、脓细胞和红细胞为主，而肠内容李凡他蛋白试验阳性，光镜检查以食物残渣为主，细胞极小量，据此可作出准确鉴别。

(收稿:1998—04—16)

* 作者单位:512127 广东曲江大宝山矿职工医院外科