

·论著·

# 应用金属夹缝合胃壁全层缺损的动物实验

刘靖正 周平红 姚礼庆 徐美东 蔡明琰 钟芸诗 胡健卫 任重  
李亮 朱博群

**【摘要】目的** 探讨应用金属夹缝合胃全层缺损的可行性、安全性和有效性。**方法** 48 只新西兰大白兔按随机数字表法分为 4 组,每组 12 只。在胃体部全层切开直径 2 cm 的缺损后,第 1 组不缝合胃壁缺损,第 2 组用金属夹夹闭胃壁黏膜层,第 3 组用金属夹夹闭胃壁全层,第 4 组用 3-0 丝线缝合胃壁全层。分别于术后第 3 天和第 7 天处死各组动物,大体观察创面愈合情况;测定创面爆破压;并取创面组织,行苏木精-伊红染色和 Masson 染色,评价创面炎性反应及组织纤维增生情况。**结果** 第 1 组动物术后 34 h 内全部死亡,其他各组动物均良好存活,所有存活动物无腹腔内出血和感染表现。第 2、3 组与第 4 组相比,手术耗时短 [(45.8±1.6) min 和 (42.5±1.5) min 比 (48.0±1.4) min,  $P<0.05$ ]; 第 3 天创面爆破压低 [(36.9±4.6) mm Hg 和 (39.8±4.1) mm Hg 比 (50.5±4.2) mm Hg,  $P<0.05$ ]; 第 7 天创面爆破压 3 组间差异无统计学意义 [(95.0±7.9) mm Hg、(97.8±6.8) mm Hg 和 (98.5±7.0) mm Hg,  $P>0.05$ ]。相同时间点创面苏木精-伊红染色显示金属夹缝合组炎性反应较轻,Masson 染色反映创面愈合无明显差别。**结论** 应用金属夹缝合胃部全层缺损,无论夹闭胃黏膜层或全层组织,均能达到与手术缝线缝合相同的临床愈合效果和质量。

**【关键词】** 胃全层缺损; 内镜全层切除术; 金属夹; 动物模型, 兔

**A pilot study of closure of gastric full-thickness defect with metallic clips in a rabbit model LIU Jing-zheng, ZHOU Ping-hong, YAO Li-qing, XU Mei-dong, CAI Ming-yan, ZHONG Yun-shi, HU Jian-wei, REN Zhong, LI Liang, ZHU Bo-qun. Endoscopy Center, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China**

*Corresponding author: ZHOU Ping-hong, Email: zhou1968@yahoo.cn*

**【Abstract】Objective** To evaluate the feasibility, efficacy, and safety of metallic clips for closure of full-thickness defects in the stomach wall. **Methods** Forty-eight rabbits were randomly divided into 4 groups with 12 in each group using random digits table. A 2 cm×2 cm full-thickness defect was created in the gastric body. No closure was performed in the first group; in the second group, mucosa closure with metallic clips; the third group, closure of full-thickness gastric tissue with metallic clip; the fourth group closure with 3-0 silk suture. After operation the animals were sacrificed at the third day and the seventh day. Wound healing was evaluated. Bursting pressure was recorded. HE and Masson staining was performed to inspect wound inflammation and tissue fibrosis situation. **Results** After operation all the animals in the first group died within 34 hours, while those in other groups survived. No intraperitoneal bleeding or infection were seen in the survived animals. General observation showed that the metallic closure group caused less intraperitoneal adhesions. Operative time was shorter in the second and third group compared to the fourth group [(45.8±1.6) min and (42.5±1.5) min vs. (48.0±1.4) min,  $P<0.05$ ]. The bursting pressure on the third day was lower [(36.9±4.6) mm Hg and (39.8±4.1) mm Hg vs. (50.5±4.2) mm Hg,  $P<0.05$ ]. There was no significant difference in bursting pressure on the 7th day among the three groups [(95.0±7.9) mm Hg and (97.8±6.8) mm Hg vs. (98.5±7.0) mm Hg,  $P>0.05$ ]. HE staining revealed that metal closure had a better healing and Masson staining reflected no significant difference in healing at the same time point. **Conclusions**

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2012.01.023

基金项目:上海市科委医学引导类计划项目(10411962300)

作者单位:200032 上海,复旦大学附属中山医院内镜中心 复旦大学内镜诊疗研究所 复旦大学上海医学院外科学系

通信作者:周平红, Email: zhou1968@yahoo.cn

Metal clips closure full-thickness defects in the stomach, regardless in full thickness or mucosa closure, is as safe and effective as suture closure.

**【Key words】** Gastric full-thickness defect; Endoscopic full-thickness resection; Metallic clip; Enimal model, rabbit

内镜全层切除术 (endoscopic full-thickness resection, EFR) 是内镜下完整切除源于固有肌层侵及浆膜层并向浆膜外生长病变的新术式<sup>[1-3]</sup>。EFR 手术方式的提出,突破了传统内镜治疗局限于黏膜层和黏膜下层的限制,进一步扩大了内镜治疗的适应证,目前已有 EFR 应用于人体的报道<sup>[4-7]</sup>。但 EFR 操作过程中仍有很多技术问题亟待解决,如 EFR 的具体适应证、如何控制合适的术中气腹、术后创面闭合方式选择或操作中如何预防感染等。

对于 EFR 术后消化道管壁全层缺损闭合的方式,目前临幊上最常用的是内镜下腔内金属夹缝合和外科手术缝合两种方式。本研究拟对比胃全层缺损后两种缝合方式在操作过程、愈合效果和愈合质量的差异,为 EFR 术后闭合缺损选择更佳方式并提供理论依据。

## 资料与方法

### 一、研究对象及分组

雄性新西兰大白兔 48 只,体质量(2.0±0.2) kg,由复旦大学附属中山医院实验动物中心提供。本实验获得复旦大学附属中山医院实验动物伦理委员会批准。

分组:按随机数字表法实验兔分为 4 组,每组 12 只。具体分组方法为:雄性大白兔 48 只按体质量从轻到重依次编号为 1、2、3……48 号,分为 A(第 1 组)、B(第 2 组)、C(第 3 组)、D(第 4 组)4 组,使 1~4 号为一配伍组;第 5~8 号为一配伍组,余类推。在随机数字表上第 2 横行第 1 纵列 97 开始自左向右。每抄 3 个数字留一空位。然后将同一配伍组中的 3 个随机数,依次以 4、3、2 除之,若第 1 个数字余数为 1 归 A 组,余数 2 归 B 组,余数 3 归 C 组,除尽归 D 组。这样分组的结果,每组中都可随机分配到一只体质量极为近似的动物,各组实验动物的平均体质量基本相同,动物数也一样。

### 二、材料及器械

金属夹(日本 Olympus 公司,HX-610-090),金属夹释放器(日本 Olympus 公司,HX-110LR),恒温水浴仪器(上海方瑞仪器有限公司),Spectrumlab752s

紫外可见分光光度计质谱仪(上海元析仪器有限公司),HANGPIN JA2003 微量称重器(广州德钛公司),羟脯氨酸试剂盒(南京建成生物工程有限公司),Biofuge 超速离心机(德国 Heraeus 公司),TCI-I 型微量注射泵(广西威利方舟科技有限公司)。

### 三、研究方法

1. 手术方法:48 只实验动物术前禁食 24 h,不禁水。均在胃小弯侧切开长度为 1 cm 创口;由此创口用 60 ml 冲洗器抽吸生理盐水反复冲洗胃腔,直至吸出液体透明无色为止;在该创口对侧胃体处全层切开直径为 2 cm 的全层缺损。

2. 实验动物全层缺损缝合方法:(1)第 1 组不缝合胃壁缺损。(2)第 2 组用金属夹夹闭胃壁黏膜层:将两根定位线自 1 cm 创口引出,轻牵拉定位线将对侧直径 2 cm 的缺损处黏膜外露,提起胃黏膜层,金属夹 5 枚夹闭胃黏膜层。(3)第 3 组用金属夹夹闭胃壁全层:将两根定位线自 1.0 cm 创口处引出,轻牵拉定位线将对侧直径 2 cm 的缺损处外露,金属夹 5 枚夹闭胃组织全层。(4)第 4 组用 3-0 丝线缝合胃壁全层:将两根定位线自 1 cm 创口处引出,轻牵拉定位线将对侧直径 2 cm 的缺损处外翻,以手术用 3-0 丝线 4 针全层缝合胃部组织。

第 2、3 和 4 组实验动物闭合直径 2 cm 全层缺损后,胃腔内注入生理盐水检查缝合效果。如有渗漏,均以相应方式补加缝合;确认无渗漏后,以 3-0 丝线全层加浆膜层缝合胃小弯处 1.0 cm 创口。

3. 术后处理:术中动物补 5% 葡萄糖氯化钠溶液 300 ml,不使用抗生素;术后当天给予禁食但不禁水,术后第 1 天给予半量饮食,术后第 2 天正常饮食。各组动物存活期间密切观察全身情况及腹部体征。

### 四、观测指标

1. 胃壁缺损修补时间:指从实验动物开腹开始计时,至关闭腹部所需时间。

2. 术后组织愈合指标:实验动物创伤术后组织炎性反应及愈合进程为:术后 4 h 内创口处炎性反应不明显,仅创面充血水肿;术后 72 h,白细胞浸润达到高峰,并且开始出现成纤维细胞,毛细血管

开始形成肉芽组织;术后 7 d 时,成纤维细胞生成趋于稳定,毛细血管生成减少,白细胞减少,各项检测指标趋于稳定。因此,本研究分别于术后第 3 天,第 7 天处死各组动物(每次 6 只),观测以下指标:(1)大体观察创面愈合情况,有无感染及粘连;(2)测定创面爆破压:尸解时完整分离兔胃,保留部分食管及幽门远端。经食管端用 TCI-I 型微量注射泵以 5 ml/min 的速度向胃腔内注入生理盐水,丝线结扎幽门端将胃与水银血压计改装而成的压力计相连,记录胃壁缺损处愈合处出现渗漏或爆裂时压力计读数,即为缺损愈合处爆破压。(3)缺损愈合处羟脯氨酸含量:取缺损处组织利用碱水解法测定羟脯氨酸含量,原理为羟脯氨酸在氧化剂的作用下所产生的氧化产物与二甲氨基苯甲醛作用呈紫红色,根据其颜色深浅可推算羟脯氨酸含量。(4)取创面组织,行苏木精-伊红染色和 Masson 染色,评价创面炎性反应及组织纤维增生情况。

### 五、统计学方法

本实验数据采用 SPSS 17.0 统计学软件进行分析;结果用  $\bar{x} \pm s$  表示,进行单因素方差分析和组间两两比较。

## 结 果

### 一、各组动物存活率

第 1 组实验动物缺损不闭合,术后 34 h 内陆续死亡,生存时间  $(26.3 \pm 3.7)$  h。其他 3 组实验动物均能良好存活,存活期间无全身感染及腹膜炎性反应发生。

### 二、胃缺损修补时间

第 2、3 和 4 组均成功闭合胃全层缺损。金属夹闭合黏膜组手术耗时  $(45.8 \pm 1.6)$  min;金属夹闭合全层组手术耗时  $(42.5 \pm 1.5)$  min;3-0 丝线全层缝合组手术耗时  $(48.0 \pm 1.4)$  min。丝线全层缝合组平均耗时比金属夹闭合两组长(均  $P < 0.05$ )。

### 三、胃缺损爆破压测试

3 组术后第 3 天和第 7 天的创面爆破压突破值见表 1。术后 3 d 丝线全层缝合组缺损爆破压明显高于金属夹闭合黏膜及全层组,术后 7 d 3 组间缺损爆破压突破值差异无统计学意义。

### 四、病理学检查及羟脯氨酸测定

苏木精-伊红染色显示,金属夹闭组炎性反应明显轻于丝线缝合组;见图 1。Masson 染色反应显示,胶原纤维增生程度无明显差别;见图 2。

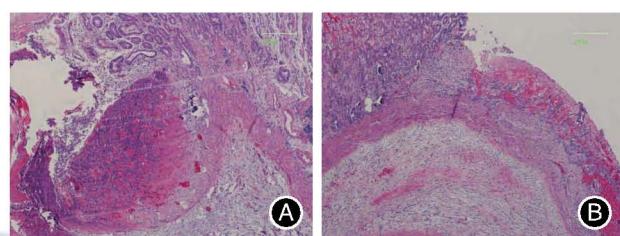


图 1 缝合愈合处炎性反应病理图片(苏木精-伊红染色,  $\times 50$ )

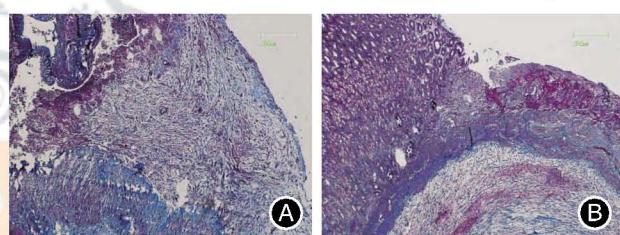


图 2 缝合愈合处胶原纤维增生程度(MASSON 染色,  $\times 50$ )

术后 3 d 和 7 d 各组胃缺损修补处羟脯氨酸含量差异无统计学意义,见表 1。

## 讨 论

EFR 能够完整切除源于固有肌层生长并侵及浆膜层向浆膜外生长的病变,打破了既往内镜治疗术式受病变浸润深度限制的障碍,进一步扩展了内镜治疗的适应证,能够完整地切除病变使得术后病理诊断更加完整<sup>[8-9]</sup>。在众多阻碍 EFR 临床应用的

表 1 3 组创面爆破压突破值和羟脯氨酸的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	免数(只)	创面爆破压突破值(mm Hg)		羟脯氨酸( $\mu\text{g/g}$ 胃湿重)	
		术后 3 d	术后 7 d	术后 3 d	术后 7 d
金属夹闭黏膜组	6	36.9±4.6	95.0±7.9	95.2±6.4	178.3±28.3
金属夹闭全层组	6	39.8±4.1	97.8±6.8	97.5±9.2	180.3±19.4
丝线全层缝合组	6	50.5±4.2 <sup>a</sup>	98.5±7.0	99.5±10.0	184.0±30.0
F 值		16.545	0.369	0.374	0.072
P 值		0.000	0.697	0.694	0.931

注:<sup>a</sup>3-0 丝线缝合组与金属夹闭合黏膜组及全层组相比,均  $P < 0.05$

技术障碍中,如何有效闭合 EFR 术后全层缺损是需要解决的技术难题之一<sup>[6,10-11]</sup>。

传统观点认为,所有内镜治疗术中发生的穿孔,均应立即手术修补或腹腔镜下修补<sup>[12]</sup>。1993 年, Binmoeller 等<sup>[13]</sup>报道了世界上第 1 例经内镜消化道腔内应用金属夹成功闭合胃急性穿孔的临床案例,开创了消化道腔内闭合缺损的先河。此后,有关金属夹用于内镜治疗术中穿孔修补的案例陆续报道,但有效性及安全性一直存在争议<sup>[14-15]</sup>。与手术缝合胃全层缺损相比,金属夹闭合操作技术难度较高,但其良好的方向性和安全性逐渐被 EFR 的实践者看中并采用。本实验我们采取随机分组的方法,对胃缺损金属夹闭合与手术用 3-0 丝线缝合进行了对比观察。实验发现,手术用 3-0 丝线修补缺损时间略有延长( $P<0.05$ )。金属夹操作简单迅速,能快速闭合缺损,显著缩短手术时间,能减轻术中气腹,避免腹膜炎的发生,有利于术后恢复。

由于金属夹张力恒定,并且存在夹闭深度不足的缺陷,理论上讲金属夹夹闭缺损的愈合要相对较慢、愈合质量要相对较差,愈合效果不能得到有效保障,缺损愈合抗爆破能力相对较差。我们的实验结果表明,术后 3 d 时 3-0 丝线缝合组愈合强度优于金属夹缝合组,可能原因有:(1)应用丝线缝合能使胃壁充分拉近吻合,且丝线缝合点以内张力低,有利于组织愈合;(2)应用金属夹缝合时仅仅拉近胃壁组织,金属夹内侧缘组织将发生坏死,外侧缘胃壁吻合不好。但术后 7 d 时 3 组愈合强度无明显差异,表明金属夹缝合组在术后 1 周时能达到临床愈合要求。术后 3 d 手术缝线缝合虽能带来较好的愈合,但手术缝合带给患者极大地创伤,这是 EFR 微创治疗所无法接受的。

理论上讲,金属夹夹闭缺损对附近组织及血管损伤较轻,炎性反应可能较轻,但愈合处羟脯氨酸含量可能比丝线缝合低。我们的研究发现,与 3-0 丝线缝合组对比,金属夹组炎性反应较轻,原因可能为术中应用丝线缝合存在牵拉,导致损伤胃壁组织,因此,丝线缝合缺损较金属夹缝合缺损愈合处炎性反应重;Masson 染色结果提示,3 组愈合缺损处无论应用金属夹或丝线缝合,对缺损愈合处胶原纤维增生表达无明显影响。

总之,本实验研究表明,与传统手术缝合胃壁缺损相比,金属夹缝合具有明显时间优势,同样能达到临床愈合效果,且安全、可靠。本研究更为经消化道管壁进入腹腔的 NOTES 术后的闭合提供技术支持及理论基础。

## 参 考 文 献

- [1] Kaehler GF, Langner C, Suchan KL, et al. Endoscopic full-thickness resection of the stomach: an experimental approach. *Surg Endosc*, 2006, 20(3):519-521.
- [2] Kantsevoy SV. Endoscopic full-thickness resection: new minimally invasive therapeutic alternative for GI-tract lesions. *Gastrointest Endosc*, 2006, 64(1):90-91.
- [3] Wang L, Ren W, Fan CQ, et al. Full-thickness endoscopic resection of nonintracavitory gastric stromal tumors: a novel approach. *Surg Endosc*, 2011, 25(2):641-647.
- [4] Abe N, Mori T, Takeuchi H, et al. Successful treatment of early stage gastric cancer by laparoscopy-assisted endoscopic full-thickness resection with lymphadenectomy. *Gastrointest Endosc*, 2008, 68(6):1220-1224.
- [5] 周平红,姚礼庆,秦新裕,等.无腹腔镜辅助的内镜全层切除术治疗源于固有肌层的胃黏膜下肿瘤.中华消化内镜杂志,2009,26(12):617-621.
- [6] Agrawal D, Chak A, Champagne BJ, et al. Endoscopic mucosal resection with full-thickness closure for difficult polyps: a prospective clinical trial. *Gastrointest Endosc*, 2010, 71(6):1082-1088.
- [7] Cho WY, Kim YJ, Cho JY, et al. Hybrid natural orifice transluminal endoscopic surgery: endoscopic full-thickness resection of early gastric cancer and laparoscopic regional lymph node dissection-14 human cases. *Endoscopy*, 2010, 24(2):134-139.
- [8] Elmunzer BJ, Trunzo JA, Marks JM, et al. Endoscopic full-thickness resection of gastric tumors using a novel grasp-and-smare technique: feasibility in ex vivo and in vivo porcine models. *Endoscopy*, 2008, 40(11):931-935.
- [9] von Renteln D, Schmidt A, Vassiliou MC, et al. Endoscopic full-thickness resection and defect closure in the colon. *Gastrointest Endosc*, 2010, 71(7):1267-1273.
- [10] Fritscher-Ravens A, Cuming T, Jacobsen B, et al. Feasibility and safety of endoscopic full-thickness esophageal wall resection and defect closure: a prospective long-term survival animal study. *Gastrointest Endosc*, 2009, 69(7):1314-1320.
- [11] Zhou PH, Yao LQ, Cai MY, et al. Endoscopic full-thickness resection without laparoscopic assistance for gastric submucosal tumors originated from muscularis propria layer. *Endoscopy*, 2010, 42(suppl 1):A373.
- [12] Tanaka S, Oka S, Chayama K. Colorectal endoscopic submucosal dissection: present status and future perspective, including its differentiation from endoscopic mucosal resection. *J Gastroenterol*, 2008, 43(9):641-651.
- [13] Binmoeller KF, Grimm H, Soehendra N. Endoscopic closure of a perforation using metallic clips after snare excision of a gastric leiomyoma. *Gastrointest Endosc*, 1993, 39(2):172-174.
- [14] Raju GS, Ahmed I, Shibukawa G, et al. Endoluminal clip closure of a circular full-thickness colon resection in a porcine model (with videos). *Gastrointest Endosc*, 2007, 65(3):503-509.
- [15] Raju GS, Shibukawa G, Ahmed I, et al. Endoluminal suturing may overcome the limitations of clip closure of a gaping wide colon perforation (with videos). *Gastrointest Endosc*, 2007, 65(6):906-911.

(收稿日期:2011-02-12)