DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.16.018

论著

文章编号:1000-5404(2003)16-1446-04

动脉吻合术后弹性纤维的重构

邱全光,余汇洋,郭光金,左艳芳,张集建 (第三军医大学基础医学部外科应用解剖与手术学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 探讨弹性纤维在损伤后的变化过程。方法 在手术显微镜下将90只大鼠股动脉横行切断后行端端吻合术,在手术后3、7、14、21、30、90 d,采用Weigert弹性纤维染色及甲酸消化法扫描电镜观察弹性纤维在动脉吻合术后的重构。结果 动脉吻合术后弹性纤维的重构分为:静止期、增生期、重建期。在静止期吻合口弹性纤维没有增生;在增生期可见大量新生的弹性纤维;在重建期可见弹性纤维的结构发生变化,而相对含量不变。结论 动脉壁的弹性纤维在动脉吻合术后经历了重建过程,吻合后弹性纤维的修复为新生内膜的模式。动脉吻合术后30 d弹性纤维的含量明显增高及弹性纤维的形态结构趋于正常。

关键词:动脉;吻合;重构;弹性纤维
中图法分类号:R322.1+21;R329.2+8;R654.3 文献标识码:A

The remodeling of elastic fiber after arterial anastomosis in rats

QIU Quan-guang, YU Hui-yang, GUO Guang-jin, ZUO Yan-fang, ZHANG Ji-jian (Department of Applied Anatomy and Operative Surgery, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To explore the post-injury changes of the elastic fiber after arterial anastomosis. **Methods** Femoral arteries of 90 Wistar rats were cross-sectioned and then end-to-end anastomosis was performed. The arteries were harvested at 3, 7, 14, 21, 30 and 90 d postoperation and the remodeling of the elastic fiber after arterial anastomosis was studied by formic acid digestion method and observed under scanning electron microscope. **Results** The remodeling of the changes of elastic fiber could be divided into quiescent stage, hyperplasia stage and reconstruction stage. At quiescent stage, there was no new growth of elastic fiber in the anastomosed area of artery, but at hyperplasia state, there was large amount of newly grown elastic fiber. At reconstruction stage, there were changes of the structure of the elastic fiber, but the amount of the fiber was stable. **Conclusion** The remodeling of elastic fiber has also occurred in the muscular artery after anastomosis and the rebuilding of the elastic fiber of the anastomosed arteries is a reparation of the neointimal formation. The structure of elastic fiber is stable at 30 d after the anastomosis.

Key words: artery; anastomosis; remodeling; elastic fiber

弹性纤维能自动产生张力对血管壁起支撑作用,从而抵抗血管的塌陷和过度的扩张,抵制平滑肌收缩所致的血管闭合倾向[1]。在动脉损伤后,随着动脉的愈合,动脉壁重建的同时应存在着弹性纤维的变化。以往的研究多集中于血管的扩张型损伤,如:水囊扩张,而对弹性纤维在局部的完全缺失后的修复,特别是在其构筑学上,缺少描述。本研究采用Weigert弹性纤维染色后计算机图像分析及甲酸消化法扫描电镜观察的方法了解吻合术后动脉弹性纤维的变化,以此探讨弹性纤维在损伤后的变化。从而为血管外科提供实验基础。

1 材料和方法

Wistar大鼠90只(第三军医大学实验动物中心提供),雌雄不拘,体质量190~220 g,0.3%戊巴比妥钠腹腔麻醉,手术显微镜下,将大鼠的右股动脉横行剪开并行断端的端端吻合术,手术前后并不用抗凝剂。手术后分笼标记饲养,实验动物随机分成6组(15只/组)。对照组(为各组的未吻合侧动脉作为自身对照),于吻合后3、7、14、21、30、90 d,切取吻合侧动脉和未吻合侧动脉,取材时在吻合口上下各2 mm处横断股动脉。每组取标本3例(包含吻合组及对照组),经10%中性甲醛溶液固定石蜡包埋,沿血管的长轴切片,Weigert弹性纤维染色,光镜观察吻合口的形态变化,同时用计算机图像分析的方法了解弹性纤维量的变化。另每组(包含吻合组及对照组)取标本3例将动脉段纵行中间切开,放于90%甲酸中,45 ℃消化96 h,液氮速冻,

基金项目:重庆市科委应用基础研究资助项目(1999)
作者简介:邱全光(1972—),男,四川省巴中县人,硕士,讲师,主要从事血管外科基础方面研究。电话:(023)68752251
通信作者:余汇洋,电话:(023)68752250
收稿日期:2002-08-27;修回日期:2002-12-23

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

置真空蒸发器中干燥 24 h, 取出真空镀金后在扫描电镜下观察。所用计量数据 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用单因素方差分析。

2　结果

2.1　Weigert 弹性纤维染色光镜观察及图像分析结果

观察正常对照组切片, Weigert 弹性纤维特殊染色后, 弹性纤维被染为蓝紫色, 背景颜色较浅, 染色效果较好, 可见大鼠股动脉弹性组织显示为三层, 内膜弹性组织为一层连续的膜, 中膜弹性组织为较疏松的网状弹性纤维结构, 外膜弹性组织形成外弹性膜及较粗大纵向排列的纤维。各层均无自然的裂口或断裂。股动脉吻合术后 3 d 及 7 d 可见由于手术所致的吻合口中心区弹性纤维断裂、缺失, 见图 1, 两侧弹性纤维结构完整。股动脉吻合术后 14 d, 血管弹性纤维断裂, 可见较少纤细的弹性纤维越过吻合口。股动脉吻合术后 21 d, 可见新生的弹性纤维联结在吻合口, 附近的内弹性膜上均匀地形成一层新生弹性纤维。股动脉吻合术后 30 d, 可观察到原有的弹性纤维各层并未相连, 而新生的弹性纤维为网状样密集连接两断端, 新生的弹性纤维位于内弹性膜的内面, 除内膜游离而有新生弹性纤维外, 中膜和外膜未见新生弹性纤维, 故仍保持断裂状态。股动脉吻合术后 90 d, 吻合口区弹性纤维结构基本修复趋于正常, 新生的弹性纤维已移至原内膜处, 但血管壁弹性纤维走行紊乱, 结构不完整, 局部弹性纤维缺失, 并未形成正常对照组弹性纤维相似的较规整的三层分布, 见图 2。半定量图像分析及统计分析结果见表 1。

表 1　吻合口弹性纤维的面积密度检测结果($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Image analysis of the density area of the elastic fiber($\bar{x}\pm s$)

(d)	Anastomosed	Control
3	0.207±0.042	0.189±0.035
7	0.171±0.026	0.184±0.036
14	0.26 ±0.028 *	0.193±0.019
21	0.321±0.032 *	0.194±0.037
30	0.350±0.06 *	0.199±0.037
90	0.293±0.031 *	0.184±0.024

*: $P<0.01$ *vs* control

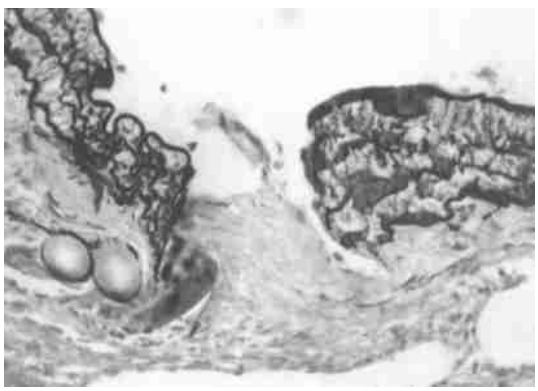


图 1　动脉吻合术后 **3 d**, 吻合口中心区弹性纤维缺失　(Weigert× 400)

Fig 1　Absence of the elastic fiber in the middle of the anastomosed area 3 days after arterial anastomosis　(Weigert× 400)

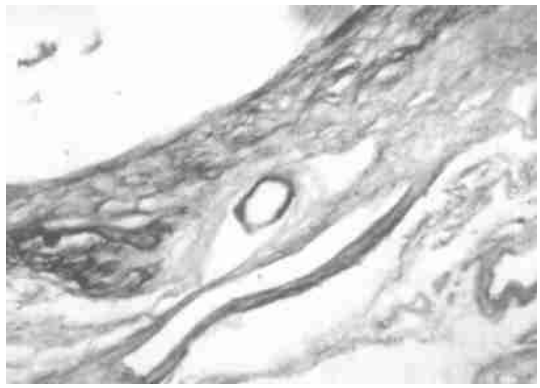


图 2　动脉吻合术后 **90 d**, 吻合口被新生的弹性纤维连接形态趋于正常　(Weigert× 400)

Fig 2　At 90 d after the artery anastomosis, the anastomosed area is connected by new-growth elastic fiber and the morphology tends to be normal　(Weigert× 400)

从分析结果可知 3 d、7 d 组弹性纤维定量与正常对照组相比无显著性差异($P>0.05$), 14 d 组、21 d 组、30 d 组、90 d 组与对照组比较弹性纤维的量均有显著的升高($P<0.01$), 弹性纤维量的升高从 7 d 开始逐渐增高, 至 30 d 达到高峰, 以后下降。

2.2　甲酸消化扫描电镜观察的结果

在扫描电镜下, 可见动脉组织块中细胞结构及胶原结构均被消化后弹性纤维的三维构筑, 正常对照组内弹性膜呈波浪型膜状, 无自然断裂或裂隙, 中膜弹性组织呈均匀蜂窝网格状。

股动脉吻合术后 3 d, 吻合口处断裂, 内、中、外膜弹性组织形态正常, 内膜为连续的膜状厚 0.1 μm, 可见 1～5 μm 大小不等的窗孔, 中膜弹性纤维呈蜂窝网状, 弹性纤维连接不规则, 外膜弹性纤维呈网状也可见较粗大的纤维互相连接, 见图 3。

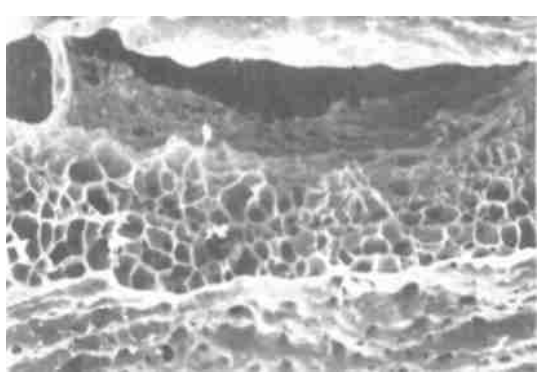


图 3　动脉吻合术后 **3 d**, 吻合口呈一裂隙, 中心无弹性纤维连接　(SEM× 400)

Fig 3　At 3 d after artery anastomosis the anastomosted area like a leap, the middle of the area has no elastic fiber　(SEM× 400)

股动脉吻合术后 7 d, 在吻合口两断端未见任何弹性纤维连接, 吻合口形态紊乱, 三层弹性组织有碎片化的现象, 在吻合口内弹性膜的管腔面可见丝状的增生纤维相互连接呈细网状。股动脉吻合术后 14 d, 可见少量纤细的弹性纤维连接在吻合口

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

的两端。吻合口附近结构紊乱。股动脉吻合术后21 d,有较多的弹性纤维越过吻合口,连接两断端。纤维呈纤细的互相联结的网状结构,吻合口被这些纤细的弹性纤维覆盖。股动脉吻合术后30 d,大量的弹性纤维覆盖于吻合口断端,吻合口较平整,可见部分弹性纤维融合呈片状,有5~10 μm的网孔。股动脉吻合术后90 d,吻合口平整,被均匀的弹性纤维网所覆盖,并未见波浪样内膜弹性纤维,有的弹性纤维形成膜片状,可见5~10 μm的网孔,见图4。

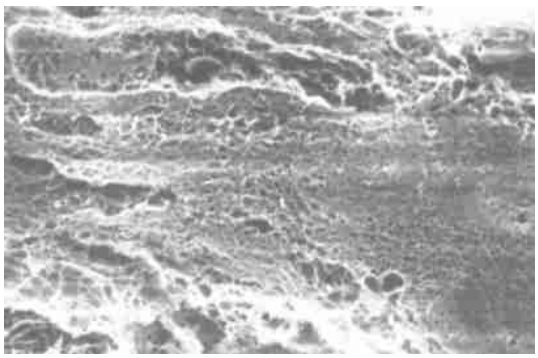


图4 动脉吻合术后**90 d**,吻合口被均匀的弹性纤维网覆盖 (SEM×250)

Fig 4 At 90 d after artery anastomosis the anastomosed area is covered by the proportionable elastic fiber (SEM×250)

股动脉吻合术后弹性纤维的构筑形态与正常组相比较,在股动脉吻合术后,吻合口中心由于切断导致的弹性纤维缺失,3~7 d并未恢复;在股动脉吻合术后14 d可见弹性纤维细丝跨越吻合口,这些纤细的弹性纤维互相联结;股动脉吻合术后21 d可见弹性纤维致密,弹性纤维互相联结增多,在部分吻合口由于在吻合时血管外翻,在原内膜面上可见新生弹性纤维形成网状层,呈穹隆状;股动脉吻合术后30 d,新生弹性纤维融合成片,内膜弹性组织形成内弹性膜状,上面有大小不等的网孔,内膜弹性纤维与正常股动脉内弹性膜明显不同,中膜弹性纤维和外膜弹性纤维均呈条索状,弹性组织整体结构趋于正常对照组弹性纤维构筑。

从股动脉吻合术后14~90 d,可见新生弹性纤维多集中在原内弹性膜的管腔面而延续至吻合口,即在股动脉吻合术后新生内膜部位向吻合口中心延续,产生这种现象的原因在于:股动脉吻合术后整个吻合口血管壁外翻,使弹性纤维沉积部位在内膜腔面,另外中膜及新生内膜处有大量的平滑肌细胞,有利于弹性纤维的形成。可以推断,股动脉吻合术后弹性纤维的修复模式是一种新生内膜型修复,即在损伤后,吻合口附近平滑肌细胞发生表型转化并迁移到内膜下形成新生内膜,靠此处的平滑肌细胞来产生弹性纤维的修复。

通过对股动脉吻合术后弹性纤维增生过程的形态观察,并根据其形态学特点,本研究将弹性纤维的重构分为:静止期、增生期、重建期。

静止期:弹性纤维修复的静息期为股动脉吻合术后1~7 d,其特征是:各层弹性组织的断裂,吻合口弹性膜碎片化,计算机图像分析半定量可显示3 d组、7 d组弹性纤维的量与对照组无显著差异。此期没有新生弹性纤维的出现,吻合口弹性纤维代谢处于相对的静止期。

增生期:弹性纤维增生期为股动脉吻合术后7~30 d,在股动脉吻合术后14 d可见新生弹性纤维,从Weigert弹性纤维特殊染色及计算机图像分析半定量显示弹性纤维从14~30 d有逐渐增多的趋势,与对照组相比较有显著差异($P<0.01$)。在立体构筑的观察中可见到新生的纤细的弹性纤维逐渐致密,吻合口弹性纤维处于合成代谢大于分解代谢的状态。

重建期:弹性纤维重建期为股动脉吻合术后30~90 d,将30 d组弹性纤维构筑形态与90 d组形态相比较可见90 d组的弹性纤维排列较有序而且致密,内膜面逐渐平滑,网孔明显减少,各层弹性膜均呈纤维状同心圆结构,在30~90 d弹性纤维处于重建阶段。在30 d组与90 d组的弹性纤维半定量分析中,弹性纤维总量有减少的趋势。

3 讨论

在动物成熟后弹性纤维在血管中含量稳定,同时弹性纤维的化学性质也稳定。Rosenquist的研究发现,在正常情况下血管弹性纤蛋白原mRNA处于检测不到的水平,弹性蛋白代谢的这种低而稳定的状态是保证血管弹性纤维结构和功能完整的关键[2,3]。Strauss、Majesky等[4~6]研究表明血管在受到某些损伤因素如:高血脂症、高血压、动脉粥样硬化的作用下,可引起内膜和中膜胶原蛋白和弹性蛋白合成增多。

本实验通过观察弹性纤维构筑发现,断端的弹性纤维并不能粘连在一起,而是靠新生弹性纤维将吻合口两断端连接起来,而新生弹性纤维的增生部位常在原内弹性膜的管腔侧,即在内膜增生的部位,血管损伤后吻合口弹性纤维的重建主要依靠新生内膜处的弹性纤维增生联接,而原断端的弹性纤维如:中膜和外膜弹性纤维逐渐消失了,产生这种现象的原因可能与弹性蛋白酶的活动有关[7]。

本实验采用显微外科手术的方法建立动脉损伤的动物模型,动脉吻合术作为一种外科手术操作,可造成动脉切割伤,使动脉各层断裂,内膜内皮细胞的损伤,在吻合时可造成中膜平滑肌细胞挫伤。大鼠的股动脉直径约0.6 mm,相当于吻合人体指(趾)动脉的直径,故此动物模型可应用于临床断指(趾)再植,微小血管移植等显微血管外科研究。在本实验中,可见到弹性纤维在股动脉吻合术后增生,与以往的研究相似,即动脉吻合作为一种机械损伤,同样可引起弹性纤维的增生。

本实验在14 d组可观察到少量的弹性纤维连接,30 d可见吻合口弹性纤维的含量达到高峰且有较稳定的弹性纤维结构,在临床上或许可否将30 d作为显微微小动脉吻合后的局部制动期限,在动脉吻合术后30 d后血管弹性纤维增多,血管顺应性较好,局部适当的活动不致引起血管壁再损伤。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

参考文献:

[1] Midwood K S, Schwarzbauer J E. Elastic fiber: building bridges between cells and their matrix[J]. Curr Biol, 2002, 12(8): R279—R281.

[2] Herrera B, Desco M M, Eisenberg G, *et al*. Role of elastic fibers in cooling-induced relaxation[J]. Cryobiology, 2002, 44(1): 54—61.

[3] Rosenquist T H, McCoy J R, Waldo K L, *et al*. Origin and propagation of elastogenesis in the developing . cardiovascular system[J]. Anat Rec, 1988, 221(4): 860—871.

[4] Strauss B H, Chisholm R J, Keeley F W, *et al*. Extracellular matrix remodeling after balloon angioplasty injury in a rabbit model of restenosis[J]. Circ Res, 1994, 75(4): 650—658.

[5] Majesky M W, Giachelli C M, Reidy M A, *et al*. Rat carotid neointimal smooth muscle cells reexpress a developmentally regulated mRNA phenotype during repair of arterial injury[J]. Circ Res, 1992, 71(4): 759—768.

[6] Di Micco G, Forte A, Cipollaro M, *et al*. Surgical injury of rat arteies: genetic control of the remodeling process[J]. Eur J Cardiothoracic Surg, 2002, 22 (2): 266—270.

[7] Koyama H, Reidy M A. Expression of extracellular matrix proteins accompanies lesion growth in a model of intimal reinjury[J]. Circ Res, 1998, 82 (9): 988—995.

(编辑　陈聪连)

(上接 1445 页)

续 2 d 为达标。

1.4　统计学处理

采用 t 检验。

2　结果

2.1　两组治疗情况的比较

MSII 组经常规强化胰岛素治疗后血糖达标, 但有 6 人次发生低血糖反应, 血糖达标所需时间长。CSII 组血糖达标所需时间短(5.1±0.9)d, 仅发生 1 人次低血糖反应, 血糖 2.6 mmol/L 没有发生严重低血糖反应。两组比较见表 1。

2.2　CSII 组情况

病人均接受糖尿病教育, 能与医师配合使用胰岛素泵, 依从性好, 血糖控制满意。其中两例有代表性, 介绍如下:

例 1: 女 36 岁, 糖尿病史 3 个月, 体重指数(BMI)23.6。平时三多一少症状明显, 未经治疗, 空腹血糖 18.7 mmol/L。胰岛素泵治疗 2 d 后空腹血糖降至正常(4.9 mmol/L), 基础量胰岛素 0.8 U/h, 全天量 38.2 U, 夜间 4:00 出现心慌、饥饿感, 手指毛细血管血糖 2.6 mmol/L, 少量进食后好转, 设定成 2 个基础量, 夜间 0:00～4:00 改为基础量 0.6 U/h, 其余时间保持 0.8 U/h, 全天量 37.4 U, 未再发生低血糖。

例 2: 男 44 岁, 糖尿病史 6 年, BMI29.3, 已用胰岛素治疗 3 年, 三多一少症状不明显, 入院前用 70/30 优泌林 52 U/d 治疗, 空腹血糖 7.9 mmol/L, 停药 1 周入院时空腹血糖 17.3 mmol/L, 改用泵治疗 5 d 后空腹血糖降至 6.6 mmol/L, 全天胰岛素用量 46 U。患者后来购买胰岛素泵 1 台用于治疗。

表 1　2 组病人治疗情况比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	年龄(岁)	病程(年)	血糖(mmol/L)		低血糖	INS	平均达标
				治疗前	治疗后	(人·次)	用量(U)	天数(d)
MSII	9	47.1±8.8	4.7±1.6	17.7±3.1	6.2±0.9	6	52.1±10.7	10.2±1.6
CSII	6	45.3±9.6	4.3±1.8	18.2±3.7	5.6±1.1	1**	48.7±12.1	5.1±0.9**

**: $P<0.01$ *vs* MSII

3　讨论

强化治疗能有效延缓糖尿病慢性并发症的发生和发展, 已为越来越多的医生和患者所认识, 但对于多数注射胰岛素的病人, MSII 方法难以在体内模拟生理状态下的 24 h 胰岛素分泌, 在两餐之间 Ins 水平较正常高而易于出现低血糖, 而餐后 Ins 又较低故不易控制餐后高血糖。因此, 许多患者虽然长期使用 Ins 治疗, 血糖仍控制不满意, 或常发生低血糖。胰岛素泵能模拟正常胰腺分泌胰岛素模式, 24 h 不间断向病人体内输注微量的基础量 Ins, 进食前再按需要输入负荷量, 从而实现控制血糖接近正常而又无低血糖的血糖波动, 减少低血糖风险[1]。因而, 是目前强化治疗的有效方法。

本研究比较了二种不同 Ins 输注方式治疗糖尿病的短期临床疗效, 发现 CSII 方法可获得良好的血糖控制而低血糖风险较低, 并显著缩短血糖控制时间。如果出现低血糖反应, 可通过调整泵的胰岛素输注剂量加以避免, 如 0:00～4:00 这段时间容易发生低血糖, 则可将该段基础量降低, 有黎明现象的病人, 上午血糖难以控制而夜间容易发生低血糖者, 可设 0:00～4:00、4:00～9:00、9:00～0:00 3 段或更多时间段, 容易获得满意的血糖控制。此外, 在胰岛素泵治疗中, 仍然要注意病人的饮食、活动情况, 调整胰岛素剂量不能太急, 注意观察血糖, 能减少发生低血糖的风险。

我们也观察到 CSII 治疗有减少每日胰岛素用量的趋势, 病例 2 既往用 MSII 方法治疗, 改用泵治疗后胰岛素用量减少, 这可能与胰岛素泵模拟生理状态下的胰岛素分泌, 更能发挥胰岛素作用有关。在两组的比较中, CSII 组胰岛素用量少于 MSII 组, 尽管无显著性差别, 这可能与观察例数较少有关, 需进一步观察。

关键词: 胰岛素泵; 糖尿病

中图法分类号: R587.105　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Catargi B, Brelih D, Gin H, *et al*. A randomized study comparing blood glucose control and risk of severe hypoglycemia achieved by non-programmable versus programmable extenal insulin pumps[J]. Diabetes Metab, 2001, 27(3): 323—327.

(编辑　薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net