维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2004)06-0755-04

并行带瓣双静脉自体移植动物模型的建立

王 波,赵 瑜,时 德,刘建勇,黄永火

(重庆医科大学临床学院血管外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨并行带瓣双静脉自体移植模型的建立方法,为原发性下肢深静脉瓣膜关闭不全寻求新的手术方法和途径。方法:用显微外科技术为 12 只新西兰兔行并行带瓣双静脉自体移植,并行动态彩色多谱勒和静脉造影检查以观察其血流状态和血流动力学情况。结果:12 只兔带瓣静脉自体移植一次性成功,术后观察 4 周,血栓形成 1 只。其余血管无明显狭窄,形态满意,血流状态稳定,均为层流。结论:通过显微技术建立兔并行带瓣双静脉自体移植模型是切实可行的。

【关键词】兔;瓣膜;静脉;自体移植;模型

【中国图书分类法分类号】R654.4;R622.4 【文献标识码】A 【收稿日期】2003-03-24

Establishment of an animal model to evaluate the parallel bi-vein graft with valves

WANG Bo, et al

(*Department of Vascular Surgery, College of Clinical Medicine, Chongqmg Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To establish the parallel bi-vein graft with valves animal model and to seek a new surgical method for patients with deep valvular incompetence. *Methods*: The parallel bi-vein with valves autogenic graft animal model was established in 12 rabbits by microsurgery and the hemorheology and hemodynamics were examined by real time color-duplex scanning and phlebography. *Results*: Among all of the 12 rabbits, autogenic graft of the parallel bi-vein with valves animal model was successfully established and was under observation for 4 weeks postoperatively. Only in 1 rabbit it was obstructed after 4 weeks. The rest remained unobstructed and were kept in favorable configuration and steady blood stream with laminar flow. *Conclusion*: The autogenic graft parallel bi-vein containing valves by microsurgery technique in rabbits is feasible. The opretion may be a feasible and promising method for clinical patients with chronic venous insufficiency in lower limb.

【Key words】Rabbit; Valve; Vein; Autogenic graft; Model

下肢慢性静脉功能不全在血管外科疾病中属于常见病,其中部分患者需行瓣膜重建,手术方法多样,而疗效各家报道不一。在瓣膜移植术中,传统手术多采用自体腋静脉或肱静脉,但其瓣膜强度不及股浅静脉最高一对瓣膜,而其他可供移植的带瓣静脉的管径往往难以符合要求,这使得移植瓣膜的来源受到限制,这也是瓣膜移植术受到限制的最主要原因。为此,我们成功建立了并行带瓣双静脉自体移植的动物模型,在增加血管管径的同时,保留了瓣膜的完整性,这就增加了静脉瓣膜自体移植的取材范围,为静脉瓣膜移植开辟了新的方法和途径。现报道如下。

作者介绍:王 波(1973-),男,住院医师,硕士生,主要研究方向:血管疾病的诊断及治疗。

1 材料和方法

1.1 实验动物及材料

新西兰兔 12 只,雌雄各半,体重 2.0~2.5kg。可放大 3 倍的手术显微镜,显微手术器械,2.5% 戊巴比妥钠、肝素钠注射液、青霉素钠盐,彩色超声检查仪(LOGIQ-9, GE, America),X 光造影机。

1.2 制备并行带瓣双静脉

实验兔采用 2.5% 戊巴比妥钠 30mg/kg 体重耳缘静脉麻醉,肌注青霉素钠 20 万单位。行颈正中切口,暴露、分离右颈总静脉、颈内静脉和颈外静脉,其属支逐一结扎;切下长约 2.0cm 一段"Y"字形血管,顺原血流方向用肝素生理盐水冲洗管腔数次。在体外将颈内、外血管远心端对侧缘纵向切开约 0.3cm,然后用 9/0 不可吸收的无损伤缝线将其间断缝合成一共同开口,使其形成一两端为共同通道的并行双静脉(如图 1、2)。术中应避免损伤颈内、外静脉近颈总静脉处的

维普资讯 http://www.cqvip.com

两对瓣膜。

1.3 并行带瓣双静脉的移植

实验兔耳缘静脉内注射肝素钠注射液 0.8mg/kg，同时皮下注射肝素钠注射液 3.0mg/kg，以达到并保持全身肝素化。开腹，暴露并分离下腔静脉肾下段，结扎并离断椎静脉及其他属支，根据所制备的并行双静脉的长度切去一段下腔静脉，然后将制备的并行带瓣双静脉移植于下腔静脉，移植段血流方向应与原血流方向保持一致，血管吻合时均用 9/0 不可吸收的无损伤缝线间断缝合。

1.4 术后管理

术后一次性给予每只实验兔青霉素 40 万 U 预防感染，全身抗凝采用皮下注射肝素钠 3.0mg/kg，12h 1 次，连续 7 天。术后观察 4 周。

1.5 观察指标

术后第 1 天、1、2、4 周实验兔做彩色多谱勒检查，了解移植静脉通畅情况，第 4 周经股静脉穿刺注射 50% 的泛影葡胺 10ml 行移植段静脉造影，获取影象资料，最后处死实验兔，解剖移植段静脉标本并送病理检查。

2 结 果

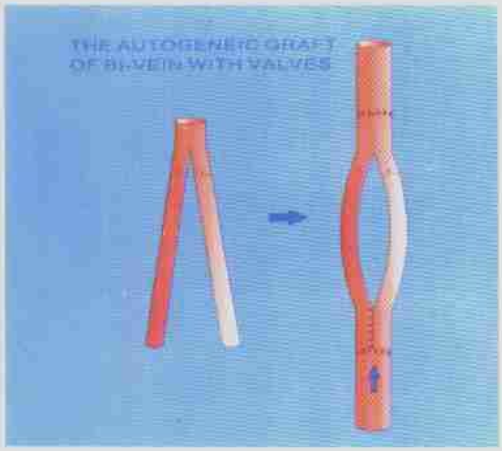


图 1 并行带瓣双静脉自体移植模型示意图。移植后血流如箭头方向所示

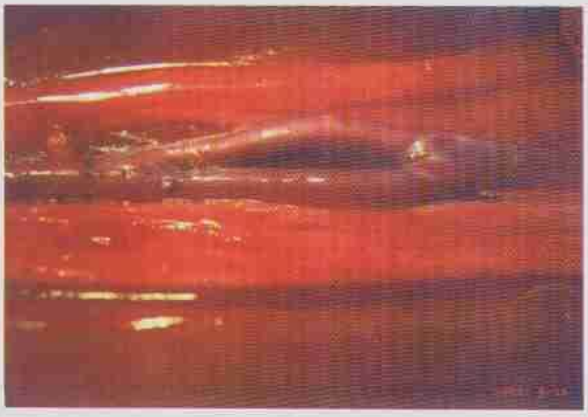


图 2 并行带瓣双静脉自体移植手术照片

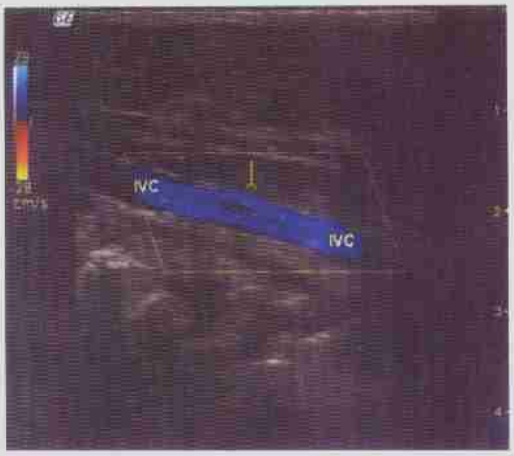


图 3 术后 4 周彩色多谱勒检测血管形态正常，血流呈层流状态。

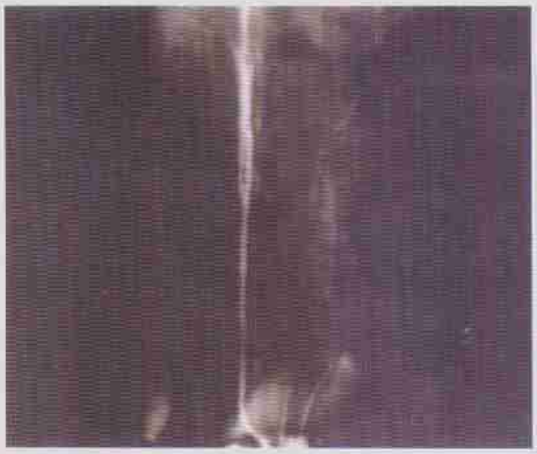


图 4 术后 4 周造影显示移植段并行双静脉状态，未见狭窄。

表 1 移植段血管的彩色多谱勒动态观察结果

时间	通畅（例）	阻塞（例）	层流（例）	湍流（例）	通畅率（%）
1 天	12	0	12	0	100
1 周	12	0	12	0	100
2 周	12	0	11	1	100
4 周	11	1	11	0	91.7

12 例并行带瓣双经脉自体移植手术成功率 100%，彩色多普勒检测显示，术后第 1 天 100% 通畅，均为层流，无狭窄和阻塞。术后底 1 天所有新西兰兔后肢功能恢复正常，可扪及明显的股动脉搏动。彩色多普勒检测显示，12 只兔移植段静脉术后 1、2 周通畅率为 100%，第 2 周时，1 例狭窄，彩色多谱勒显示血流为湍流。术后第 4 周，11 例通畅（如图 2），通畅率 91.67%（11/12），1 例阻塞，解剖证实系腹腔粘连带压迫所致（见表 1）。从彩色多谱勒的动态观察来看，术后 1 天至 4 周，血管管径及血流状态无明显变化，已处于稳定状态。术后第 4 周，移植段静脉造影（如图 3）和获取的解剖标本证实了移植段血管

维普资讯 http://www.cqvip.com

管径及血流状态已处于稳定状态，与彩色多谱勒的观察结果相符。这也说明，在术后 1 天后，血管痉挛完全解除，其血管形态及血流状态均已稳定。而粘连压迫形成时间在术后 1 周到 4 周之间。

3 讨 论

Raju 等报道，下肢静脉功能不全病人中仅 8% 的病人需行瓣膜重建术[1]，但在我国，病人在疾病早期往往难以得到重视而进行正规的保守治疗，虽然没有准确的统计数据，但估计需要手术治疗的病人远远超过美国的 8%，因此，手术治疗就显得尤为重要。手术方法多样，从 Tawes RL 等对 832 例下肢静脉功能不全患者的分析来看，剥脱大隐静脉并结扎功能不全的穿通支静脉是必须的[2]。1982 年 Taheri 首先倡导用自体带瓣静脉段移植治疗下肢深静脉血液返流性疾病[3]。Raju 等对自体带瓣静脉移植进行了改进并取得较为理想的近期效果[4]。目前报道以带瓣腋静脉和肱静脉自体移植近期疗效较理想。但由于上肢静脉抗逆向压力较股浅静脉最高一对瓣膜为弱，远期效果受到影响。而其他部位的替代带瓣静脉口径往往难以符合要求。由此可见，静脉瓣膜移植中，若能克服以上缺点，使瓣膜抗逆向压力的强度与下肢浅静脉最高一对瓣膜相当，而又解决了口径不符的问题，则可以提高带瓣静脉移植的远期疗效。

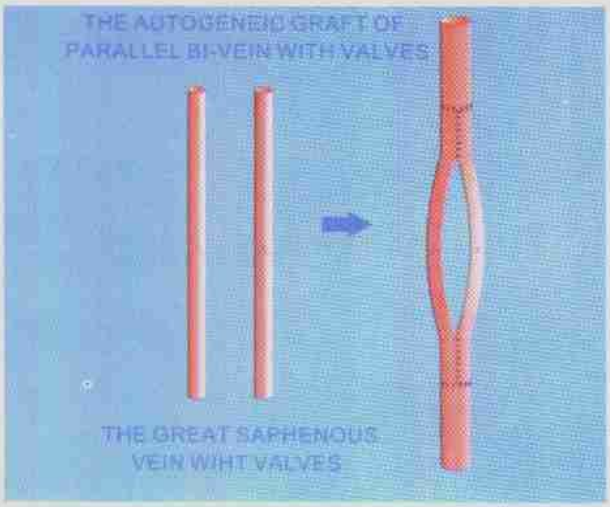


图 5 采用带瓣大隐静脉行并行带瓣双静脉自体移植的手术模型。

在临床的下肢静脉血管造影中，发现了“鸟状”血管的解剖变异影像，受此启发，采用仿生学设计了并行带瓣双静脉自体移植的手术模型(图 5)，将两段带瓣静脉的两端的对侧缘剖开并吻合成共同的通道，保留中间的完整性，这就增加了替代静脉的取材范围，使我们可以从健侧下肢大隐静脉取材，从而同时解决了瓣膜强度和血管口径不符的问题，为静脉瓣膜移植拓展了应用的范围和前景。

并行带瓣双静脉自体移植模型建立中应注意以下几点：(1)术中必须全身肝素化。在早期的预实验中，曾有 8 例没有行全身肝素化，1 周后造影及解剖显示，7 例血栓形成。而后期实验 12 例中，1 周后，其通畅率为 100%。可见术中全身肝素化与否在术后血栓形成中有显著差异(Fisher 精确概率法，$P<0.01$)。(2)术后必须应用肝素 7 天。由于其手术时间长，且需体外操作，血管内膜损伤较为严重，但兔血管内膜修复较人类快，故术后应用肝素 7 天足以防止血栓的形成。(3)肝素的用量必须合理。按体表面积等量计算适用于不同种类动物之间用药剂量的换算。粗略换算，兔的用药量按 mg/kg 体重计算，约为人的 3 倍，皮下注射，约 3mg/kg 体重较为合理，而且很安全。但在全身肝素化中，我们观察到，仍按 3 倍计算会引起血尿甚至腹腔内大出血，经调整观察，0.8～1.0mg/kg 体重较为合适。(4)静脉吻合须用 0/9 不可吸收的无损伤缝线间断缝合，这是因为新西兰大白兔颈静脉管壁很薄(厚度为 0.075～0.019mm)，同时，静脉受刺激后，管径变化大，连续缝合后易成狭窄环。(5)体外制备并行带瓣双静脉，由于静脉壁太薄，吻合时可用生理盐水水浴法，即将所切取的静脉浸泡在生理盐水中，利用水的张力使静脉壁平展，以利于缝合。(6)注意防止腹膜粘连引起的血管闭塞。解剖闭塞标本发现，并非血栓形成或内膜增生所致，而是粘连带压迫后引起血管闭塞，因此，可采用人工材料袖套法(即人造血管包裹移植段静脉)来防止此类状况的发生。(7)两移植段带瓣静脉的横截面积之和不能小于被替代血管的横截面积，以防止移植静脉段扩张而引起瓣膜的相对关闭不全。(8)部分兔为肾下双下腔静脉，手术中应结扎其旁路静脉以增加移植段静脉的管内压和血流速度，减少血栓的形成及血管塌陷。

本研究具有新颖性，其创新点如下：(1)发现兔颈内、外静脉各具有 1 对恒定的瓣膜；(2)采用兔建立带瓣移植的动物模型。国外常采用牛[5]或犬[6]建立静脉瓣膜移植的动物模型，我们采用兔颈静脉建立模型有其优越性：首先，动物来源相对丰富；其次，动物小且性格温和，有利于实验操作；第三，价格

维普资讯 http://www.cqvip.com

便宜,实验用药剂量小,这可以大大降低科研成本。(3)建立了并行带瓣双静脉自体移植的动物模型。以上发现及技术特点国内外尚未见报道。

尽管原发性下肢深静脉瓣膜关闭不全有多种手术治疗方案,但远期疗效均不是十分理想。该研究设计了一种全新的静脉瓣膜移植的方法,理论上可克服继往手术方式的缺点,并从实验上初步证实了其可行性。使并行带瓣双静脉可能成为下肢慢性静脉功能不全病人的一种可行且很有希望的瓣膜重建的手术方式。我们将进一步从病理、超微结构、生物力学和血液流变学等方面进行研究,为其临床应用奠定理论和实验基础。

参 考 文 献

[1] Raju S, Fredericks R. Valve reconstruction procedures for nonobstructive venous insufficiency: Rationale, techniques, and results in 107 procedures with two - to eight - year follow - up [J]. Vasc Surg, 1988;7:301 - 310.

[2] Tawes RL, Barton ML, Coello AA, et al. Optimal therapy for advanced chronic venous insufficiency[J]. Vasc Surg, 2003; 38(2):411.

[3] Taheri SA, Elias SM. Indications and results of vein valve transplant[J]. Cardiovasc Surg (Torino), 1986;27:163 - 168.

[4] Raju S, Hardy JD. Technical options in venom valve reconstruction[J]. Am J Surg, 1997;173:301.

[5] Hasaniya NW. Phlebology[M]. United Kingdom, 2002; 16/4:142 - 144.

[6] Bush HL Jr, Nabseth DC. Autogenous venous valve transplantation in the dog [J]. J Surg Res, 1982;32(4):313 - 321.

(上接第 751 页)活化与喉癌的发生有关。胞外刺激可能使 IKK 活化,IKK 使 IκB 磷酸化、降解,从而使 NF - κB 活化,促进了肿瘤的发生、发展。本研究还证实了有颈淋巴结转移的喉癌组织 IKKα、NF - κB P65 表达高于无颈淋巴结转移的喉癌组织,IκBα 的表达则相反,提示 NF - κB 信号转导通路可能涉及喉癌的浸润、转移。本研究表明:IKKα 激活/IκB 降解/NF - κB 活化的通路效应可能是喉癌发生、发展的重要机制,NF - κB 信号转导通路可能在喉癌的发生、发展及转移中发挥重要作用。

参 考 文 献

[1] Remmele W, Stegner HE. Immunhistochmischer nachweisvon östrogenrezeptoren (ERICA) in mammakarzinomgewebe: vorschlag zur einheitlichen formulierung des untersuchungsb efundes[J]. Dtsch Arztebl, 1986;83:3362 - 3364.

[2] Baldwin AS Jr. The NF - kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights [J]. Annu Rev Immunol, 1996;14:649 - 683.

[3] Karin M. The beginning of the end: IκB kinase(IKK)and NF - κ B activation[J]. Biol Chem, 1999;274:27339 - 27342.

[4] Gasparian Av, Yao YJ, Kowalczyk D, et al. The role of IKK in constitutive activation of NF - kappaB transcription factor in prostate carcinoma cells[J]. J Cell Sci, 2002;115:141 - 151.

[5] Tamatani T, Azuma M, Aota K, et al. Enhanced IkappaB kinase activity is responsible for the augmented activity of NF - kappaB in human head and neck carcinoma cells[J]. Cancer - Lett, 2001;171:165 - 172.

[6] Romieu - Mourez R, Landesman - Bollag E, Seldin DC, et al. Roles of IKKkinases and protein kinase DK2 in activation of nuclear factor - kappaB in breast cancer [J]. Cancer - Res, 2001;61:3810 - 3818.

[7] Bancroft C C, Chen Z, Dong G, et al. Coexpression of proangiogenic factors IL - 8 and VEGF by human head and neck squamous cell carcinoma involves coactivation by MEK - MAPK and IKK - NF - kappa B signal pathways[J]. Clin Cancer Res, 2001;7:435 - 442.

[8] Nakayama H, Ikebe T, Beppu M, et al. High expression levels of nuclear factor kappaB, IkappaB kinase alpha and Akt kinase in squamous cell carcinoma of the oral cavity[J]. Cancer, 2001;92:3037 - 3044.

[9] Nair A, Venkatraman M, Maliekal TT, et al. NF - kappa B is constitutively activated in high - grade squamous intraepithelial lesions and squamous cell carcinomas of the human uterine cervix[J]. Oncogene, 2003;22:50 - 58.

[10] Tai DI, Tsai SL, Chang YH, et al. Constitutive activeation of nuclear factor kappa B in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer, 2000;89:2274 - 2281.