

# 大鼠颈部自体静脉移植模型两种吻合方法的比较

毛张凡<sup>1</sup>, 徐小惠<sup>2</sup>, 黄杰<sup>1</sup>, 耿庆<sup>1</sup>, 康敢军<sup>1</sup>, 吴晓建<sup>1</sup>

(1. 武汉大学人民医院胸心外科, 湖北 武汉 430060; 2. 华中科技大学同济医院药剂科, 湖北 武汉 430030)

**【摘要】** 目的 比较间断吻合和连续吻合建立静脉桥狭窄动物模型的优劣。方法 SD大鼠20只,分成两组(间断吻合组和连续吻合组),取颈外静脉与颈总动脉行端端吻合。术后4周取下静脉桥,观察桥管通畅性,分析新生内膜与中膜的厚度、面积比。结果 连续组与间断组相比手术时间更短,出血更少,但桥管通畅率低,两组内膜增生程度没有显著差异。结论 连续吻合用时短,出血少,对术者要求更高,较易形成吻合口狭窄。两者造模效果一样。

**【关键词】** 模型;动物;吻合方法;静脉移植;再狭窄

**【中图分类号】**R33 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1671-7856(2011)12-0031-03

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.12.008

## Comparison of Two Types of Vascular Anastomosis in the Establishment of Autologous Cervical Vein Graft Models in Rats

MAO Zhang-fan<sup>1</sup>, XUN Xiao-hui<sup>2</sup>, HUANG Jie<sup>1</sup>, GENG Qing<sup>1</sup>, KANG Gan-jun<sup>1</sup>, WU Xiao-jian<sup>1</sup>

(1. Department of Cardiothoracic Surgery, Renmin Hospital, Wuhan University, Wuhan 430060, China;

2. Department of Pharmacology, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030)

**【Abstract】 Objective** To compare two types of anastomosis in a rat model of intimal hyperplasia of autologous vein graft in rats. **Methods** Twenty SD rats were randomly divided into two groups. The external jugular veins were anastomosed with the common carotid artery of the same side with interrupted suture and twice continuous suture, respectively. Tissue samples were harvested at 4 weeks after the operation. The vein graft patency was observed and the thickness and area index of the neointima and media were analyzed by histopathology with HE staining. **Results** Compared with the interrupted suture group, the twice continuous suture showed less time consuming, less bleeding, but also less graft patency. The intimal hyperplasia in the vein grafts occurred after the two anastomosis methods had no significant difference. **Conclusions** The twice continuous suture has advantages of less time consuming and less bleeding, but it requires more skill. There is no significant difference in the degree of intimal hyperplasia of autologous vein grafts in rats by the two anastomosis methods.

**【Key words】** Neointima; Vein graft; Intimal hyperplasia; Anastomosis; Interrupted suture; Twice continuous suture

冠状动脉旁路移植术(coronary artery bypass grafting, CABG)是目前外科治疗冠心病的主要手段。大隐静脉是CABG中使用最多的桥血管。术后

移植静脉桥再狭窄是影响其远期疗效的主要原因。现在主要应用动物的静脉与动脉吻合模型来进行再狭窄的研究。在动静脉吻合时,多采用端端间断

[通讯作者]毛张凡(1980-),男,博士,主治医师,E-mail: happymzf@live.cn。

吻合<sup>[1]</sup>。本实验中采用改进的 2 次连续吻合法取得较好效果。

## 1 材料和方法

### 1.1 手术器械

9/0 带针缝线 (polypropylene 线) (上海医用缝合针厂); Carl Zeiss 单人双目手术显微镜 (德国蔡司光学仪器公司); 显微外科手术器械 (上海手术机械厂); 无损伤小动脉夹 (上海手术机械厂)。

### 1.2 模型建立

健康雄性 SD 大鼠 20 只, 购至同济医学院实验动物学部 [合格证号为 (SCXK(鄂) 2004-2007)], 体重 (250~300) g, 在屏障系统内正常喂养, 自由进食和饮水, 实验室 12 h 照明、12 h 黑暗。随机分为间断吻合组和连续吻合组, 每组 10 只。10% 水合氯醛腹腔注射麻醉 (3 mL/kg) 后, 1% 肝素 1 mL/kg 腹腔注射肝素化。取仰卧位, 颈部备皮, 0.5% 活力碘消毒, 右侧胸锁乳突肌前切口 (颈部正中偏右 0.5 cm 纵行切口), 长约 3 cm。充分游离颌下腺及胸锁乳突肌后, 将颌下腺翻至头侧, 便于暴露术野。采用无损伤技术分离颈外静脉备用: 分离时不用镊尖沿静脉纵轴滑行分离, 因为这样内皮容易由于对血管的牵拉受损。用显微剪沿静脉外膜仔细剪开, 逐步分离出静脉。

游离约 1.5 cm 的颈外静脉后, 用 9/0 缝线结扎近心端。剪断远心端, 用低分子肝素小针浅入静脉腔, 用 1% 肝素水轻柔冲洗颈外静脉内血液。剪去针头探入部分静脉段, 备用。于同侧胸锁乳突肌与胸骨舌骨肌之间显露颈动脉鞘, 注意保护迷走神经。游离颈总动脉约 2 cm, 两端以无损伤动脉夹阻断血流。其中近心端上两个动脉夹, 防止动脉夹滑落, 血管回缩, 出血无法控制。于动脉中段, 45 度斜形剪断, 用肝素水如上法冲洗动脉, 剪去针头探入部, 备用。先行颈外静脉远心端与颈总动脉近心端的端端吻合。剪断近心端静脉, 如上法肝素水冲洗, 剪去针头探入部分静脉段后, 再行静脉近心端与动脉远心端的端端吻合。

吻合方式:

间断吻合: 先于动静脉一面的两端各缝一针 (假设为 6 点和 12 点), 打结于腔外, 保留一定长度缝线用作牵引。用动脉夹牵引 12 点端缝线, 自行牵引 6 点处缝线, 使吻合口两侧血管壁分开, 再吻合中

点即 3 点处。再牵引 3 点缝线, 以此点为端, 在 3 点到 6 点、6 点至 12 点间视宽度缝合 1 到 2 针。此时应避免牵引过度而损伤血管。吻合中点时应避免缝到下面血管壁, 打结前可翻转观察下壁有无缝到。如此吻合血管另一面。这样 8~10 针完成血管初步吻合。同法完成与颈总动脉远端血管吻合。先后开放近、远端血管夹, 排气并观察血管通畅及漏血情况。如仅少量渗血, 温生理盐水湿棉球轻轻压迫数分钟可止血, 如出血较多, 则重新上动脉夹, 观察吻合口情况, 出血部位, 酌情加针。动脉夹刚开放时, 吻合口处形成湍流, 容易出血, 待层流形成后, 出血则自止, 故不宜加针过多, 一般 1、2 针即可。如图 1 中: A 图中为吻合完成时图像, 血流通畅; B 图为四周后取材时图像, 血管通畅 (图 1, 2, 3 见彩插 8)。

连续吻合: 于 6 点和 12 点处各用一单头带线针缝合一针, 打结于腔外, 并后保留一定长度尾端用作牵引及与另一缝线打结。用动脉夹牵引 12 点端缝线, 自 6 点处开始向 12 点端单纯连续缝合。等间距进针 3 至 4 针, 与 12 点尾端缝线打结。此时, 只需动静脉壁靠拢即可, 连续缝合线不可有张力松弛即可, 最后打结时一定不能有力, 否则吻合口会被缝线缩小而至狭窄。同法完成 12 点至 6 点的连续缝合。如上完成与颈总动脉远端血管吻合。同上开放动脉夹排气、检查出血。一般不用加针。如图 2 中: A 图为吻合完成时图像, 吻合口无狭窄, 血流通畅; B 图吻合口可见明显狭窄; C 图示连续吻合四周后取材时血流仍通畅。

待出血停止, 静脉移植血管迅速充盈、红润、随动脉一起搏动良好, 则说明血管通畅, 将血管复位, 消毒后缝皮。

### 1.3 取材

于 4 周后麻醉动物, 于原颈部切口处剪开皮肤, 仔细分离出移植静脉, 且两端游离出足够的动脉。观察移植静脉血管, 如红润、随动脉搏动则说明通畅; 如血管塌陷、苍白、发紫、膨大则说明移植植物衰败。如图 3 中: A 图中为间断吻合后四周静脉血管苍白无血流; B 图中间断吻合后 4 周吻合口两端明显膨大; C 图为连续吻合后 4 周, 因吻合口狭窄至静脉血管塌陷并血栓形成。

开胸, 于主动脉根部插入 5 号头皮针并剪开右房, 接 50 mL 注射器缓慢退推入 1% 肝素水, 待回流血颜色变淡而至无色后, 换 4% 多聚甲醛加压注入

行标本固定。待大鼠尾巴僵直后,将移植静脉两端动脉结扎后取下泡于装有 4% 多聚甲醛的青霉素小瓶中固定 24 h。石蜡包埋,连续切片(厚 5 μm),取 3 张切片行 HE 染色(图 1~3 见彩插 8)。

### 1.4 内膜与中膜厚度、面积比

用 Image Pro 5.0 图像分析系统每张切片随机 4 个点的内膜与中膜厚度比及血管整体的内膜中膜面积比。

### 1.5 统计学方法

用 SPSS13.0 统计软件,实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示。两间比较使用独立样本 *t* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 手术过程

连续吻合组手术时间约为(50 ± 8) min,明显短于间断吻合的(68 ± 13) min。吻合完毕时,连续吻合出血量较间断吻合少;连续吻合基本不需要加针,而间断吻合平均每只大鼠需加 1~2 针。

### 2.2 血流通畅情况

所有大鼠无意外死亡。吻合完成时血流均通畅。术后 4 周,间断吻合组有 1 只静脉桥衰败,两端膨大;连续吻合组有 2 只静脉桥苍白、塌陷,均为吻合口严重狭窄。

### 2.3 新生内膜情况

光镜下静脉桥管壁均增厚,新生内膜增生明显,中膜增厚。两组内膜与中膜的厚度及面积比,没有显著性差异(表 1)。

表 1 间断吻合和连续吻合组各项指标如下,  
( $\bar{x} \pm s, n = 7 \sim 10$ )

Tab. 1 Comparison of some parameters of interrupted suture and twice continuous suture amastomosis

	间断吻合组 Interrupted suture group	连续吻合组 Twice continuous suture group
手术时间 Operation time	68 ± 13 min	50 ± 8 min**
平均每只加针数 Average added needles	1.7	0.3
衰败静脉数 Number of failure veins	1	3
内膜中膜厚度比 Intima/media thickness index	1.36 ± 0.22	1.56 ± 0.22
内膜中膜面积比 Intima/media area index	1.30 ± 0.21	1.53 ± 0.22

与间断吻合组相比\*\* $p < 0.01$

Note: \*\* $p < 0.01$ , vs. interrupted suture group

## 3 讨论

自 1969 年首次应用大隐静脉桥进行冠状动脉旁路移植术以来<sup>[2]</sup>,虽然冠脉外科各种新技术不断涌现,由于大隐静脉取材方便、数量充足、吻合容易仍然是最常用的血管桥。但静脉桥术后会因新生内膜增生、粥样斑块形成、血栓形成等发生再狭窄,其术后 1 年的堵塞率约 12%,10 年通畅率不及 50%<sup>[3]</sup>。这促使人们不断地通过动物实验来研究其机制和防治手段。实验性自体静脉移植模型多种多样,血管桥主要为颈外静脉、大隐静脉或下腔静脉,移植部位多在颈动脉、腹主动脉或股动脉<sup>[4-6]</sup>。其中,大鼠的颈外静脉端吻合至颈总动脉能较好的模拟静脉桥再狭窄的病理生理过程。血管吻合方法主要有连续吻合、间断吻合、Cuff 套管法<sup>[7]</sup>。

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,均可影响移植静脉管壁的结构和功能。本实验中用显微剪无损伤分离血管,这样虽然早期容易误伤血管,但熟练后基本上不会误伤血管,且对血管零牵拉及保留血管外膜的滋养血管。对静脉轻微的牵拉即可造成静脉内皮的损失,而且静脉受刺激后会收缩而至管径变小不利于后面的血管吻合,无损伤分离可以避免血管内皮的损伤和收缩。

本实验中采取的 2 次连续吻合方法与单纯连续吻合方法简便易行。单纯连续吻合单人操作时当缝完一半转面后不易暴露不易操作,造成误缝,且容易将缝线收紧;若不收紧,由于距离较长,最后又难以收紧,因此成功率低。本实验中所采取的 2 次连续吻合法,由于两端各缝一针,可作牵引线,易于暴露,可一人操作完成。本法由于暴露清楚,不会造成误缝后壁;由于每次只连续缝合血管半周,便于即时观察缝线松紧,及时调整也便于调整。依术者经验,一面中间以缝合 3~4 针为宜;缝线宜松不宜紧,以两侧血管壁靠拢为宜,否则容易造成吻合口狭窄;术者不宜牵引带针缝线,否则容易不自觉中将缝线收紧;且最后打结时,注意不要收紧缝线。此法缝完一面,可翻转缝合下一面,不会有收紧缝线之虞。因此,此法克服了单纯连续吻合不易暴露、不易操作、不易调整缝线的弊端。

(上接第 41 页)

侧支循环比较丰富,一般均可复律。相比之下,介入法制备过程比较顺利,除一例因微导管进的位置太深导致室颤死亡外,其余几例均成功存活,在制备过程中应注意:(1)导管不宜在冠状动脉内停留时间太久,微导管位置不宜进的太深,否则均易诱发室颤,增加死亡率;(2)栓塞前降支位置不宜过高,以第2对角支远端最为合适<sup>[7]</sup>,高位阻断后,梗死面积过大,术后易并发急性左心衰而致动物死亡,死亡率可高达85%<sup>[8]</sup>。

本实验所采用的两种造模方法均可成功制备犬的急性心肌梗死模型,并为心电图、病理组织切片的方法所证实。其中,开胸结扎法效果确实可靠,但操作难度高,创伤大,动物不容易存活;而介入法简便易行,创伤小,死亡率低,结果同已有报道一致,是一种有效的犬急性心肌梗死造模方法。

#### 参考文献:

- [1] American Heart Association. Statistical Fact Sheet—Populations: 2009 Update. Available at: <http://www.americanheart.org/downloadable/heart/1236204012112INTL.pdf>.
- [2] Rota M, Padin-Iruegas E, Misao Y, et al. Local activation or implantation of cardiac progenitor cells rescues scarred infarcted

myocardium improving cardiac function [J]. *Circ Res*, 2008, 103: 107-116.

- [3] Sabbah HN, Sharov VG, Goldstein S. Cell death, tissue hypoxia and the progression of heart failure [J]. *Heart Fail Rev*, 2000, 5: 131-138.
- [4] 孙帅,郭涛. 冠状动脉堵塞法与栓塞法制备小型猪心肌梗死模型的对比 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13: 9913-9916.
- [5] 谢忠忱,尹明,荀鹏,等. 开胸与微创方法制备小型猪急性心肌梗死模型的对比研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2006, 16: 46-49.
- [6] Zhang WZ, Zha DG, Cheng GX, et al. Assessment of regional myocardial blood flow with myocardial contrast echocardiography: an experimental study [J]. *Echocardiography*, 2004, 21: 409-416.
- [7] 李可,刘卫金,邹利光,等. 闭胸式冠状动脉插管法建立犬急性心肌缺血模型 [J]. *第三军医大学学报*, 2007, 29: 1630-1631.
- [8] Murasato Y, Nagamoto Y, Urabe T, et al. Effects of lidocaine and diltiazem on recovery of electrophysiologic activity during partial reperfusion following severe myocardial ischemia in canine hearts [J]. *Electrocardiology*, 1997, 30: 113-125.

(修回日期)2011-07-11

(上接第33页)

由实验结果可以看到,相比间断吻合,连续吻合用时更短,出血更少,操作更简便。间断吻合一般打结剪线8~10次,而连续吻合2次;间断吻合开放后多需加针,找出血点加针不仅出血较多而且费时困难。但连续吻合比间断吻合对术者要求更高,吻合口容易被缝线缩窄。一般需先掌握间断吻合法再尝试连续吻合。连续吻合更易造成吻合口的狭窄,特别是初期对缝线松紧程度的把握不确切。以术者经验,一旦熟练后基本上较少发生吻合缩窄。开放后静脉桥充盈好、搏动好,但并不能排除吻合口狭窄。早期练习时可术后一周时观察一下桥血管,了解血管情况。

结果显示,两种方法4周后静脉血管的再狭窄程度类似,说明两法的造模效果类似。因此,采用任何一种方法对实验结果没有影响。吻合方法的选择,取决于实验的需要和术者的习惯。

#### 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]. *上海实验动物科学*, 2002, 22: 89-91.

- [2] Favalaro RG. Saphenous vein graft in the surgical treatment of coronary artery disease. Operative technique. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1969, 58(2): 178-185.
- [3] Fitzgibbon GM, Kafka HP, Leach AJ, et al. Coronary bypass graft fate and patient outcome: angiographic follow-up of 5,065 grafts related to survival and reoperation in 1,388 patients during 25 years [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1996, 28(3): 616-626.
- [4] 刘苏健,邓勇志,马捷. 大鼠血管移植模型的建立及改进 [J]. *山西医科大学学报*, 2007, 38(10): 955-957.
- [5] 刘永志,葛建军,林敏,等. 改良"cuff"法建立大鼠自体静脉移植动脉化模型 [J]. *安徽医药*, 2010, 14(5): 560-562.
- [6] 罗俊辉,邹良建. 静脉桥血管外支架的研究 [J]. *国际心血管病杂志*, 2006, 33(4): 223-225.
- [7] Kloppenburg GT, de Graaf R, Grauls GE, et al. Chlamydia pneumoniae aggravates vein graft intimal hyperplasia in a rat model. *BMC Microbiol*. 2007, 6(7): 111.

(修回日期)2011-08-18

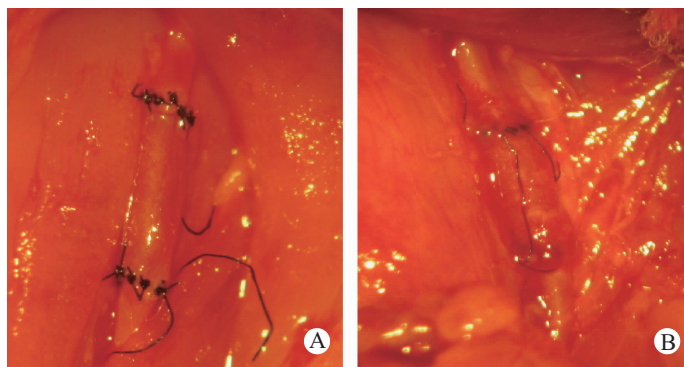


图 1 A:间断吻合完成时图片; B:4 周后取材时图片,可见血管通畅、红润。

Fig. 1 A The picture after vascular anastomosis by interrupted suture.

Fig. 1 B The same site seen at 4 weeks after anastomosis. The vein has a red and clear appearance and the blood flow is patent.

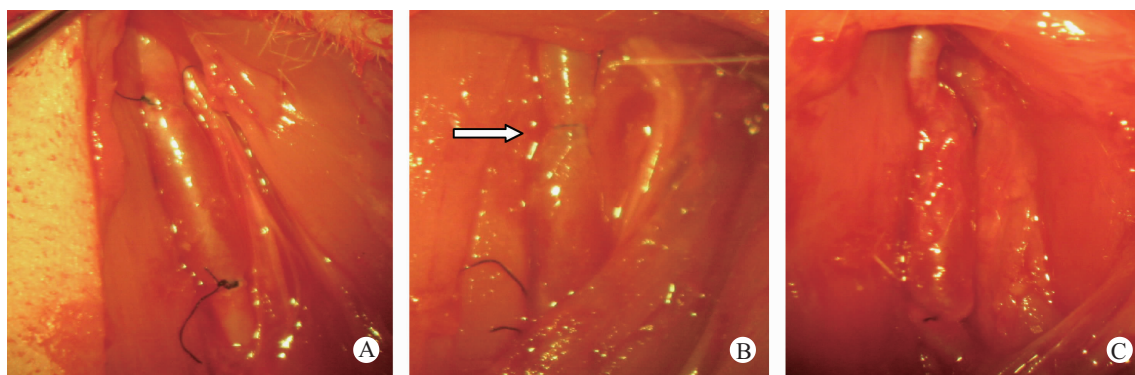
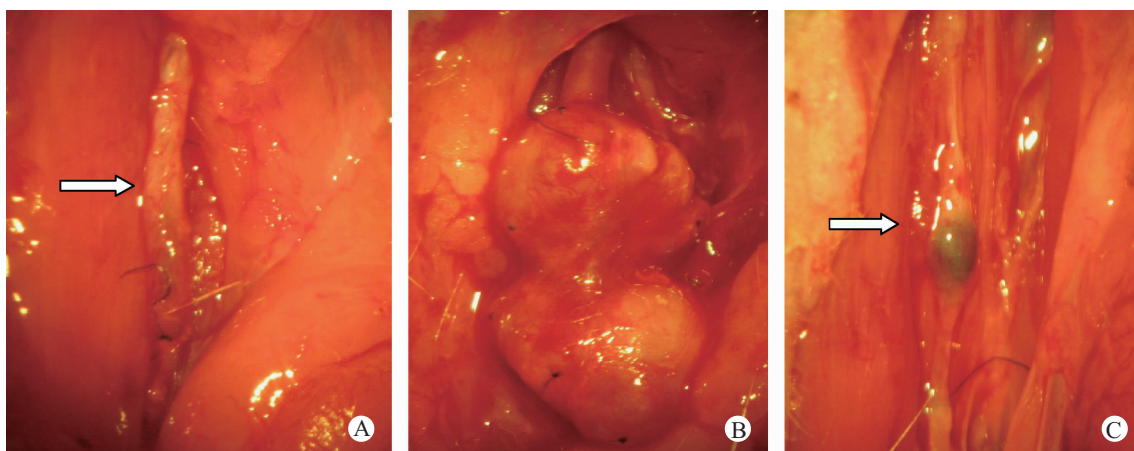


图 2 A:连续吻合完成时图片,静脉血管通畅;B:可见吻合口明显缩窄(箭头所示);C:4 周后取材时图片,可见静脉血管通畅,红润。

Fig. 2 A. The picture after vascular anastomosis by continuous suture. The vein is patent; B. shows the anastomotic stricture (arrow). C. shows the patent vein at 4 weeks after anastomosis.



A 图静脉血管苍白(箭头所示),无血;B 图吻合口两端显著膨大;C 图由于吻合口缩窄而使静脉血管塌陷,其内血栓形成(箭头所示)。

图 3 4 周后取材时图片,A 图、B 图用间断吻合法,C 图连续吻合法。

A. The vein appeared pale and no blood flow; B. Two ends of the vein were dilated; C. The vein had thrombosis and no blood due to anastomotic stricture.

Fig. 3 Three pictures show the veins at 4 weeks after operation. The anastomosis was completed by Interrupted suture (A and B) and by twice continuous suture (C).