

## 论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.07.007

网络首发 [https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.R.20200323.1337.004.html\(2020-03-24\)](https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.R.20200323.1337.004.html(2020-03-24))

## 覆膜镍钛合金支架管一期修复结直肠穿孔的实验研究\*

王纯忠<sup>1</sup>, 沈三弟<sup>2</sup>, 卢峰<sup>3</sup>, 仇卫健<sup>4</sup>, 高小龙<sup>4</sup>, 肖慧莲<sup>1</sup>, 谢明霞<sup>1</sup>, 杨茂华<sup>1</sup>, 区栋财<sup>1</sup>, 刘楚天<sup>1</sup>

(1. 广东省广州市第一人民医院普通外科 510380; 2. 广东省清远市人民医院普通外科 511500;

3. 江苏阳普医疗科技有限公司, 江苏扬州 225109; 4. 南京微创科技有限公司, 南京 210061)

**[摘要]** **目的** 探讨覆膜镍钛合金支架管(LF-NTST)对一期修复结直肠穿孔的效果。**方法** 采用西藏小型猪建立结直肠穿孔动物模型, 设传统手术组及 LF-NTST 组, 手术后第 7、14、21 天检测爆破压(BP), 以及愈合部位组织中羟脯氨酸含量(HC)、微血管密度(MVD), 评价穿孔愈合情况。**结果** 手术后第 7、14 天, LF-NTST 组 BP、HC 与传统手术组比较均明显升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 手术后第 21 天差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。手术后第 7 天, LF-NTST 组 MVD 明显高于传统手术组; 手术后第 21 天, LF-NTST 组胶原纤维较传统手术组多。**结论** LF-NTST 在动物实验中能体现出微创美观、安全有效地一期修复左半结直肠穿孔的效果。

**[关键词]** 覆膜支架管; 镍钛合金; 肠穿孔; 结肠疾病; 直肠疾病; 修复**[中图分类号]** R656**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2020)07-1063-04

## Experimental study on repair effect of laminated film nickel-titanium alloy stent tube on colorectal perforation in stage I \*

WANG Chunzhong<sup>1</sup>, SHEN Sandi<sup>2</sup>, LU Feng<sup>3</sup>, QIU Weijian<sup>4</sup>, GAO Xiaolong<sup>4</sup>,XIAO Huilian<sup>1</sup>, XIE Mingxia<sup>1</sup>, YANG Maohua<sup>1</sup>, OU Dongcai<sup>1</sup>, LIU Chutian<sup>1</sup>

(1. Department of General Surgery, Guangzhou First People's Hospital, Guangzhou,

Guangdong 510380, China; 2. Department of General Surgery, Qingyuan People's Hospital,

Qingyuan, Guangdong 511500, China; 3. Jiangsu Yangpu Medical Technology co. LTD,

Yangzhou, Jiangsu 225109, China; 4. Nanjing Minimally Invasive

Technology co. LTD, Nanjing, Jiangsu 210061, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of laminated film nickel-titanium alloy stent tube (LF-NTST) for the surgery repair of colorectal perforation in stage I. **Methods** The animal model of colon perforation was established in Tibetan miniature pig. Experiments were divided into the conventional surgery group and the LF-NTST group. On the 7th, 14th, 21th day after surgery, the blasting pressure (BP), hydroxyproline content (HC) and microvascular density (MCV) of healing tissues were detected for the evaluation of perforation healing. **Results** On the 7th, 14th day after surgery, the levels of BP and HC in the LF-NTST group significantly increased, which were significantly different from the conventional surgery group ( $P < 0.05$ ), while there were no significant difference on 21th day after surgery between the two groups ( $P > 0.05$ ). On the 7th day after surgery, MCV in the LF-NTST group was significantly higher than that in the conventional surgery group. On the 21st day after surgery, there were more collagen fibers in the LF-NTST group than the conventional surgery group. **Conclusion** LF-NTST can effectively and safely repair colorectal perforation in stage I in animal experiment.

**[Key words]** covered stent tube; nickel-titanium alloy; intestinal perforation; colonic diseases; rectal diseases; repair

结直肠癌并发急性穿孔 50% 以上发生在乙状结肠及直肠上段<sup>[1]</sup>。纤维结肠镜检直肠段医源性损伤

的发生率大约为 0.09%<sup>[2]</sup>。临床对结直肠穿孔处理是根据穿孔的大小、距离肛门的远近、是否与腹腔相通的具体情况,分别采取多种方式引流基础上的保守治疗及病损封堵手术治疗。如果病损的位置接近肛门,穿孔不大,且不与腹腔相通,多采取引流基础上的保守治疗效果相对较好。但是对于病损较大,距肛门较远,与腹腔相通,则必须采取各种方式的封堵,或传统的一期近端结肠造瘘,3 个月后二期手术回纳肠管的处理方式。如何有效地对穿孔进行封堵一直是胃肠外科的难题。

近年来,随着纤维内窥镜及电视腹腔镜技术不断发展和临床应用水平提高,应用包括生物蛋白胶在内的各种可吸收人工生物材料封堵穿孔的研究也在加快。应用可降解支架修复穿孔的研究也在不断深入<sup>[3-4]</sup>。更有学者已经采用覆膜镍钛合金支架对直肠癌手术后出现的低位吻合口漏进行肠腔内封堵治疗<sup>[2,5-8]</sup>,避免传统二期手术带来的困局,取得了较好的效果。本文结合前期科研课题的成果和技术<sup>[9-10]</sup>,设计制作了覆膜镍钛合金支架管(LF-NTST)应用于左半结直肠穿孔一期修复手术,并进行了相关动物实验研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

18 头 25 kg 左右雄性实验用西藏小型猪购自南方医科大学动物实验中心,分为 LF-NTST 组及常规手术(CS)组,每组 9 头。

### 1.2 主要仪器与试剂

盐酸氯胺酮购自福建古田制药公司,羟脯氨酸测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。LF-NTST 由南京微创科技有限公司制作,电视腹腔镜及配套器件、麻醉机、心电监测仪、外科手术器件及耗材由广州医科大学微创外科中心提供。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 LF-NTST 设计与制作

主支架采用镍钛合金丝制作,镍钛合金弹性强度高,耐磨,耐腐蚀,无磁,生物相容性好,且具有记忆功能;覆膜(PTFE 膜)采用聚四氟乙烯分散树脂,此材料具有良好的生物相容性;支撑杆及回收管采用医用级高分子塑料制作,纯度高,表面光滑,无毒,与人体组织相容性高,不会引起过敏反应。编织支架管为直径 0.26 mm 的镍钛合金丝,热处理 25 min;加盖覆膜,使用偶粘剂将硅胶加盖于镍钛合金丝间,通过两次硫化处理进行胶定型及胶固化,派瑞林处理防止粘连,见图 1。

#### 1.3.2 结直肠穿孔动物模型

采用氯胺酮和戊巴比妥联合麻醉,气管插管,呼吸机辅助呼吸,常规消毒和铺巾。建立气腹,置入腹腔镜视管,从肛门置入另一视管。在腹腔镜监视下进入至距肛门约 25 cm 处于肠系膜对侧缘刺破肠壁,形

成大约 1.0 cm×1.2 cm 结肠穿孔,建立结肠穿孔模型。

#### 1.3.3 传统手术修补结直肠穿孔

采用氯胺酮联合戊巴比妥麻醉,麻醉前半小时称体质量,臀部肌肉注射鲁米那钠 100 mg 阿托品 0.5 mg。麻醉诱导按氯胺酮 6 mg/kg 耳根部静脉注射给药进行,待实验用猪安静少动后,按常规在手术台上捆绑固定。手术过程中以氯胺酮、戊巴比妥或异丙酚静脉滴注维持,保证实验操作的顺利进行。CS 组采取一期造瘘及穿孔处缝合,二期回纳方法。

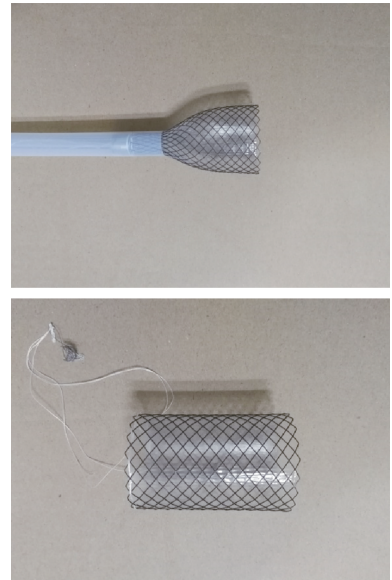


图 1 LF-NTST 制作图

#### 1.3.4 LF-NTST 修补结直肠穿孔

按常规麻醉后,将已做好穿孔(距肛门约 25 cm)动物模型猪捆绑于手术台上,常规消毒,铺巾。调制好设备仪器,首先使用电视腹腔镜 10 mm 零度视管经肛门进入,顺势探查找到穿孔部位,准确测出病损部位。用纤维胆道镜(5 mm)代替细纤维结肠镜从推送器及压束的覆膜支架管中间腔道(分别为 7 mm 及 12 mm)经肛门引导将 LF-NTST 推送到病损部位,使用推送器将支架管逐渐释放推出,让病损部位处于支架管的中段位置,LF-NTST 最终完全膨胀,在稍扩张破损肠管段的状态下留置于肠腔内。破损部位被完全封闭阻隔。渐次退出推送器,并将预留牵拉用双编织丝线顺肠腔引出到肛门外。将细金属拉钩自支撑杆中间管腔穿过,钩住留置的编织线尾,顺势将支撑杆经肛门在编织丝引导下置顶支架管尾部,形成支撑。将肛门外周固定环贴近肛门,卡压于支撑杆,并将编织丝拉紧,结扎于外固定环,肛周皮肤下缝扎固定外固定环,不妨碍排便。再次用 10 mm 腹腔镜视管经肛门进入肠腔内,观察 LF-NTST 放置可靠后结束手术。2~3 周后行取出 LF-NTST 手术,常规麻醉,捆绑实验动物并消毒铺巾后,观察肛周有无感染及固定松动脱裂情况。解开固定编织丝,取出支撑

杆,将编织丝从取出器(内径约 15 mm)中间穿过,同时将腹腔镜视管反方向穿过,在编织丝引导下,将取出器连同视管自肛门进入,逐渐顺势推进到肠腔内的覆膜支架管内腔,观察有无异常情况存在(炎症、医源性损伤)。腹腔镜监视下,牵拉编织丝,将覆膜支架管自尾端开始逐渐收缩并束压于取出器内,直至完全被回收进入回收器内,观察病损部位肠壁修复情况良好后,监视下逐渐撤出装置。

1.3.5 肠穿孔部位爆破压的测定

爆破压(BP)是吻合口漏愈合部位所能承受最大的结肠内压力,它能反映愈合部位组织抵抗机械强度,从而间接评价吻合口漏部位的愈合情况。测量时,先确定结肠穿孔位置,取出 LF-NTST,于近端结扎结肠,将精密压力表连接管经肛门插入直肠 15.0 cm,用 7.0 号丝线荷包缝合肛门,向肠腔内注入气体,观察并记录术后第 7、14、21 天压力表的读数。

1.3.6 肠穿孔部位羟脯氨酸含量(HC)检测

HC 与愈合强度是呈正相关,故通过测量创伤愈合组织中 HC 也可评价组织愈合强度<sup>[11]</sup>。分别于手术后第 7、14 及 21 天时,获取愈合肠壁组织,按试剂盒的操作说明检测并记录穿孔愈合部位的 HC。

1.3.7 微血管密度(MVD)检测

MVD 反映组织愈合的指标。取穿孔处愈合组织,常规石蜡包埋,制作切片,一部分用于 HE 染色,观察瘢痕组织内的肉芽,一部分按照 CD31 试剂盒行免疫组织化学染色,检测 MVD。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组比较采用 ANOVA 方差分析,方差齐时采用 post-Hoc LSD 检验,方差不齐时进行 Dunnett T3 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组 BP、HC 比较

LF-NTST 组术后第 7、14 天 BP、HC 较 CS 组高 ( $P < 0.01$ ),术后第 21 天差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 1、2。

表 1 CS 与 LF-NTST 两种术式修补结肠穿孔后第 7、14、21 天 BP 比较 ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/g}$ )

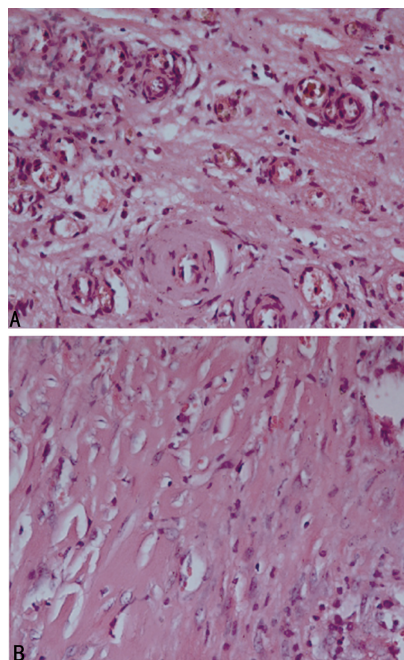
时间	CS	LF-NTST	t	P
7 d	22.47±0.95	26.31±0.92	5.03	0.007
14 d	27.45±0.90	35.82±0.58	13.50	<0.001
21 d	35.49±0.93	26.80±0.25	2.35	0.080

2.2 病理切片检查

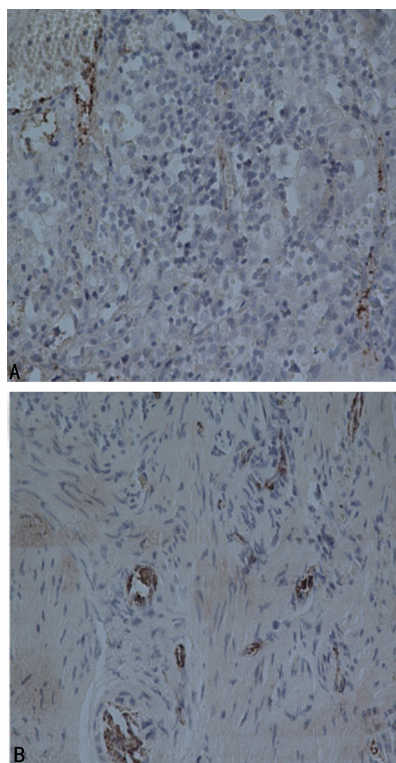
术后第 21 天,CS 组可见结肠愈合处组织的肉芽组织开始成熟(部分区域见组织机化),炎症细胞明显减少,见图 1A;而 LF-NTST 组可见结肠愈合处组织内胶原纤维大量增生,多为成熟的纤维细胞,肉芽组织已明显机化,罕见炎症细胞,见图 1B。

表 2 CS 与 LF-NTST 两种术式修补结肠穿孔后第 7、14、21 天 HC 比较 ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/g}$ )

时间	CS	LF-NTST	t	P
7 d	15.14±0.97	21.42±0.76	11.39	<0.001
14 d	21.08±1.08	25.96±0.87	7.82	<0.001
21 d	26.90±0.56	27.50±0.59	1.65	0.139



A:CS 组;B:LF-NTST 组。  
图 1 术后第 21 天结肠愈合处组织 HE 染色 ( $\times 400$ )



A:CS 组;B:LF-NTST 组。  
图 2 术后第 7 天结肠愈合处组织 MVD CD31 免疫组化 ( $\times 400$ )

### 2.3 愈合处肉芽组织中的 MVD

术后第 7 天 CS 组结肠愈合处肉芽组织中的 MVD(CD31 阳性内皮细胞)明显低于 LF-NTST 组,见图 2;第 14、21 天肉芽组织中的微血管已不明显。

### 3 讨论

从十年前开展一期手术治疗结直肠穿孔及吻合口漏的实验研究开始,笔者先后设计制作了结肠液囊管(CST)、改良型结肠液囊管(MCST)并进行了系列研究及动物实验。CST 适用于全部结直肠,但 CST 采用可吸收羊肠线于腹腔内肠管外周结扎的方式进行固定,引发了 3 个问题:肠壁慢性切割、肠黏膜与套囊外壁之间封闭腔内的感染、术中分离粘连导致二次损伤影响愈合。为此笔者设计改变固定方式的 MCST 作为补充,通过设计细金属传导杆来对抗肠蠕动,并将其固定到肛门外周固定环上以防止 MCST 的滑脱。正因为传导感的限制使得 MCST 仅仅适用于左半结直肠穿孔和吻合口漏的一期手术治疗。

由于 CST 及 MCST 内径约 20 mm,长约 60 mm,而正常肠腔 30~45 mm,在治疗过程中会存在一个约 60 mm 相对狭窄段,容易阻塞粪便,导致不全肠梗阻。因此,结合内窥镜下支架技术,笔者制作了 LF-NTST 对左半结直肠穿孔的一期手术修复治疗。通过对 LF-NTST 装置镍钛合金的粗细及编制结构的设置有效调节支架管的直径大小,既能保持病损段的肠管直径足够宽,又能使装置与肠管壁间压力适中,在不影响肠壁血运的条件下有效阻隔粪便对病损肠管壁的污染,为穿孔肠管段的愈合创造了良好环境。

本研究中发现 LF-NTST 装置中的推送器对于覆膜支架管的推送简单、方便,但 3 周后回收支架时,由于回收管的前端阻碍导致回收困难。笔者设计的直径 15 mm 带圆形滚边的简易回收管,使支架回收时顺滑简便,同时有助于肠管与支架管之间的钝性分离,减少了肠管损伤。

LF-NTST 在一期修复左半结直肠穿孔的动物实验中表现出了操作简单、微创美观、安全有效的特点,相比 CST 和 MCST 有较大的优越性,有望在人体内取代传统的分两期手术方式。

### 参考文献

[1] 汪建平,唐远志,董文广. 结直肠癌并急性结肠梗阻的外科处理-附 225 例临床分析[J]. 中国胃肠外科杂志,1999,2(2):79-80.

- [2] WULLSTEIN C, KOPPEN M, GROSS E. Laparoscopic treatment of colonic perforations related to colonoscopy[J]. Surg Endosc, 1999, 13(5):484-487.
- [3] AVLUND T H, ERICHSEN R, RAVN S, et al. The prognostic impact of bowel perforation following self-expanding metal stent as a bridge to surgery in colorectal cancer obstruction [J]. Surg Endosc, 2018, 32(1):328-336.
- [4] LU Q, LAN Q, CHEN L, et al. Endoscopic metallic stent followed by elective laparoscopic surgery for malignant colorectal obstruction [J]. Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi, 2017, 20(6):684-688.
- [5] 余卫中,余琼,张刚. 直肠覆膜支架置入治疗直肠癌术后吻合口漏 28 例分析[J]. 西南国防医药, 2017, 27(3):273-277.
- [6] 惠广学,李辉,邵海涛. 覆膜支架治疗直肠癌术后吻合口漏 7 例报告[J]. 中国现代普通外科进展, 2011, 14(8):652.
- [7] 刘勇敢,杨万忠,臧军现,等. 腔内镍钛合金形状记忆带膜支架植入治疗结直肠低位吻合口瘘的疗效观察[J]. 中国综合临床, 2002, 18(2):162-165.
- [8] JUNG G M, LEE S H, MYUNG D S, et al. Novel endoscopic stent for anastomotic leaks after total gastrectomy using an anchoring thread and fully covering thick membrane: Prevention of embedding and migration[J]. J Gastric Cancer, 2018, 18(1):37-47.
- [9] 王纯忠,黄宗海,沈三弟,等. 结肠液囊管一期修复猪结肠穿孔的研究[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(20):3650-3652.
- [10] 王纯忠,黄宗海,沈三弟,等. 硅橡胶和聚氨酯制作的结肠液囊管性能测试[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(25):4651-4653.
- [11] DAGLIOGLU Y K, DUZGUN O, SARICI I S, et al. Comparison of platelet rich plasma versus fibrin glue on colonic anastomoses in rats[J]. Acta Cirurgica Brasileira, 2018, 33(4):333-340.

(收稿日期:2019-11-13 修回日期:2020-02-12)