

· 临床研究 ·

## 戊二醛鞣制 VBJVC 流体动力学的体外实验研究\*

吴世友, 何德沛, 余 扬, 杨 桦, 童亚西, 李 刚

(重庆市中山医院/重庆市心肺血管疾病治疗研究中心 400013)

**摘要:**目的 体外测试戊二醛(GA)鞣制牛颈外静脉带瓣管道(VBJVC)流体动力学的相关特性。方法 用自行制作的流体动力学测量仪,对 20 根经 GA 鞣制的 VBJVC 进行逆瓣膜及顺瓣膜灌流量测定,测量跨瓣压差及瓣膜管道逆行加压实验。并用光镜检查管道及瓣膜形态结构改变。结果 (1)逆/顺行灌流量百分比(P)。分为 3 组:A 组( $P < 20\%$ )11 根;B 组( $20\% \leq P \leq 50\%$ )5 根;C 组( $P > 50\%$ )4 根。(2)跨瓣膜压差很小,为 0~1 mm Hg。(3)逆行加压实验,光镜检查未发现瓣膜及管壁损伤,上皮细胞、纤维细胞、胶原纤维及弹力纤维均完整无损。(4)瓣膜抗反流功能与瓣叶高度和瓣窦高度之比呈正相关( $P < 0.01$ )。结论 经 GA 鞣制的 VBJVC 抗反流能力与瓣叶高度和瓣窦高度之比呈正相关。瓣膜开放功能好。逆行加压试验显示瓣膜及管道结构无损伤。

**关键词:**牛颈外静脉带瓣管道;流体动力学;体外实验

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.24.030

中图分类号:R541.105

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)24-3370-03

## Hydrodynamic experimental study on VBJVC tanned by GA in vitro\*

WU Shi-you, HE De-pei, YU Yang, et al.

(Chongqing Zhongshan Hospital/Cardiopulmonary and Vascular Diseases Treatment Research Center of Chongqing, Chongqing 400013, China)

**Abstract: Objective** To test the hydrodynamic characteristics of Valved bovine jugular vein conduit(VBJVC)tanned by glutaraldehyde(GA)outside the body. **Methods** Both antidromic and antegrade perfusion flow of 20 VBJVC tanned by GA were measured with a hydrodynamic admeasuring apparatus made by ourselves. The transvalvular pressure gradient of these VBJVC was measured and the antidromic pressurization test of the valved conduit. Finally, light microscopy to examine the morphological structure change of the valved conduit. **Results** (1)The percentage of antidromic and antegrade perfusion flow(P). we divide 3 groups, Group A: 11 VBJVCs,  $P < 20\%$ ; Group B: 5 VBJVCs,  $20\% \leq P \leq 50\%$ ; Group C: 4 VBJVCs,  $P > 50\%$ . (2)The transvalvular pressure gradient ranging from 0 to 1 mm Hg is small. (3)The pressurization test of antidromic perfusion; light microscopy find out the epithelial cells, fibroblasts, collagen fibers, and elastic fibers all remained intact. (4)The anti-reflux function of valves had a positive correlation with the ratio of the height of the valve leaflets to the height of valve sinus( $P < 0.01$ ). **Conclusion** VBJVCs tanned by GA had a positive correlation with the ratio of the height of the valve leaflets to the height of valve sinus. VBJVC valves performed good opening function When the pressurization test of antidromic perfusion was carried out, while no damage was found in valves and conduits.

**Key words:** valved bovine jugular vein conduit; hydrodynamic; experimental outside the body

近年来,个别心脏血管治疗中心已经将鞣制牛颈外静脉带瓣管道(valved bovine jugular veinconduit, VBJVC)应用于临床。作为重症法洛四联症、肺动脉闭锁、右室双出口、共同肺动脉干、大血管转位合并肺动脉狭窄等心脏先天性畸形重建右室流出道的异种生物管道,取得较好的治疗效果,显示出良好的应用前景。但有关 VBJVC 流体动力学在体外的研究和报道甚少。本研究针对 VBJVC 作为主肺动脉替代物,植入体内后有关流体动力学的要求,自行设计和研制了模拟肺循环的测试装置,对 20 根随机采取并用戊二醛(glutaraldehyde, GA)鞣制的 VBJVC 进行瓣膜抗反流功能测定、跨瓣压差测定、瓣膜关闭时的逆行加压实验及管道、瓣膜的解剖结构与功能关系的研究,以期对 VBJVC 的制备及临床应用提供进一步的实验及理论依据。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料

**1.1.1** 自行设计并制作的流体动力学测试仪 模仿人体肺循环系统流体动力学环境,以体外循环机的搏动性水泵代替右心室,连接模拟肺循环压力的循环管道,将 VBJVC 置于“右心室”流出口作为“主肺动脉”替代物,并在 VBJVC 的瓣前和瓣后安装压力监测仪。在循环系统内加上必要的旁路、分流管道和开关,以备作为测验相关数据时使用。测试仪及其原理见图 3 图 1、2。

**1.1.2** VBJVC 标本的制作 于本地屠宰场随机选择黄牛 10 条,采取新鲜牛颈外静脉 20 根,取出后立即放入 4℃生理盐水中,带回实验室。在无菌条件下,用手术刀剪去除血管鞘膜及附着的脂肪、肌肉组织。对细小血管分支进行结扎,并用大量生理盐水反复漂洗及冲洗血管内外壁。然后用 0.5%GA 对每根 VBJVC 腔内进行灌注,将血管充盈,固定瓣膜呈关闭状态,并将整根血管浸泡于 0.5%GA 中,固定时间应在 48 h 以上。保存于 10℃冰箱内备用。

\* 基金项目:重庆市科委科技攻关基金资助项目(CSTC2007AC5020)

1.2 方法

1.2.1 VBJVC 瓣膜抗反流功能测定 分别测定 20 根 VBJVC 在相同压力下(15 mm Hg)、一定时间内(1 min)逆/顺行灌注时的灌流量。以计算出逆/顺灌流量百分比(P)作为瓣膜抗反流功能的指标,分为 3 级:Ⅰ级为  $P < 20\%$ ,抗反流功能好(A 组,11 根);Ⅱ级为  $20\% \leq P \leq 50\%$ ,抗反流功能中等(B 组,5 根);Ⅲ级为  $P > 50\%$ ,抗反流功能差(C 组,4 根)。逆行灌注量测试方法(封 3 图 2):用血泵将泵管钳闭,泵不转动,打开 A,关闭 C、D、E,VBJVC 远端逆行承受 20 cm H<sub>2</sub>O 压力(相当于 15 mm Hg 肺动脉压力),打开压力监测仪,观察压力 2 也达到 15 mm Hg 后,开放 A 1 min,计算流入瓶内的液体量,即为该 VBJVC 1 min 的逆行灌流量。顺行灌流量测试方法:将 A 关闭,打开 B、C,关闭 D、E。VBJVC 远端仍保持 20 cm H<sub>2</sub>O 压力(压力 2 显示 15 mm Hg),然后开动血管顺转,流量以压力 1 达到 15 mm Hg 时,取稳定该压力转流时 1 min 流量,即为 1 min 的顺行灌流量。

1.2.2 测量 VBJVC 的跨瓣压差 将 A 关闭,打开 B、C,关闭 D、E。以每分钟 3 000 mL 的流量顺行灌注 VBJVC,测得每根 VBJVC 的瓣前(压力 1)和瓣后(压力 2)的压力,求得跨瓣压差。

1.2.3 管道及瓣膜的逆行加压试验 将 A、B 关闭,打开 3,关闭 D,打开 E。调节泵的流量,以维持瓣膜远端的压力(压力 2)达到需要的水平(120 mm Hg、80 mm Hg、50 mm Hg)并保持压力 60 min。每根 VBJVC 在受压试验前,剪下一小段管道,留作每根 VBJVC 受压后作光镜检查时的对照组。

1.2.4 检查 VBJVC 管的方法 剖开 VBJVC,测量管径大小,管壁厚度,观察管壁及瓣膜形态结构有无损伤,观察每根管道有几组瓣膜及瓣叶发育情况,测量瓣叶与瓣窦的高度,计算其高度之比与瓣膜抗反流功能的关系。最后,均作病理光镜检查。

1.2.5 统计学处理 应用 SPSS13.0 软件进行统计分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 VBJVC 瓣膜抗反流功能测试结果 本组 20 根 VBJVC 测得 P 的结果见表 1。

2.2 跨瓣压差测试结果 20 根 VBJVC 顺行灌注量为 3 000 mL/min 时跨瓣压差近端(压力 1)较远端(压力 2)高出 1 mm Hg 者 12 例,两者无压差者 8 例,平均压差为 0.6 mm Hg。跨瓣压差高低与 P 不相关( $P > 0.05$ )。

表 1 3 组 VBJVC 平均逆/顺灌流量百分比(P)

组别	VBJVC 数量	平均逆行灌流量(mL/min)	平均顺行灌流量(mL/min)	P(%)
A 组	11	22.45	185.45	12.00
B 组	5	49.00	176.00	27.64
C 组	4	129.75	182.50	71.10

2.3 管道及瓣膜逆行加压试验结果 20 根 VBJVC 在不同灌注量下,逆行加压 60 min,情况如下:因为 B、C 组的 VBJVC 有中-重度的瓣膜关闭不全,逆行灌注加压时反流重,致使瓣膜远端平均压不能升至 120 mm Hg,所以恒定加压至平均压为 80 mm Hg(5 根)及 50 mm Hg(4 根)。A 组 VBJVC 瓣膜反流轻,将平均压加至 120 mm Hg 者 11 根,其中 1 根 VBJVC 在逆行加压时,灌注量掌握不好,出现瞬间平均压高达 300 mm Hg 左右,持续 4~5 min,至 VBJVC 重度膨胀,出现瓣膜相对关闭不全。加压后剖开 VBJVC 管道,用肉眼观察,未发现瓣膜及管道的损伤。全部送病理切片检查,HE 染色及地衣红弹力纤维染色,并与加压前所取对照组切片对比。除 1 根加压达 300 mm Hg 左右管道及瓣膜发现部分弹力纤维、胶原纤维断裂、内膜不完整外,其余加压在 50 mm Hg、80 mm Hg 和 120 mm Hg 的 19 根 VBJVC 管道及瓣膜切片显示:内膜上皮细胞、纤维细胞、胶原纤维、弹力纤维排列正常有序,完好无损。

2.4 VBJVC 及瓣膜的解剖结构观察结果 将 VBJVC 全部剖开,作管内瓣膜结构观察并测量相关数据,结果见表 2。

表 2 20 根 VBJVC 管道及瓣膜相关数据分组测试平均值

组别	VBJVC 数量	管壁厚度 (mm)	管腔内径 (mm)	瓣膜组数	瓣叶数量	瓣叶高度 (mm)	瓣窦高度 (mm)	瓣叶/瓣窦 百分比(%)	P(%)
A 组	11	0.67	16.71	2.00	5.36	11.78	15.17	0.776 5	12.00
B 组	5	0.66	16.40	2.00	5.00	11.10	17.78	0.624 2	27.64
C 组	4	0.79	17.75	2.50	5.25	12.02	20.80	0.577 8	71.10

本组 20 根 VBJVC 内径在 15.5~19.3 mm 之间,平均 16.9 mm。每根 VBJVC 通常有 2~3 组瓣膜,每组瓣膜可有 2~3 个呈半月瓣的瓣膜,半月瓣由瓣窦和瓣叶组成。瓣膜抗反流功能与瓣膜的组数和瓣膜的数量、管径的大小不相关( $P > 0.05$ )。而与瓣叶高度和瓣窦高度之比呈正相关( $P < 0.01$ )。A 组抗反流功能好的 11 根 VBJVC,瓣叶与瓣窦高度之比平均为 0.776 5。B 组抗反流功能中等的 5 根,瓣叶与瓣窦高度之比平均为 0.624 2。C 组抗反流功能差的 4 根 VBJVC,瓣叶与瓣窦高度之比平均为 0.577 8。

3 讨 论

人体主肺动脉是一根带瓣膜的管道,在连接右心室出口

处,有 1 个由 3 个半月瓣组成的肺动脉瓣。右心室收缩时瓣膜被打开,血液顺畅排入肺血管。右心室舒张时,瓣膜关闭,防止肺血反流,保证右心室血液周而复始往肺循环流动,加之肺循环的压力,形成了正常肺循环流体动力学的特征。VBJVC 取自牛颈外静脉,也是一个由带有 2~3 个半月瓣组成的天然带瓣管道。作为人体主肺动脉的天然替代物,近年来已经开始应用于临床,显示出优越的应用前景<sup>[1-2]</sup>。VBJVC 植入人体后,对流体动力学的要求,集中在以下几个方面:(1)管道瓣膜关闭时的抗反流功能如何?(2)瓣膜开放情况、跨瓣压差如何?(3)管道及瓣膜抗压力的能力如何?(4)管道及瓣膜的结构形态与功能的关系? 本实验模拟肺循环的原理,用自行设计和制作的

流体动力学测试仪在体外针对以上问题进行了研究。

**3.1 自制的流体动力学测试仪** 血液系统是一个由心脏和血管互相串连而构成的闭锁的液体系统,心脏有节律地搏出血液,以推动血液在血管内循环流动。根据这一原理,用人工心肺机的搏动性水泵代替右心室。将用于测试的 VBJVC 模拟主肺动脉,置于水泵顺行转动时的流出道上。在 VBJVC 远端连接的循环管道上并联一垂直管及容器,以盛一定高度的水柱(20 mm H<sub>2</sub>O),使 VBJVC 的远端承受相当于肺动脉 15 mm Hg 的压力。在 VBJVC 的近端及远端分别连接两个压力监测仪,监测瓣前及瓣后的压力。另外根据测试的不同要求,加置了旁路管道及开关,根据不同需要予以钳闭或打开。从测试情况看,测试仪基本上满足了测试 VBJVC 抗反流功能、跨瓣压差及加压实验的要求,达到了在体外测试 VBJVC 流体动力学各项指标的目的。

**3.2 VBJVC 的抗反流功能及跨瓣压差** 本组随机从 10 头宰杀黄牛中取得 20 根牛颈外静脉,经 GA 鞣制后测试每根 VBJVC 的瓣膜抗反流功能。用单位时间内(1 min)P,表示其抗反流功能,并分为 3 级:Ⅰ级  $P < 20\%$ ;Ⅱ级  $20\% \leq P \leq 50\%$ ;Ⅲ级  $P > 50\%$ <sup>[3]</sup>。本组抗反流功能好的 A 组 11 根,抗反流功能中等的 B 组 5 根,抗反流功能差的 C 组 4 根。说明天然 VBJVC 经 GA 鞣制后约有一半左右抗反流功能是较好的,可以作为主肺动脉的替代物,提示在制作和使用 VBJVC 时应注意挑选和检查,使用抗反流功能好的管道。20 根 VBJVC 的顺行灌注实验,在灌注流量 3 000 mL/min 时,测得管道前、后的跨瓣压差均在 0~1 mm Hg,平均 0.6 mm Hg。说明瓣膜开放完全,作为主肺动脉的代用品,在右室收缩期射血时跨瓣无阻力。

**3.3 VBJVC 及瓣膜逆行加压实验** 人体肺循环是一低压环境,肺动脉压力通常在 15 mm Hg 左右。与牛颈外静脉在牛体内承受的压力相差无几,作为主肺动脉替代品,适应人体右心系统的压力应无问题<sup>[4-5]</sup>。如果发生肺动脉高压呢?因此,设计了承受不同压力组的加压实验。将水泵逆转,对 VBJVC 逆行加压,抗反流功能差的 C 组 4 根 VBJVC,因瓣膜漏液,只能加压到 50 mm Hg;抗反流功能中等的 B 组 5 根 VBJVC,加压到 80 mm Hg;抗反流功能好的 A 组 11 根 VBJVC,可加压到 120 mm Hg。惟其中 1 根 VBJVC,最初加压时,灌注量控制不好,至瞬间压力高达 300 mm Hg 左右,持续 5~6 min,出现管道膨大,瓣膜相对关闭不全,灌注液泄漏情况。虽然肉眼检查

未见管壁及瓣膜破损,但光镜检查发现该例管壁及瓣膜有散在胶原纤维及弹性纤维断裂、内膜不完整。说明压力过高对 VBJVC 的结构和功能会带来损伤和影响。其余 19 例未见管壁及瓣膜破损、上皮细胞、纤维细胞、胶原纤维、弹性纤维都完整无损。说明 VBJVC 耐受升高的压力尚有一定空间,在肺动脉高压可能升高的压力范围内,尚可承受。由于体外实验,加压时间较短,不能作出更准确的结论。

**3.4 VBJVC 形态结构与抗反流功能的关系** GA 鞣制后的 VBJVC 管壁厚薄适中,柔软,富于弹性,管腔大小及长短与牛的体质量有关。本组牛的体质量相差不大,所以管腔内径为 15.5~19.3 mm。每根 VBJVC 通常有 2~3 组瓣膜,每组瓣膜有 2~3 个半月瓣。每组瓣膜发育情况有差异,有的发育好,瓣叶高,成为抗反流的主要瓣膜;发育不好者,只遗留遗迹。本组测试 20 根 VBJVC 结果显示抗反流功能与瓣膜的组数和瓣膜的数目及管径的大小无关,而与瓣叶高度和瓣窦高度之比呈正相关。因此,在制备和使用 VBJVC 时,应仔细检查以明确最佳的抗反流功能强的瓣组,应予以保留和保护。

#### 参考文献:

- [1] Como AF, Humi M, Griffin H, et al. Bovine jugular vein as right Ventricle-to-pulmonary artery valved conduit[J]. J Heart Valve Dis, 2002, 11(2):242.
- [2] Breyman T, Thies WR, Boethig D, et al. Bovine Valved Venous Xenografts for RVOT reconstruction; Results after 71 implan-tations[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2002, 21(4):703.
- [3] 吴忠仕,张竞超,程端,等.牛颈静脉带瓣管道结构特性及流体动力学的实验研究[J]. 湖南医科大学学报, 2003, 28(3):298.
- [4] Ichikawa Y, Noishiki Y, Kosuge T, et al. Use of a bovine jugular vein graft with natural valve for right ventricular Outflow tract reconstruction; A one-year animal study [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1997, 114(2):224.
- [5] 申林,何德沛,向小勇.医用牛颈静脉带瓣管道的基础研制及临床应用[J]. 重庆医学, 2005, 34(4):613.

(收稿日期:2010-06-13 修回日期:2010-07-22)

(上接第 3369 页)

发生。自开始实施这种培训考核机制后,员工工作的自觉性和积极性得以提高,新员工轮转岗位到独立上岗时间缩短,工作能力较以往有所提升。

#### 4 小 结

经过准备实验认可、到认可通过、再到复评短短 3 年的时间,本科免疫专业人才培养从开始的无方法、无计划到目前建立了 1 套较为全面的、系统的培养机制,改变了以往人才缺乏的现象,促进了员工专业素质的提高,加快了人才培养的速度,更重要的是能够适应现代免疫学检验发展的需要。参加 ISO15189 实验认可对本科免疫学检验人才的培养起到了积极、深远的作用。

#### 参考文献:

- [1] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL02:2008 医学

实验室质量和能力认可准则[S/OL]. (2010-06-04) [2010-08-05]. <http://wenku.baidu.com/view/f57c271c59eef8c75fbfb31a.html>.

- [2] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL22:2008 医学实验室质量和能力认可准则在临床免疫学检验领域的指南[S]. (2009-06-27) [2010-08-07]. <http://www.3dportal.cn/discuz/viewthread.php?tid=755742&extra=page%3D1>.

(收稿日期:2010-10-14)