

分类号

UDC

610

密级

公开

编号

10555



南 华 大 学
UNIVERSITY OF SOUTH CHINA

硕士学位论文

(专业学位)

骨水泥及 prolene 网在犬骨性胸壁缺
损模型修复与重建中的实验研究

研 究 生 姓 名 : 吴安邦

指导教师姓名、职称: 肖高明 教授/主任医师

合 作 导 师 、 职 称 :

专业学类别(领域): 临床医学(肿瘤学)

研 究 方 向 : 肿瘤外科

所 在 学 院 : 湖南省肿瘤医院

2014 年 3 月



南 华 大 学
UNIVERSITY OF SOUTH CHINA

论文题目 骨水泥及 prolene 网在犬骨性胸壁缺损模型修复与重建中的实验研究

论文作者签名:

指导教师签名:

论文评阅人 1:

评阅人 2:

评阅人 3:

答辩委员会主席:

委员 1:

委员 2:

委员 3:

委员 4:

委员 5:

委员 6:

答辩日期: _____ 年 _____ 月 _____ 日

南华大学学位论文原创性声明

本人声明，所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了论文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得南华大学或其他单位的学位或证书而使用过的材料。与我共同工作的同志对本研究所作的贡献均已在论文中作了明确的说明。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

作者签名：

年 月 日

南华大学学位论文版权使用授权书

本学位论文是本人在南华大学攻读_____（博/硕）士学位期间在导师指导下完成的学位论文。本论文的研究成果归南华大学所有，本论文的研究内容不得以其它单位的名义发表。本人同意南华大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留学位论文，允许学位论文被查阅和借阅；学校可以公布学位论文的全部或部分内容，可以采用复印、缩印或其它手段保留学位论文；学校可根据国家或湖南省有关部门规定送交学位论文。同意学校将论文加入《中国优秀博硕士学位论文全文数据库》，并按《中国优秀博硕士学位论文全文数据库出版章程》规定享受相关权益。同意授权中国科学信息技术研究所将本学位论文收录到《中国学位论文全文数据库》，并通过网络向社会公众提供信息服务。对于涉密的学位论文，解密后适用该授权。

作者签名：

导师签名：

年 月 日

年 月 日

目 录

中文摘要·····	1
英文摘要·····	4
缩略词表·····	8
第一章 绪论·····	9
国内外研究现状·····	9
第二章 材料与方法·····	11
2.1 主要材料、试剂和仪器·····	11
2.2 实验一：骨水泥人工肋骨材料与生物肋骨强度测定·····	12
2.3 实验二：骨水泥对实验动物组织热损伤危害程度观察及低温生 理盐水循环灌注对热损伤的预防效果评价·····	14
2.4 组织检测标本制备及方法·····	17
2.5 实验犬组织电子显微镜下显微结构观察样本制作·····	20
2.6 统计学分析·····	21
第三章 结 果·····	22
3.1 生物肋骨、骨水泥肋骨、prolene 网与骨水泥复合材料肋骨主 要物理学特性比较·····	22
3.2 骨水泥在实验犬体内放热反应对邻近组织损伤的病理学改变 及低温生理盐水灌注降温预防热损伤效果观察·····	24
第四章 讨 论·····	42
4.1 骨水泥人工材料在大面积胸壁缺损修复重建中的应用价值··	42
4.2 胸壁缺损重建中骨水泥放热反应对邻近组织的热损伤危害··	43

4.3 骨水泥在胸骨缺损重建过程中放热反应的预防措施评价·····	45
第五章 结论·····	47
5.1 小结·····	47
5.2 展望·····	47
参考文献·····	48
第六章 综述·····	50
作者攻读学位期间的科研成果·····	58
致 谢·····	59

中文摘要

目的

依据实验取得的科学数据，客观评价骨水泥、prolene 网与骨水泥“三明治”复合人工材料的物理学特性；对骨水泥在胸壁缺损修复重建中放热反应所致的邻近组织热损伤情况进行评估，同时对其热损伤的预防控制问题进行积极探索。

方法

1、材料抗压强度实验：根据临床上人工材料的应用特点，我们将实验分为三个组，即成年猪生物肋骨组，骨水泥肋骨模型组，prolene 网与骨水泥“三明治”法复合材料肋骨模型组进行抗压强度测试。2、骨水泥对实验动物组织热损伤危害程度及低温生理盐水循环灌注对热损伤预防效果的评价：根据实验目的，我们将 4 只健康杂种犬随机分为热损伤组和灌注热损伤保护组，开胸后切除胸壁及两侧肋骨制成 12cm×6cm 的人工大面积胸壁缺损实验模型，用 15cm×15cm prolene 网 2 张，骨水泥 60g，采用“三明治”法复合人工材料对实验犬实施胸壁缺损修复与重建术，骨水泥胸壁假体厚度 10mm，热损伤组修补过程中不予热损伤预防措施，灌注热损伤保护组修补过程中建立生理盐水灌注循环系统，用温度为（室温）25℃的 0.9%生理盐水，以每分钟 500ml 的灌注速率持续灌注降温，防止骨水泥塑形过程中产生的化学放热反应对邻近组织的热损伤。最后对热损伤组和灌注热损伤保护组的犬肌肉组织样本行 HE 染色，磷钨酸苏木素染色，热休克蛋白 70 免疫组化检查及透射电镜显微结构观察。3、统计学分析。收集实验所得的各组数据，将数据输入 SPSS 18.0 统计软件中进行统计分析。实验中计量数据采用均数±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，实验组之间的测量结果比较采用两样本 t 检验方法，以 $\alpha = 0.05$ （双尾）作为检验标准， $P < 0.05$ 为有统计学意义。

结果

1、生物肋骨、骨水泥肋骨、prolene 网与骨水泥复合材料肋骨主要物理学特性比较

通过对生物肋骨、骨水泥肋骨、prolene 网与骨水泥复合材料肋骨抗压强度的精确测定，生物肋骨组的平均抗压强度为 429.06N（429.06±55.58N），骨水泥肋骨组的平均抗压强度为 543.91N（543.91±174.06N），prolene 网与骨水

泥复合材料肋骨组的平均抗压强度 522.81N (522.81 ± 129.87 N)。骨水泥肋骨抗压强度最高, prolene 网与骨水泥复合材料肋骨次之, 生物肋骨最低 ($P < 0.05$), 但骨水泥肋骨组抗压强度与 prolene 网与骨水泥复合材料肋骨抗压强度无明显差异 ($P > 0.05$)。生物肋骨的柔韧性要优于骨水泥肋骨、prolene 网与骨水泥复合材料肋骨。

2、骨水泥在实验犬体内产生的放热反应对邻近组织损伤的病理学改变, 及低温生理盐水灌注降温预防热损伤效果观察

动物实验过程中, 热损伤组骨水泥胸骨假体产生化学放热反应的温度最高达 89°C , 其中 45°C 以上高温持续达 12.5 分钟之久; 而低温生理盐水灌注热损伤保护组, 其骨水泥胸骨假体与邻近组织和器官间的温度保持在 $23\text{--}36^{\circ}\text{C}$ 之间, 预防性降温措施效果满意。对热损伤组和灌注热损伤保护组犬肌肉组织样本行 HE 染色, 磷钨酸苏木素染色, 热休克蛋白 70 免疫组化检查及透射电镜显微结构观察, 结果显示热损伤组骨水泥对邻近组织热损伤严重, 组织病理及显微结构改变明显, 而灌注热损伤保护组骨水泥邻近组织无明显病理及显微结构改变。

结论

1、骨水泥人工肋骨、prolene 网与骨水泥“三明治”复合材料人工肋骨的抗压强度要远高于生物肋骨的抗压强度, 骨水泥是大面积胸壁缺损修复重建中的优势人工材料;

2、骨水泥人工肋骨、prolene 网与骨水泥“三明治”复合材料人工肋骨的柔韧性较生物肋骨差;

3、prolene 网与骨水泥“三明治”复合材料人工肋骨抗压强度与骨水泥肋骨抗压强度相比无统计学差异, 但前者的材料物理特性较后者为优, 建议临床上以 prolene 网与骨水泥“三明治”复合材料作为大面积胸壁缺损修复重建的修复材料;

4、骨水泥在塑形过程中的放热反应迅猛, 最高温度达 89°C , 其中 45°C 以上高温可持续 12.5 分钟, 会造成邻近组织的病理性热损伤;

5、以 25°C 生理盐水 (室温) 每分钟 500ml 速度的持续循环灌注, 可充分保证 prolene 网与骨水泥所组成的“三明治”胸骨假体与邻近组织和器官间的温度维持在 $23\text{--}36^{\circ}\text{C}$ 之间, 虽略低于理想安全温度, 但预防性降温措施效果满意, 不

会导致骨水泥在体内产生的放热反应对邻近组织造成病理性损伤。

关键词：骨水泥；prolene 网；胸壁缺损；模型；修复重建；“三明治”

The experimental study of bone cement with prolene net in the repair and reconstruction of chest wall defect in dog models

Abstract

Objective

On the basis of scientific experimental data obtained, we evaluate the physical characteristic of the bone cement, Prolene net with bone cement "sandwich" artificial composite materials. We also evaluate adjacent tissue thermal damage of bone cement induced by the exothermic reaction in the process of repair and reconstruction of the chest wall, and actively explore the prevention from the thermal damage.

Methods

1. The compressive strength test: According to the clinical application of artificial materials, the experiment was divided into three groups, namely pig biological rib group, bone cement rib group, prolene net with bone cement "sandwich" composite rib group. The groups were subjected to compressive strength tests. 2. To evaluate exothermic reaction damage of the bone cement for the tissue of experimental animal, and evaluate the effect of hypothermic normal saline perfusion on preventing thermal injury. According to the experimental purpose, 4 mongrel dogs were randomly divided into thermal injury group and perfusion thermal injury protection group, after thoracotomy. In the chest wall and bilateral ribs of the dogs, a artificial large chest wall defect model at the size of 12cm×6cm was made. Two pieces of 15cm×15cm prolene nets with 60g bone cement in the "sandwich" method was used for the repair and reconstruction for the chest wall defect of experimental dogs. The thickness of bone cement prosthesis chest wall was 10mm. In the thermal injury group, the dogs

didn't not accept any heat injury prevention measures To prevent the thermal damage of adjacent tissues induced by exothermic reaction in the process of moulding one cement, we constructed normal saline perfusion circulation system, in which we utilized 25°C normal saline continuous perfusion circulation at a speed of 500 ml per minute to match the cooling effect. Finally, muscle tissue samples of the thermal damage group and thermal damage protection group were stained with HE and phosphotungstic acid haematoxylin. The heat shock protein 70 was also detected by immunohistochemistry and transmission electron microscopic.

3. Statistical analysis. The data were analyzed by SPSS 18.0 statistical software. The measurement data in the experiment was expressed with $\text{Mean} \pm \text{SD} (\bar{x} \pm s)$. And the results between the experimental groups were compared using student's t test. $\alpha = 0.05$ (two-tailed) as inspection standard, $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

1. The comparison of main physics characteristic of biological rib, bone cement rib and prolene net with bone cement “sandwich” composite rib

We accurately determined the compressive strength of the three kinds of materials, and found that average compressive strength of biological rib was 429.06N(429.06±55.58N), bone cement rib was 543.91N(543.91±174.06N), and prolene net with bone cement “sandwich” composite rib was 522.81N(522.81±129.87N). The flexibility of biological rib was better than bone cement rib and prolene net with bone cement “sandwich” composite rib. The compressive strength of bone cement rib was the highest among three materials, the prolene net with bone cement “sandwich” composite rib was second, and biological rib was the last ($P < 0.05$). However, we found that there was no notable difference between bone cement rib and the prolene net with bone cement “sandwich”

composite rib.

2. Pathological change of adjacent tissue induced by exothermic reaction of the bone cement in experimental dogs in vivo and the effect of perfusion of hypothermia saline on the prevention of thermal damage

The maximum temperature induced by chemical exothermic reaction of bone cement sternal prosthesis in the thermal damage group during the process of animal experiments was 89°C, and the temperature above 45°C was sustained for 12 minutes; However, the temperature at the junction of bone cement sternal prosthesis and adjacent tissues and organs was kept between 23~36°C in the perfusion of hypothermia normal saline thermal damage protection group, and the effect of cooling measure was satisfied. We compared the muscle tissue samples of the thermal damage group and thermal damage protection group through HE staining, phosphotungstic acid haematoxylin staining, heat shock protein 70 immunohistochemical examination and transmission electron microscopic observation. The results showed that tissues adjacent to bone cement suffered severe thermal damage and histopathologic and microstructure changed obviously in the thermal damage group, while tissues in the thermal damage protection group did not.

Conclusion

1. The compressive strength of bone cement rib and prolene net with bone cement “sandwich” composite rib was much more higher than that of biological rib, and bone cement was an excellent artificial material for repairing and reconstructing large chest wall defect.

2. The flexibility of biological rib was better than bone cement rib and prolene net with bone cement “sandwich” composite rib.

3. There was no statistical significance compared prolene net with bone cement “sandwich” composite rib and bone cement at the compressive strength, but the physical property of the former was better than the

latter. So we proposed to use prolene net with bone cement “sandwich” composite rib for clinical repair and reconstruction of large chest wall defect.

4. The exothermic reaction of bone cement was swift and violent in the process of moulding bone cement. The maximum temperature was 89°C, and the temperature above 45 °C would last for 12 minutes, and the higher temperature could cause pathological thermal damage to adjacent tissues.

5. The continuous perfusion circulation of 25°C hypothermia normal saline at a speed of 500 ml per minute could ensure that the temperature at the junction of bone cement sternal prosthesis and adjacent tissues or/and organs was maintained between 23–36°C. Although it was slightly higher than the ideal safe temperature, the effect of cooling measure was satisfied, which couldn't lead to pathological thermal damage of adjacent tissues caused by exothermic reaction of bone cement in vivo.

Key words: Bone cement; Prolene net ; Chest wall defect; Model;
Repair and reconstruction; “sandwich”

主要缩略词表

缩写	英文全称	中文全称
CS	Compressive strength	抗压强度
HE stain	Hematoxylin and eosin stain	苏木精伊红染色法
PTAH	Phosphotungstic acid hematoxylin	磷钨酸苏木素染色
HSP70	Heat shock protein 70	热休克蛋白 70
DDSA	Dodecenylsuccinic Anhydride	十二烯基丁二酸酐
MNA	Methyl Nadic Anhydride	甲基纳迪克酸酐
DMP	Dimethylaminomethyl Phenol	甲基氨基甲基苯酚
PVP	Polyvinylpyrrolidone	聚乙烯吡咯烷酮
TEM	Transmission electron microscope	透射电子显微镜

第一章 绪论

在胸外科中，手术切除病变部位或损伤部位而产生的大面积胸壁缺损是不可忽视的问题，当缺损面积达到一定程度时极易造成气胸、胸壁软化、纵膈摆动与反常呼吸等临床症状，严重者甚至导致呼吸功能障碍^[1,2]。一般胸壁缺损直径超过 5cm 则极易导致胸壁浮动、反常呼吸和/或呼吸衰竭需要进行修复与重建，而直径小于 5cm 则因影响较小一般不需要进行手术修补。前侧胸壁在维持其坚固性，减轻胸壁凹陷与对胸腔内脏器的保护方面发挥着重要作用，因此，该胸壁的缺损一般需要修补；肩胛骨下方的缺损需要及时修补以防上肢运动时肩胛骨尖进入胸壁，但肩胛骨后方的缺损如果直径小于 10cm 因有肩胛骨的保护而不需要修补^[3,4]。胸壁重建的标准：①密闭胸膜腔；②稳定胸壁；③可接受的外观效果^[5]。目前，临床上常用的用于胸壁修复与重建的材料有骨水泥、prolene 网补片、钛合金网、生物源骨材料、同种异体骨材料及自体骨等，胸壁重建术中所使用的修补材料各有其优缺点，选择哪种材料进行胸壁重建主要根据术者的习惯来判断。钛合金是一种具有良好的生物相容性以及生物内环境具有出色的抗腐蚀性的合金材料，目前已广泛应用于医学领域，但也存在一些缺点，比如易引起激发感染，金属影响电磁波的检测，价格相对昂贵，对于经济困难的家庭是一笔巨大的支出。生物源及异体骨材料的优点在于其是由生物或其他人的骨骼制备而成，因此具有优秀的生物学特性，也最接近原来的骨组织，但缺点是其易产生排异反应且抗感染能力差，手术时间长，来源少及材料强度低。自体骨移植虽然能保证不产生排异反应，但由于需从患者本人其他部位获取骨组织，因此并不是首选的修补方案。

医用骨水泥原本为骨科用于治疗压缩性骨折的骨髓腔填塞剂而引进临床，在骨科已被证实为无毒理作用的人工材料，其副作用“骨水泥反应”的主要机制为骨水泥放热反应引起骨髓腔压力过高所导致的脂肪滴进入血管而引发的栓塞。作为一种胸壁重建材料近年来被应用于临床。骨水泥在制成人工材料复合体后有以下优势：①重量轻、能即时塑形、容易裁剪。②手术操作简单，对胸壁的骨性支持好。③外形美观，生物相容性好，无 X-ray 干扰，无安检报警现象，对肺功能无影响。作为一种新型的胸壁重建人工材料尚需进一步的研究其物理特性是否达

到生理要求^[6,7]。而 Prolene 网补片作为一种胸壁修复重建的柔软合成材料优点明显：①无菌性炎症反应轻。②具有良好的坚硬度。③人体组织纤维在短期内即可生长并覆盖在补片网上，消灭死腔，加快伤口的修复。缺点是：对较大面积缺损时存在刚性不足，易出现胸壁软化和反常呼吸运动。有研究表明胸壁缺损 3-6 个月后，人工材料的作用将被自身新生纤维组织替代；而 prolene 网补片耐腐蚀，不会被身体组织的酶所消化、降解、退化；塑形和使用简便；因补片呈网柱状结构，在术后早期，补片与肌皮层之间的渗液可经胸腔引流管引出体外，防止局部积液及伤口感染；不影响以后胸部 X 线检查^[8]。由 prolene 网补片与骨水泥材料组成的“三明治”复合修补材料及方法，从长远的角度和患者的利益考虑，具有相对优秀的发展前景和可行性，是一种在胸壁缺损修复与重建领域最具有推广价值的现代医学技术之一。

湖南省肿瘤医院胸外科从上世纪 90 年代开始，就对肿瘤手术中所致胸壁缺损的修复重建方法进行了积极探索，针对胸壁缺损原因及大小，应用不同方法进行修复重建，积累了丰富的临床经验，也在相关文献上进行了公开交流，并一致认为在大面积胸壁缺损修复与重建中，采用 prolene 网补片与骨水泥的“三明治”修复重建方法要优于其他方法^[2]。尽管临床上针对胸壁恶性肿瘤患者术后的大面积胸壁缺损，采用 prolene 网补片与骨水泥“三明治”方法修复与重建缺损胸壁的临床疗效已经得到肯定，但仍存在一些亟待解决的临床问题，如所应用骨水泥人工材料的抗压强度如何、prolene 网补片与骨水泥“三明治”复合修复材料的物理学特性怎样、骨水泥在修复重建胸壁塑形过程中产生的放热反应对周围组织的影响以及如何进行有效预防等问题，限制了骨水泥在胸壁修复重建中的推广应用。目前，针对以上存在的问题还缺乏相应的临床实验研究数据和文献报道。本文基于此目的，通过设计两组体外实验，根据实验取得的科学数据，客观评价 prolene 网补片和骨水泥“三明治”法复合胸壁修复材料与正常生物肋骨骨组织之间的抗压强度及物理学特性，并对骨水泥在修补胸壁缺损手术中产生的放热反应引起的患者机体组织热损伤及热损伤的预防控制问题进行积极探索。

第二章 材料与方法

2.1 主要材料、试剂和仪器

2.1.1 材料

骨水泥	20g/包 ×30 包	史塞克公司
prolene 网补片	15cm×15cm/ 张×5 张	强生公司
模具石膏	25kg×1 包	北京超力伟业工贸有限公司
新鲜猪肋骨	10 根 (0.3-0.6 岁成年猪)	长沙步步高生活超市
实验用杂种犬	4 只 (15-17kg)	中南大学实验动物中心
0.9%生理盐水	500ml×10 袋	湖南金健药业有限责任公司

2.1.2 试剂

磷钨酸苏木素染色液	珠海贝索生物技术有限公司
鼠抗人 HSP70 单克隆抗体 (BM0368)	武汉博士得生物工程有限公司
SP 免疫组化染色试剂盒 (SA1022)	武汉博士得生物工程有限公司
DBA 显色剂 AR1022	武汉博士得生物工程有限公司

2.1.3 仪器

万能力学实验机	AG-IC100KN	日本岛津公司
高温数字温度计	TES-1310	杭州丰华仪表公司
病理组织漂烘处理仪	PHY-III	常州中威电子仪器厂
组织包埋机	BMJ-III	常州中威电子仪器厂
电热鼓风干燥箱	WG-136	天津泰斯仪器有限公司
电热恒温培养箱	420 型	湖北新康医疗器械厂
普通光学显微镜	OLympusBH-2	日本 Olympus 公司
微量移液器	50ul, 100ul	德国 Eppendorf 公司
格兰仕微波炉	WD900B	顺德市格兰仕电器有限公司
切片机	Leica-RM1128	德国 leica 公司
超薄切片机	LKB-III	瑞典 LKB 公司
电子显微镜	HT7700	日立高新技术公司

2.2 实验一：骨水泥人工肋骨材料与生物肋骨强度测定

2.2.1 实验目的：

通过材料抗压强度实验，测量并比较临床上应用的骨水泥人工材料与生物骨材料在强度上是否存在差异，从而为临床上对人工材料的应用提供科学、客观的评价依据。

2.2.2 实验分组：

根据临床上对人工材料的应用，我们将实验分为三个实验组，即成年猪生物肋骨组，单纯骨水泥肋骨模型组，prolene 网补片与骨水泥“三明治”法复合材料肋骨模型组。

2.2.3 猪肋骨骨组织制备：

取 0.3-0.6 个月成年猪肋骨 10 根，长度约 13-15cm，去除附着肋骨上的肌肉及脂肪组织，用 10%甲醛固定 24 小时备用（见图 1-1）。

2.2.4 肋骨模具制备：

用以上 10 根备用猪肋骨为模板，使用模型石膏分别制取猪肋骨个体化模具 10 个。

2.2.5 骨水泥肋骨模型制备：

用以上所制作的猪肋骨石膏个体化模具，采用单一骨水泥为材料，按每根骨水泥肋骨 30g 重量骨水泥进行倒模，制作 10 根骨水泥肋骨模型备用（见图 1-2）。

2.2.6 prolene 网补片与骨水泥“三明治”法复合材料肋骨模型制备：

用以上制作完成的猪肋骨石膏个体化模具，采用最里层铺设 prolene 网补片，中间层铺设骨水泥，外层再铺设 prolene 网补片的“三明治”法制作人工复合材料肋骨，按每根肋骨模型 30g 重量的骨水泥进行倒模，制作 10 根 prolene 网补片与骨水泥“三明治”法复合材料肋骨模型（见图 1-3）。

2.2.7 抗压强度（CS）测量方法：

将猪肋骨（10 根）分别固定在压力测试仪台面上，采用日本岛津公司生产的 AG-IC 100KN 万能力学试验机检测成年猪肋骨所能承受的最大抗压强度

(Compressive strength, CS 单位为 MPa 或 N/mm^2), 并且以同样方法分别测定 10 根单一骨水泥肋骨模型及 10 根 prolene 网补片与骨水泥“三明治”法复合材料肋骨模型的最大抗压强度。



图 2-1 制备完成的猪肋骨骨组织



图 2-2 使用模具制备完成的单纯骨水泥材料肋骨骨组织模型



图 2-3 使用模具制备完成的 prolene 网补片与骨水泥复合材料肋骨骨组织模型

2.3 实验二：骨水泥对实验动物组织热损伤的危害程度及低温生理盐水循环灌注对热损伤预防的效果评价

2.3.1 实验目的：

临床上在应用骨水泥人工材料对胸壁大面积缺损患者进行修复和重建时，都面临着骨水泥塑形过程中严重的化学放热反应对邻近组织的热损伤问题。通过本实验研究，达到科学、客观地评价我院临床上应对骨水泥塑形过程中的化学放热反应热损伤预防手段其对患者组织保护的安全性和有效性，从而为推动该胸壁大面积缺损修复与重建新技术的临床应用提供科学依据。

2.3.2 实验分组：

根据实验目的，我们将 4 只实验犬随机分为热损伤组（对照组）和灌注热损伤保护组（实验组）二组。

2.3.3 实验前准备：

准备体重为 15~17Kg 健康杂种犬 4 只，分成热损伤组（对照组）和灌注热

损伤保护组（实验组），每组实验犬按 0.7ml/kg 标准静脉给予 3% 戊巴比妥钠进行麻醉，约 1 分钟后达到松口指征，即睫毛反射基本消失、颈部松软、痛刺激消失，检查确认后将其在实验台上进行固定，然后行气管插管，胸部手术区去毛，最后对手术区进行消毒处理、剪开胸壁皮备用（见图 1-4）。



图 2-4 麻醉、固定、消毒完成后的手术实验犬制备

2.3.4 犬实验模型制备：

将 4 只实验犬开胸后切除胸壁及两侧 5 根肋骨，制成 12cm×6cm 的人工大面积胸壁缺损实验模型备用（见图 1-5）。

2.3.5 热损伤组（对照组）处理方法：

用 15cm×15cm prolene 网补片 2 张，骨水泥 60g，采用“三明治”法复合人工材料对实验犬进行胸壁缺损修复与重建术，骨水泥胸壁假体厚度 10mm，修补过程中不予热损伤预防措施（见图 1-6）。

2.3.6 灌注热损伤保护组（实验组）处理方法：

用 15cm×15cm prolene 网补片 2 张，骨水泥 60g，采用“三明治”法复合人工材料对实验犬进行胸壁缺损修复与重建术，骨水泥胸壁假体厚度 10mm，修补过程中建立生理盐水灌注循环系统，以温度为（室温）25℃的 0.9%生理盐水灌注降温，灌注速率为每分钟 500ml，以防止骨水泥塑形过程中化学放热反应对邻近组织的热损伤（见图 1-7）。

2.3.7 取材：

为评估骨水泥在实验犬体内产生的放热反应对邻近组织的损伤作用，分别在对照组和实验组取与骨水泥胸壁假体相连接部位的犬肌肉组织材料，具体组织取材点为连接部（0cm），距离连接部 0.5cm，距离连接部 1cm 的地方分别取组织送检。

2.3.8 组织热损伤评价方法：

根据实验目的，对对照组和实验组的犬肌肉组织样本行 HE 染色（Hematoxylin and eosin stain，HE stain），磷钨酸苏木素染色（Phosphotungstic acid hematoxylin，PTAH），热休克蛋白 70（Heat shock protein 70，HSP70）免疫组化检查及电子显微镜显微结构观察。根据组织病理学及显微结构改变情况评估其组织热损伤程度。

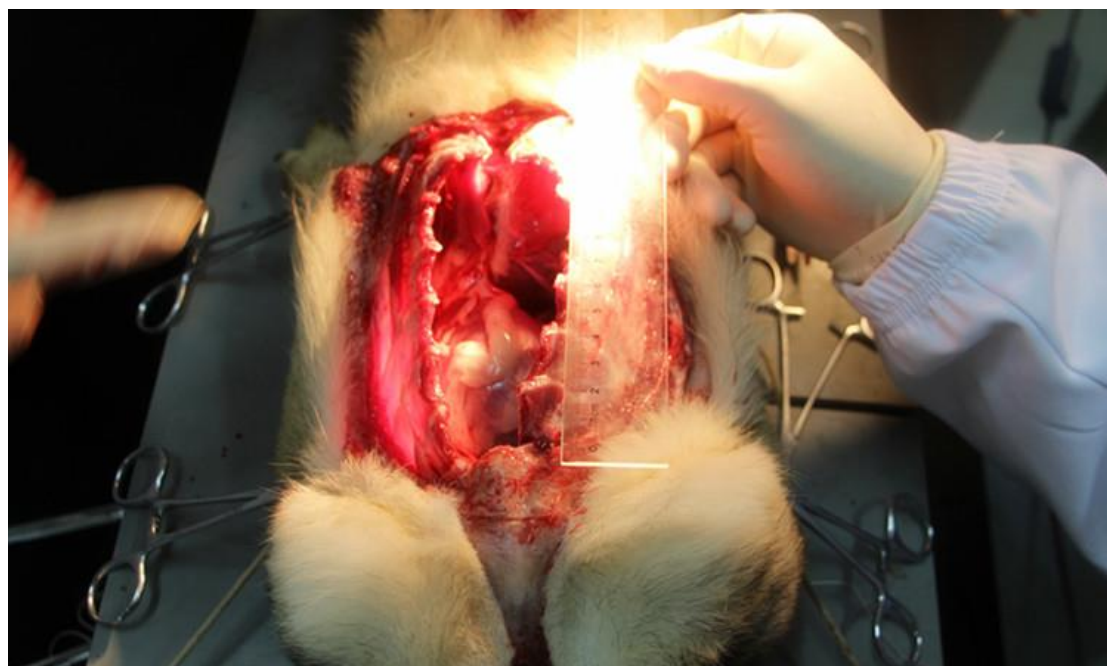


图 2-5 大面积胸壁缺损实验犬模型制备

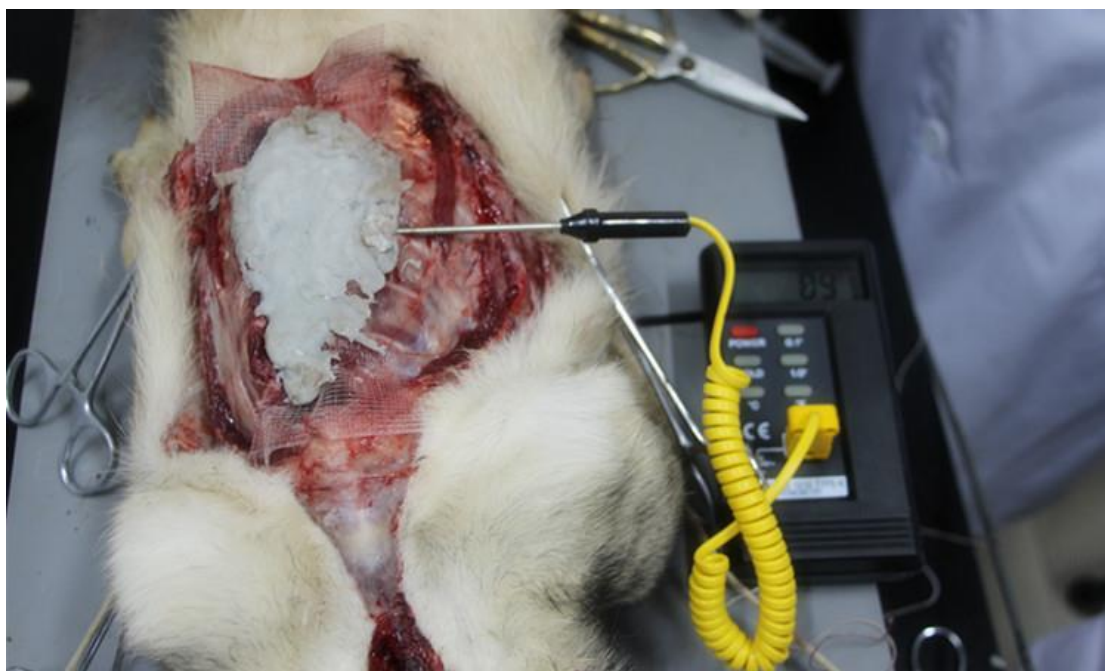


图 2-6 犬热损伤实验组（对照组）大面积胸壁缺损修复重建实验过程



图 2-7 犬灌注热损伤保护实验组（实验组）大面积胸壁缺损修复重建实验过程

2.4 组织检测标本制备及方法

2.4.1 取材与固定：

为测量 prolene 网补片与骨水泥“三明治”法复合人工材料所制成的胸骨假体（人工胸壁），在实验犬体内产生的放热反应对肋间组织的损伤作用，分别在

与骨水泥人工胸壁连接点 0cm 处，距离连接点 0.5cm 处，以及距离连接点 1.0cm 处取肋间组织 1.0g，投入预先配好的 10%甲醛固定液中固定 24h。

2.4.2 脱水：

常用梯度乙醇溶液作为脱水剂，脱水过程是：70%乙醇 3 小时→80%乙醇 3 小时→90%乙醇 2 小时→95%乙醇 2 小时→100%乙醇 I 2 小时→100%乙醇 II 2 小时进行梯度脱水，逐渐脱去组织块中的水份。

2.4.3 透明：

将组织块置于既溶于酒精，又溶于石蜡的透明剂二甲苯中透明，一般过程是：二甲苯 I 1 小时，二甲苯 II 1 小时。

2.4.4 浸蜡及包埋：

将已透明的组织块置于已溶化的石蜡中，放入溶蜡箱保温。待石蜡完全浸入组织块后进行包埋：在制备好的容器中，倒入已溶化的石蜡，迅速夹取已浸透石蜡的组织块放入其中，冷却凝固成块即成。

2.4.5 切片与贴片：

将包埋好的蜡块固定于切片机上，切成 5 微米厚薄片，放到加热的水中烫平，再贴到载玻片上，放入 45℃恒温箱中烘干。

2.4.6 脱蜡：

染色前，先用二甲苯脱去切片中的石蜡，再经由高浓度到低浓度酒精，最后入蒸馏水，就可染色。

2.4.7 组织 HE 染色：

实验犬取材组织 HE 染色，按以下实验步骤进行。切片在二甲苯中脱蜡 5 分钟→移入二甲苯和纯酒精(1：1)混合液中 5 分钟→依次放入 100%、95%、85%、70%酒精，各级为 5 分钟。最后经蒸馏水转入染液→苏木精染液染色 15 分钟→水洗玻片上多余染液，1%盐酸酒精（70%酒精配制）分色片刻。镜检控制，直至细胞核及核内染色质清晰为止，约数 10 秒钟→流水冲洗 15 分钟→蒸馏水短洗→0.5%伊红染液染色 5 分钟→依次经 70%、85%、95%、100%酒精脱水，各级为 2 分钟→二甲苯透明（二次），共约 10 分钟→封片：擦去切片周围多余二甲苯，切勿干涸，迅速滴加适量中性树胶，再加盖玻片封固。

2.4.8 组织磷钨酸苏木素精染色（PTAH）：

(1) 实验犬取材组织 PTAH 染色, 按以下实验步骤进行操作。石蜡切片 5 μ m, 脱蜡至水洗→蒸馏水洗 2 分钟→用 0.25%高锰酸钾水溶液氧化 3 分钟→蒸馏水洗 2 分钟→用 5%草酸水溶液漂白 3 分钟, 蒸馏水洗 3 次→用 Mallong 氏磷钨酸苏木素溶液浸染 4h→直接用 95%酒精溶液迅速分化兼脱水→无水酒精脱水, 二甲苯透明、封固。(2) 结果判定: 正常心肌、骨骼肌的肌原纤维和横纹肌呈清晰的蓝色, 变性肌纤维的颗粒、团块和收缩带呈深蓝色, 神经胶质纤维纤维素、线粒体、粘液物质等呈深蓝色, 间质结缔组织呈浅红色或不着色, 胶原纤维、网状纤维、骨及软骨基质呈蓝紫色, 有缺血、缺氧早期病变的心肌呈紫蓝色或棕黄色。

2.4.9 热休克蛋白 70 (Heat shock protein 70, HSP70) 免疫组化:

(1) 实验犬组织 HSP70 免疫组化步骤如下。常规石蜡切片、石蜡脱水→用封闭通透液浸润切片 30 min (封闭通透液配法是用预热 40 ml PBS + 120 μ l Triton X-100 加热 5 min, 临用前加 30% H_2O_2 400 μ l; PBS 溶液洗 3 min $\times$ 3 次)→抗原修复: 把切片放入 0.01 M 柠檬酸钠缓冲液 (pH6.0) 中, 在微波炉里高火 4 min 至沸腾后取出, 冷却至室温, 再加热, 约 4 次, 每次间隔补足液体防止干片; PBS 溶液洗 3 min $\times$ 3 次→封闭非特异性抗原: 将切片取出, 周围水分用滤纸吸干, 用 10%的正常羊血清在室温下孵育 1h→一抗孵育: 甩去切片上的羊血清, 用滤纸擦干组织周围残留血清, 直接加入已稀释的一抗 HSP70 单克隆抗体, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜后→二抗孵育: 将一抗倒掉并用 PBS 洗 5 min $\times$ 5 次; 加入生物素标记的羊抗鼠 IgG (Zymed, USA), 在常温下孵育 3 h, 用 PBS 洗 5 min $\times$ 5 次→SP 染色: 滴加 SP (链霉亲和素-过氧化物酶) 后放入 37 $^{\circ}$ C 烤箱中孵育 30 min; 用 PBS 洗 5 min $\times$ 5 次→DAB 显色: 加入 DAB (快速滴入, 观察染色情况, 倒掉染液), 显色时间控制在约 5 min (DAB 配法, DAB 50mg+0.05 M TB 100 ml+30% H_2O_2 40 ml); 自来水冲洗 10 min 终止反应→复染、脱水、透明、封片: 用 PBS 洗 3 min $\times$ 3 次后, 用双蒸水洗 5 min, 加一大滴苏木素染液, 自来水冲洗, 双蒸水洗 5 min, 再用 PBS 返蓝 5 min, 50%乙醇 $\times$ 2 min, 70%乙醇 $\times$ 2 min, 95%乙醇 $\times$ 2 min, 95%乙醇 $\times$ 2 min, 100%无水乙醇 $\times$ 2 min, 100%无水乙醇 $\times$ 2 min 梯度脱水, 二甲苯 1 $\times$ 2 min, 二甲苯 2 $\times$ 2 min 透明→用中性树胶封片, 置于通风橱中抽净二甲苯后即可观察。(2) 结果判定: HSP70 免疫组化染色后胞核或胞浆出现棕黄色颗粒, 则为阳性细胞, 按阳性细胞所占细胞的百分比, 将其分为 4 个等级; (一)

无阳性细胞；(+)阳性细胞<25%；(++)阳性细胞占 25%~50%；(+++)阳性细胞>50%。

2.5 实验犬组织电子显微镜下显微结构观察样本制作

2.5.1 取材：

为测量 prolene 网补片与骨水泥“三明治”法复合人工材料所制成的胸骨假体（人工胸壁），在实验犬体内放热反应对肋间组织的损伤作用，分别在与骨水泥人工胸壁连接点 0cm 处，距离连接点 0.5cm 处，以及距离连接点 1.0cm 处取肋间组织 0.5g 送检。

2.5.2 固定：

送检组织用 2.5%的戊二醛 10ml 固定，固定 48 小时（原则上固定时间要超过 24 小时）后备用。

2.5.3 后固定：

经 2.5%戊二醛固定 48 小时后的送检组织，取出后用 2%的锇酸固定 2 小时，备用。

2.5.4 梯度脱水：

经固定、后固定的组织标本经 50%、70%、90%、100%的丙酮脱水，每级脱水 10 分钟×3 次。

2.5.5 浸泡：

经以上处理的组织标本放入环氧树脂/纯丙酮 1：1 混合液中，37℃，浸泡 24 小时。

2.5.6 包埋：

浸泡后组织使用 Epon812（Epoxyäquivalentgewicht 145-160）、DDSA(Dodecenylsuccinic Anhydride)、MNA(Methyl Nadic Anhydride)、DMP30(Dimethylaminomethyt Phenol)，60℃，24 小时包埋成块。

2.5.7 修块、定位：

包埋组织块半薄切片，经甲苯氨蓝染色观察，选取所需要的部位。

2.5.8 超薄切片：

使用瑞士产 LKB-III 型超薄切片机切片，切片厚度约 500 埃。

2.5.9 电子染色：

切片使用醋酸铀、硝酸铅双重染色后备用。

2.5.10 透射电镜观察：

将制备好的组织切片，置于日产 HT7700 型透射电镜观察、照片。

2.6 统计学分析：

收集实验所得的各组肋骨或肋骨模型最大抗压强度计量数据，将各实验组数据输入 SPSS 18.0 统计软件中进行统计分析。实验中计量数据采用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，实验组之间的测量结果比较采用两样本 t 检验方法，以 $\alpha = 0.05$ (双尾) 作为检验标准， $P < 0.05$ 为有统计学意义。

第三章 结 果

3.1 生物肋骨、骨水泥肋骨、prolene 网与骨水泥复合材料肋骨主要物理学特性比较

临床上，对大面积胸壁缺损修复人工材料的选用，除考虑材料的化学稳定性、组织相容性、对人体无毒副作用、坚固和可塑形性之外，对人工材料的抗压强度、柔韧性（即抗曲强度）等物理学特性的详细了解，也是选择并使用好人工修复材料的关键之一。

3.1.1 生物肋骨、骨水泥肋骨、prolene 网补片与骨水泥复合材料肋骨三组肋骨柔韧性分析

通过对万能力学实验机检测得出的三组不同材料肋骨抗压强度测量力学曲线分析发现，生物肋骨组抗压强度曲线波峰较圆滑，其他两组人工材料肋骨组抗压强度曲线波峰尖锐。实验结果表明，生物肋骨的柔韧性（即抗曲强度）要优于人工材料，即生物骨的柔韧性要优于骨水泥肋骨、prolene 网补片与骨水泥复合材料肋骨的柔韧性（见图 2-1，2-2，2-3）。

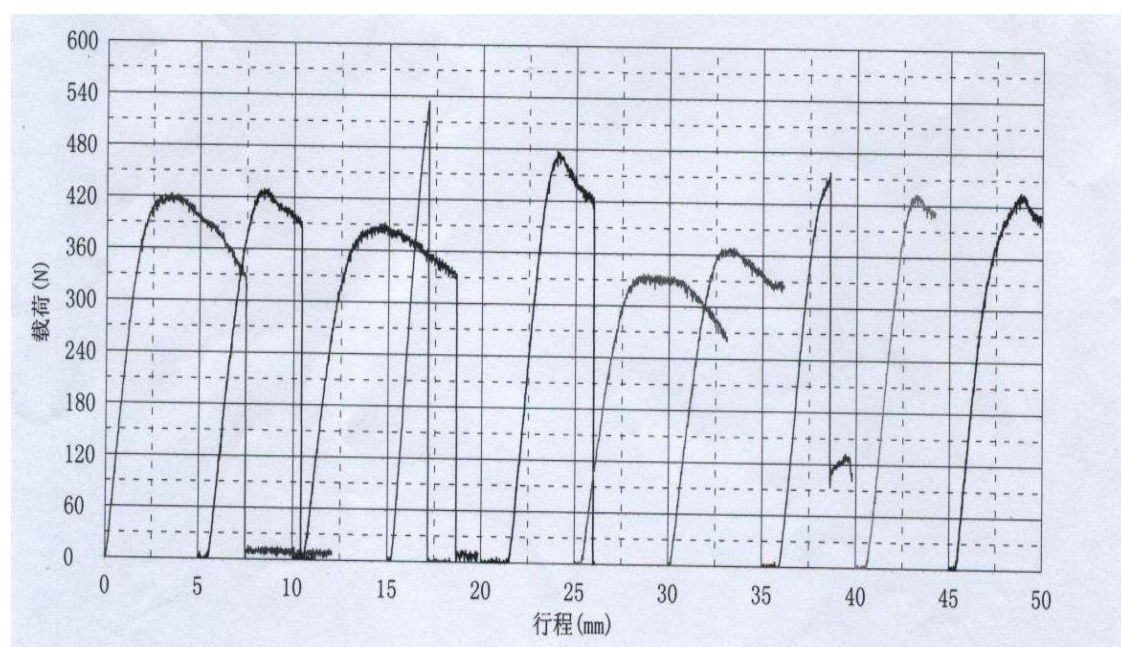


图 3-1 生物骨（猪）肋骨抗压强度曲线

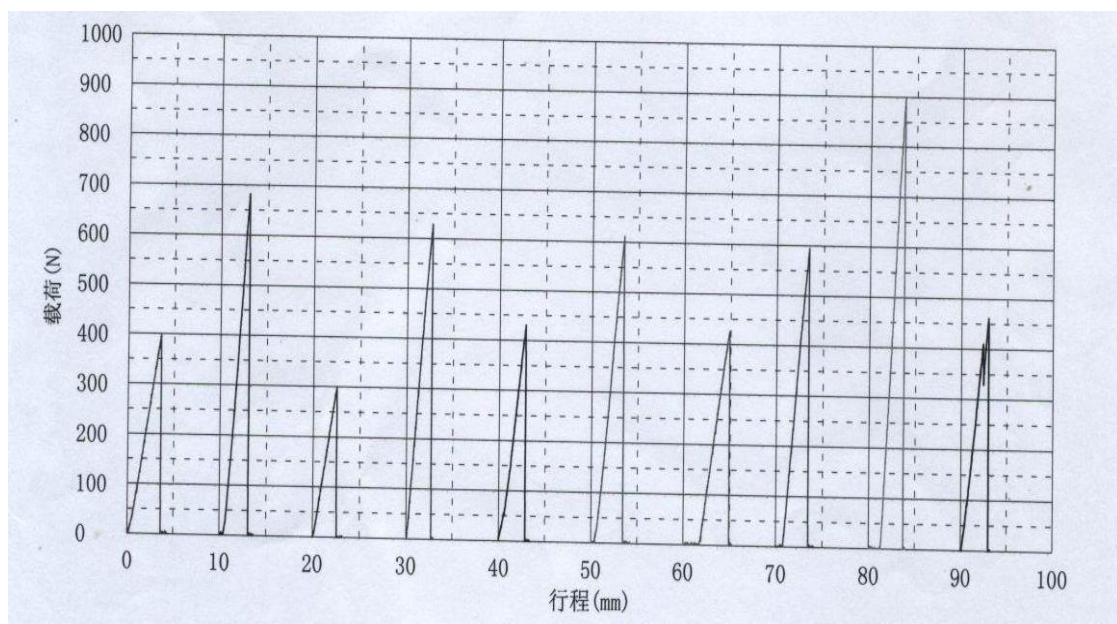


图 3-2 骨水泥人工肋骨抗压强度曲线

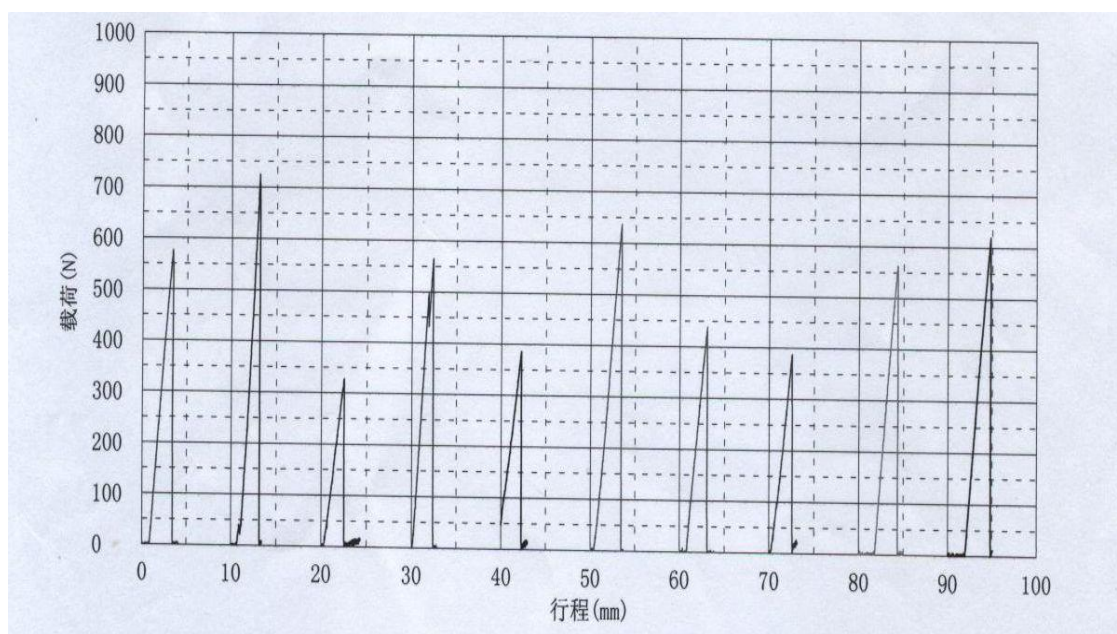


图 3-3 prolene 网补片与骨水泥复合材料肋骨抗压强度曲线

3.1.2 生物肋骨、骨水泥肋骨、prolene 网补片与骨水泥复合材料肋骨三组抗压强度比较

肋骨抗压强度大小是临床上衡量人工材料能否替代生物材料的一个最基本评价指标。经对生物肋骨、骨水泥肋骨、prolene 网补片与骨水泥复合材料肋骨抗压强度的精确测定，生物肋骨组的平均抗压强度为 429.06N (429.06 ± 55.58)，

骨水泥肋骨组的平均抗压强度为 543.91N (543.91±174.06)，prolene 网补片与骨水泥复合材料肋骨组的平均抗压强度 522.81N (522.81±129.87)。经统计学分析比较，三组间肋骨抗压强度大小有显著性差异 (P<0.05)，即骨水泥肋骨组的平均抗压强度最大，prolene 网补片与骨水泥复合材料肋骨组的平均抗压强度次之，生物肋骨组的平均抗压强度最小，但骨水泥肋骨组的平均抗压强度与 prolene 网补片骨水泥复合材料肋骨组的平均抗压强度无显著性差异 (P>0.05)。

附表 生物肋骨、骨水泥肋骨、prolene 网与骨水泥复合材料肋骨抗压强度比较

肋骨编号	生物肋骨组 (N)	骨水泥 肋骨组 (N)	prolene 网与骨水泥 肋骨组 (N)
1	423.44	398.44	576.56
2	429.69	682.81	725.00
3	392.19	301.56	328.13
4	534.38	629.69	565.63
5	478.13	431.25	385.94
6	337.50	612.50	637.50
7	368.75	426.56	439.06
8	457.81	595.31	387.50
9	432.81	898.44	562.50
10	435.94	462.50	620.31
平均值	429.06±55.58	543.91±174.06*	522.81±129.87*

*各组与生物肋骨组比较，差异有显著性，P<0.05；其余两组比较，差异不具有显著性 P>0.05。

3.2 骨水泥在实验犬体内放热反应对邻近组织损伤的病理学改变及低温生理盐水灌注降温预防热损伤效果观察

骨水泥作为临床上大面积胸壁缺损修复重建的主要人工材料，具有化学稳定性好，坚固，可根据胸壁缺损形状塑形，对人体组织无副作用等优点，但应注意骨水泥在塑形修复胸壁缺损过程中的化学放热反应对邻近组织或器官的损伤。

3.2.1 骨水泥胸骨假体体外放热反应的测量及低温生理盐水灌注降温预防放热反应的效果评价

聚乙烯吡咯烷酮(Polyvinylpyrrolidone)简称 PVP，俗称“骨水泥”，是性能优异、用途广泛的水溶性高分子化合物。它是一种特殊的化学制剂，在临床应用上，在其凝固、塑形过程中会产生强烈的聚合反应，聚合过程为放热过程，反应放出

的热量不容易扩散，引起反应体系的温度急剧上升，最终对接触的人体相邻组织造成热损伤。一般认为生物组织接触 45℃ 温度的物体数分钟，即可产生不可逆转的病理性热损伤。我们在动物实验过程中检测到热损伤组骨水泥胸骨假体化学放热反应的温度最高达 89℃，其中 45℃ 以上高温持续达 12.5 分钟之久；而低温生理盐水循环灌注热损伤保护组，以速度为每分钟 500ml 的（室温）25℃ 生理盐水进行循环灌注降温，其骨水泥胸骨假体与邻近组织和器官间的温度保持在 23~36℃ 之间，预防降温措施效果满意（见图 3-4）。

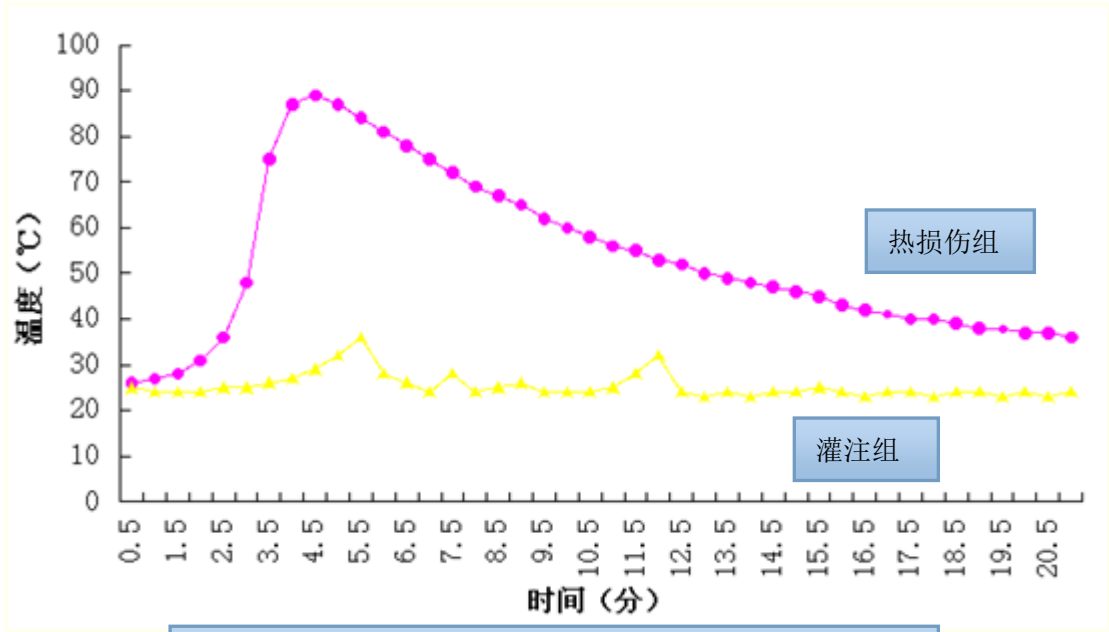


图 3-4 骨水泥胸骨在热损伤组及灌注组的温度变化曲线

3.2.2 HE 染色观察

取实验犬开胸时正常肋间肌肉组织做正常对照，HE 染色后镜检，正常骨骼肌肌纤维胞浆均质红染，横纹结构清晰，未见明显病理变化（见图 3-5）。为观察骨水泥在热损伤组实验犬体内放热反应对邻近肋间肌肉组织的病理损伤作用，取与骨水泥胸壁假体相连接部位 0cm、0.5cm 及 1.0cm 犬肋间肌肉组织行 HE 染色观察，发现与骨水泥胸壁假体相连接部位（0cm）处肋间肌肉组织骨骼肌肌纤维肿胀、断裂明显，横纹结构模糊不清，肌纤维间质充血水肿明显，肌间隙明显增宽（见图 3-6A）；灌注组与骨水泥胸壁假体相连接部位（0cm）处肋间肌肉组织骨骼肌纤维横纹结构较清晰，肌纤维断裂不明显，肌纤维间质可见轻度水肿，肌

间隙增宽（见图 3-6B）。热损伤组距连接部位 0.5cm 处肋间肌肉组织部分骨骼肌肌纤维肿胀、断裂较明显，横纹结构较模糊，肌纤维间质充血水肿，肌间隙增宽（见图 3-7A）；灌注组距连接部位 0.5cm 处骨骼肌纤维横纹结构较清晰，肌纤维断裂不明显，其他未见明显异常（见图 3-7B）。热损伤组距连接部位 1.0cm 处肋间肌肉组织部分骨骼肌肌纤维肿胀，可见肌纤维断裂，部分横纹结构较模糊，肌纤维间质可见轻度水肿，肌间隙增宽（见图 3-8A）；而灌注组距连接部位 1.0cm 处骨骼肌纤维横纹结构清晰，未见明显病理变化（见图 3-8B）。

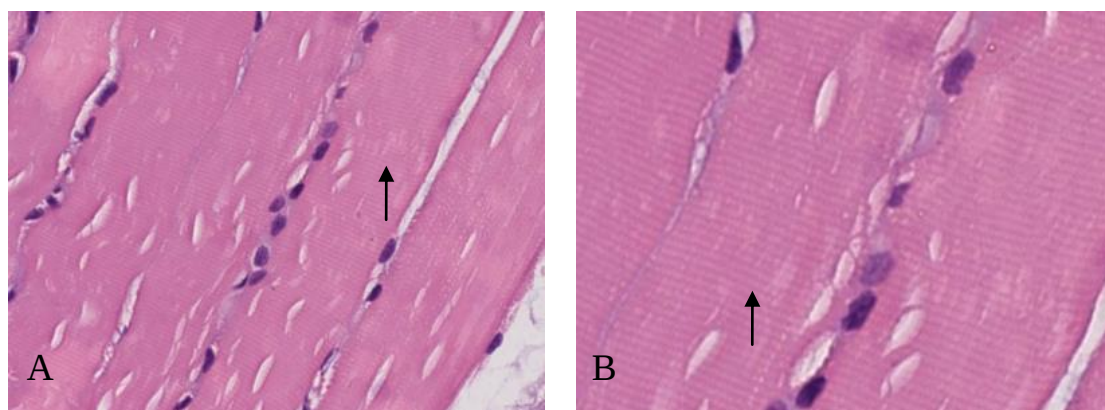


图 3-5 实验犬正常肋间骨骼肌肌纤维 HE 图像(A: ×20; B: ×40)

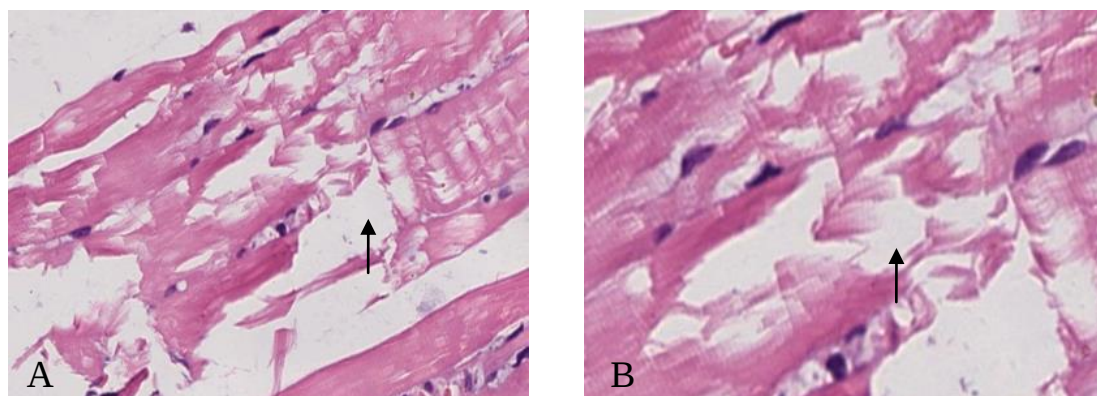


图 3-6A 热损伤组距连接部位 0cm 处肋间骨骼肌肌纤维 HE 图像(A: ×20; B: ×40)

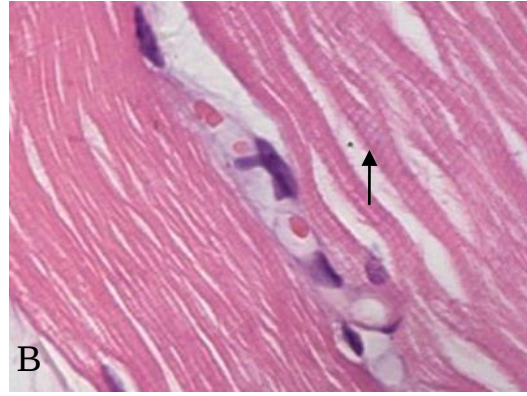
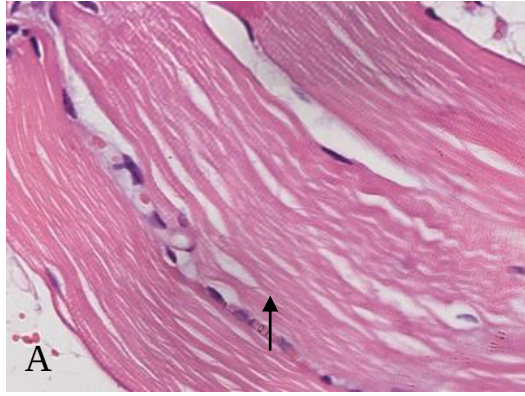


图 3-6B 灌注组距连接部位 0cm 处肋间骨骼肌肌纤维 HE 图像 (A: $\times 20$; B: $\times 40$)

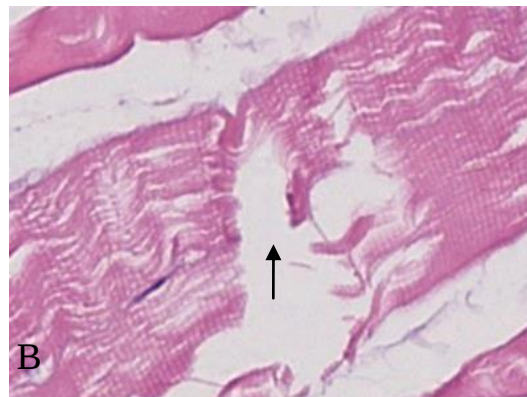
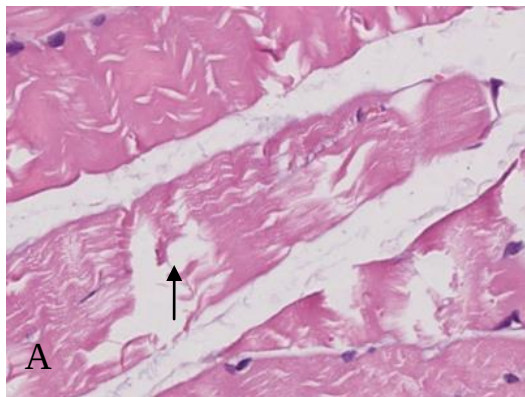


图 3-7A 热损伤组距连接部位 0.5cm 处肋间骨骼肌肌纤维 HE 图像 (A: $\times 20$; B: $\times 40$)

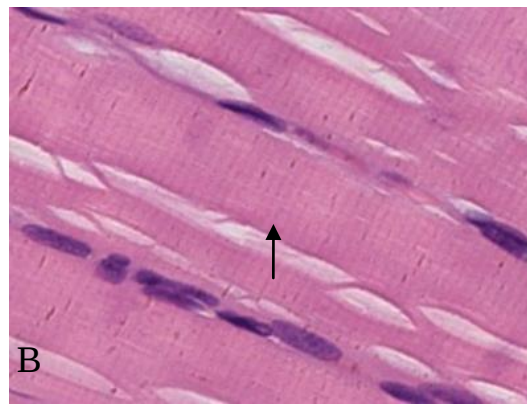
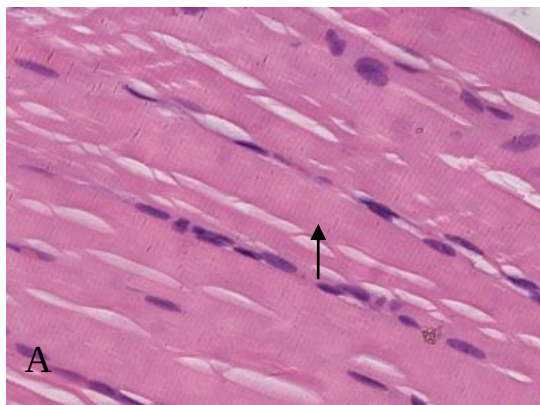


图 3-7B 灌注组距连接部位 0.5cm 处肋间骨骼肌肌纤维 HE 图像 (A: $\times 20$; B: $\times 40$)

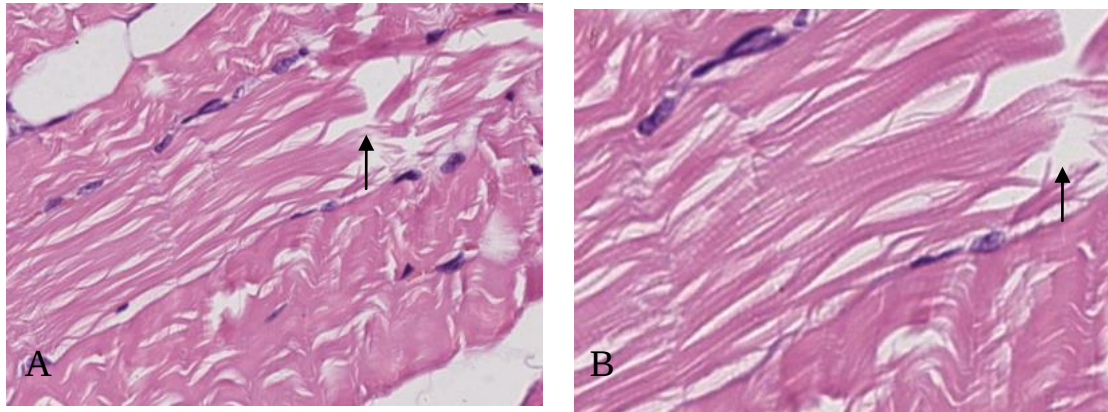


图 3-8A 热损伤组距连接部位 1.0cm 处肋间骨骼肌纤维 HE 图像(A: $\times 20$; B: $\times 40$)

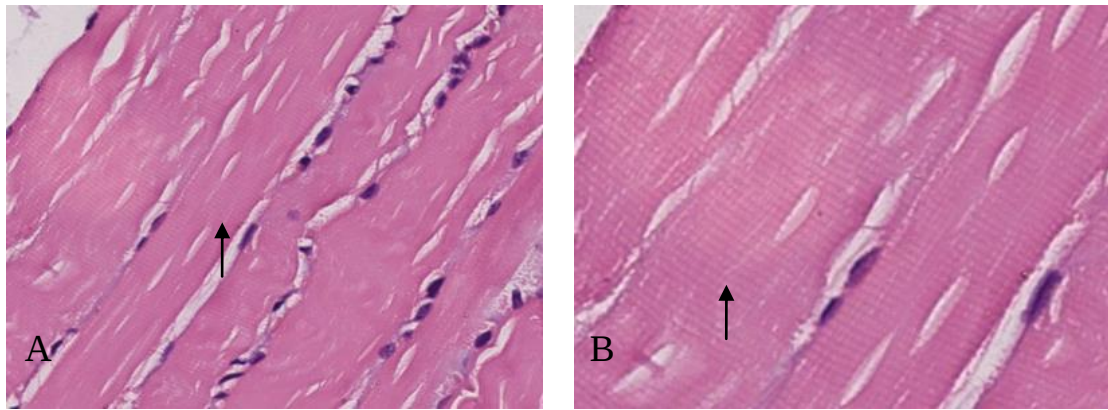


图 3-8B 灌注组距连接部位 1.0cm 处肋间骨骼肌纤维 HE 图像(A: $\times 20$; B: $\times 40$)

3.2.3 磷钨酸苏木素精染色 (PTAH) 观察

正常实验犬肋间肌肉组织磷钨酸苏木素精染色后, 骨骼肌横纹染色呈蓝色, 染色均匀一致, 横纹结构清晰可见, 部分胶原纤维呈棕红色 (见图 3-9)。热损伤组犬肋间肌肉组织距骨水泥胸壁假体相连接部位 (0cm) 处大部分骨骼肌横纹呈深蓝色, 染色不均匀, 胞浆内出现深染黑色横带或团块, 横纹结构模糊不清, 可见明显断裂, 部分肿胀坏死的肌纤维呈棕红色 (见图 3-10A); 灌注组与骨水泥胸壁假体相连接部位 (0cm) 处骨骼肌横纹染色呈蓝色, 染色较均匀, 横纹结构清晰可见, 未见明显断裂 (见图 3-10B)。热损伤组距连接部位 0.5cm 处肋间肌肉组织部分骨骼肌横纹呈深蓝色, 染色不均匀, 胞浆内出现深染黑色横带或团块, 横纹结构较模糊, 可见肌纤维断裂 (见图 3-11A); 灌注组距连接部位 0.5cm 处骨骼肌横纹染色呈蓝色, 染色均匀一致, 横纹结构清晰 (见图 3-11B)。热损伤组距连接部位 1.0cm 处肋间肌肉组织骨骼肌呈蓝色, 染色较均匀, 胞浆内深染

黑色横带或团块消失，横纹结构清晰（见图 3-12A）；而灌注组距连接部位 1.0cm 处骨骼肌横纹染色呈蓝色，染色均匀一致，横纹结构清晰（见图 3-12B）。

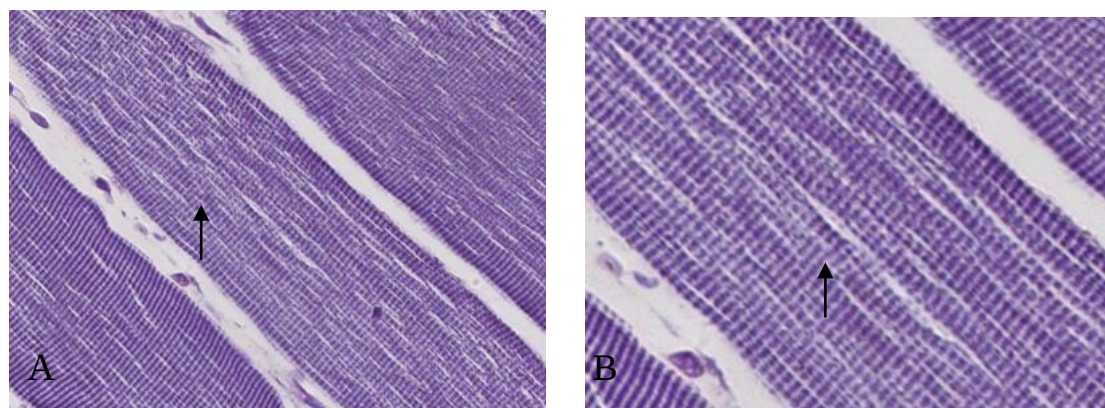


图 3-9 实验犬正常肋间骨骼肌纤维 PTAH 图像(A: ×20; B: ×40)

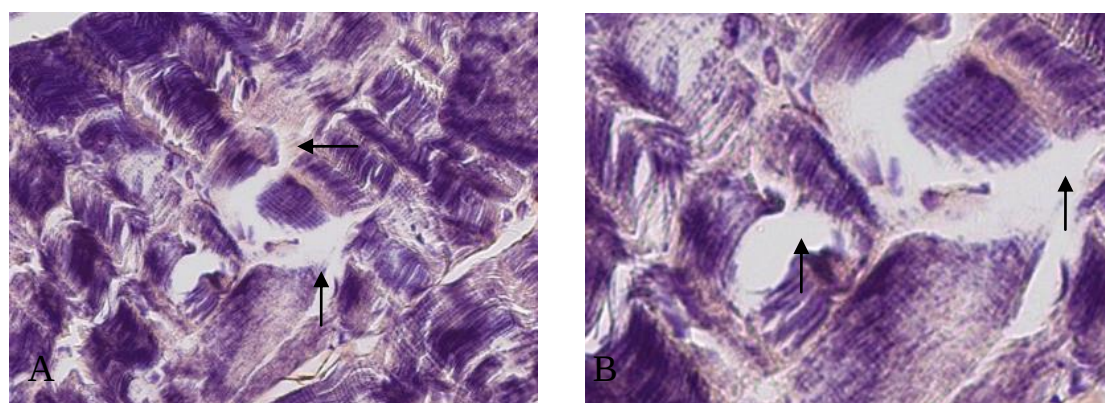


图 3-10A 热损伤组距连接部位 0cm 处肋间骨骼肌纤维 PTAH 图像(A: ×20; B: ×40)

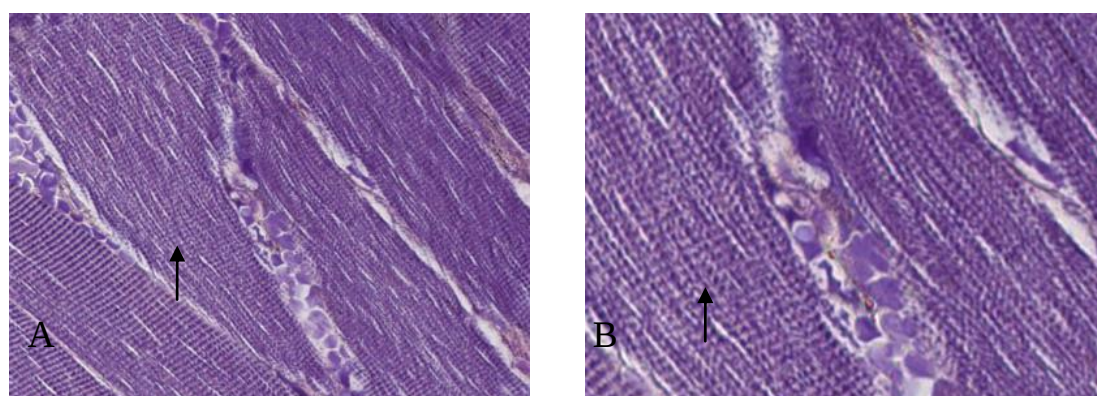


图 3-10B 灌注组距连接部位 0cm 处肋间骨骼肌纤维 PTAH 图像(A: ×20; B: ×40)

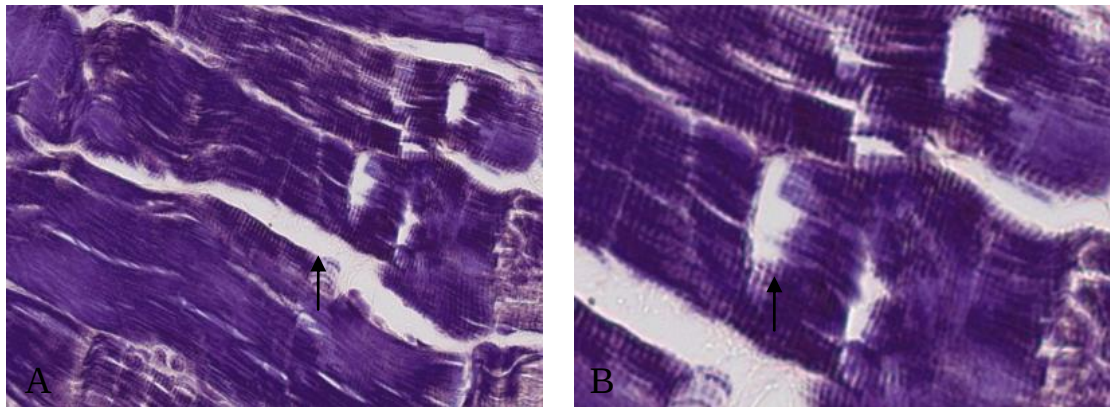


图 3-11A 热损伤组距连接部位 0.5cm 处肋间骨骼肌肌纤维 PTAH 图像 (A: $\times 20$; B: $\times 40$)

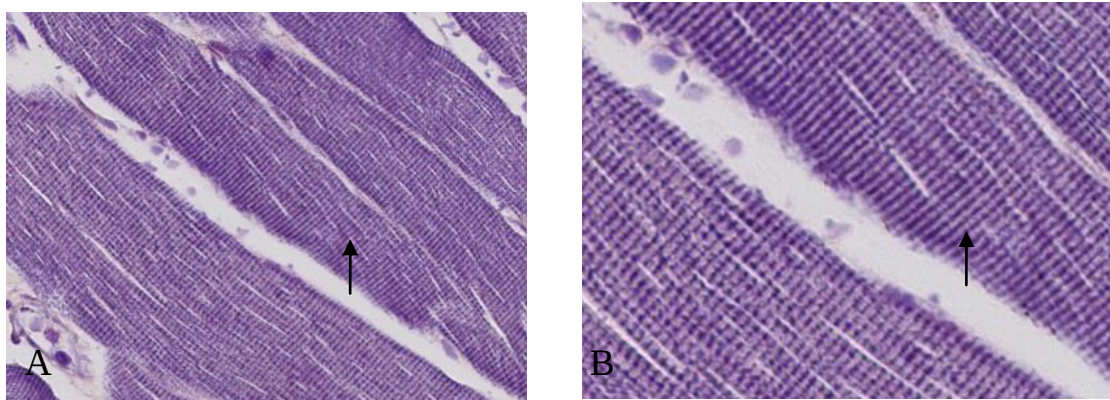


图 3-11B 灌注组距连接部位 0.5cm 处肋间骨骼肌肌纤维 PTAH 图像 (A: $\times 20$; B: $\times 40$)

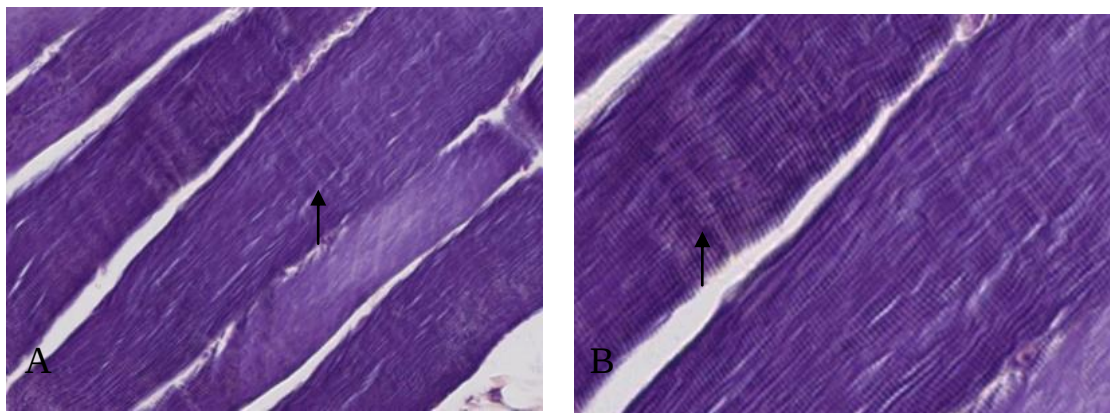


图 3-12A 热损伤组距连接部位 1.0cm 处肋间骨骼肌肌纤维 PTAH 图像 (A: $\times 20$; B: $\times 40$)

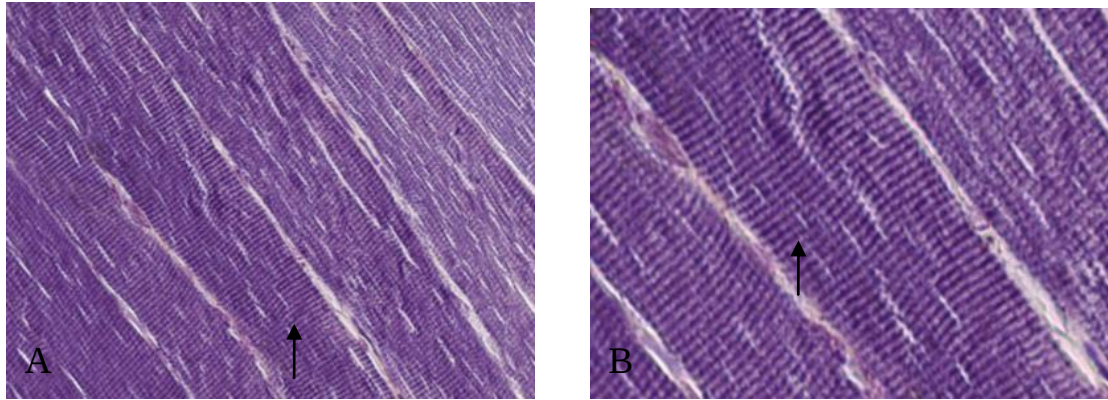


图 3-12B 灌注组距连接部位 1.0cm 处肋间骨骼肌肌纤维 PTAH 图像(A: $\times 20$; B: $\times 40$)

3.2.4 热休克蛋白 70 (HSP70) 免疫组化结果

热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, HSP70) 是一组进化上高度保守的蛋白质, 机体细胞在热休克或受到其他外来刺激时诱导 HSP70 产生。正常实验犬肋间肌肉组织骨骼肌细胞呈弱阳性表达, 主要在胞浆表达, 偶见胞核少量表达 (见图 3-13)。热损伤组犬肋间肌肉组织距骨水泥胸壁假体相连接部位 (0cm) 处, 骨骼肌细胞胞浆、胞核 HSP70 均呈强阳性表达, 胞核表达较正常细胞表达明显增强 (见图 3-14A); 灌注组与骨水泥胸壁假体相连接部位 (0cm) 处骨骼肌细胞呈弱阳性表达, 以胞浆表达主要, 胞核少量表达 (见图 3-14B)。热损伤组距连接部位 0.5cm 处肋间肌肉组织, 骨骼肌细胞胞浆、胞核 HSP70 均呈中等强度阳性表达 (见图 3-15A); 灌注组距连接部位 0.5cm 处骨骼肌细胞呈弱阳性表达, 以胞浆表达主要, 胞核少量表达 (见图 3-15B)。热损伤组距连接部位 1.0cm 处肋间肌肉组织, 骨骼肌细胞 HSP70 呈弱阳性表达, 以胞浆表达主要, 胞核有少量表达 (见图 3-16A); 而而灌注组距连接部位 1.0cm 处骨骼肌细胞呈弱阳性表达, 主要在胞浆表达, 偶见胞核少量表达 (见图 3-16B)。

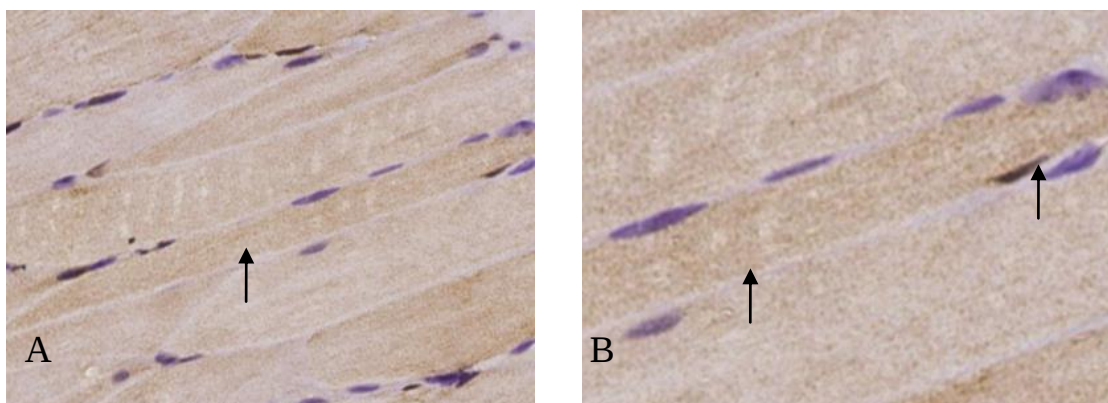


图 3-13 实验犬正常肋间骨骼肌肌纤维 HSP70 免疫组化图像(A: $\times 20$; B: $\times 40$)

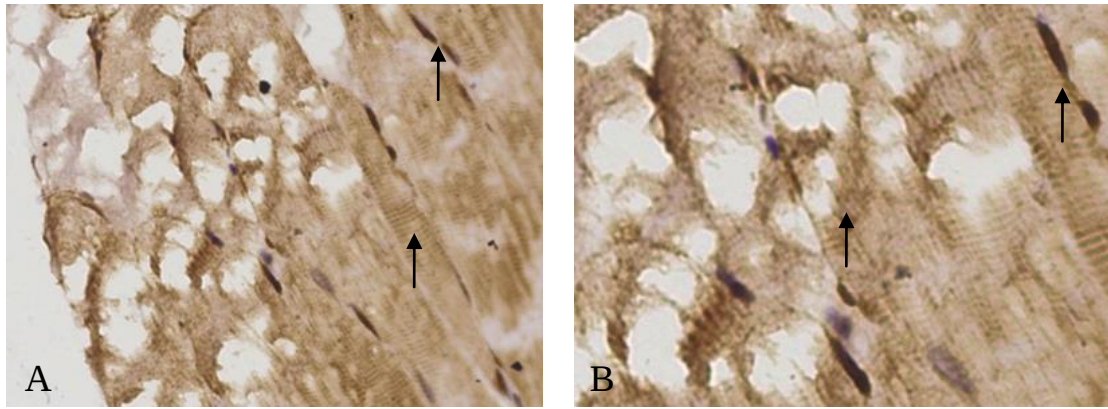


图 3-14A 热损伤组距连接部位 0cm 处肋间骨骼肌肌纤维 HSP70 免疫组化图像 (A: $\times 20$; B: $\times 40$)

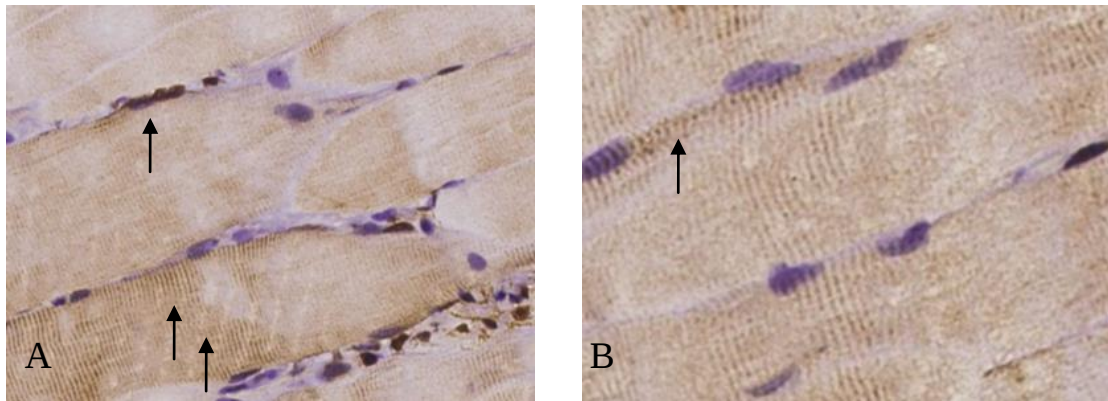


图 3-14B 灌注组距连接部位 0cm 处肋间骨骼肌肌纤维 HSP70 免疫组化图像 (A: $\times 20$; B: $\times 40$)

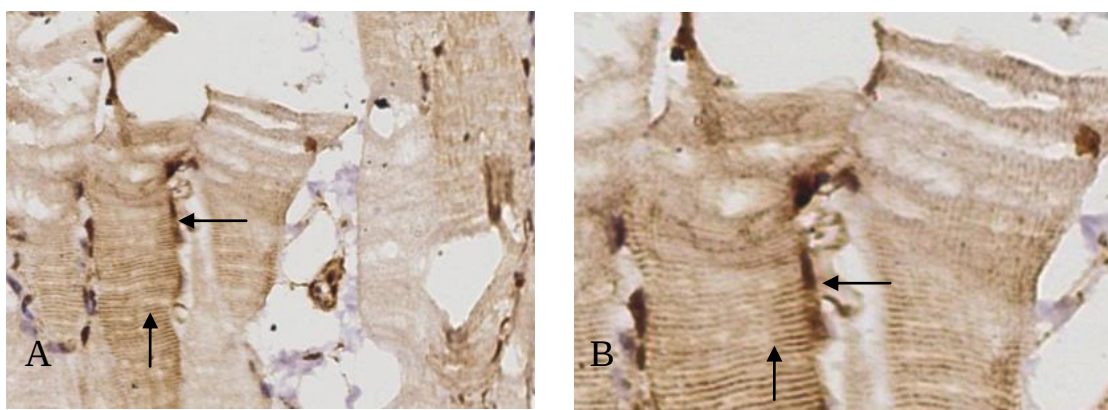


图 3-15A 热损伤组距连接部位 0.5cm 处肋间骨骼肌肌纤维 HSP70 免疫组化图像 (A: $\times 20$; B: $\times 40$)

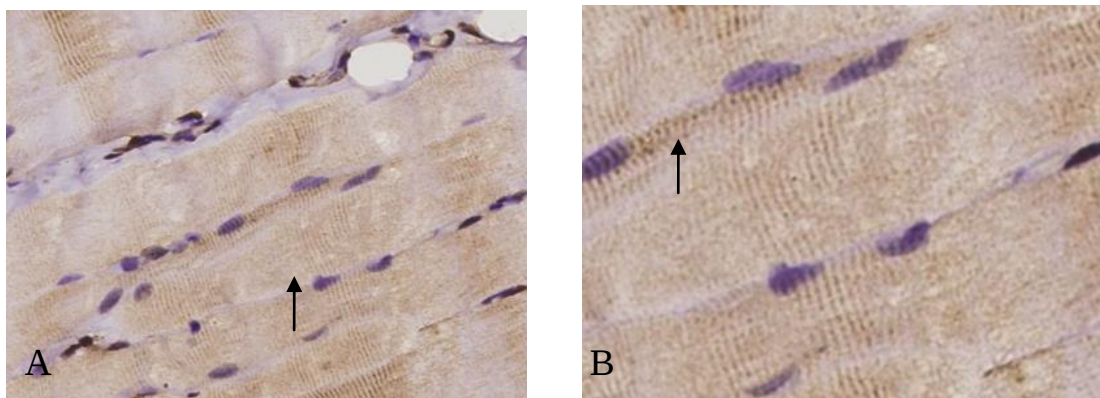


图 3-15B 灌注组距连接部位 0.5cm 处肋间骨骼肌肌纤维 HSP70 免疫组化图像 (A: $\times 20$; B: $\times 40$)

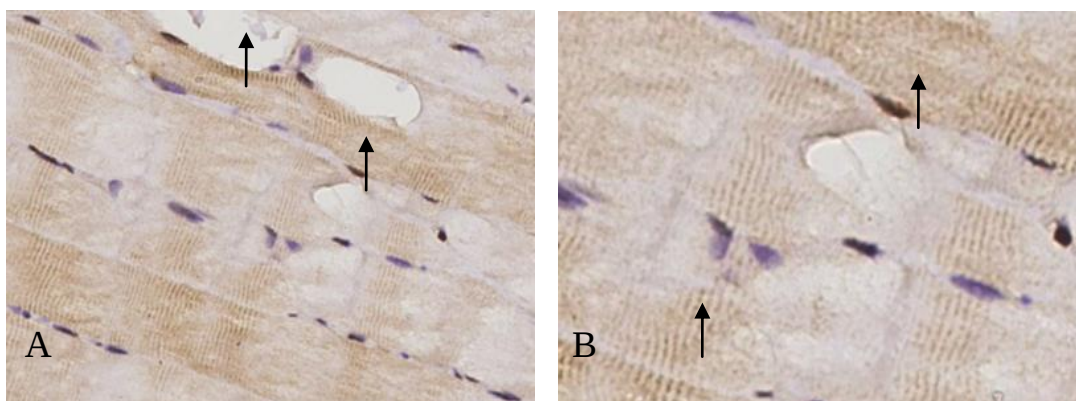


图 3-16A 热损伤组距连接部位 1.0cm 处肋间骨骼肌肌纤维 HSP70 免疫组化图像 (A: $\times 20$; B: $\times 40$)

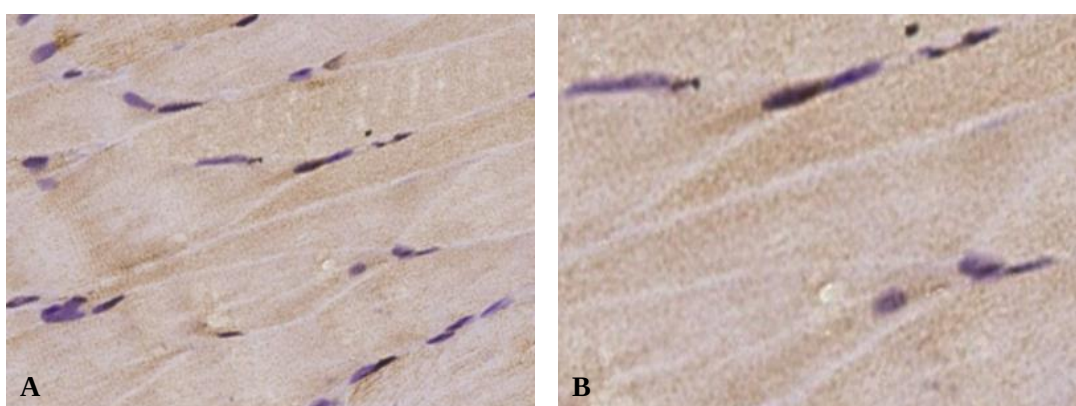


图 3-16B 灌注组距连接部位 1.0cm 处肋间骨骼肌肌纤维 HSP70 免疫组化图像 (A: $\times 20$; B: $\times 40$)

3.2.5 实验犬肌肉组织电子显微镜下显微结构观察结果

以正常犬肋间肌肉组织透射电子显微镜（TEM）下显微结构图像为对照，对热损伤组、灌注组两组实验犬肌肉组织显微结构进行观察，了解热损伤对组织的危害程度及（室温）25℃生理盐水灌注降温对热损伤的预防效果。

（1）正常犬肋间肌肉组织透射电镜显微结构观察

在透射电镜 10 μm 放大倍数图中可见肌纤维细胞核（N）清晰，肌小节（S）完整，少数线粒体（M）水肿、空泡化（见图 3-17A）。电镜 2 μm 放大倍数图中示肌小节（S）完整、清晰，可辨出明带（I）、暗带（A）和明带中央的 Z 线，少数线粒体（M）水肿、空泡化（见图 3-17B）。



图 3-17A 正常犬肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像（10 μm ）

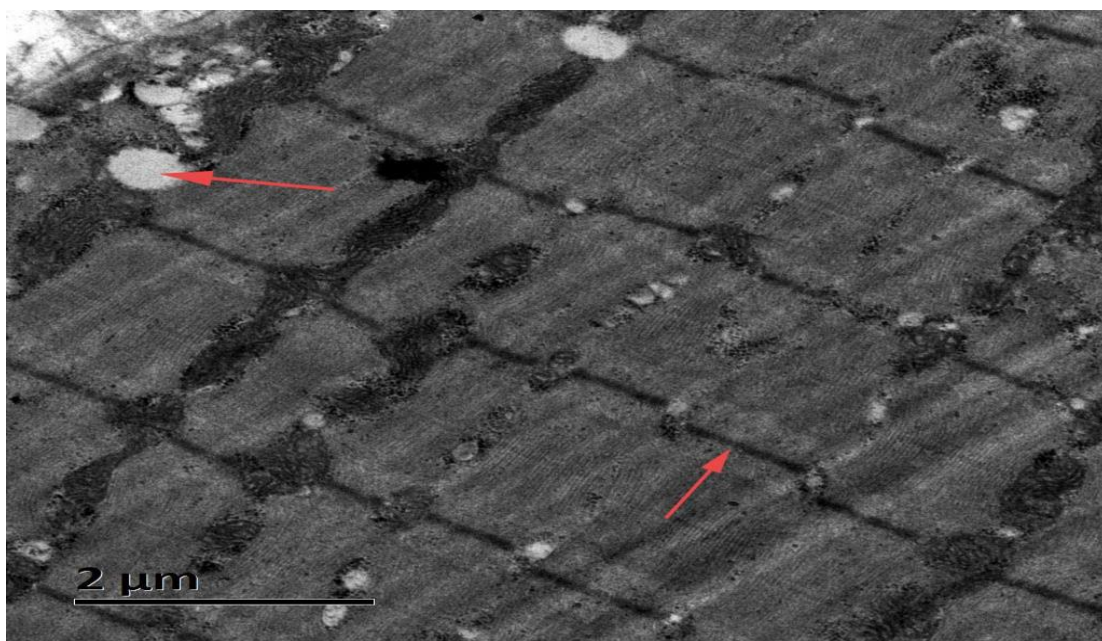


图 3-17B 正常犬肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像 (2 μm)

(2) 热损伤组犬肋间肌肉组织透射电镜 (TEM) 显微结构观察

① 犬肋间肌肉组织距骨水泥胸壁假体连接部位 0cm 处透射电镜图像：在透射电镜 10 μm 放大倍数图中可见肌纤维结构模糊，横纹隐约可见，间质血管 (2 个) 内壁坏死、血管破裂 (见图 3-18A)。电镜 5 μm 放大倍数图中示肌纤维内肌丝坏死，肌小节 (S) 结构丧失，仅残留肌纤维轮廓 (见图 3-18B)。

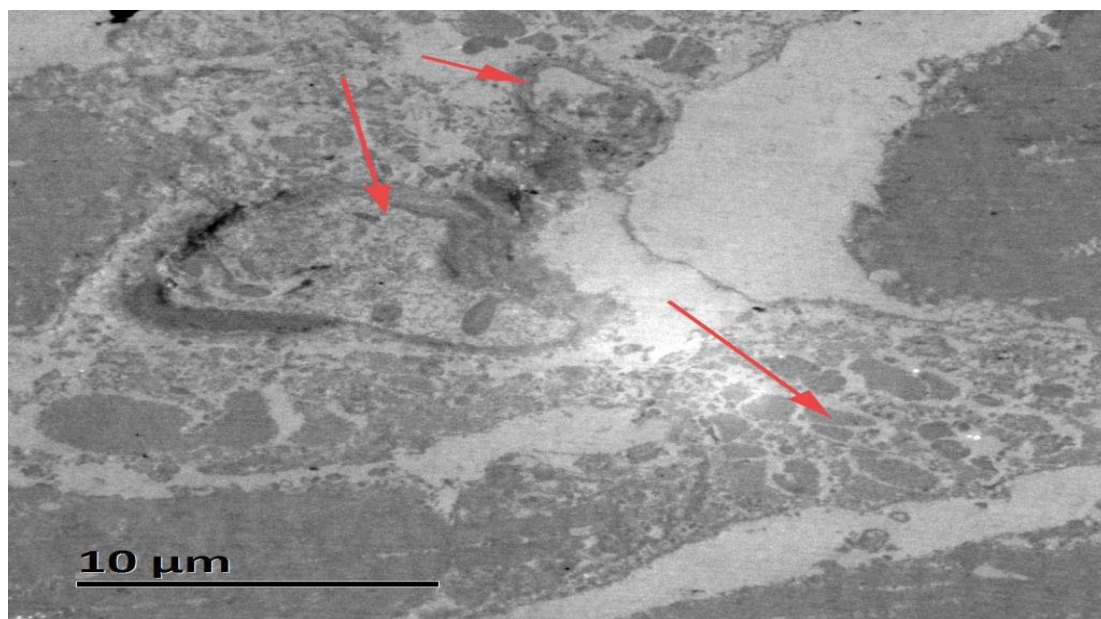


图 3-18A 热损伤组距连接部位 0cm 处肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像 (10 μm)

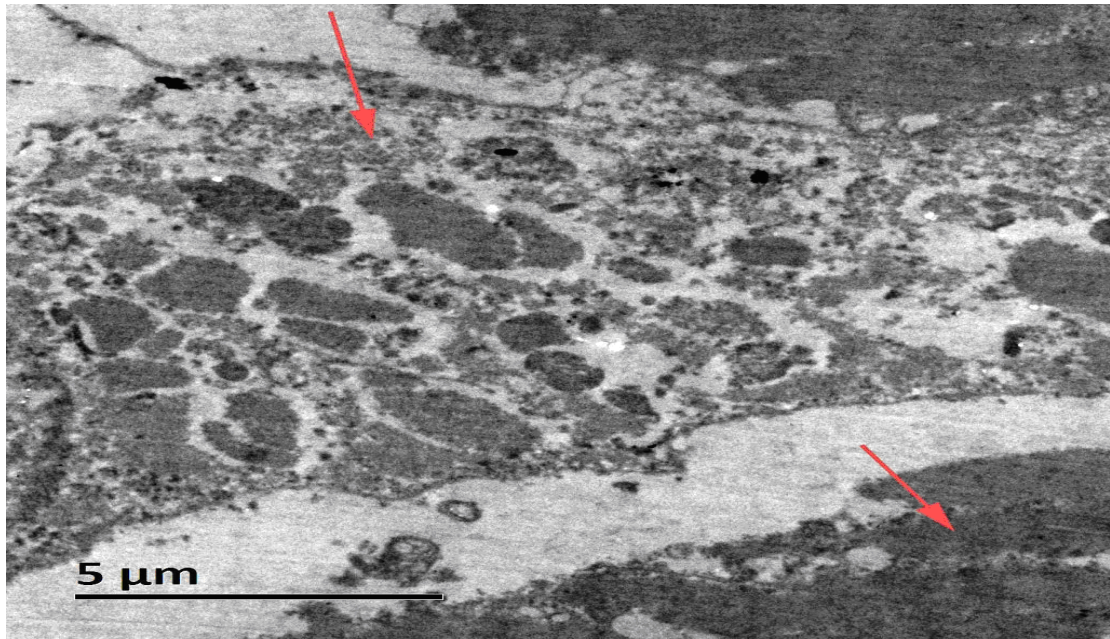


图 3-18B 热损伤组距连接部位 0cm 处肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像 (5 μm)

② 犬肋间肌肉组织距骨水泥胸壁假体连接部位 0.5cm 处透射电镜图像：透射电镜 10 μm 放大倍数图中肌小节可见、结构模糊，肌纤维萎缩，线粒体广泛水肿、空泡化（见图 3-19A）。电镜 2 μm 放大倍数图中示部分肌纤维横纹结构模糊，线粒体广泛水肿、空泡化（见图 3-19B）。

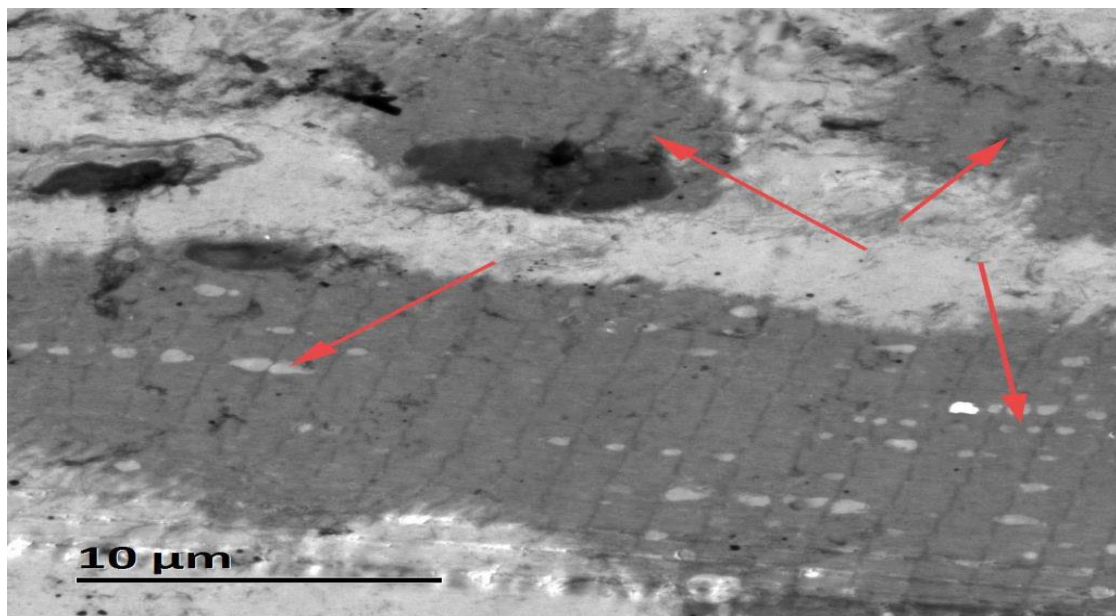


图 3-19A 热损伤组距连接部位 0.5cm 处肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像 (10 μm)

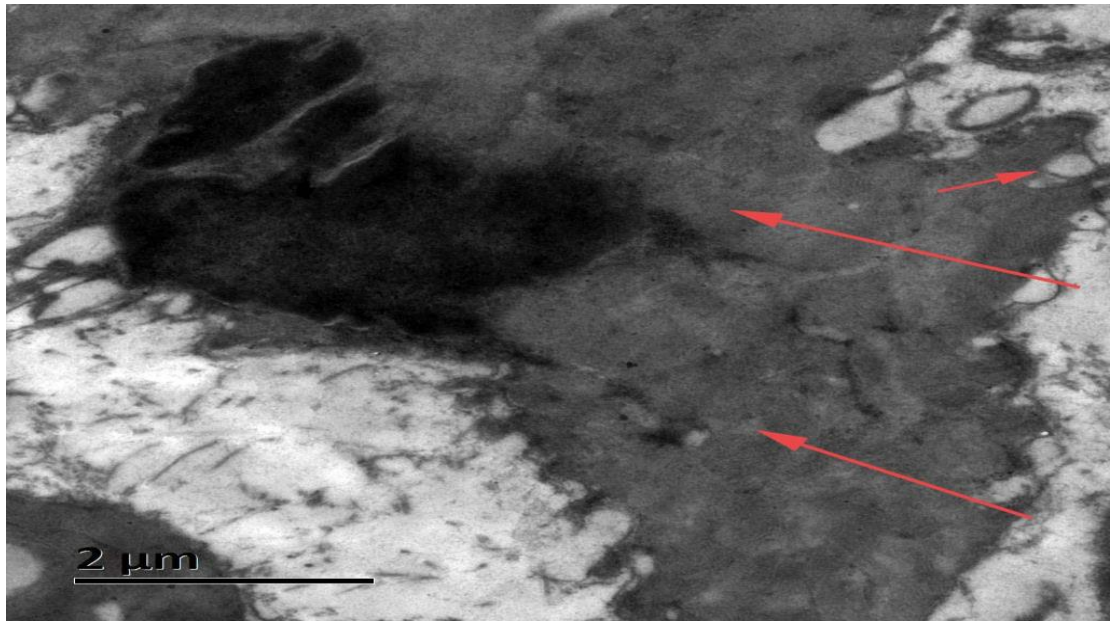


图 3-19B 热损伤组距连接部位 0.5cm 处肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像 (2 μm)

③ 犬肋间肌肉组织距骨水泥胸壁假体连接部位 1.0cm 处透射电镜图像：透射电镜 20 μm 放大倍数图中肌小节可见、结构较清晰，肌纤维细胞核正常，部分线粒体水肿、空泡化（见图 3-20A）。电镜 5 μm 放大倍数图中示肌小节可见、结构较清晰，肌纤维细胞核无异常，部分线粒体水肿、空泡化（见图 3-20B）。

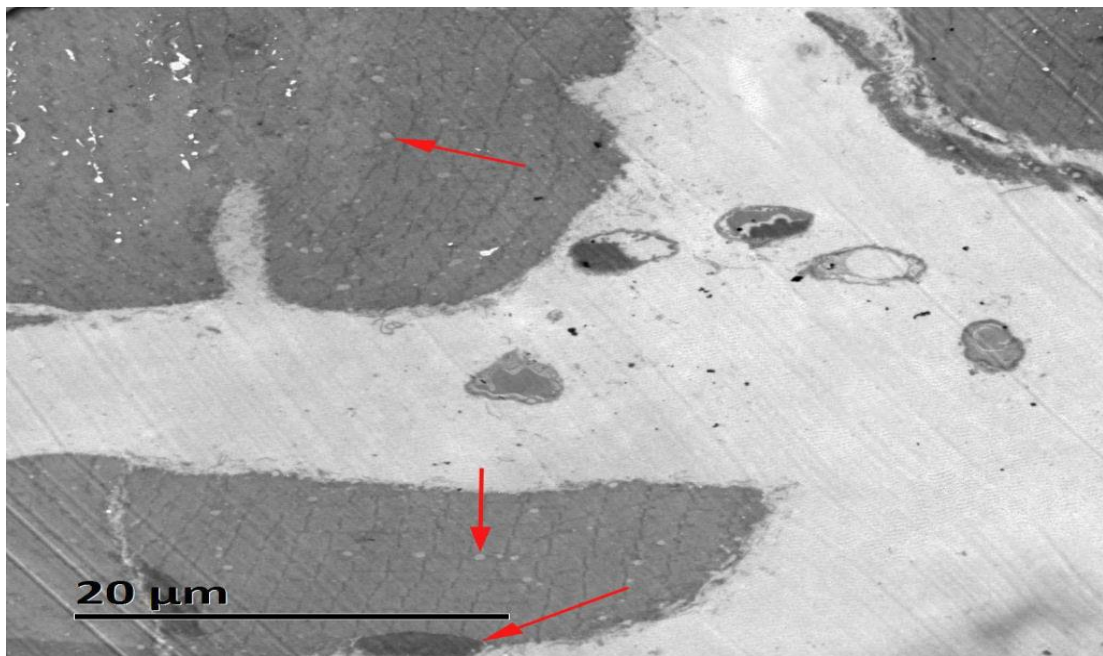


图 3-20A 热损伤组距连接部位 1.0cm 处肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像 (20 μm)

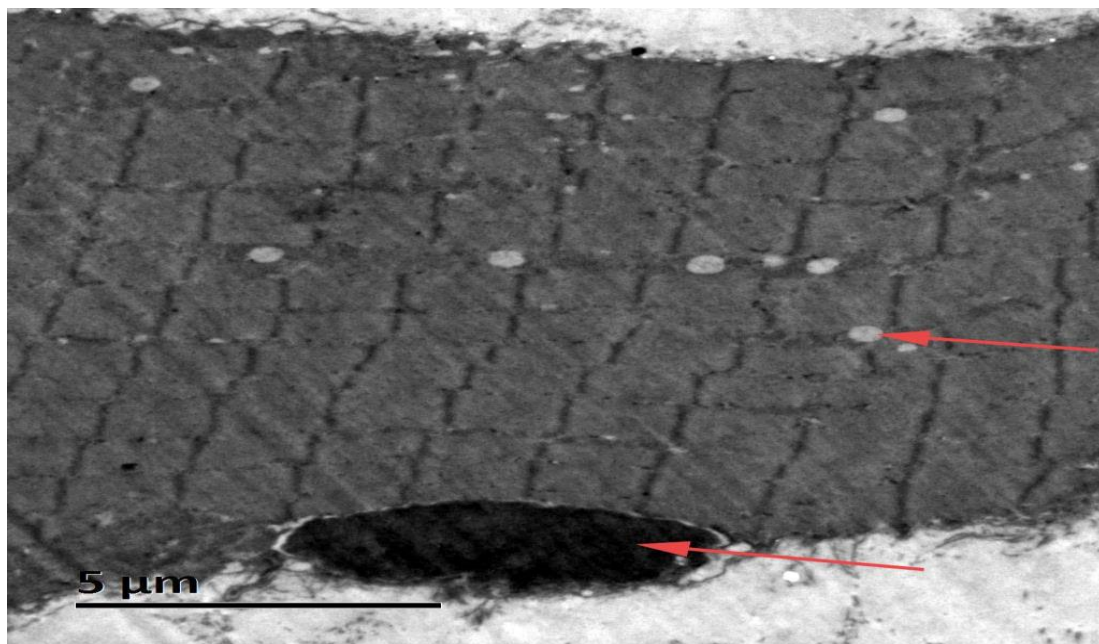


图 3-20B 热损伤组距连接部位 1.0cm 处肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像 (5 μm)

(3) 灌注组犬肋间肌肉组织透射电镜显微结构观察

① 灌注组犬肋间肌肉组织距骨水泥胸壁假体连接部位 0cm 处透射电镜图像：在透射电镜 20 μm 放大倍数图中可见肌纤维结构较清晰，肌膜下少数线粒体水肿、空泡化，无肌纤维萎缩、坏死（见图 3-21A）。电镜 5 μm 放大倍数图中示肌纤维结构清晰，肌膜下少数线粒体水肿、空泡化，无肌纤维萎缩、坏死（见图 3-21B）。

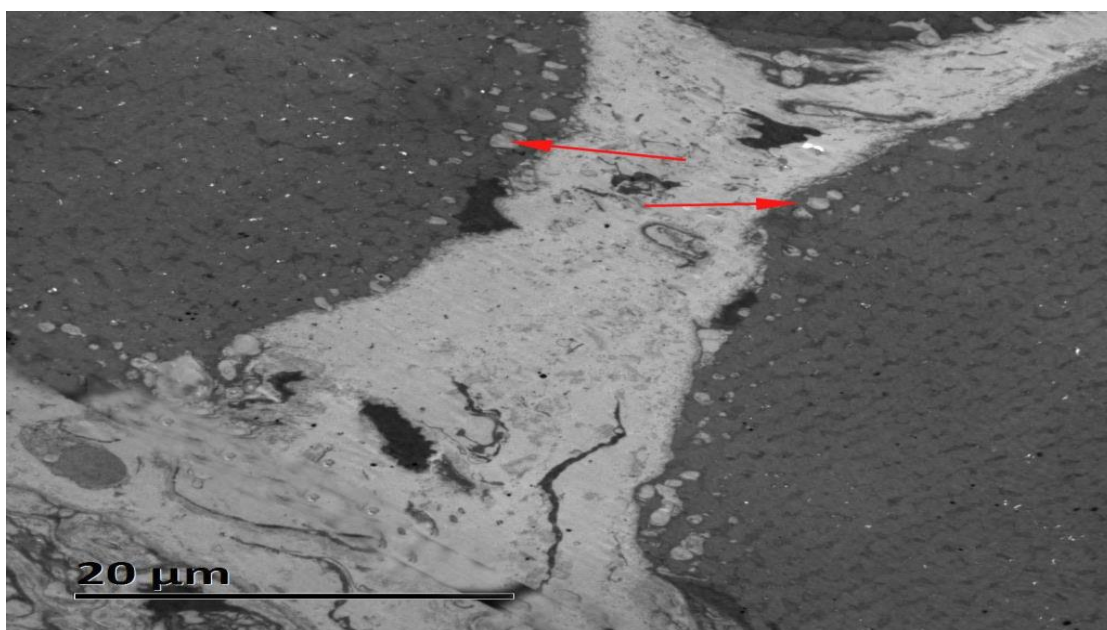


图 3-21A 灌注组距连接部位 0cm 处肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像 (20 μm)

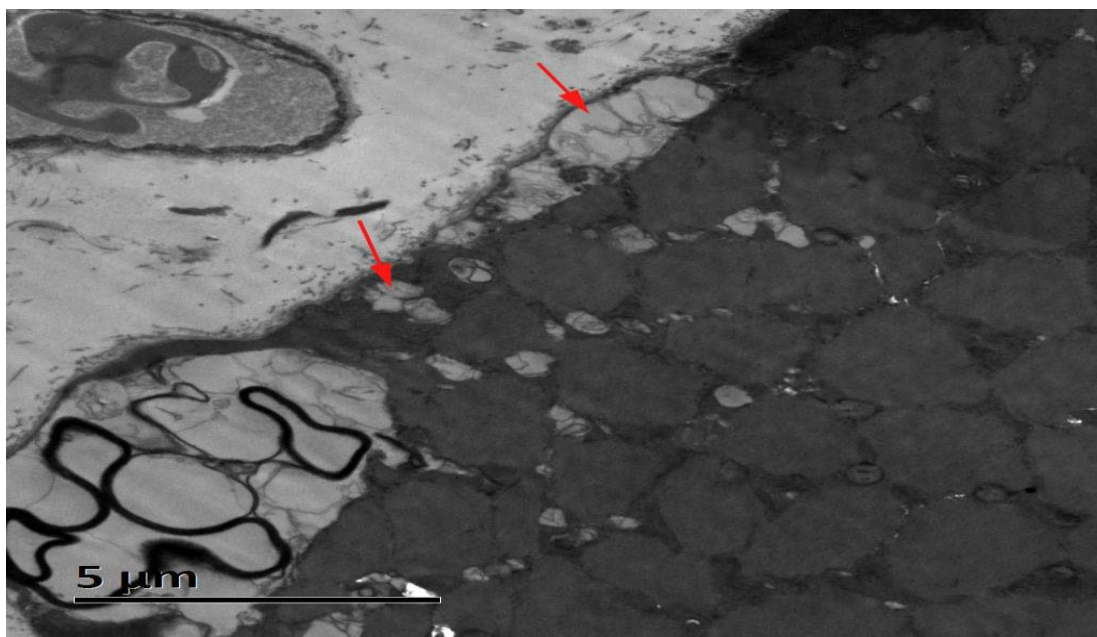


图 3-21B 灌注组距连接部位 0cm 处肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像 (5 μm)

② 灌注组犬肋间肌肉组织距骨水泥胸壁假体连接部位 0.5cm 处透射电镜图像：透射电镜 10 μm 放大倍数图中肌纤维结构较清晰，肌膜下少数线粒体水肿、空泡化，无肌纤维萎缩、坏死（见图 3-22A）。电镜 2 μm 放大倍数图中示肌纤维结构清晰，肌膜下少数线粒体水肿、空泡化，无肌纤维萎缩、坏死（见图 3-22B）。

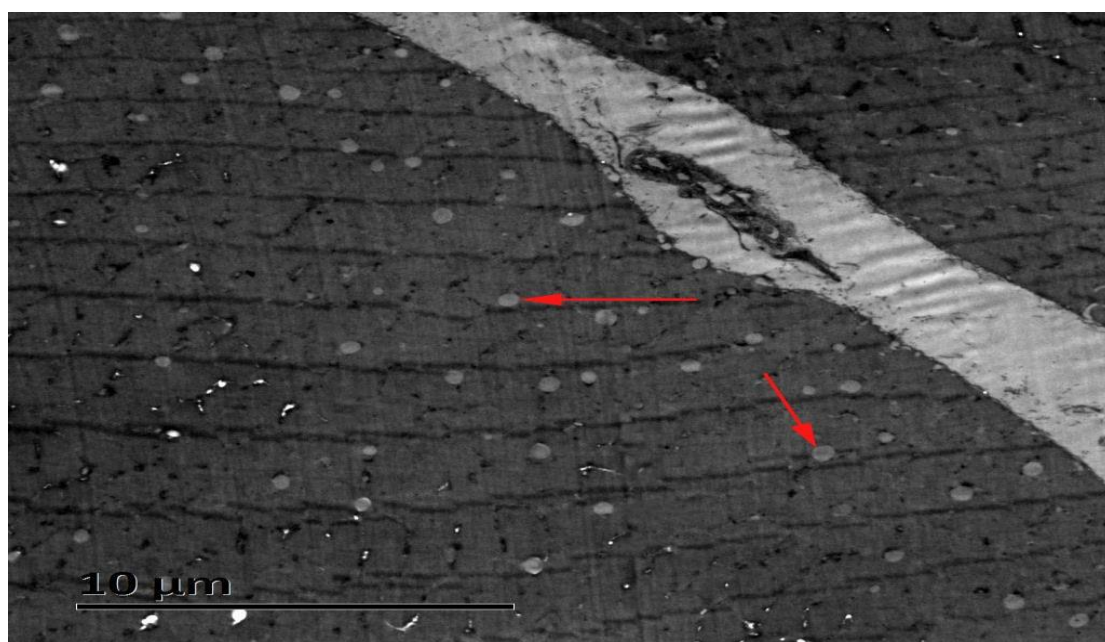


图 3-22A 灌注组距连接部位 0.5cm 处肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像 (10 μm)

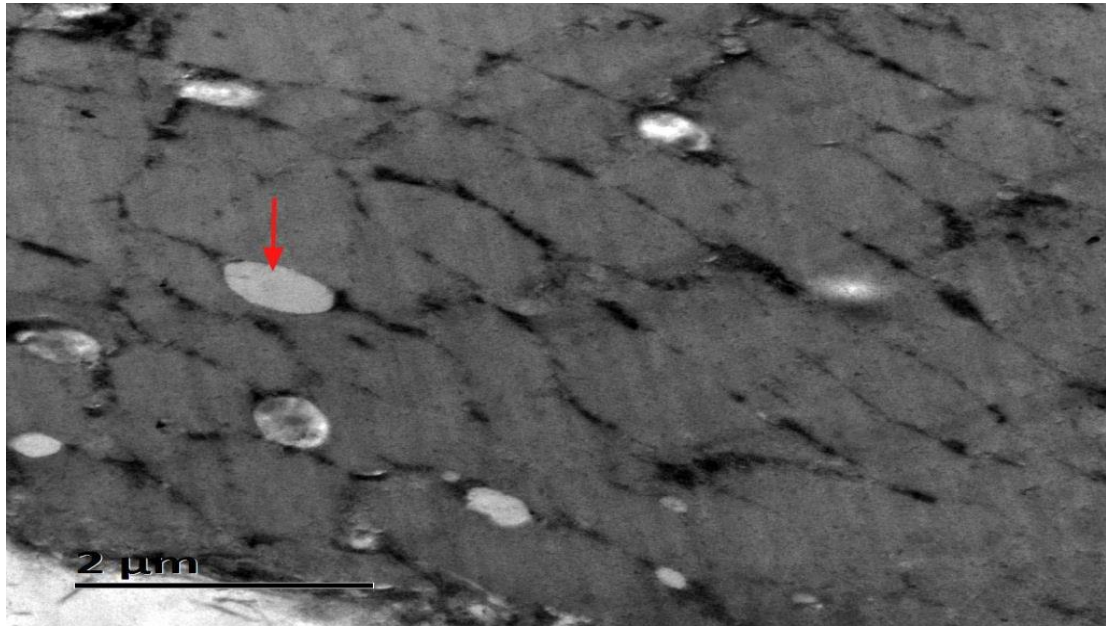


图 3-22B 灌注组距连接部位 0.5cm 处肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像 (2 μm)

③ 灌注组犬肋间肌肉组织距骨水泥胸壁假体连接部位 1.0cm 处透射电镜图像：透射电镜 20 μm 放大倍数图中示肌小节结构清晰，肌纤维细胞核正常，间质内血管壁完整，肌膜下少数线粒体水肿、空泡化（见图 3-23A）。电镜 5 μm 放大倍数图中示肌小节维结构清晰，肌膜下少数线粒体水肿、空泡化（见图 3-23B）。

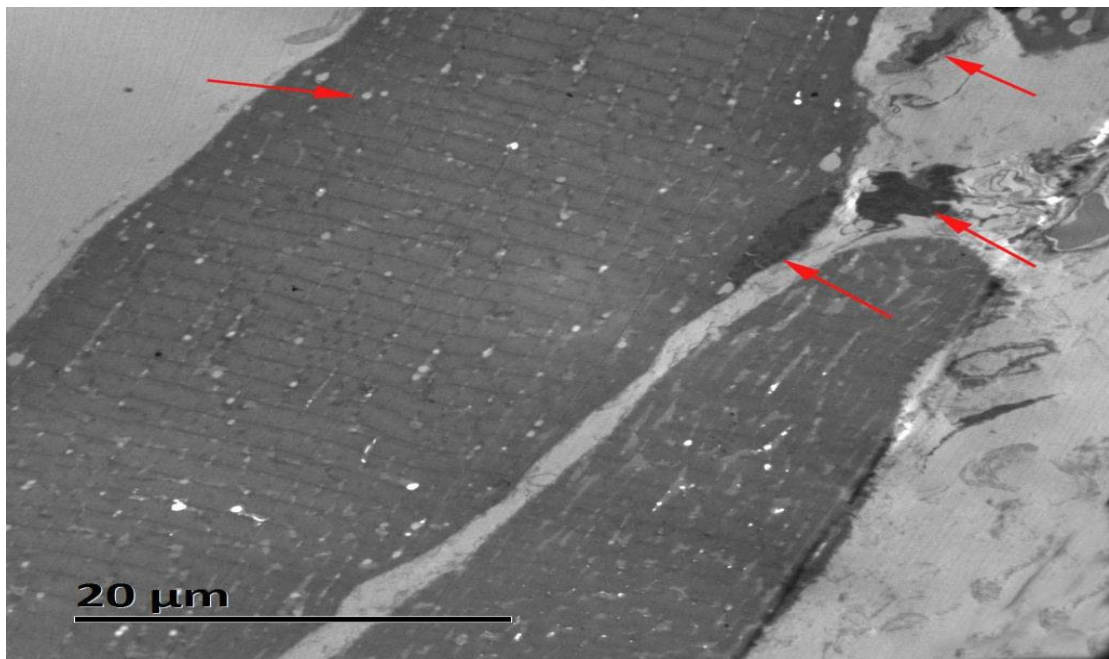


图 3-23A 灌注组距连接部位 1.0cm 处肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像 (20 μm)

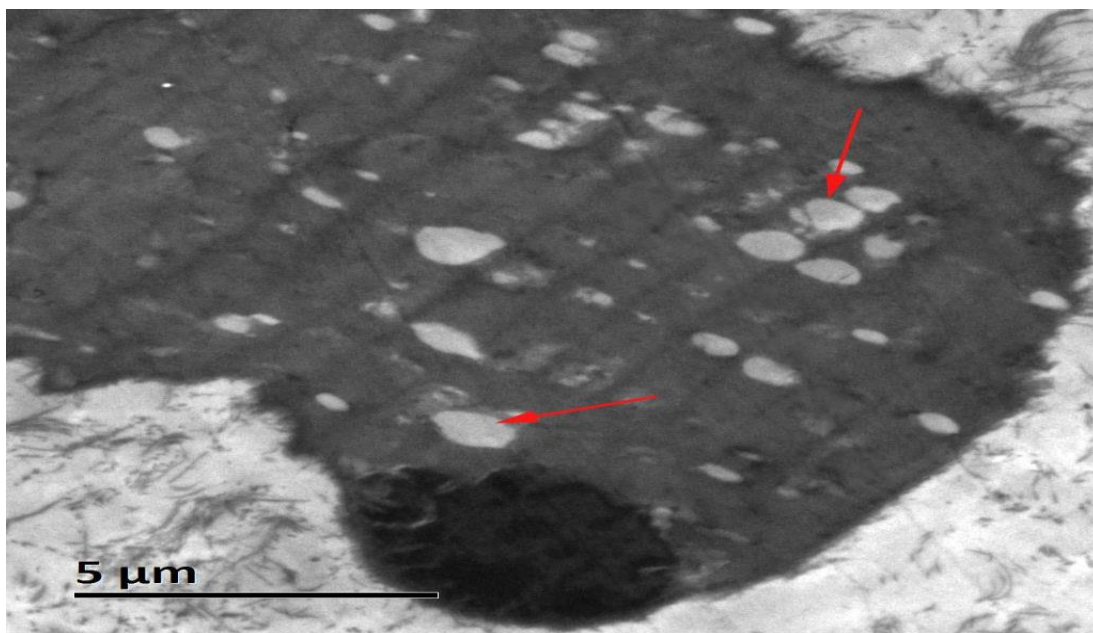


图 3-23B 灌注组距连接部位 1.0cm 处肋间肌纤维超薄切片透射电镜图像 (5 μm)

第四章 讨论

目前,临床上导致胸壁缺损的病因种类很多,但以肿瘤手术所致胸壁组织缺损为多,不论进行何种胸壁手术都会造成不同程度的胸壁组织缺损。临床研究认为,前胸壁手术组织缺损范围如小于 5cm 或后胸壁手术组织缺损小于 10cm,其缺损一般对胸壁功能及运动不构成大的影响,不需要修复重建,可直接缝合^[9,10]。对于因肿瘤和其他原因所造成的较大胸壁缺损,因极容易造成气胸、胸壁软化、纵隔摆动与反常呼吸等临床症状,严重者甚至导致呼吸、循环功能障碍,应考虑行胸壁骨性重建,以求恢复胸壁的坚固性和稳定性,杜绝严重并发症的发生^[10]。因此,在进行胸壁肿瘤手术、受侵胸壁整块切除或其他原因胸壁手术时,要考虑到胸壁重建的可能性,必须做好胸壁缺损修复重建的技术和材料准备。

4.1 骨水泥人工材料在大面积胸壁缺损修复重建中的应用价值

大面积胸壁组织缺损修复重建的材料目前分三大类,即自体组织、同种异体组织和人工材料。三种材料中,自体组织与同种异体组织材料是来源于人体组织的材料,因此最大优点是符合人体组织生理功能的要求,但缺点是:①修复材料来源困难、取材有限;②造成二次创伤和增加手术难度;③难以塑形、美观性差;④坚硬度不够,术后胸壁稳定性差,反常呼吸常不易控制。故此类材料,一般用于面积较小的胸壁缺损修补,而对于手术后大面积胸壁缺损,目前不推荐采用自体组织和同种异体组织材料进行修复。与自体组织材料相比,人工材料有足够的硬度,对胸壁的骨性支撑较好,而且易于裁剪、塑形方便,手术操作过程相对简单,能大大缩短手术时间,减少手术创伤。因此,对于胸壁大面积缺损的修复重建,专家倾向于使用人工材料进行修补^[10]。目前,临床上理想的人工材料应符合以下标准:①坚硬度足够;②组织相容性好、符合人体组织生理功能要求;③塑形方便、能满足外观形态修复要求;④便于消毒、灭菌,使用方便;⑤对 X 线检查不造成干扰。目前人工材料有很多,如钢丝、钢板、钛板、金属网、有机玻璃、prolene 网、骨水泥等材料,都有过修补大面积胸壁缺损的临床应用,但钢丝、钢板、钛板、金属网等金属材料 and 有机玻璃材料缺陷明显,如组织相容性差,植入后持久固定困难,易松动,难以塑形等,已被临床放弃。近年研究表明,采用 prolene 网、骨水泥、自体组织材料进行联合修复重建胸壁大面积缺损,是重建

胸壁大面积缺损的主要手段^[2]。医用骨水泥原本为骨科作为用于治疗压缩性骨折的骨髓腔填充剂引进临床,在骨科已被证实为无毒理作用的人工材料。作为一种胸壁重建材料近年来被用于临床。骨水泥在制成人工材料复合体后有以下优势:①重量轻、能即时塑形、容易裁剪。②手术操作简单,对胸壁的骨性支持好。③外形美观,生物相容性好,无 X-ray 干扰,无安检报警现象,对肺功能无影响。作为一种新型的胸壁重建人工材料尚需进一步的研究其物理特性是否达到生理要求^[6,7]。本文实验针对骨水泥、prolene 网与骨水泥的“三明治”修复材料,对其抗压强度和柔韧性与生物骨材料进行了对比研究,结果表明骨水泥、prolene 网与骨水泥的“三明治”修复材料其抗压强度高于生物骨材料 ($P<0.05$);而骨水泥、prolene 网与骨水泥的“三明治”修复材料二者间抗压强度无显著性差异 ($P>0.05$)。因此,作为人工骨的替代材料,骨水泥、prolene 网与骨水泥的“三明治”复合修复材料完全能满足大面积胸壁缺损对材料强度的要求。另外,在材料抗压强度实验中,我们还发现 prolene 网与骨水泥的“三明治”复合修复材料要比单纯骨水泥材料具有显著优势。实验中,单纯骨水泥肋骨材料断裂后会形成 2 片或 2 片以上尖锐的骨水泥碎片,极易造成对组织的二次机械损伤;而 prolene 网与骨水泥的“三明治”复合修复材料发生断裂后,因其复合材料前后均为 prolene 网软质材料覆盖,而 prolene 网具有较强的张力,故断裂后材料不会形成分裂的骨水泥碎片,对组织的保护作用较好。尽管人工材料抗压强度要高于生物骨材料,但其材料柔韧性较生物骨材料为差。因此,如何在保证人工材料强度的同时,提高材料的柔韧性,是今后人工材料发展的主要改进方向之一。

4.2 胸壁缺损重建中骨水泥放热反应对邻近组织的热损伤危害

我们在进行胸壁缺损重建时,因其缺损范围和部位的不同而对其胸壁重建的侧重点略有差别。一般认为胸骨及其两侧肋软骨的缺损,会破坏胸廓的完整性和稳定性,使其无法很好保护前胸壁后的心脏、肺等重要脏器。为使其免受外力影响,因此除了需要对胸壁修复重建外,还必须考虑重塑后胸壁的坚固性问题。当外部因素造成胸壁皮肤、肌肉、胸壁胸骨同时缺损时,而这种缺损往往范围较大,故常常需要采用人工材料和自体组织材料联合应用才能满足缺损修复,在此过程中,我们一般采用人工材料修复重建胸壁骨性结构,以达到保持胸壁完整性、稳定性的目的,同时采用自体组织材料修补局部缺损的皮肤和肌肉,完善胸壁^[11,12]。

湖南省肿瘤医院胸外科自 1992 年以来,对临床上 60 余例由各种原因所致的大面积胸壁缺损病例,采用 prolene 网与骨水泥的“三明治”方法修复重建大面积胸壁缺损,重建病例无感染、无死亡,缺损重建效果良好。一致认为该重建方法其坚固性、稳定性和塑形、剪裁均满意,但应注意骨水泥在塑形重建过程中的放热反应对邻近组织或器官的损伤^[2, 4]。而骨水泥在体内的放热反应对邻近组织的热损伤情况真实性如何,目前还未见相关文献报道。本文对骨水泥放热反应对邻近组织的危害性进行了动物实验研究,发现在犬骨水泥热损伤实验模型组中,骨水泥胸骨假体放热反应迅速,在 5 分钟之内放热反应温度最高可达 89℃,而其中 45℃以上的高温竟然持续达 12.5 分钟之久。一般认为生物组织接触 45℃或以上温度的物体数分钟,即可产生不可逆转的病理性热损伤^[13]。为评估热损伤的危害程度,我们在热损伤实验模型组中,对与骨水泥胸骨假体相连接部位的犬肌肉组织(0cm 处)、距离连接部 0.5cm 处、距离连接部 1.0cm 处的犬肌肉组织取材行 HE 常规染色、磷钨酸苏木素精染色(PTAH)、热休克蛋白 HSP70 免疫组化及透射电子显微镜(TEM)下行实验犬肌肉组织显微结构观察。本实验结果表明,HE 常规染色、磷钨酸苏木素精染色(PTAH)镜下观察发现与骨水泥胸骨假体连接部 0cm 处、0.5cm 处肋间肌肉组织受损最为严重,骨骼肌肌纤维肿胀、断裂明显,横纹结构模糊不清,肌纤维间质充血水肿明显,肌间隙明显增宽,甚至距骨水泥胸骨假体连接部 1.0cm 处肋间肌肉组织仍可见部分骨骼肌肌纤维肿胀、断裂和间质水肿;热休克蛋白 70(HSP70)是一组在进化上高度保守的蛋白质,机体细胞在热休克或受到其他外来刺激时诱导 HSP70 产生,是衡量组织细胞热损伤指标之一^[14],HSP70 免疫组化检测显示,热损伤实验组距骨水泥胸骨假体连接部 0cm 处、0.5cm 处肋间肌肉组织骨骼肌细胞胞浆、胞核 HSP70 蛋白呈现强阳性和中等强度阳性表达,说明损伤情况较重,但距连接部 1.0cm 处骨骼肌细胞 HSP70 蛋白呈弱阳性表达,与正常骨骼肌肌细胞表达情况相近,表示损伤反应较轻;我们在此基础上,运用透射电子显微镜(TEM)进一步对热损伤实验组犬肌肉组织的显微结构进行了观察,结果表明,犬肋间肌肉组织距骨水泥胸骨假体连接部位 0cm 处透射电镜镜下图像示肌纤维结构模糊,横纹隐约可见,间质血管(2 个)内壁坏死、血管破裂,更高放大倍数电镜图示肌纤维内肌丝坏死,肌小节(S)结构丧失,仅残留肌纤维轮廓,可见骨水泥放热反应对肌肉组织热损伤情况非常严重;在距

骨水泥胸骨假体连接部位 0.5cm 处，透射电镜 10 μm 放大倍数图中肌小节可见、结构模糊，肌纤维萎缩，线粒体广泛水肿、空泡化，电镜 2 μm 放大倍数图中示部分肌纤维横纹结构模糊，线粒体广泛水肿、空泡化，示肌纤维结构破坏较轻；犬肋间肌肉组织距骨水泥胸壁假体连接部位 1.0cm 处透射电镜 10 μm 放大倍数图像示骨骼肌纤维肌小节可见、结构较清晰，肌纤维细胞核正常，部分线粒体水肿、空泡化，5 μm 放大倍数图中示肌小节可见、结构较清晰，肌纤维细胞核无异常，部分线粒体水肿、空泡化，表明肌纤维损伤轻微，与正常肌纤维显微组织结构差异不明显。

通过以上实验我们可以观察到，骨水泥在体内塑形过程中的放热反应是非常剧烈的，对邻近组织的影响也是十分严重的，如不采取有效的放热反应预防措施，将有可能导致胸壁重建手术的失败。

4.3 骨水泥在胸骨缺损重建过程中放热反应的预防措施评价

通过上述骨水泥热损伤组动物模型的实验，我们得出，尽管骨水泥作为一种胸壁大面积缺损修复重建的优势人工材料，在临床上应用广泛，但也存在着致命的缺点，即骨水泥体内塑形过程中的强烈放热反应，如不对材料的放热反应予以预防和控制，将会造成与材料接触的邻近组织和或器官的热损伤。因此，如何有效的预防和控制骨水泥材料应用过程中的放热反应，保护邻近组织和或器官，是临床上推广 prolene 网与骨水泥“三明治”人工材料修复重建大面积胸壁缺损新材料、新技术应用的关键。本文针对骨水泥在临床应用中出现实际问题，运用本科室长期积累的预防骨水泥放热反应所致热损伤的措施，建立生理盐水低温灌注热保护组动物模型，使用温度为（室温）25℃的 0.9%生理盐水以每分钟 500ml 的灌注速度进行循环灌注，对骨水泥与邻近组织的接触点及其附近组织和或器官进行持续降温处理，以保证 prolene 网与骨水泥所组成的“三明治”胸骨假体与邻近组织和或器官间的温度并维持在安全温度（37.7-39.2℃），保障邻近组织和或器官的正常工作。在实验中，我们全程监测了生理盐水灌注热保护组动物模型中骨水泥放热反应预防措施的降温效果。实验结果表明，运用温度为（室温）25℃的 0.9%生理盐水，以每分钟 500ml 生理盐水的灌注速度进行持续灌注，可使得 prolene 网与骨水泥所组成的“三明治”胸骨假体与邻近组织和或器官间的温度维持在 23-36℃之间，虽略低于理想安全温度，但降温预防措施效果满意。为进

一步证实低温生理盐水持续循环灌注方法对骨水泥放热反应热损伤的保护作用，对与骨水泥胸骨假体相连接部位的犬肌肉组织（0cm 处）、距离连接部 0.5cm 处、距离连接部 1.0cm 处的犬肌肉组织取材行 HE 常规染色、磷钨酸苏木素精染色（PTAH）、热休克蛋白（HSP70）免疫组化及透射电子显微镜（TEM）下实验犬肌肉组织显微结构观察。结果显示，HE 常规染色、磷钨酸苏木素精染色（PTAH）镜下观察发现与骨水泥胸骨假体连接部 0cm 处、0.5cm 处、1.0cm 处肋间肌肉组织骨骼肌纤维横纹结构较清晰，未见明显肌纤维断裂，肌纤维间质可见轻度水肿，肌间隙增宽，无明显病理性变化；热休克蛋白（HSP70）免疫组化检测观察到灌注热保护实验组距骨水泥胸骨假体连接部 0cm 处、0.5cm、1.0cm 处肋间肌肉组织骨骼肌细胞呈弱阳性表达，以胞浆表达主要，胞核仅少量表达，与正常骨骼肌细胞表达情况相近，表示损伤反应轻微；运用透射电子显微镜（TEM）对灌注热保护实验组犬肌肉组织的显微结构进行观察，结果表明，犬肋间肌肉组织距骨水泥胸骨假体连接部位 0cm、0.5cm 处透射电镜镜下图像示，在 20 μm 放大倍数图中可见肌纤维结构较清晰，肌膜下少数线粒体水肿、空泡化，无肌纤维萎缩、坏死；5 μm 放大倍数图中示肌纤维结构清晰，肌膜下少数线粒体水肿、空泡化，无肌纤维萎缩、坏死，表明肌细胞显微结构损伤轻微；距骨水泥胸骨假体连接部位 1.0cm 处透射电镜镜下，20 μm 放大倍数图中示肌小节结构清晰，肌纤维细胞核正常，间质内血管壁完整，肌膜下少数线粒体水肿、空泡化；5 μm 放大倍数图中示肌小节维结构清晰，肌膜下少数线粒体水肿、空泡化，表明灌注热保护实验组骨骼肌肌纤维结构与正常骨骼肌肌纤维结构无异。

实验数据表明，我们建立的（室温）25℃生理盐水持续循环灌注对骨水泥体内塑形过程的放热反应的预防与控制效果十分明显，其研究结果为临床上对骨水泥的实际应用提供了科学依据，对促进骨水泥人工材料在大面积胸壁缺损修复与重建中的推广应用具有重要意义。

第五章 结 论

5.1 小结

5.1.1 骨水泥人工肋骨、prolene 网与骨水泥“三明治”复合材料人工肋骨的抗压强度要远高于生物肋骨抗压强度，骨水泥是大面积胸壁缺损修复重建中的优势人工材料；

5.1.2 骨水泥人工肋骨、prolene 网与骨水泥“三明治”复合材料人工肋骨的柔韧性要较生物肋骨差；

5.1.3 prolene 网与骨水泥“三明治”复合材料人工肋骨抗压强度与骨水泥肋骨抗压强度相比无统计学差异，但前者材料的物理特性较后者为优，建议临床上以 prolene 网与骨水泥“三明治”复合材料作为大面积胸壁缺损修复重建的修复材料；

5.1.4 骨水泥在塑形过程中的放热反应迅猛，最高温度达 89℃，其中 45℃以上高温可持续 12.5 分钟，会造成邻近组织的病理性热损伤；

5.1.5 以每分钟 500ml 速度的（室温）25℃生理盐水持续循环灌注，可充分保证 prolene 网与骨水泥所组成的“三明治”胸骨假体与邻近组织和或器官间的温度维持在 23-36℃之间，虽略低于理想安全温度，但降温预防措施效果满意，不会导致骨水泥体内放热反应对邻近组织的病理性损伤。

5.2 展望

自 18 世纪后期第一例胸壁切除术后，胸壁缺损的修复与重建术就成为了解决胸壁缺损所引起的气胸、胸壁软化、反常呼吸及纵隔摆动的唯一手段，从最初的从人体自身取材问世到人工材料的发展，胸壁缺损患者的愈后生活质量有了明显的提高，但各种材料与手术方法仍然有可进步的空间，我们希望将来能出现具有良好的生理学特性及能为患者节省更多开支的人工材料问世，也希望广大医生能发展出更完美的手术方式并加以推广。

参考文献

- [1] 倪武, 林育超, 李太东, 等. 涤纶布+骨水泥复合体修补胸壁肿瘤切除后巨大胸壁缺损的临床应用[J]. 广东医学院学报, 2009, 27(1):56-57
- [2] 肖高明, 周石林, 谭正, 等. 肿瘤侵犯胸壁的外科肿瘤[J]. 中华胸心外科杂志, 1997, 13(3):296-297
- [3] 范虹. 胸壁肿瘤. 实用外科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002:1804-1808
- [4] 肖高明, 周石林, 陈跃军, 等. 肿瘤术中所致胸壁缺损的修复重建[J]. 医学临床研究, 2005, 22(9):1260-1262
- [5] 黄孝迈. 手术学全集:胸外科卷[M]. 北京: 人民军医出版社, 1995:86-91
- [6] 龙浩, 戎铁华, 黄植蕃, 等. 胸壁肿瘤切除后胸壁重建方法的探讨[J]. 癌症, 1999, 18(2):196-198
- [7] Chang RR, Mehrara BJ, Hu QY, et al. Reconstruction of complex oncologic chest wall defects: a 10 year experience[J]. Ann Plast Surg, 2004, 52(5):471-479
- [8] Chapelier AR, Missana MC, Couturaud B, et al. Sternal resection and reconstruction for primary malignant tumors[J]. Ann Thorac Surg, 2004, 77(3):1001-1006
- [9] 周允中, 赵珩, 孙德魁, 等. 胸壁缺损修补重建方法探讨[J]. 中华胸心血管外科杂志, 1994, 10(1):51-52
- [10] Deschamps C, Tirnaksiz B M, Darbandi R, et al. Early and long term results of prosthetic chest wall reconstruction[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1999, 117:588-592
- [11] Broges J, Lang EM, Voigt M, et al. Full thickness chest wall reconstruction after tumor resection by myocutaneous flap[J]. Eur J Plast Surg, 2003, 26(5):229-235
- [12] Takayuki Shirakusa, Yasuteru Yosbiaga, Masafumi Hiratsu-ka, et al. Chest wall resection and reconstruction for benign and malignant lesions in patients with recurrent breast carcinoma[J]. Med Bull

Fukuoka Univ, 2000, 27(4):241-245

[13] 李鼎九, 胡自省, 钟毓斌, 等. 肿瘤热疗学[M]. 第 2 版. 郑州: 郑州大学出版社, 2003, 43-60

[14] Milani V, Noessner E, Ghose S, et al. Heat shock protein 70:role in antigen presentation and immune stimulation[J]. Int J Hyperthermia, 2002, 18(6):563-575

第六章 文献综述

修复与重建大面积胸壁缺损的临床研究进展

摘要：造成胸壁缺损的原因很多，但大面积胸壁缺损是胸外科不可忽视的一个重要问题，过大的胸壁缺损可导致患者气胸、胸壁软化、反常呼吸及纵隔摆动等，影响患者呼吸循环功能，必须修复重建。关于胸壁缺损的修复与重建手术技术已发展得较为成熟，对于术后影响较大的因素主要是对于不同胸壁缺损区域的选择手术方法及使用的修补材料的性质。本文就大面积胸壁缺损特点、原因、修复重建材料及技术应用的临床研究进展进行综述。

关键词：胸壁缺损；胸壁重建；材料

Clinical Progress on the Repair and Reconstruction of Large Chest Wall Defect

ABSTRACT: There were many reasons for chest wall defect, but large chest wall defect was an important problem that should be reckoned with in the thoracic surgery. Large chest wall defect could cause patients with pneumothorax, chest wall softening, abnormal breathing and mediastinum swing, etc., so that it could affect patient's respiratory and circulatory function. Therefore, patients must get chest wall reconstruction. It has developed a comparatively mature repair and reconstruction technique for chest wall defect. The influential factors of postoperative mainly were the choice of surgical method for different chest wall defect areas and the nature of the repair material. In this paper summarized were the clinical research progress on the characteristics and reasons of large chest wall defect, as well as the reconstruction materials and technique application.

Key words: Chest wall defect; Reconstruction; Material

在胸外科中，手术切除病变部位或损伤部位而产生的大面积胸壁缺损是不可忽视的问题，当缺损面积达到一定程度时极易造成气胸、胸壁软化、纵隔摆动与反常呼吸等临床症状，严重者甚至导致呼吸功能障碍^[1,2]。一般胸壁缺损直径超过 5cm 因极易导致胸壁浮动、反常呼吸和/或呼吸衰竭需要进行修复与重建，而直径小于 5cm 因影响较小一般不需要进行手术修补。前侧胸壁在维持其坚固性，减轻胸壁凹陷与胸腔内脏器的保护方面发挥重要作用，因此，该胸壁的缺损一般需要修补；肩胛骨下方的缺损需要及时修补以防止上肢运动时肩胛骨尖进入胸壁，但肩胛骨后方的缺损直径小于 10cm 因有肩胛骨的保护而不需要修补^[3,4]。

胸壁重建的标准：①密闭胸膜腔；②稳定胸壁；③可接受的外观效果^[5]。胸壁重建术中所使用的修补材料各有其优缺点，选择哪种材料进行胸壁重建主要根据术者的习惯来判断。

完整的胸壁切除手术始于 1778 年，当时 Allnar 采用胸壁切除法成功治愈一名骨肉瘤患者。1878 年 Rieherand 切除 1 例包括胸膜的胸壁。1898 年 Parham 第一次用 Fell-O' Dwyer 装置控制开放性气胸，为胸壁广泛切除奠定基础。随后，由胸壁切除术引发的胸壁缺损经过半个世纪的发展至 20 世纪 50 年代基本成型，当时医学界的 Rifod, Waston 和 James 已经采用皮瓣、肌肉瓣、骨膜瓣、自体阔筋膜、膈肌及对侧乳房移位和骨移植等方法处理胸壁缺损，获得一定程度的成功^[6]。但是由于所使用的多为自体软组织，缺乏强度，且取材不便，由此引发了新一轮的对胸壁修复材料的探索。Beardsley^[7]首先使用钽板修补胸壁缺损以弥补“软”材料的强度不足，Effler^[8]完善使用钽板和钢丝网修复胸壁缺损。但金属材料修补存在着严重问题，如容易引发感染，不透 X-ray，安检警报等。随后又有多种材料被应用于临床试验，早期开发的人工材料只有 Marlex 网至今仍有使用，其余材料均因存在各种致命缺陷而被淘汰^[9,10]。上世纪 70-90 年代有机玻璃板（聚甲基丙烯酸甲脂）用于胸壁重建术中，得到了我国广大医生的一致好评。

6.1 胸壁缺损特点

6.1.1 哪些因素导致的胸壁缺损

胸壁的骨性结构是维持胸腔内负压的必要保证，软组织的少量缺失若不影响胸腔密闭性并不构成胸壁缺损的致命条件，而骨性支撑作用及胸腔密闭性的破坏是导致严重并发症的关键。目前，造成大面积胸壁缺损的临床病症主要有：胸壁肿瘤、胸部感染、放射性骨坏死、胸外伤等。

6.1.2 大面积胸壁缺损患者特征

大面积胸壁缺损的患者如不能及时将骨性胸壁结构及密闭性重建，将导致气胸、胸壁软化、反常呼吸及纵隔摆动或永久的不可逆肺叶功能丧失等一系列问题，大大的影响了生活质量并对生命构成威胁，因此，维持胸壁的骨性结构是救治大面积胸壁缺损患者的首要目标。

6.1.3 胸壁缺损的修复与重建术发展的制约因素

关于胸壁缺损的修复与重建的发展已有 100 多年历史，手术技术已发展得较

为成熟,对于术后影响较大的因素主要是对于不同胸壁缺损区域手术方法的选择及修补材料的使用性质。若用于胸壁重建的材料无法维持胸腔的骨性支撑则会出现胸壁软化,反常呼吸。硬质的金属人工材料在体内很难固定,容易松动;软质的网片人工材料在维持骨性支撑结构上表现不尽如人意;自身组织材料难以取材并会造成二次伤害,这些都是制约着胸壁缺损的修复与重建的因素。

6.2 常用胸壁重建材料及优劣

6.2.1 钛合金补片

钛合金片作为重建胸壁材料具备以下优点:①质地坚韧,可塑性好。②手术方法简便。③强度较大,能保持胸壁的坚固。④组织兼容性好,无排异反应。⑤无需放置皮下引流,皮下渗液可经钛合金片孔道流入胸腔经胸管排出。缺点是:钛合金网边缘锐利,修剪钛合金网时要确保比缺损的范围稍大,能完整覆盖并牢固的固定在缺损部位的肋骨或胸骨上,避免锐利的边缘滑入胸腔,划伤肺叶,引起气胸、血胸^[11]。钛合金现已广泛应用于临床,在作为骨骼替代材料中占有重要地位,经过多年临床应用已证实其无毒副作用,是一种安全可靠的合金材料,其缺陷在于皮肤必须缝合严密,防止空气经钛合金片孔道进出胸腔造成气胸,且钛合金片X线透过性差,价格昂贵,当进行大面积的胸壁重建时对病人的经济实力是一种考验,植入后持久固定较困难,易松动。

6.2.2 Prolene 网补片

Prolene 网补片作为一种胸壁修复重建的柔软合成材料优点明显:①无菌性炎症反应轻。②具有良好的坚硬度。③人体组织纤维在短期内即可生长覆盖在补片网上,消灭死腔,加快伤口的修复。缺点是:对较大面积缺损时存在刚性不足,易出现胸壁软化和反常呼吸运动。有研究表明胸壁缺损3-6个月后,人工材料的作用将被自身新生纤维组织替代;而prolene网补片耐腐蚀,不会被身体组织的酶所消化、降解、退化;塑形和使用简便;因补片呈网柱状结构,在术后早期,补片与肌皮层之间的渗液可由胸腔引流管引出体外,防止局部积液及伤口感染;不影响以后胸部X线检查^[12]。Prolene网补片具有较好的组织相容性与坚硬度,是修补胸壁缺损比较理想的材料。

6.2.3 有机玻璃

有机玻璃板为上世纪90年代我国广泛应用于胸壁重建手术的材料,在临床

上已经得到了足够的认可，21 世纪初所开发出的有机玻璃人工肋骨条较之又有了更大的进步。①其更符合人的生理特性，顺应性较有机玻璃板更好。②加热后软化，这为手术中的应用提供了便利。③对胸壁的支持作用满意，更利于胸壁间液体的引流和吸收，且价格低廉。但有机玻璃材料均存在对机体刺激大、容易松动的缺陷。不能满足胸壁各部位缺损的修复^[13]。

6.2.4 骨水泥

医用骨水泥原本为骨科作为用于治疗压缩性骨折的骨髓腔填充剂引入临床，在骨科已被证实为无毒理作用的人工材料，其副作用“骨水泥反应”的主要机制为骨水泥放热反应引起骨髓腔压力过高所导致的脂肪滴进入血管而引发的栓塞。作为一种胸壁重建材料近年来被用于临床运用。骨水泥在制成人工材料复合体后有以下优势：①重量轻、能即时塑形、容易裁剪。②手术操作简单，对胸壁的骨性支持好。③外形美观，生物相容性好，无 X-ray 干扰，无安检报警现象，对肺功能无影响。作为一种新型的胸壁重建人工材料尚需进一步研究其物理特性是否达到生理要求^[14, 15]。

6.2.5 人工肋骨

组织工程学（tissue engineering, TE）是应用工程学和生命科学的原理和方法，在体外构造出所需要修补的组织，以修复或重建组织器官的结构，维持或改善组织器官功能的一门新兴的边缘科学。杨志明^[16]等应用组织工程技术，将异体骨经去细胞、去抗原、部分脱钙及冻干处理后与体外培养的骨髓基质干细胞复合，构建组织工程肋骨，所制成的组织工程学肋骨排异反应小且符合胸壁重建要求，但技术门槛过高，异体骨的取材也有难度，对于广泛的推广应用存在困难。

6.2.6 Marlex 网

Marlex 网是一种经历了很长时间的临床运用而被广泛推广的上个世纪的产物，其具有以下优势：①易塑形，易裁剪。②抗感染能力强，组织反应小。③外形美观，容易固定。其缺点是：术后瘢痕组织的收缩可引起移植网材的皱折，脱落、窦道形成，感染等问题^[17, 18]。由于更多新型替代材料的出现（如 prolene 网补片），运用渐渐减少。

6.3 胸壁重建的自身组织材料及使用方法

6.3.1 肌皮瓣，筋膜

以自身的肌肉瓣膜组织修复胸壁缺损的方法由来已久，同时也是目前比较可行的较小的缺损修补材料。常用的有胸大肌肌皮瓣、背阔肌肌皮瓣、腹直肌肌皮瓣和大网膜瓣等^[19]。单独使用刚性不足，无法维持胸壁的骨性支持作用，且大量使用会对患者造成二次伤害。目前，通常作为软组织的重建材料与人工材料混合使用以达到胸壁重建的三条要求。

6.3.2 胸大肌肌皮瓣

1979 年 Ariyan 首次用带蒂胸大肌肌皮瓣修复头颈部组织缺损^[20]，该肌皮瓣具有以下优点：供血可靠，位置恒定、表浅，易于操作，存活率高；肌蒂长、活动度大；取材面积大且厚，组织量丰富，可充填凹陷性缺损，创面还可直接拉拢修复。据有关文献报道应用胸大肌肌皮瓣进行的修复其部分或完全坏死率为 10% 左右^[21]。但如果缺损位置偏低，同侧胸大肌肌皮瓣不够填补其缺损，采用胸大肌整体过度下移来填补其缺损，会导致肩关节的功能不同程度的限制或丧失，因此处皮瓣多用于胸骨区胸壁缺损重建。

6.3.3 背阔肌肌皮瓣

背阔肌皮瓣血供恒定，解剖变异少，易于切取，安全性高，同时皮瓣的组织量大，皮瓣的活动度大。带蒂的背阔肌皮瓣通过皮下隧道可转移至胸前侧区，既能够用于修复缺损，又满足了患者的美观需求^[21]。该皮瓣的血管投影为腋窝至髂嵴的连线，在肩胛平面以上，走向相对恒定，易于解剖^[22]，长约 10-12cm，转位灵活，可修复远处缺损，有报道可修复上臂缺损及腹壁缺损的案例^[23, 24]。此处皮瓣临床多用于侧胸壁缺损重建。

6.3.4 腹直肌肌皮瓣

腹直肌呈长带状，有左右两条，位于腹部中线两侧，以白线相隔，腹直肌起于剑突和第 5-7 肋骨前面，肌纤维直向下方，止于耻骨上缘和耻骨联合前面，其间有腱划 3-4 个。腹直肌居于腹直肌鞘内，前面为前鞘，后面为后鞘。在脐以下 5-7 厘米处有半环线，前鞘由腹外斜肌腱膜和腹内斜肌腱膜的前层构成，后鞘由腹内斜肌腱膜的后层和腹横筋膜构成。在半环线以下，腹内斜肌腱膜的前后两层合而为一，构成前鞘，后鞘就只有薄弱的腹横筋膜，因此其缺点是在半环线以下失去前鞘就可能发生腹壁疝。优点是皮瓣血运佳、切取面积大、转移半径大，皮下隧道较之横行皮瓣短，易于上提移植。不足点是纵行腹部切口瘢痕显露不如

横行皮瓣切口隐蔽且美容效果好^[25]。此处皮瓣可应用于在前侧胸壁缺损的重建。

6.3.5 大网膜瓣

大网膜瓣现主要用作填充肌肉瓣膜无法充分填充的软组织缺失部分或修复较小的胸壁缺损，其最大的特点在于抗感染力强、易塑形，填充清创后的创腔能预防感染再发^[26]，愈后的外观更加让病人可接受，起到整形美容效果。

6.3.6 自体骨移植

自体骨移植中常用的有肋骨条、腓骨、髂骨条，其优点在与人体相容性好，手术成功后无排异反应但其缺点很多，如：取材和数量有限，会造成更多的伤害，额外的瘢痕影响了病人的美观，供体部位的骨强度也明显降低，且肋骨移植会让供受两处的部位都不稳定，因为这些缺点，自体骨移植现已基本被淘汰，如今其应用也只在病人身体状况及耐受较好且缺损不大时。

6.4 展望

自 18 世纪后期第一例胸壁切除术后，胸壁缺损的修复与重建术就成为了解决胸壁缺损所引起的气胸、胸壁软化、反常呼吸及纵隔摆动的唯一手段，从最初的从人体自身取材问世到人工材料的发展，胸壁缺损患者的愈后生活质量有了明显的提高，但各种材料与手术方法仍然有可进步的空间，我们希望将来能出现具有良好的生理学特性及能为患者节省更多开支的人工材料问世，也希望广大医生能发展出更完美的手术方式并加以推广。

参考文献

- [1] 倪武, 林育超, 李太东, 等. 涤纶布+骨水泥复合体修补胸壁肿瘤切除后巨大胸壁缺损的临床应用[J]. 广东医学院学报, 2009, 27(1):56-57
- [2] 肖高明, 周石林, 谭正, 等. 肿瘤侵犯胸壁的外科肿瘤[J]. 中华胸心外科杂志, 1997, 13(3):296-297
- [3] 范虹. 胸壁肿瘤. 实用外科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002:1804-1808
- [4] 肖高明, 周石林, 陈跃军, 等. 肿瘤术中所致胸壁缺损的修复重建[J]. 医学临床研究, 2005, 22(9):1260-1262
- [5] 黄孝迈. 手术学全集:胸外科卷[M]. 北京: 人民军医出版社, 1995:86-91
- [6] Dineen MD, Boltax MD. Problems in the management of chest wall tumor[J]. J Thorac and Cardivasc surg 1966; 52:488
- [7] Beardsley JM. The use of tantalum plate when resecting large area of the chest wall[J]. J Thorac Surg 1950; 19: 444
- [8] Effler DB. Prevention of the chest wall defect use of tantalum and steel mesh[J]. J Thorac Surg 1953; 26:419
- [9] Grabam J, Usher FC. Marlex mesh as a prosthesis in the repair of thoracic wall defect[J]. Ann Surg 1960;151:489
- [10] Hbbard SG, et al. Repair of chest wall defects with prosthetic material[J]. Ann Rhorac Surg 1976;29:440
- [11] 叶国麟, 杨劼, 古卫权, 等. 应用钛合金网修复胸壁缺损[J], 中国现代医学杂志, 2012, 22(15):94-95
- [12] CHAPELIER AR, MISSANA MC, COUTURAUD B, et al. Sternal resection andreconst ruction for primary malignant tumors[J]. Ann Thorac Surg, 2004, 77(3): 1001- 1006
- [13] 袁永生, 侯忠民, 王自珊, 等. 新型植入性人工肋骨和胸骨的研制及临床应用[J]. 中华实验外科杂志, 1996, 13: 215- 216

- [14] 龙浩, 戎铁华, 黄植蕃, 等. 胸壁肿瘤切除后胸壁重建方法的探讨[J]. 癌症, 1999, 18(2): 196-198
- [15] Chang RR, Mehrara BJ, Hu QY, et al. Reconstruction of complex oncologic chest wall defects: a 10 year experience[J]. Ann Plast Surg, 2004, 52(5): 471-479
- [16] 杨志明, 赵雍凡, 解慧琪, 等. 组织工程肋骨移植修复胸壁巨大缺损[J]. 中国修复重建外科杂志, 2000, 14: 365-368
- [17] McCormack PM. Use of prosthetic materials in chest wall reconstruction[J]. Surg Clin North Am, 1989, 69: 965-976
- [18] Pairolero PC, Arnold PG. Chest wall reconstruction[J]. Ann Thorac Surg, 1981, 32: 325-326
- [19] 陈克能, Yu PR. 胸壁切除及其重建[J]. 中华外科杂志, 2005, 43(14): 955-958
- [20] Ariyan S. The pectoralis major myocutaneous flap: a versatile flap for reconstruction in the head and neck (J). Plast Reconstr Surg, 1979; 63: 73-81
- [21] 胡寅, 马来祥, 汤建平, 等. 背阔肌皮瓣在胸壁缺损畸形修复中的应用[J]. 南京医科大学学报(自科版), 2006, 26(7): 598-599
- [22] Willim CG, James WS. Plastic Surgery [M]. 3th Edition. Boston: Little, Brown and Company, 1979: 787-791
- [23] 周石林, 谭正, 梁剑平, 等. 带蒂背阔肌皮瓣转位重建胸壁大块缺损三例报告[J]. 湖南医学, 1993: 340-341
- [24] 匡毅, 蒋又新, 李福沛, 等. 带蒂背阔肌皮瓣修复腹壁巨大缺损的临床疗效分析[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(15): 1643-1645
- [25] 高同勋, 王长青, 徐贵颖, 等. 腹直肌皮瓣在乳腺癌术后胸壁复发及放射性溃疡外科治疗中的应用[J]. 实用肿瘤学杂志, 2000, 14: 111-112
- [26] 李智勇, 齐东海. 胸壁缺损 34 例重建体会[J]. 陕西医学杂志, 2010, 39(4): 470-472

作者攻读学位期间的科研成果

鲁琼辉, 吴安邦, 陈跃军, 肖高明. 14-3-3Sigma 蛋白质在肺腺癌中的表达及意义[J]. 医学临床研究, 2013 (12) :2296-2297, 2301.

吴安邦, 覃可乐, 朱广, 等. Snail、E-cadherin 和 N-cadherin 在非小细胞癌组织的表达及相关性研究[J]. 瘤药学[J], 2014, 4 (4) :253-257.

吴安邦, 覃可乐, 朱广, 等. 修复与重建大面积胸壁缺损的临床研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2015 (15) :398-400.

致 谢

本论文及课题在肖高明导师悉心指导下完成。导师渊博的专业知识、严谨的治学态度及精益求精的工作作风均对我影响深远。本论文从选题到完结，每一步都在导师的指导下完成，倾注了导师大量的心血。在此，谨向导师表示崇高的敬意及衷心的感谢。本论文的完成，同时离不开各位老师及同学的帮助。在此，感谢陈跃军老师、吴冠宇老师、朱广老师、王志刚老师、邹求益老师、胡星明老师、汤轶老师、周彬老师、刘哲亮老师及黄栋老师的指导与帮助。没有他们的帮助和支持我想是无法顺利完成我的硕士论文的。感谢这篇论文所涉及到的各位学者。本文引用了数位学者的研究文献，如果没有各位学者的研究成果的帮助和启发，我将很难完成本篇论文的写作。最后，向我的家人致谢，感谢他们的支持与理解。

由于我的学术水平有限，所写论文难免有不足之处，恳请各位老师和学友批评和指正。