

玻璃化法处理同种异体动脉的移植

马广仁¹, 刘兴炎², 陈克明², 葛宝丰², 白孟海², 孔凡宾²

Vitrification treatment of allograft artery transplantation

Ma Guang-ren¹, Liu Xing-yan², Chen Ke-ming², Ge Bao-feng², Bai Meng-hai², Kong Fan-bin²

Abstract

BACKGROUND: Previous research has demonstrated that *in vitro* pre-treatment and conservation of blood vessels were improved remarkably; however, they remained still satisfactory. Therefore, to look for effective method still needs to be further studied.

OBJECTIVE: To compare vitrification and traditional freezing to preserve the allograft vascular effects after transplantation, and to find a more practical and easy production of vascular treatment methods.

METHODS: A total of 96 health bruising-blue rabbits, undergoing surgical resection of bilateral femoral artery, were divided into 3 groups: fresh vascular autograft (group A), irradiation pretreatment frozen vascular allograft (group B), and vitrification + irradiation pretreatment of vascular allograft (group C), according to different methods of *in vitro* vascular preconditioning experiment. At 1, 4, 8, and 12 weeks after transplantation, six experimental animals were taken from each group for abdominal aortic digital subtraction angiography, scanning electron microscopy, histopathology and other methods to observe the rate of aneurysm formation, morphological changes and organization of the vascular graft.

RESULTS AND CONCLUSION: At 12 weeks after transplantation, the cumulative patency rate in the group A was significantly higher than that in the group B ($P < 0.05$); however, there was no significant difference between group C and group A as well as group B ($P > 0.05$). Histopathological examination revealed that allograft vascular smooth muscle proliferation in endometrium and middle layer of group C was slightly compared with group B, showing unclear lumen stenosis and light inflammatory reaction. The vitrification irradiation preservation of allograft blood vessels, making the procedure easy, high patency rate of grafts, tissue reaction to light, was an ideal way to deal with allogenic blood vessels *in vitro*.

Ma GR, Liu XY, Chen KM, Ge BF, Bai MH, Kong FB. Vitrification treatment of allograft artery transplantation. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(44): 8215-8219. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

¹Second Clinical Medical College, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; ²Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Area Command of Chinese PLA, Lanzhou 730050, Gansu Province, China

Ma Guang-ren, Second Clinical Medical College, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
xiaoma810210@126.com

Received:2010-05-04
Accepted:2010-06-15
(20090305083/G-H)

摘要

背景: 体外血管预处理及保存方法有多种, 经过学者们长期大量的研究观察, 各种方法均得到了改进, 但是仍然存在弊端。因此找到一种更有效的或者几种体外血管预处理保存方法的结合, 还需要大量的研究实践。

目的: 拟通过比较玻璃化法和传统冷冻法保存处理的同种异体血管移植后效果, 找出一种更为实用且制作简便的血管处理方法。

方法: 选用健康青紫兔 96 只, 手术切除双侧股动脉, 根据不同体外血管预处理方法将实验分为 3 组, 即新鲜血管自体移植组、冷冻+辐照预处理血管同种异体移植组及玻璃化+辐照预处理血管同种异体移植组。血管移植后 1, 2, 8, 12 周, 每组取 6 只动物进行腹主动脉数字减影血管造影、扫描电子显微镜、组织病理学观察, 观察移植血管通畅率、动脉瘤形成情况及组织形态学变化。

结果与结论: 移植后 12 周, 新鲜血管自体移植组血管的累计通畅率显著高于冷冻+辐照预处理组 ($P < 0.05$), 玻璃化+辐照预处理组与其他两组比较, 差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。组织病理学检查显示, 玻璃化+辐照处理的同种异体血管内膜及中层平滑肌增生较冷冻+辐照预处理组轻, 管腔狭窄不明显, 炎症反应较轻。经玻璃化法+辐照保存的同种异体血管制作程序简单, 移植血管通畅率高, 组织反应轻, 是一种比较理想的同种异体血管体外处理方法。

关键词: 玻璃化; 冻干; 辐照; 动脉; 血管移植

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.44.012

马广仁, 刘兴炎, 陈克明, 葛宝丰, 白孟海, 孔凡宾. 玻璃化法处理同种异体动脉的移植[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(44):8215-8219. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

近年来血管移植已经成为一项重要的研究课题, 并且通过科研工作者的不断努力, 同种异体血管的体外处理方法得到不断改进。玻璃化法是将某种物质转变成玻璃样无定形体(玻璃态)的过程, 在此形态中没有任何的晶体结构存在。通过玻璃化法降温保存细胞时, 细胞内外的水都不形成结晶, 细胞结构不会受到破坏从而细胞得以存活。经过此法保存的血管可以

避免挤压损伤和冻融效应, 更适合于组织的保存^[1]。本实验比较了经过玻璃化+辐照和传统冷冻+辐照不同预处理方法保存的同种异体血管的移植后效果。

1 材料和方法

材料: 移植动脉取自体质量 2.5~3.0 kg 的健康青紫兔。

实验过程中对动物处置方法符合动物伦理学要求。

¹兰州大学第二临床医学院, 甘肃省兰州市 730000; ²解放军兰州军区总医院, 甘肃省兰州市 730000

马广仁
xiaoma810210@126.com

中图分类号:R617
文献标识码:A
文章编号:1673-8225
(2010)44-08215-05

收稿日期: 2010-05-04
修回日期: 2010-06-15
(20090305083/G·H)

方法:

移植血管的制备: 青紫兰兔手术区提前3 d用脱毛剂脱毛, 手术时用戊巴比妥钠注射液25 mg/kg静脉注射麻醉家兔, 仰卧、四肢固定在动物手术台上, 常规备皮、消毒、铺巾。切开大腿内侧及腹股沟处皮肤, 长约60 mm, 在手术显微镜下显露并分离股动脉鞘, 小心分离股动脉长约40 mm, 结扎分支, 注意保护股静脉、股神经。用两个血管夹将股动脉上、下端夹住, 阻断血流, 在血管夹中间切除一段长约25 mm的股动脉, 用肝素、利多卡因和生理盐水液冲洗股动脉管腔干净。紫外线消毒20 min, 移至DMEM培养液中(含体积分数为20%的小牛血清, 100 U/mL青霉素和100 mg/L链霉素)备用, 见图1。



Figure 1 Fresh arterial blood sample
图1 新鲜取材动脉血管

实验分组及体外血管预处理方法: 实验分为以下3组: 新鲜血管自体移植组取材后放入平衡液中, 4 h内完成自体移植。冷冻+辐照法预处理血管组无菌条件下将血管移至含200 g/L二甲基亚砷的DMEM培养液中, 程序降温法逐步降温: 4 °C 4 h, -20 °C 2 h, -80 °C 2 h, 然后置于液氮中(-196 °C), 保存8周。然后用37 °C温水水浴消融, 无菌条件下用生理盐水反复冲洗血管, 再用⁶⁰Co辐照18 h(核工业部四零四厂兰州辐照站), 照射剂量为15~20 kGy。血管制备完成后保存于4 °C冰箱。移植前将动脉浸泡于生理盐水中10 min。玻璃化+辐照法预处理血管组血管在4 °C条件下经过3个浓度梯度逐步进入玻璃化溶液(主要由2.5 mol/L DMSO和2.5 mol/L乙酰胺组成), 然后直接置于液氮中(-196 °C), 保存8周。再用37 °C温水水浴消融, 无菌条件下用生理盐水反复冲洗血管, 再用⁶⁰Co辐照18 h(核工业部四零四厂兰州辐照站), 照射剂量为15~20 kGy。血管制备完成后保存于4 °C冰箱。移植前将动脉浸泡于生理盐水中10 min。

移植前血管的观察: ①大体观察: 动脉的形态、色泽、弹性。②苏木精-伊红染色观察: 100倍奥林巴斯光镜下, 观察血管内膜、外膜、内皮细胞、平滑肌细胞、内皮下层的弹力纤维、中层的弹性膜、胶原纤维结构。以及移植血管周围炎症细胞浸润情况。③扫描电镜观察: 血管内皮细胞、内皮下纤维层。

血管移植: 戊巴比妥钠注射液25 mg/kg静脉注射麻

醉, 动物双侧股内侧包括腹股沟区剃毛后, 常规消毒, 铺巾, 沿股动脉搏动点在腹股沟区下2 cm向下作一长约6 cm纵行切口。切开皮肤, 皮下, 分开股内收肌解剖出股动脉鞘, 在手术显微镜下用显微外科器械小心游离股动脉, 游离过程中不断以肝素生理盐水溶液和10 g/L普鲁卡因注射液滴注使股动脉保持湿润; 充分游离股动脉后, 上下端上好血管夹, 将股动脉切去相应血管长度; 分别将不同方法预处理过的同种异体股动脉2 cm桥接吻合于缺损处, 所有血管均用10/0, 11/0无损伤尼龙缝线作端端吻合, 每个吻合口缝8~10针, 血管吻合过程中, 静推肝素生理盐水20 mL(按1.5 mg/kg)。血管吻合完成后, 先松开远端血管夹, 再松开近端血管夹, 用勒血试验确认血管通畅后, 庆大霉素盐水冲洗伤口, 分层关闭。动物完全苏醒后, 送回动物房分笼饲养, 移植后密切观察。

移植后血管直接评价:

皮肤颜色的观察: 皮肤颜色主要由动静脉通畅情况和血液氧合程度来决定, 观察皮肤颜色可用指压试验。

周围动脉的搏动检查: 对称部位脉搏的检查与对比是十分重要的。动脉搏动的强度可分为增强(+++), 正常(++), 减弱(+)及消失(-)。血管移植后股动脉远端血管搏动消失, 说明移植血管狭窄或闭塞远端的动脉灌注压降低所致。

数字减影血管造影(digital Subtraction angiography, DSA)技术: ①血管的通畅情况(通畅率)。②管径大小及吻合口有无狭窄(免疫及炎症反映大小)。③有无动脉瘤形成(移植材料物理性能)。

移植后取材观察移植血管组织学(大体、苏木精-伊红染色、电镜): 观察内容同移植前血管的观察。

统计学分析: 采用SPSS 11.0软件包进行t 检验, P < 0.05为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 移植前血管的评价

新鲜血管自体移植组: ①大体: 移植前动脉形状规则、色泽红润、弹性和韧性均保持良好, 没有断裂现象。②苏木精-伊红染色后光镜下观察: 移植前动脉内皮细胞连续, 内弹性膜完整呈波浪状; 中膜层平滑肌细胞呈环形排列, 其间有纤维结构; 外膜层为疏松结缔组织。③电镜观察: 内皮细胞散在均匀分布, 弹力纤维波浪状均匀分布。

冷冻+辐照法预处理血管组: ①大体: 动脉形态规则, 色泽发黄, 弹性及韧性较新鲜血管为差, 部分血管出现裂纹并有断裂现象, 见图2。②苏木精-伊红染色后光镜下观察: 动脉血管着色较正常血管为浅, 内皮细胞大部分脱落, 中层平滑肌皱缩变薄, 细胞核固缩, 但是弹力

纤维仍较清晰连续。③电镜观察：内皮细胞散在，部分细胞丢失，并有细胞碎片存在，血管平坦，弹力层基本连续，部分中断。

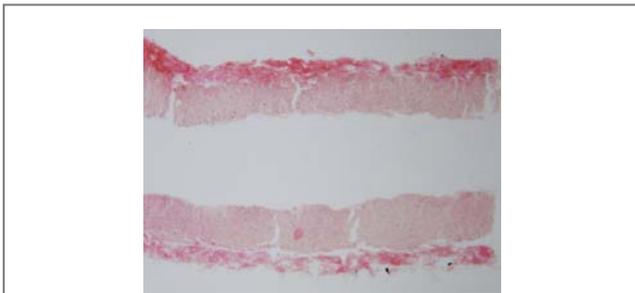


Figure 2 Traditional freezing treatment, showing crack formation and successive breakage of smooth muscle

图2 传统冷冻处理血管，见有裂纹形成、平滑肌连续性中断

玻璃化+辐照法预处理血管组：①大体：动脉形态规则，淡黄色，弹性及韧性良好，血管连续无裂纹及断裂现象。②苏木精-伊红染色后光镜下观察：动脉血管着色良好，管腔规则，内皮细胞部分脱落，内膜连续完整，中层平滑肌稍萎缩，弹力纤维清晰可见。③电镜观察：内皮细胞部分丢失，弹力层连续无中断。

2.2 移植后血管直接评价 根据观察皮肤颜色，肢体动脉搏动及血管造影情况，各组血管通畅情况见表1。

表1 移植后各组血管的通畅数及通畅率
Table 1 Number and rate of patency in each group after transplantation (n=6, n)

Group	Time after transplantation (wk)				Cumulative patency rate (%)
	1	2	8	12	
A	6	6	5	5	92 ^a
B	5	4	4	4	71
C	6	5	4	4	79

^aP < 0.05, vs. group B; group A: Fresh vascular autograft; group B: Irradiation pretreatment frozen vascular allograft; group C: Vitrification + irradiation pretreatment of vascular allograft

其中冷冻+辐照法预处理血管组移植后8, 12周各见1例动脉瘤形成，新鲜血管自体移植组与玻璃化+辐照法预处理血管组均未出现动脉瘤。各组早期栓塞血管均为血栓形成所致，晚期多为吻合口狭窄所致。

2.3 移植后取材观察移植血管组织学(大体、苏木精-伊红染色、电镜)变化

新鲜血管自体移植组：①大体：移植血管色泽与正常血管无异，移植后取材各时间段吻合口均未见明显狭窄，血管与周围组织粘连较轻。②苏木精-伊红染色后光镜下观察：移植后1周可见血管外膜有少量炎症细胞浸润，内皮基本完整，吻合口处少量血栓形成。移植后8, 12周血管外膜炎症细胞明显减少，血管内无血栓形成，血管无狭窄，血管内膜及中层平滑肌无增生。③电镜观察：移植后可见内皮完整，内皮细胞均匀分布，弹

力纤维排列规整。

冷冻+辐照法预处理血管组：①大体：移植血管呈暗红色，移植血管与周围组织粘连严重，血管壁增厚，吻合口狭窄明显，部分血管有动脉瘤形成，见图3。②苏木精-伊红染色后光镜下观察：移植后1周可见有大量炎症细胞浸润，以中膜层最明显，吻合口处为著。移植后2周炎症细胞浸润达高峰，各层均可见炎症细胞，通畅血管无血栓形成，渐出现新生内膜和肌层组织，移植后12周可见血管内表面几被新生的中膜层和内膜层取代，管腔通畅，吻合口处仍可见炎症细胞浸润，见图4。③电镜观察：移植后1周可见血管内膜几无内皮细胞覆盖，移植后12周可见内膜几乎内皮细胞完整覆盖，弹力纤维排列整齐完整。



Figure 3 At 12 wk after transplantation in the irradiation pretreatment frozen vascular allograft group, anastomotic stoma stenosis is clear, smooth muscle at middle layer remarkably thickens, and inflammatory cell infiltration is clear in the adventitia

图3 传统冷冻+辐照血管移植后12周，见吻合口狭窄明显，中膜平滑肌明显增厚，外膜炎症细胞浸润明显

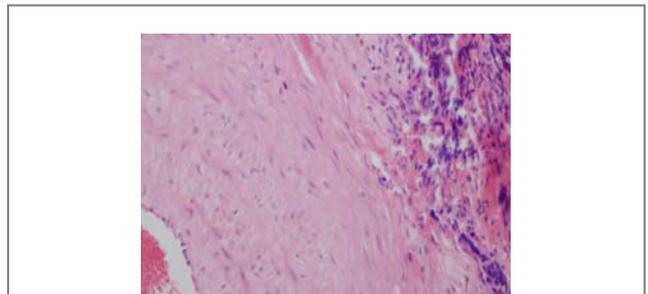


Figure 4 At 8 wk after transplantation in the irradiation pretreatment frozen vascular allograft group, structure of middle and outer membrane is disorder, and inflammatory cell infiltration is clear in the adventitia (HE staining)

图4 传统冷冻移植后8周，血管中膜及外膜结构仍较紊乱，外膜见大量炎症细胞浸润(苏木精-伊红染色)

玻璃化+辐照法预处理血管组：①大体：移植血管色泽淡红和自体血管很难分辨，血管与周围组织粘连较重，血管壁增厚，以吻合口处为著，未见动脉瘤形成，吻合口狭窄不明显。②苏木精-伊红染色后光镜下观察：移植后1周可见血管外膜和层平滑肌有炎症细胞浸润，以中膜层最明显，内膜见散在的内皮细胞及血栓形成。移植后2周仍见炎症细胞浸润，各层均可见炎症细胞，管腔通畅，移植后8周渐出现新生内膜和肌层组织，移

植后12周可见血管内表面几被新生的中膜层和内膜层取代, 原血管组织渐被吸收, 结构变紊乱, 见图5。③电镜观察: 移植后1周可见血管内膜有零散内皮细胞覆盖, 移植后8周可见内膜几乎内皮细胞完整覆盖, 弹力纤维排列整齐完整, 见图6。

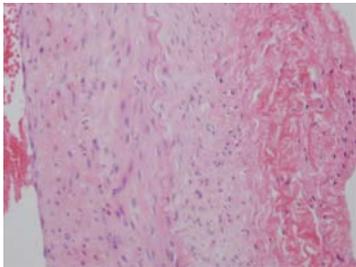


Figure 5 At 8 wk after transplantation in the vitrification + irradiation pretreatment of vascular allograft group, internal surface of blood vessels is completely replaced by newborn endomembrane and middle layer smooth muscle, and inflammatory cell infiltration is still observed (HE staining)

图5 玻璃化处理血管移植后8周, 见新生内膜及中层平滑肌完全替代血管内表面, 仍有少量炎症细胞浸润(苏木精-伊红染色)

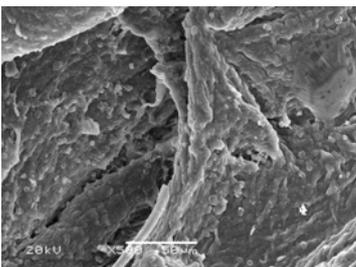


Figure 6 At 8 wk after transplantation in the vitrification + irradiation pretreatment of vascular allograft group, endomembrane is almost covered by endothelial cells under electron microscope

图6 玻璃化处理血管移植后8周电镜观察可见内膜几乎被内皮细胞完整覆盖

疫为主, 其中血管内皮细胞是最主要的免疫反应“靶子”, 排斥反应造成内膜增生、中膜坏死和外膜浸润, 最终结果是移植物狭窄和闭塞^[2]。在排斥过程中, 内皮细胞上的抗原与其相应的抗体结合形成抗原抗体复合物, 激活补体释放趋化因子, 白细胞在补体参与下溶解内皮细胞, 使基底膜暴露, 激活凝血系统, 形成血栓, 激活的巨噬细胞释放白细胞介素1、肿瘤坏死因子等可提高内皮细胞表面组织因子活性, 增加纤溶酶激活物抑制因子和减少血栓调理蛋白, 内皮细胞在细胞因子刺激下可合成和分泌单核细胞趋化因子MCP-1/JE, 吸引单核巨噬细胞迁移至移植物局部。同时表达Class II抗原, 提供所有激活CD4⁺ T细胞所必需的信号, 并可产生各种细胞因子, 引起表型的变化。另外内皮细胞膜还可作为血管紧张素转化酶场所, 以使血管紧张素 I 转化成血管紧张素 II, 使血管收缩。

移植后血管内皮化: 血管内皮细胞是一个矛盾的统一体。它既是血管内的强抗原表达细胞, 诱发受体的免疫排斥反应; 又具有重要的生理功能, 可以调节血管的舒缩反应、抑制血栓形成。目前研究的重点还有移植血管在受体内的内皮化问题, 通过物理或化学的方法预处理保存的动脉, 移植后虽然通畅, 但存在着较多的坏死组织。移植后再通的血管可能只是成功地起了支架作用, 动脉内层最终将由宿主血管内皮细胞爬行替代。一般认为, 通畅的移植血管若3个月时间还不能完全内皮化, 则说明血管移植有可能失败。其失败的最主要原因是不能内皮化的移植血管极易形成血栓。关于移植血管内皮细胞的来源可归纳为以下4个方面: ①爬行学说: 宿主细胞跨超吻合口向移植血管移行, 扩展直至覆盖整个血管内膜^[3]。②宿主内皮细胞或多能干细胞通过毛细血管壁钻入移植血管^[4]。③着陆学说: 血液中的内皮细胞附着于移植血管内表面^[5]。④分化学说: 平滑肌细胞分化、移行而来^[6]。

3.2 体外血管预处理及保存方法 体外血管预处理及保存方法有多种, 比如辐照法、冷冻法、玻璃化法、化学去细胞法、绿茶多酚的应用等。经过学者们长期大量的研究、观察, 各种方法均得到了改进。但是各种方法仍然存在弊端, 因此找到一种更有效的或者几种体外血管预处理保存的方法的结合, 还需要研究人员大量的研究、实践。

辐射法: 辐照法是将血管再无菌条件及无创伤原则下用⁶⁰Co γ 射线照射, 理论上辐照技术不仅可以消毒灭菌, 还可以降低甚至消除同种异体血管的抗原性。2006年沈国良等^[7]研究了辐照同种异体血管移植的可行性认为辐照同种异体血管完全符合理想的血管移植物所具备的条件; 在不使用任何免疫抑制的条件下, 应用辐照同种异体血管进行同种异体血管移植是可行的。辐照同种异体血管移植后2周移植血管内膜出现内皮细胞, 移

3 讨论

肢体损伤尤其是火器伤经常伴随血管损伤, 组织缺血或者淤血就会影响组织创伤的修复, 严重时候还能导致肢体的坏死, 因此血管损伤的修复就成为科研工作者研究的重点。随着现代外科技术、材料学、免疫学的发展, 越来越多的材料被用作损伤血管的替代品。一些研究取得了成功报道, 但是仍然存在一些难题, 比如移植排斥、血管阻塞等, 小血管远期通畅率低等情况。因此替代材料要在临床上成功、广泛的应用, 还需要更多的探索。

3.1 异体血管移植后出现的问题

免疫排斥反应: 新鲜异体血管植入足以引起受体的全身免疫排斥反应, 包括细胞免疫和体液免疫, 以细胞免

植后3个月移植血管内膜内皮细胞覆盖完整。张业伟等^[8]进行了经辐照的同种异体血管在肝移植中的研究,发现经辐照的同种异体大隐静脉符合理想的血管移植物的条件,同时具有较弱的抗原性。

低温保存法: 1994年以来, Pegg等^[9-10]研究了兔子冠状动脉和颈总动脉的低温保存方法,研究了抗冻剂浓度和降温速率对成活率的影响。1995年上海第二医科大学附属新华医院和上海理工大学合作也在寻求对牛主动脉的保存方法^[11]。魏民等^[12]根据方差分析,认为影响冷冻效果的实验因素依次为维持时间、冷冻处理、低温冷冻溶液、解冻处理、平衡处理、洗脱处理。最优组合为动脉直接进入2.5 mol/L的DMSO,通过3个温度梯度降至-70℃,维持60 min,直接投入液氮中保存,使用时直接投入水浴复温,采用平衡液一步洗脱低温冷冻溶液。经过低温保存后的血管结构保存比较完整,但是血管收缩、舒张功能显著降低。Ellis等^[13]对人体肺动脉进行了低温保存,冻存后血管的收缩力降为新鲜时的76%。Nataf等^[14]对人体乳动脉进行了低温保存,也同样发现血管的收缩功能下降较大。实验中结合冷冻+辐照的方法处理血管,使移植血管在保护液中程序降温,并在液氮中保存2周时间,这是冷冻降低抗原的最佳时间,然后消融后冲洗掉保护液,做辐照处理,使血管抗原性降至很低的程度,而血管的物理特性如弹性、脆性、抗拉性均较好保存。本实验发现自体血管对照组移植后血管通畅率为91.7%,经过低温冷冻及辐照处理后血管通常率为70.8%,两组比较差异有显著性意义($P < 0.05$)。这就说明经冷冻+辐照处理的同种异体移植血管虽然能使血管抗原性降低、能到达较高的通常率,但同时也发现处理后的血管部分出现了裂纹及断裂现象,移植血管有部分出现了动脉瘤,说明此种方法对组织的破坏相对较重。

玻璃化法: 此法是将某种物质转变成玻璃样无定形体(玻璃态)的过程,通过玻璃化法降温保存细胞时,细胞内外的水都不形成结晶,细胞结构不会受到破坏从而细胞得以存活。玻璃化研究的重点是,寻找细胞毒性较小且较易实现玻璃化的溶液。将现有的低温保护剂混合使用,从而降低单保护剂的浓度、减少毒性,是一种较好的解决方法。混合使用保护剂还能使单独使用时的毒性得到中和^[15]。选用的DMSO为最常用的低温保护剂,辅以甲酰胺或乙酰胺,既可以达到玻璃化要求的高浓度,又可以降低DMSO的毒性^[16]。玻璃化法保存的动脉内皮细胞部分连续,内皮细胞少量变性(线粒体肿胀),平滑肌细胞少量变性坏死(内质网扩张,线粒体肿胀、嵴断裂或消失,核碎裂),部分胶原纤维排列紊乱,可见融合现象,但是血管整体保存较好。玻璃化法保存的异体血管在4周时血清抗体大量产生并达到峰值,以后缓慢降低。相对于新鲜异体血管,其血清抗体产生较晚,峰值较低。

本实验中玻璃化+辐照法预处理血管组和冷冻+辐照法预处理血管组不同,采用了玻璃化法+辐照对血管进行预处理,发现本组的血管经过此法处理后血管未发现裂纹和断裂现象,移植血管也未出现动脉瘤形成,并且吻合口狭窄不明显。移植后8周就出现了新生内膜和肌层组织,移植后12周可见血管内表面几乎被新生的中膜层和内膜层取代,原血管组织渐被吸收。电镜观察可见移植后1周血管内膜有零散内皮细胞覆盖,移植后8周可见内膜几乎内皮细胞完整覆盖,弹力纤维排列整齐完整,血管通畅率可达79.2%,因此玻璃化法保存的动脉异体移植的效果优于低温冷冻法保存的动脉异体移植。

本实验证实,经过玻璃化方法处理的同种异体动脉移植同种异体动脉达到了很高的远期通畅率,且方法简单易行,是否能应用于临床,还有待进一步研究。

4 参考文献

- [1] Rall WF, Fahy GM. Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196 °C by vitrification. *Nature*. 1985;313:573.
- [2] Xue L, Zhang PH. *Zhonghua Shiyian Waike Zazhi*. 1996;13(5):300-301.
薛莲,张培华.大鼠同种异体股动脉移植后的免疫学研究[J].中华实验外科杂志,1996,13(5):300-301.
- [3] Bartels HL, van der Lei B. Small-calibre vascular grafting into the rat abdominal aorta with biodegradable prostheses. *Lab Anim*. 1988;22(2):122-126.
- [4] Kninwater LM, Plate G, Gloviczki P, et al. Morphologic quwrtitation of pseudrintions and effects of antiplatelet drugs on vascular prostheses in goats. *Am J Surg*. 1984;148:195-202
- [5] Kogel H, Vollmar JF, Cyba-Altunbay S, et al. New observations on the healing process in prosthetic substitution of large veins by microporous grafts--animal experiments. *Thorac Cardiovasc Surg*. 1989;37(2):119-124.
- [6] Vanderlei B, Wildevuur CR. Microvascular polytetrafluoroethylene prostheses the cellular events of healing and proetacyclin production. *Plast Recons Surg*. 1988;81:735-741.
- [7] Shen GL, Qian HX. *Suzhou Daxue Xuebao: Yixueban*. 2006;26(2):200-203.
沈国良, 钱海鑫. 辐照同种异体血管移植的实验研究[J]. 苏州大学学报:医学版,2006,26(2):200-203.
- [8] Zhang YW, Meng QY. *Zhonghua Waike Zazhi*. 2007;57(5):323-324.
张业伟, 孟庆洋. 经辐照的同种异体血管在肝移植中的应用[J]. 中华外科杂志, 2007, 57(5): 323-324.
- [9] Bateson EA, Pegg DE. Permeation of rabbit common carotid arteries with dimethyl sulfoxide. *Cryobiology*. 1994;31(4):393-397.
- [10] Song YC, Pegg DE, Hum CJ. Cryopreservation the comrftoll carotid artery of the rabbit: optimization of dimethy sulfoxide concentration and cooling rate. *Cryobiology*. 1995;32:405-421.
- [11] Zhao MJ. *Shanghai Dier Yike Daxue Fushu Xinhua Yiyuan Boshi Lunwen*. 1995.
赵明杰. 血管组织低温保存厦损伤因素的研究[D]. 上海第二医科大学附属新华医院博士论文, 1995.
- [12] Wei M, Zhang BX. *Zhonghua Shiyian Waike Zazhi*. 2004;21(12):1542-1543.
魏民, 张伯勋. 玻璃化法保存家兔股动脉条件的筛选[J]. 中华实验外科杂志,2004,21(12): 1542-1543.
- [13] Ellis P, Muller-Schweinitzer E. Maintenance of functional activity of human pulmonary arteries after cryopreservation. *J Pharmacol*. 1991;103:1377-1380.
- [14] Nataf P, Hadjiiski P, Lechat PH. Effect of cold anoxia and cryopreservation on metabolic and contractile functions of human mammary artery. *Cryobiology*. 1995;32: 327-333.
- [15] Rall WF, Wood MJ, Kirby C, et al. Development of mouse embryos cryopreserved by vitrification. *J Reprod Fertil*. 1987; 80(2):499-504.
- [16] Song YC, Pegg DE, Hunt CJ. Cryopreservation of the common carotid artery of the rabbit: optimization of dimethyl sulfoxide concentration and cooling rate. *Cryobiology*. 1995;32(5):405-421.