维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2001)04－0410－03

血管内皮细胞生长因子促进缺血皮瓣存活的实验研究

薛 斌,贺光照,黄荣本

(重庆医科大学临床学院烧伤整形外科 重庆 400016)

【摘 要】目的:本实验旨在观察并探讨血管内皮细胞生长因子对缺血皮瓣血循环重建和皮瓣存活面积比的影响。方法:以大鼠为研究动物,将其分为 VEGF 组和对照组,并在其背部制作典型缺血皮瓣,术后 7 天观察皮瓣存活面积,计算存活面积比、单位面积微血管计数、光镜观察组织愈合情况、透射电镜观察成纤维细胞结构和功能。结果:两个组中 VEGF 组的皮瓣存活面积比较对照组明显增高。单位面积微血管计数显示 VEGF 组较对照组多,且有显著性差异。电镜观察结果显示 VEGF 组成纤维细胞形态和功能较对照组好。结论:VEGF 能促进缺血皮瓣的血运重建,从而加强组织修复,促进缺血皮瓣存活。

【关键词】VEGF;缺血皮瓣;存活

【中国图书分类法分类号】R622 【文献标识码】B 【收稿日期】2000－12－01

Experimental study on promotion of ischemic skin flap viability with VEGF

XUE Bin, et al

(Department of Burn and Plastic Surgery, College of Clinical Medicine Chongqing Medical University)

【Abstract】 ***Objective***: To explore the effect of vascular endothelial growth factor(VEGF) on microcirculation reconstruction and flap viability on ischemic skin pedicle flaps. ***Methods***: 24 Wistar rats were used as animal model and divided into two groups with 12 rats in each group: VEGF group and blank group. An ischemic skin flap measuring 7cm × 1cm was established on the back of each rat with pedicle at the tail side, 0.2ug VEGF in 2ml of NS and NS2ml were locally injected into pedical bases of flaps respectively. The viable rate of the skin flaps and dermovascular density of each flap were investigated by histological and histo－morphometrical examinations. Electron microscopy study was used to observe the structures and functions of fibroblast. ***Results***: There was significant difference in the viable rate between VEGF group and blank group on the seventh postoperation day. Besides, dermovascular densities were markedly increased in VEGF group in comparison with the blank group. ***Conclusion***: VEGF can accelerate the vascularization of the ischemic skin flap and enhance the viable rate of the flap.

【Key words】 VEGF; Ischemic skin flap; Viable rate

虽然人们对皮瓣坏死机理已有了很深入的了解,外科技术亦有长足的发展,但皮瓣坏死仍是整形外科的一个问题。皮瓣坏死的原因可归结为血流动力学的改变,包括动脉灌流不足、静脉回流不畅以及两者均有。实验研究表明多种生长因子可促进原发和继发的心血管缺血区域的血管重建[1~3],亦可明显提高皮瓣存活率。本实验以大鼠为研究动物,观察并探讨血管内皮细胞生长因子对缺血皮瓣血循环重建和皮瓣存活率的影响。

作者介绍:薛 斌(1969－),男,四川邻县人,主治医师,硕士;主要研究方向:皮瓣存活

1 材料和方法

1.1 动物选择、分组和处理

1.1.1 动物:选用健康成熟的 Wistar 系大鼠 24 只,重量 180～240g,雌雄不论,以标准鼠全价饲料在实验室分笼喂养 7 天,以适应实验环境。

1.1.2 动物分组

将大鼠随机分为 2 组,每组大鼠 12 只。

VEGF 组:在受皮床均匀注射含 VEGF0.2μg 的生理盐水 2ml

对照组:在受皮床均匀注射生理盐水 2ml。

1.1.3 缺血皮瓣制作

维普资讯 http://www.cqvip.com

参照 Mcfarlane 等[4]描述的缺血皮瓣制作方法,在鼠背部设计蒂靠尾部的单蒂皮瓣,皮瓣大小 7cm×1cm。

主要试剂和仪器

1.2 主要试剂

血管内皮细胞生长因子

1.3 主要仪器

CM2000－B 真彩色图像分析系统

H600－Hitachi 透射电镜

1.4 观察指标

1.4.1 皮瓣存活面积比 于术后 7 天处死动物,用图像分析系统计算出坏死面积,存活面积＝设计面积－坏死面积。存活面积比＝存活面积/设计面积(%)。

1.4.2 光镜观察 HE 染色,200 倍光镜下观察组织水肿、坏死、炎症细胞浸润、纤维增长等情况。

1.4.3 透射电镜 H600－Hitachi 透射电镜观察,了解成纤维细胞的结构和功能。

1.4.4 单位面积微血管计数 前述光镜组织切片,在 10 倍光镜下每张切片随机计算 10 个视野中血管断面数目,利用 CM200－B 真彩色图像分析系统测量出相同视野下的组织面积,按血管断面均数/镜下组织面积,即可知道 $1cm^2$ 组织中血管断面密度,单位为个/cm^2。

1.5 统计学方法 利用 Windows98 SPSS8.0 统计软件包在计算机上进行配对 T 检验,判定各组间结果有无差异。

2 结 果

2.1 皮瓣存活率

24 只大鼠均存活,其存活面积比分别如表 1。

表 1 两组皮瓣存活面积比

组别	例数	存活率(%) $\bar{x} \pm s$
VEGF 组	12	59.52±3.19
对照组	12	43.38±4.19
		$t=8.574$
		$P<0.01$

2.2 光镜观察

2.2.1 VEGF 组 存活皮瓣皮下组织水肿,血管扩张,明显中性白细胞浸润或散在浸润灶。表皮轻度萎缩,皮下组织纤维增生明显。



图 1 VEGF 组代表性皮瓣术后 7 天照片

2.2.2 对照组 存活皮瓣皮下组织水肿,有散在皮下出血,血管扩张明显,有弥漫性嗜中性白细胞浸润,表皮破损。

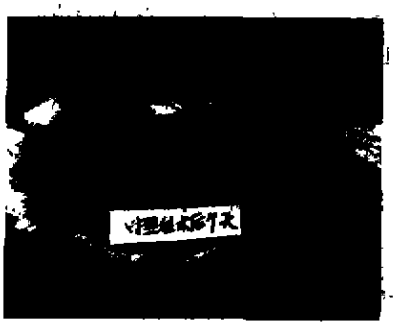


图 2 对照组代表性皮瓣术后 7 天照片

2.3 电镜观察

2.3.1 VEGF 组 见大量成纤维细胞存在,成纤维细胞浆内有大量精面内质网,内质网池扩张,其中有高电子密度物质,细胞周围有较多成熟原及未成熟胶原,间质胶质原排列不整齐(见图 3)。



图 3 VEGF 组成纤维细胞电镜照片×150600

2.3.2 对照组 成纤维细胞数量少,见大量纤维细胞存在,成纤维细胞常染色质丰富,胞浆内质网丰富但内质网池不扩张,细胞周围无新生胶原及成熟胶原;且有轻度线粒体肿胀(见图 4)。



图 4 对照组成纤维细胞电镜照片×150600

2.4 单位面积微血管计数

各组皮瓣远、中、近各部分皮下单位面积微血管计数(表 2)。发现皮瓣中 1/3 部分,VEGF 组与对照组有差异 $t=4.265$, $P=0.002$。两组近端无差异 $t=0.057$, $P=0.956$。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 2 两组皮瓣皮下单位面积微血管计数(个/cm^2, $\bar{x} \pm s$)

组别	近 1/3	中 1/3	远 1/3
VEGF 组	35.80±4.96	31.1±4.07	*
对照组	36.36±6.29	19.7±4.06	*
	$t=0.057$	$t=4.265$	
	$P=0.956$	$P=0.002$	

* 表示皮瓣坏死

3 讨 论

缺血皮瓣与受皮床及伤口周围组织间的循环重建直接影响缺血组织的存活。Cohen[5]在实验中发现一定程度的皮瓣缺血能促进血管再生,并推测这是由缺血的表皮主动的产生某种扩散性的血管再生因子所致。Stark 等[6]应用鼠的管状皮瓣观察了皮瓣远端血供对皮瓣微循环重建的影响,结果显示一定程度的皮瓣缺血可刺激皮瓣受区的血管连接,从而增加皮瓣存活面积,作者讨论了影响微血管再生的可能因素,指出微血管再生可能是由于氧张力梯度调节巨噬细胞表达的一种"血管生成因子"诱导的结果,认为该过程也可能与炎症过程创伤愈合中的其它细胞因子相关。近来的研究亦证实在创伤愈合过程中,由于出血与凝血过程所产生的一些生长因子,如 TGF-β、FGF、PD-ECGF 等,刺激创伤处及临近组织中的血管内皮细胞从"修眠"状态中激活,开始以出芽的方式生长,以后连成袢状长入肉芽组织中。这些研究均证实血管生成因子在皮瓣存活与创伤愈合中扮演着非常重要的作用。许多研究者证实了 b-FGF 在体内能强烈刺激其植入区血管形成和加速伤口愈合,其实质仍为增加了组织血管生长。血管内皮细胞生长因子(VEGF)是这些血管生迈出因子中最有潜力的一种生长因子。具报道它是血管内皮细胞所特有的促有丝分裂原[7,8],并在缺血[9]和血管内皮细胞受损[10]时表达增强。本实验研究了 VEGF 对缺血皮瓣血循环重建和皮瓣存活率的影响。实验结果显示 VEGF 组皮瓣存活率高于对照组,统计学有显著差异($P<0.001$)。VEGF 组皮瓣皮下单位面积微血管计数亦高于对照组,统计学有显著差异($P=0.002$)。在光镜和电镜下亦可见 VEGF 组皮瓣组织中有较多新生毛细血管,而对照组新生毛细血管不多。且电镜下 VEGF 组成纤维细胞结构和功能较对照组好。这些结果均提示 VEGF 有诱导毛细血管增生的作用,从而进一步促进缺血皮瓣存活。

参 考 文 献

[1] Pu LQ, Gadowski GR, Graham AM, et al. Enhanced revascularisation after angiongenic sttimulation in a rabbit model of bilateral limb ischaemia[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 1995; 9:189-196.

[2] Lefer AM, MA XL, Weyrich As, et al. Mechanism of the cardioprotective effect of tranforming growth factor beta I in feline myocardial ishemia and reperfusion[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1993; 90:1018-1022.

[3] Kenny D, Coughlan MG, Pagel PS, et al. Transforming growth factor bate I preserves endothlial function after multiple brief coronary artery occlusions and reperfusion[J]. Am Heart J, 1994; 127:1456-1461.

[4] Mcfarlane RM. The design of a pedicale flap in the rat to study necrosis and its prevention[J]. Plast Reconstr Surg, 1965; 35:177.

[5] Cohen BE. Beneficial effect of staged division of pedicle in experimental axial pattern flaps[J]. Plast Reconstr Surg, 1965; 35:177.

[6] Stark GB, Hong C, Futreu JW, et al. Enhanced neovascularization of rat tubed pedicle flaps with low perfusion of the wound margin[J]. Plast Reconstr Surg, 1987; 80:814.

[7] Keck PJ, Hauser SD, Krivi G, et al. Vascular permeability factor an endothelial cell mitogen related to PDGF[J]. Science, 1989; 246:1309-1312.

[8] Nicosia RE, Lin YJ, Hazelton D, et al. Endogenous regulation of angiogenesis in the rat aorta model. Role of vascular endothelial growth factor[J]. Am J Pathol, 1997; 151:1379-1386.

[9] Shweiki D, 1tin A, Soffer D, et al. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxiainitiated angiogenesis[J]. Nature, 1992; 359:843-845.

[10] Wysocki SJ, Zheng MH, Smith, et al. Vascular endothelial growth factor(VEGF) expression during arterial repar in the pig[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 1998; 15:225-230.