维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2008)08-0994-03

两种吻合方法建立静脉桥狭窄动物模型的比较研究

陈 灏[1],杨双强[1],杨庆军[2]

(1. 重庆医科大学附属第一医院胸心外科,重庆 400016;
2. 重庆市中山医院心脏外科 重庆市心血管疾病治疗研究中心,重庆 400013)

【摘 要】目的:比较两种吻合方法建立静脉桥狭窄动物模型的差别。方法:2.0~2.5kg 普通新西兰大白兔 17 只,分 A、B 两组,取颈外静脉与颈总动脉进行端端吻合,吻合时分别采用间断吻合(A 组)和间断加连续吻合(B 组)的方法。术后 1 月取下静脉桥,采用计算机图像处理系统分析新内膜、中膜厚度。结果:A 组手术时间和吻合时间均较 B 组长,出血多,具有统计学意义;1 月后两组静脉桥管壁均增厚,光镜下见新内膜形成,中膜增厚,两组差异没有显著性。结论:间断加连续端端吻合兔颈外静脉-颈总动脉,建立静脉桥模型要优于单纯间断吻合方法。

【关键词】动物模型;吻合方法;兔;静脉桥;再狭窄
【中国图书分类法分类号】R364.3 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-12-13

Comparative study of two types of anastomosis to institute vein graft model

CHEN Hao, et al

(*Department of Cardiovascular, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To compare two type of anastomosis to institute vein graft model. *Methods*: Studies were performed by using normal New Zealand's white rabbits(n=17, weight 2.0~2.5kg) which be divided into two group. Every rabbit's unilateral jugular vein was anastomosed end-to-end with common carotid artery by interrupted suture(group A, n=9)or interrupted and continuous suture(group B, n=8). Samples of tissues were harvested after 1 mouth and examined under a light microscope. The vessel wall dimensions were measured by computer-aided planimentry. *Results*: The time of anastomosis and whole operation of group A are longer than group B(P<0.05).The bleeding of group A is more than Group B(P<0.05).All vien grafts are unobstructed and the total wall thickening. The neointimal and medial demostracted hyperplasia. But there is not statistically difference between the two goups. *Conclusion*: The method of anastomosis by interrupted and continuous suture is successfully and excelled that by single interrupted suture.

【Key words】 Animal model; Method of anastomosis; Rabbit; Vein graft; Restenosis

冠状动脉搭桥术(Coronary artery bypass grafting, CABG)是目前治疗冠心病的主要手段之一,静脉桥在 CABG 中使用最多,但手术后移植静脉桥狭窄在临床上尚未能圆满解决。针对这一问题一些动物实验研究已经展开,其动物模型多采用静脉移植到动脉系统,在动静脉吻合时,大多采用端端间断吻合[1],本实验采用改进的间断加连续方法吻合,并与前者作一比较研究,报告如下。

1 材料与方法

作者介绍:陈 灏(1971-),男,硕士,
研究方向:预防冠脉搭桥术后静脉桥狭窄。
通讯作者:杨双强,男,教授,E-mail:yyshuangqiang@163.com。

1.1 手术器械

Dekline 8-0 polypropylene 缝线(美国生产);Microsurgery 2.5×手术放大镜(美国生产);Microsurgery 显微血管吻合器械一套(美国生产);普通切开缝合包。

1.2 模型建立

普通级新西兰白兔 17 只(由重庆医科大学院实验动物中心提供),雌雄不分,体重 2.0~2.5kg,随机分成 A(9 只)、B(8 只)2 组。速眠新(0.35ml/kg)肌肉注射,戊巴比妥(15mg/kg)腹腔注射,配合利多卡因局麻,麻醉满意。术前肌注青霉素 40 万 U/只。兔取仰卧位,四肢固定,肩胛部垫高,减去颈部长毛。常规消毒,铺巾。取颈部正中切口,长约 5cm,逐层分离,暴露颈外静脉,取其主干约 2.5cm,两端予以结扎(结扎线内如有细小分支 3-0 丝线结扎),剪下所需静脉段,生理盐水

维普资讯 http://www.cqvip.com

冲洗后浸入含 2%的肝素及 2U/ml 硝酸甘油的生理盐水溶液中备用。静脉断端注入肝素(200IU/kg)全身抗凝。

于同侧气管旁解剖出颈总动脉,预留动脉段约 3cm,动脉夹阻断两端,中间部分用以吻合,A 组采用间断吻合,B 组采用间断加连续吻合。剪刀与动脉呈 45°角,于两动脉夹间剪去约 1cm 长动脉,并使截面相互平行。肝素盐水冲洗管腔,清除血凝块。取备用静脉分别与动脉作端端吻合。

吻合方式:

A 组(间断吻合组):采用 8-0 polypropylene 缝线,先于 3、6、9、12 点依次各吻合一针,保留缝线作牵引用,助手轻轻牵引最远两缝线,自己轻提中间牵引线,使吻合口两侧血管壁分开,再于每 2 点之间均匀间断缝合 2~3 针,吻合完毕时,保留远心端 1 针暂不打结,开放近心端动脉夹,排气后打结,最后开放远端动脉夹。

B 组(间断加连续吻合组):采用 8-0 polypropylene 缝线,先于 6、12 点各吻合一针,打结后保留缝线一根作牵引用,助手轻轻牵引俩线,再于 9 点钟吻合,也保留缝线便于牵引,前面 3 针缝合只需打 3~4 个结。然后缝合 3 点钟,将吻合口分成 4 个象限(助手牵引两端牵引线,自己轻轻提起中间缝线,使吻合口断面呈三角形分开,这样就不会缝到对侧血管壁,连续缝合时方法一样。)并开始连续缝合,每一象限均匀缝合 3 针,助手逐步更换牵引线便于吻合不同的象限,在接近 6、9、12 点时分别与牵引线再打 2 个结。吻合完毕时,保留远心端 1 针暂不打结,开放近心端动脉夹,排气后再打结,最后开放远端动脉夹。

开放后吻合口一般会有少量渗血,可轻微压迫止血,如有大的出血,可加缝一针。分别阻断静脉桥两端,并轻轻压扁静脉,如移植静脉快速充盈,触之有动脉搏动感,说明通畅良好。

逐层缝合切口, 术后第 2d 每只肌注青霉素 40 万 U/ 次,常规饲养,并每只给与肠溶阿司匹林 12.5mg/d。

1.3 组织学检查

术后 1 月,兔经麻醉后,经原切口找到静脉桥,于近心端吻合口下,远心端吻合口以上各保留动脉约 1mm,完整取下静脉桥,10%中性甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋,切片厚度 5μm,选 3 个不同切面测量新内膜厚度、中膜厚度,每一切面所得值为 3、6、9、12 点钟 4 个方向厚度的平均值,采用计算机图像处理系统完成。

2 结 果

两组手术比较,间断加连续吻合组手术时间比间断吻合组所花吻合时间短,手术时间缩短,出血也较少。统计分析:两组资料均属正态分布,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,经方差齐性检验,采用成组设计的 t 检验,差异具有统计学意义(α取 0.05)(具体见表 1)。

病理检查:肉眼观察,15 只兔静脉桥管均壁增厚,管腔狭窄;光镜下吻合口、静脉桥见新内膜形成;两组新内膜、中膜均明显增厚,情况类似,经统计学分析(方法同前),无统计学意义(见表 2)。

3 讨 论

冠状动脉旁路移植术是治疗缺血性心脏病或冠心病的有效手段之一。静脉桥血管由于其取材方便、数量充足、吻合容易而被广泛使用,但移植后桥血管发生一系列的增厚、粥样斑块形成、钙化、血栓形成等使其远期通畅率远不及动脉桥。大隐静脉桥在术后早期堵塞率为 8%~12%,10 年的通畅率不及 50%,因此预防静脉桥再狭窄具有重要意义。

从静脉血管的获取,到移植入动脉系统中,桥血管壁都会受到不同程度的损伤,术中静脉内膜损伤,以及外膜滋养血管闭塞或离断引起的缺血、缺氧性损害,均可影响移植静脉管壁的结构和功能。静脉移植到动脉系统后,血流动力学的改变刺激内源性生长因子的产生[2,3],也促使血管中膜平滑肌细胞迁移到内膜并增生,构成了静脉移植内膜增生及血管壁增厚的病理基础。近年来,一些学者开始注

表 1 间断吻合与间断加连续吻合两组手术情况比较

	A 组	B 组	统计结果
手术时间(min)	135.18 ± 13.21	110.41 ± 8.01	$P < 0.05$
吻合时间(min)	63.48 ± 8.21	45.47 ± 5.32	$P < 0.05$
出血量(ml)	16.85 ± 5.81	5.8 ± 3.11	$P < 0.05$

表 2 间断吻合与连续吻合两组内膜中膜厚度比较

	A 组	B 组	统计结果
内膜厚度(μm)	72.32 ± 12.03	79.98 ± 10.63	$P > 0.05$
中膜厚度(μm)	67.69 ± 9.54	64.75 ± 10.59	$P > 0.05$

维普资讯 http://www.cqvip.com

意到血管外膜成纤维细胞在血管再狭窄过程中也起了重要作用,并证明了血管外膜成纤维细胞的增殖及迁移参与了血管再狭窄的形成。静脉桥血管再狭窄主要有早期的血栓形成、中期的管壁增厚、晚期的粥样硬化。不同的试验可从不同的角度进行研究,各种预防治疗研究也在积极展开。因此,建立有效的动物模型十分关键。

有研究用 PTCA 使血管内膜损伤建立再狭窄模型[4],但不足以模拟静脉桥的再狭窄。新西兰大白兔价格低廉,所需手术器械要求不高,手术操作简单,动物手术麻醉便于管理,结果满意,故该模型能真实反映动静脉旁路术的病理过程,是很多人研究防治静脉桥狭窄所采用的模型[1]。

由于兔的颈外静脉较颈总动脉粗,因此我们将动脉剪成 45° 斜面,断面和静脉的基本一致,便于吻合,减少出血,并且可以避免吻合口狭窄。兔静脉壁很薄,在取材时要仔细清除多余组织,而且,术中必需借助手术放大镜,吻合时看清内膜,以免错误进针。必要时可以用生理盐水浸泡术野,便于血管壁两侧分开。

以往吻合都采用间断缝合,但间断吻合打结多,耗时较久,也容易不小心拉伤血管壁,由于兔静脉壁很薄,两侧管壁也难以通过弹性张力阻止出血,所以吻合口较易出血,补充缝合的难度也较大,因此耗时比较多;而采用间断加连续的吻合方法可以避免上诉问题,缩短手术时间,且吻合口出血很少,本次试验没有 1 例需补充缝合的。

对于单纯连续吻合,几乎没有人采用,本实验前也有过尝试,但因静脉太薄,难以暴露好吻合口,而且容易形成狭窄,所以放弃。

术后 1 月,两组标本均有明显的新内膜形成,中膜增厚,两组没有统计学上的差异。因此该改进的间断加连续吻合方法可以代替单纯的间断吻合方法建立静脉桥狭窄动物模型。

参 考 文 献

[1] 连 锋,朱洪生,郑家豪,等.冠状动脉旁路术后静脉桥狭窄模型的建立[J]. 上海试验动物学,2002;22(2):889-891.

[2] Schachner Thomas.Pharmacologic inhibition of vein graft neointimal hyperplasia[J]. Thorac Cadiovasc Surg,2006;131(4):1065-1072.

[3] 伍校琼,蔡维君,罗学港.静脉移植物中整合素 α5β1 的表达及其与再狭窄的关系[J]. 第三军医大学学报,2006;28(19):1949-1951.

[4] 蒲庆华,时 德.大鼠颈动脉再狭窄模型的建立及其病理机制的初步研究[J]. 重庆医科大学学报,2002;27(4):396-399.

(责任编辑:关蕴良)

(上接第 975 页)

灶部位及病理分级比较无统计学意义($P>0.05$),说明 VEGF 异常表达与喉癌促血管形成以及侵袭、淋巴结转移有密切关系。

本研究还表明,FAK、VEGF 在喉癌中表达有明显的相关性,二者具有明显的正相关性($r=0581$,$P<0.05$)。这可能是因为 VEGF 可通过诱导 FAK 磷酸化介导内皮细胞移行并抑制凋亡[7]。因此二者协同作用,共同促进肿瘤细胞侵袭与转移。故 FAK、VEGF 表达的检测可作为临床判断喉癌侵袭、转移的参考指标。

参 考 文 献

[1] Hanks SK,Calalb MB,Harper MC,et al. Focal adhesion protein tyrosine kinase phosphorylated in response to cell attachment to fibronectin[J]. Proc Natl Acad Sci USA,1992;89(18):8487-8491.

[2] Schaller MD,Borgman CA,Cobb BS,et al. ppl25FAK a structurally distinctive protein tyrosine kinase associated with focal adhesions[J]. Proc Natl Acad Sci USA,1992;89(11):5192-5196.

[3] Weiner TM,Lin ET,Gmven KJ,et al. Expression of focal adhesion kinase and invasive cancer[J]. Lancet,1993;42:1024-1025.

[4] Agochiya M,Brunton VG,Owens DW,et al. Increased dosage and amplification of the adhesion kinase gene in human cancer cells [J]. Oncogene,1999;18(41):5646-5653.

[5] OwensLV,Xu L,Craven RJ,et al. Overexpression of the focal adhesion kinasep125FAK in invasive human tumors[J]. Cancer Res,1995;55(13):2752-3755.

[6] Canel M,Secades P,Rodrigo JP,et al. Overexpression of focal adhesion kinase in head and neck squamous cell carcinoma is independent of fak gene copy number[J]. Clin Cancer Res,2006;12(11):3272-3279.

[7] Awaham HK,Iee TH.Vascular endothelial growth factor regulates focal adhesion assembly in hnman brain microvascular endothelial cells through activation of the focal adhesion kinase and related adhesion focal tyrosine kinase[J]. Biol Chem,2003;278(38):36661-36668.

(责任编辑:关蕴良)