

雌激素影响大鼠随意皮瓣成活面积的试验性研究

刘济远¹, 张富贵¹, 袁蒙姜¹, 唐休发²

(1. 口腔疾病研究国家重点实验室, 四川大学;

2. 四川大学华西口腔医院头颈肿瘤外科 四川 成都 610041)

[摘要] 目的 探讨雌激素对随意皮瓣成活面积的影响。方法 将 18 只雌性 SD 大鼠随机分为给予雌激素 100 和 300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组以及空白对照组, 建立大鼠背部超长宽随意皮瓣模型, 于试验组皮瓣远端皮下注射雌激素, 于不同时间点检测 3 组随意皮瓣的微血管密度和存活面积。结果 雌激素 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 加随意皮瓣组皮瓣的微血管密度和成活面积高于雌激素 300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 加随意皮瓣组和对照组。结论 适量的雌激素可增加随意皮瓣的微血管生成, 提高随意皮瓣的成活面积。

[关键词] 雌激素; 随意皮瓣; 血管生成; 成活面积

[中图分类号] R 782 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.3969/j.issn.1673-5749.2010.06.004

An experimental study of the effects of estrogen on random flap survival LIU Ji-yuan¹, ZHANG Fu-gui¹, YUAN Meng-jiang¹, TANG Xiu-fa². (1. State Key Laboratory of Oral Diseases, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Dept. of Head and Neck Tumor Surgery, West China College of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] **Objective** The purpose of this experimental study is to explore the effects of estrogen in survival of random flaps. **Methods** Eighteen female SD rats were divided into three groups randomly, namely the 100 and 300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ groups, control group. The experimental models of ultra-length-and-width random flap on rats' back were established, and the ones of experimental groups were injected with estrogen at the distal part of the flaps. The microvessel density and survival area of the random flaps in three groups were tested at different time points. **Results** The MVD and survival area of 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ group are better than those of control group and 300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ group. **Conclusion** Proper dose of estrogen can promote angiogenesis of random flaps, and improve the survival area of random flaps.

[Key words] estrogen; random flap; angiogenesis; survival area

随意皮瓣常用来修复组织缺损^[1], 由于没有知名血管供血, 其长宽比要求在躯干部为 2:1 以下, 面部由于血供丰富可放宽到 3:1^[2-3], 否则将影响皮瓣生存。这种对长宽比例的限制常导致其不能找到合适的皮瓣, 从而不能满足临床应用的需要。雌激素可促进血管生成^[4-5], 但其是否能促进大面积皮瓣成活有待于进一步的研究。

1 材料和方法

1.1 试验动物分组

将来自四川大学动物实验中心饲养的 18 只

身体质量为 200~250 g 的健康雌性 SD 大鼠随机分为 3 组, 分别为雌激素 100 和 300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组以及空白对照组。

1.2 模型的建立和处理

1.2.1 建模 手术前 2 d 用质量分数 8% 的硫化钠脱大鼠背部毛, 备皮范围约 3 cm×9 cm。手术前夜禁饮食。术前 2 h, 肌注青霉素 10 万单位每千克身体质量。水合氯醛 3 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 腹腔内注射麻醉, 根据需要可每 2 h 追加上述剂量的 1/2。在大鼠背部设计超长宽比例的游离皮瓣模型: 皮瓣纵轴与大鼠背部长轴平行且位于背部正中; 皮瓣呈矩形, 长 8 cm、宽 2 cm, 在大鼠背部正中线两侧左右对称; 蒂位于尾端的双侧髂嵴连线上。皮瓣切取: 麻醉生效后, 将大鼠俯卧固定于手术台上, 术区聚维酮碘溶液消毒铺巾, 然后沿设计线切开皮肤和皮下组织, 在真皮层深层掀起皮瓣并

[收稿日期] 2009-12-10; [修回日期] 2009-07-09

[基金项目] 四川大学大学生创新实验计划基金资助项目(200891-415422080)

[作者简介] 刘济远(1986—), 男, 四川人, 博士

[通讯作者] 唐休发, Tel: 13628006509

行钝性分离，遇血管予以结扎以彻底止血，保证皮瓣为随意皮瓣。最后，皮瓣用3-0丝线原位连续缝合。切口周围，聚维酮碘溶液消毒后涂抹红霉素眼膏。

1.2.2 模型处理 每2天于模型远端皮瓣下原位注射雌激素^[6-7]和青霉素(10万单位每次)。按雌激素100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 加游离皮瓣，雌激素300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 加游离皮瓣分组注射相应剂量的雌激素。对照组大鼠于相同部位注射相同剂量的生理盐水。设立5、9、13 d三个观察点，每次6只(每组2只)。

1.3 观察测定

1.3.1 大体观察 观察皮瓣的色泽，坏死面积，毛发生长等情况。皮瓣变黑、干枯，针刺无出血可确诊皮瓣坏死。用数码相机拍摄皮瓣影像，利用Image-Pro Plus 5.0 图像分析软件对其进行分析，以确定成活面积。

1.3.2 血管计数 苏木精-伊红染色，观察血管结构变化和血管生成情况。组织学图像分析测定微血管密度。在100倍镜下选择含微血管最多的区域，在200倍镜下随机计数5个视野的血管数目，取其平均值为微血管密度，取内皮细胞中间有黑色墨点的计数为一条血管，管腔大于8个红细胞直径的血管不在计数之列。

1.4 统计学分析

用SPSS 14.0 软件对试验结果进行统计学分析。对皮瓣血管生成数目和存活面积进行随机区组设计的方差分析，均以雌激素注射量为处理因素，观察点以区组因素进行分组，分别进行统计学分析，检验方差齐性。

2 结果

2.1 大体观察

皮瓣术后色泽正常，2 d后远端出现黑色斑点，而后相连成片，针刺无出血，确认坏死，但其坏死面积大小有所不同。

2.2 皮瓣存活和坏死面积

图1显示术后9 d的皮瓣成活面积。雌激素100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 加游离皮瓣组(图1B)与对照组(图1A)和雌激素300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 加游离皮瓣组(图1C)相比较，皮瓣存活面积大于对照组和300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组($P<0.01$)；而对照组与300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组相比较，前者又大于后者，但差异无统计学意义($P>0.05$)。在组内不同时间点取样对皮瓣存活面积影响的比较，差异亦无统计学意义(表1)。

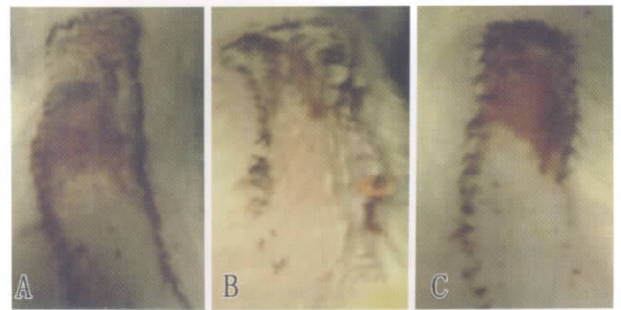


图1 术后9 d的皮瓣成活面积图

Fig 1 The survival area of random flap 9 days after surgery

表1 不同剂量的雌激素干扰在不同时间点的皮瓣面积坏死率

Tab 1 The necrosis areas of different groups at different time points %

取样时间/d	对照组	100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组	300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组
5	23.89	13.27	23.82
9	30.58	16.21	36.63
13	27.31	13.62	24.58

2.3 血管计数

100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组和300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组血管计数均好于对照组，其差异有统计学意义；300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组又略好于100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组。图2示5 d 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组皮瓣的微血管密度：取内皮细胞中间有黑色墨点的计数为一条血管，管腔大于8个红细胞直径的血管不在计数之列。从图2可见大约5条血管。另外，时间因素对血管生成无明显影响(表2)。

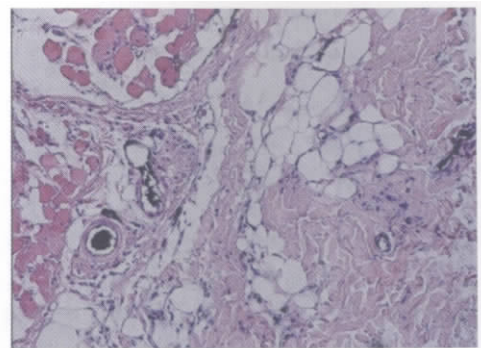


图2 5 d 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组皮瓣示例 HE $\times 200$

Fig 2 The sample of 5 d 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ group flap HE $\times 200$

表2 不同剂量的雌激素干扰在不同时间点的平均血管数

Tab 2 The average number of blood vessels of different groups at different time points

取样时间/d	对照组	100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组	300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组
5	4.74	8.22	8.08
9	4.90	8.00	9.67
13	5.63	8.57	8.43

3 讨论

皮瓣移植是口腔颌面外科常用的缺损修复方法,但轴心皮瓣受轴心血管的限制,而随意皮瓣受长宽比例的限制。采取其他因素干扰以提高超长宽比例随意皮瓣的成活率是人们所希望的,而随意皮瓣的成活面积与新生血管的密度密切相关。

雌激素促进新生血管生成主要见于:女性月经周期中子宫内膜血管的增加;某些肿瘤疾病如乳腺癌等,其侵袭性也与雌激素的量有关。另外,一些血管内膜疾病,多发于绝经前,也与雌激素水平变化有关^[4]。Ardelt等^[8-10]发现,雌激素能增加肢体与低血性大脑的微血管密度,增加再灌注。其机制可能为雌激素可促进低血组织周围基质细胞衍生因子(stromal cell derived factor, SDF)-1的水平增加,而且骨髓中的造血干细胞可沿着SDF-1的水平梯度定向迁移并促进血管生成^[11]。雌激素可通过受体介导途径上调内皮型一氧化氮合酶,从而增加一氧化氮合酶的活性或其合成,促进低血组织一氧化氮的生成^[12];而且一氧化氮可促进血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的生成,从而影响血管生成^[13-14]。雌激素还具有促进血管内皮胶原蛋白的生成,防止血管收缩^[15-16],从而改善血供和提高皮瓣存活率的功能。

在本研究中,雌激素 $100\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 加游离皮瓣组的皮瓣存活率高于雌激素 $300\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 加游离皮瓣组。其机制可能为:在正常情况下,雌激素可调控VEGF使其在低氧的时候分泌增多,而过量的雌激素反而限制了VEGF的分泌,使其在低氧的时候分泌减少。过量的雌激素也可能引起大鼠体内对雌激素的反馈抑制,减少受体,使其效果减弱。在血管生成方面,雌激素 $100\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 加游离皮瓣组和雌激素 $300\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 加游离皮瓣组的血管生成数量差异不大,而存活面积差异较大。这即提示:300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组的血管功能可能要差于100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组。原因可能为过量地促进了一氧化氮和VEGF的生成,而过量的VEGF可引起严重的血管微漏和低血压^[17]。

4 参考文献

- [1] 侯春林, 顾玉东. 皮瓣外科学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2006:26-29.
- [2] 邱蔚六, 张震康, 张志愿. 口腔颌面外科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2008:490-491.
- [3] 金鑫, 陈玉成, 曾智, 等. 雌激素对心肌梗死大鼠外周血干细胞及血管生成的影响[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(1):40-44.
- [4] 张红兵, 张军军, 马麟, 等. 雌激素对视网膜新生血管生成作用的研究[J]. 眼科研究, 2006, 24(2):165-168.
- [5] 胡玉珍, 张庆红, 张万会, 等. 雌激素受体在大鼠和兔血管的分布[J]. 心脏杂志, 2000, 12(4):265-266.
- [6] 于子莹, 张茹慧, 刘春丽, 等. 局部注射VEGF挽救大鼠背部随意型超比例皮瓣成活的最佳注射层次的实验性研究[J]. 口腔医学研究, 2002, 18(6):372-374.
- [7] Ardelt AA, McCullough LD, Korach KS, et al. Estradiol regulates angiopoietin-1 mRNA expression through estrogen receptor-alpha in a rodent experimental stroke model[J]. Stroke, 2005, 36(2):337-341.
- [8] Kyriakides ZS, Petinakis P, Kaklamanis L, et al. Intramuscular administration of estrogen may promote angiogenesis and perfusion in a rabbit model of chronic limb ischemia[J]. Cardiovasc Res, 2001, 49(3):626-633.
- [9] Losordo DW, Isner JM. Estrogen and angiogenesis: A review[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21(1):6-12.
- [10] Aiuti A, Webb IJ, Bleul C, et al. The chemokine SDF-1 is a chemoattractant for human CD34+ hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of CD34+ progenitors to peripheral blood[J]. J Exp Med, 1997, 185(1):111-120.
- [11] 徐瑞生, 高金爽. 雌激素提高皮瓣存活面积的实验性研究[J]. 中国实用医药, 2008, 3(24):65-67.
- [12] 张琼, 张士胜, 王玲. 一氧化氮与血管生成的研究进展[J]. 国际眼科杂志, 2007, 7(3):788-790.
- [13] Chen Z, Yuhanna IS, Galcheva-Gargova Z, et al. Estrogen receptor alpha mediates the nongenomic activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen[J]. J Clin Invest, 1999, 103(3):401-406.
- [14] Coats WD Jr, Cheung DT, Han B, et al. Balloon angioplasty significantly increases collagen content but does not alter collagen subtype / ratios in the atherosclerotic rabbit iliac model[J]. J Mol Cell Cardiol, 1996, 28(2):441-446.
- [15] 陈葵, 张庆华. 雌激素对动脉内皮损伤后血管重塑的影响[J]. 中华老年医学杂志, 2001, 20(2):143-144.
- [16] Zisch AH, Lutolf MP, Hubbell JA. Biopolymeric delivery matrices for angiogenic growth factors[J]. Cardiovasc Pathol, 2003, 12(6):295-310.

(本文编辑 汤亚玲)

[1] 杨志明, 温玉明. 带血管蒂组织瓣移位手术学[M]. 成都: