

临床研究

DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2012.10.012

特定电磁波谱对大鼠脂肪移植体内微血管形成影响的定量研究

吴一¹, 曾令寰², 李伟¹, 邓颖¹, 樊仕梅¹

(1. 重庆市急救医疗中心整形外科, 重庆 400014; 2. 四川省中西医结合医院整形外科, 成都 610041)

【摘要】目的: 观察特定电磁波谱对移植脂肪体内微血管形成的作用。方法: 将 72 只雌性 SD 大鼠随机分成胰岛素组、特定电磁波谱组和对照组, 制作颗粒脂肪移植动物模型。胰岛素组: 术中移植脂肪团内加入胰岛素 (浓度为 300 mU/L); 特定电磁波谱组: 术后用特定电磁波谱照射每天 3 次; 对照组: 移植脂肪不施加任何处理。术后免疫组化血管染色测量移植脂肪块内微血管密度。结果: 在术后第 10 天, 特定电磁波谱组和胰岛素组微血管密度测定均高于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 在术后第 20、28 天特定电磁波谱组微血管密度高于对照组。结论: 特定电磁波谱照射能促进移植脂肪体内微血管形成, 提高移植脂肪的存活率。

【关键词】特定电磁波谱; 微血管; 脂肪移植; 存活率

【中国图书分类法分类号】R622⁺.9

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-04-06

Effect of TDP on microvessel formation of autogenous fat transplantation in mice

WU Yi¹, ZENG Linghuan², LI Wei¹, DENG Ying¹, FAN Shimei¹

(1. Department of Plastic Surgery, Chongqing Emergency Medical Center; 2. Department of Plastic Surgery, Sichuan Provincial Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of TDP on microvessel formation of autogenous fat transplantation in mice. Methods: Totally 72 female mice were divided into TDP group, insulin group and control group randomly and animal model of fat transplantation was established. The region of autogenous fat transplantation was treated with TDP for 30 mins at a time, 3 times pre day in TDP group. Autogenous fat transplantation was treated with insulin (concentration of 300 mU/L) in insulin group, the fat transplantation in control group was untreated. The microvessel density in fat transplantation was determined by immunohistochemical method. Results: Microvessel density was higher in TDP group and insulin group than in control group ($P < 0.05$) at 10 d after the operation. Microvessel density was higher in TDP group compared with that of control group at 20 d and 28 d after the operation. Conclusion: It shows that TDP could improve survival rate of autogenous fat transplantation by promoting vessel formation.

【Key words】TDP; microvessel; fat transplantation; survival rate

在面部软组织缺陷和美容术中常需采用自体颗粒脂肪移植术, 但较低的存活率影响了术后效果, 因此目前的研究重点主要集中在如何提高移植脂肪的存活率上。特定电磁波谱辐射器发射的电磁波能促进照射区的微循环, 加速伤口愈合的功效。本实验采用特定电磁波谱照射脂肪移植术区, 并设立胰岛素阳性对照组, 观察特定电磁波谱对移植脂肪存活率的影响。

1 对象和方法

1.1 移植脂肪获取

选择 72 只雌性成年 SD 大鼠, 腹腔内注射 2% 戊巴比妥

钠 (40 mg/kg) 麻醉, 碘伏消毒铺巾, 取输卵管旁脂肪组织, 将取出的脂肪修剪成 2 mm × 2 mm × 2 mm 大小颗粒状, 放入已标记好液面高度的 5 ml 空针内, 使液面上升 1 ml, 取得 1 ml 体积的颗粒脂肪组织。

1.2 分组与处理因素

将 72 只大鼠随机分成 3 组 (特定电磁波谱组 24 只、胰岛素组 24 只、对照组 24 只), 特定电磁波谱组: 大鼠背部脱毛后做 0.5 cm 长切口, 在肉膜层分离适当大小腔隙, 植入 1 ml 体积的颗粒脂肪团, 缝合切口。术后用特定电磁波谱照射术区, 距照射区 50 cm 高度, 30 min × 3 次/d。胰岛素组: 脂肪组织获取方法同上, 术中將所取脂肪颗粒浸入含胰岛素 (浓度为 300 mU/L) 的生理盐水中预处理后再移植到大鼠背部。对照组: 移植脂肪术中、术后不施加处理因素。在术后 10、20、28 d 各处死 8 只大鼠, 取出移植脂肪标本, 石蜡包埋切片。

1.3 染色方法

常规 HE 染色, SP 免疫组化试剂盒做微血管染色, 单克隆抗体采用鼠抗人 CD34 单抗 (美国 Maxin 公司), DAB 显色, 苏木素复染。

作者介绍: 吴一 (1962-), 男, 主任医师,

研究方向: 颌面整形。

基金项目: 重庆市卫生局资助项目 (编号: 04-2-022)。

1.4 血管计数

在高倍视野下每张切片在周边(上下左右)和中央各计算 1 个高倍视野内微血管数目,取其均值。参照文献[1]方法:染成棕色的单个内皮细胞簇均作为 1 个血管计数。管腔大于 8 个红细胞大小,带有较厚肌层的小血管不计数。

1.5 统计学处理

统计分析采用 SPSS 19 软件,微血管密度数据为计量资料,用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示;方差分析提示在 10 d 和 28 d 组间方差不齐,故采用非参数秩和检验, Kruskal Wallis H 检验 3 组之间总体有无差别。组间两两比较采用完全随机设计多个样本间多重比较 $Nemenyi$ 秩和检验^[2],检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

HE 染色可见移植体内有脂肪细胞,脂肪细胞体积变小,移植脂肪内有毛细血管形成。CD34 单抗标记的血管显影呈棕色。高倍(400 $\times$)视野下计数显示:术后第 10 天胰岛素组和特定电磁波谱组微血管密度测定均高于对照组,在术后 28 d 特定电磁波谱组分别与胰岛素组和对对照组对比,差异有统计学意义($P<0.05$)。移植脂肪内血管生长 20 d 达高峰,随后增长速度减缓(表 1,图 1~3)。

3 讨 论

早在 1937 年 Woolf 就报道了用自体颗粒脂肪注射治疗膝关节炎,并取得了良好的效果。在肿胀麻醉技术用于脂肪抽吸术后,大量颗粒脂肪的采集变得很容易。自体颗粒脂肪移植应用于临床以来一

直在争议中发展,1991 年 Ersek^[3]通过 3 年的随访认为脂肪移植效果不理想,但脂肪移植的研究并未有终止。通过不断改进移植技术,同样是 Ersek 等^[4]报道通过 8 年的随访认为颗粒脂肪移植术后效果满意。目前,颗粒脂肪移植在半侧颜面萎缩^[5]、颜面部凹陷^[6]、小乳症^[7,8]等方面都取得了良好的术后效果。由于脂肪移植术后 6~8 个月吸收率在 35%左右^[9],所以在脂肪移植术中都需要超量注射和多次注射。

由于颗粒脂肪移植有诸多无可替代的优点,且在临床中应用广泛,如何提高移植脂肪的存活率,增加术后满意度已成为外科医师研究的重点。向颗粒脂肪中加入碱性成纤维细胞生长因子^[10]、前列腺素、糖皮质激素、胰岛素等可以提高移植脂肪的存活率,这些药物一般仅能采取一次性加入,导致其应用受到一些限制。

特定电磁波谱辐射器的核心部件是一块能在特定的温度激发下发射综合电磁波进而引起多种生物效应的辐射板,生物体接受辐照后激发第 1 信号系统和第 2 信号系统实现细胞信号转导,从而引发一系列的细胞反应,加速组织修复。应用特定电磁波谱治疗闭合性软组织伤的研究显示特定电磁波谱具有止痛、消肿、活血化瘀等功效^[11],特定电磁波谱能促进骨折处血液循环,减轻肿胀,缩短骨折愈合时间^[12]。在颗粒脂肪注射移植后的早期处于缺血状态,靠组织液渗透生存。随后新生血管从受床向移植体内生长,并与原有血管沟通吻合建立新的血循环。红外线辐照能改善移植脂肪存活率^[13],远

表 1 脂肪移植术后 10、20、28 d 微血管密度 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Microvessel density at 10,20,28 d after fat transplantation ($\bar{x} \pm s$)

组别	10 d	20 d	28 d	秩和检验组间比较	10 d		20 d		28 d	
					χ^2 值	P 值	χ^2 值	P 值	χ^2 值	P 值
TDP ($n=24$)	3.82 $\pm$ 0.32	7.80 $\pm$ 0.26	8.39 $\pm$ 0.12	TDP组与胰岛素组	0.18	0.91	4.81	0.09	7.60	0.02
胰岛素组 ($n=24$)	3.92 $\pm$ 0.12	6.96 $\pm$ 0.42	7.89 $\pm$ 0.31	TDP组与对照组	10.23	0.01	20.17	<0.01	12.52	<0.01
对照组 ($n=24$)	2.05 $\pm$ 0.21	4.40 $\pm$ 0.36	7.62 $\pm$ 0.41	胰岛素组与对照组	13.14	<0.01	5.29	0.07	0.61	0.74

注:特定电磁波谱=TDP。移植后 10 d TDP 组、胰岛素组分别和对照组比较, $P<0.05$;移植后 20 d TDP 组和对对照组比较, $P<0.01$;移植后 28 d TDP 组分别和胰岛素组、对照组比较, $P<0.05$

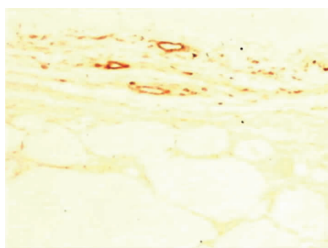


图 1 对照组脂肪移植后 20 d 微血管染色 (HE,400 $\times$)

Fig.1 Microvessel staining in control group at 20 d after the operation (HE,400 $\times$)

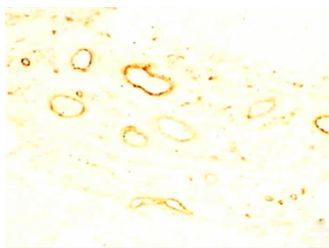


图 2 特定电磁波谱组脂肪移植后 20 d 微血管染色 (HE,400 $\times$)

Fig.2 Microvessel staining in TDP group at 20 d after the operation (HE,400 $\times$)

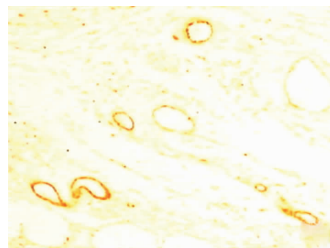


图 3 胰岛素组脂肪移植后 20 d 微血管染色 (HE,400 $\times$)

Fig.3 Microvessel staining in insulin group at 20 d after the operation (HE,400 $\times$)

红外线被物体吸收后产生的继发效应,使辐照区产生毛细血管扩张、组织血流量增加和代谢增强等变化,增加移植组织血供。

本实验应用特定电磁波谱辐照移植脂肪部位,并采用胰岛素做阳性对照。研究表明低浓度胰岛素对细胞的增殖分化和血管内皮细胞以及血管内皮细胞生长因子的分泌具有明显促进作用,而高浓度的胰岛素反而有抑制作用^[14,15],故本实验选用低浓度胰岛素(浓度为 300 mU/L)预处理移植体。

术后各时段的移植脂肪切片经 HE 染色证实有脂肪细胞存活,脂肪细胞有萎缩变小。免疫组化染色显示在术后 10 d 即有明显微血管重建现象,胰岛素组和特定电磁波谱组在术后 20 d 微血管生长达到高峰,直到 28 d 时仍有新微血管增殖,但生长速度减缓。在术后 28 d 对照组微血管生长达到高峰,晚于胰岛素组和特定电磁波谱组。统计分析显示:在术后第 10 天胰岛素组和特定电磁波谱组微血管密度均高于对照组($P<0.05$),在术后 28 d 特定电磁波谱组分别与胰岛素组和对照组比较差异有统计学意义,原因可能是胰岛素为一次性加入,在术后仅能维持短时间的促血管生长作用,而特定电磁波谱在术后是每天照射能持续发挥促血管生长作用。使用免疫组化微血管定量分析可以判断移植脂肪的血运循环重建情况,是观察脂肪移植存活效果的有效手段^[1]。特定电磁波谱照射提高移植脂肪存活率的理论依据是:特定电磁波谱在工作时能发射红外线和远红外线的综合电磁波谱,其热效应能改善血液的流变,解除局部保护性痉挛,扩张毛细血管改善微循环;电磁共振效应能提高吞噬细胞的吞噬能力,有效的控制炎症反应;上述作用有利于移植的脂肪从受床吸收营养,加快微血管生长速度,提高移植脂肪的存活率。特定电磁波谱照射具有简便,依从性高等优点。特定电磁波谱改善移植脂肪存活率的最佳照射时间和强度还需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 杜学亮,罗少军.免疫组化法在脂肪移植体内微血管定量研究的应用[J].广东医学院学报,1998,16(1-2):27-28.
- [2] 刘伟,林汉生.SPSS 在完全随机设计多个样本间多重比较 Nemenyi 秩和检验中的应用[J].中国卫生统计,2009,26(2):214-216.
- [3] Ersek R A.Transplantation of purified autologous fat;a 3-year follow-up is disappointing[J].Plast Reconstr Surg,1991,87(2):219-228.
- [4] Ersek R A,Chang P,Salisbury M A.Lipo layering of autologous fat;an improved technique with promising results[J].Plast Reconstr Surg,1998,101(3):820-826.
- [5] 谢芸,李青峰,郑丹宁.半侧颜面萎缩的自体脂肪颗粒移植治疗[J].中国修复重建外科杂志,2007,21(12):1308-1311.
- [6] 吴一,李伟,邓颖.自体脂肪颗粒移植充填矫治面部凹陷[J].中国美容医学,2008,17(2):180-181.
- [7] 谢红炬.自体脂肪颗粒移植隆乳的回顾性研究及并发症处理[J].中国美容整形外科杂志,2007,18(6):411-413.
- [8] 李青峰.自体脂肪颗粒移植临床应用回顾与分析[J].中国美容医学,2005,14(1):17-18.
- [9] Li Q F.Recall analysis and clinical application of autogenous fat particles transplants[J].Chinese Journal Aesthetic Medicine,2005,14(1):17-18.
- [10] Dolsky R L.Liposuction[J].Dermatol Clin,1990,8:553.
- [11] 李卫华,孙志成,王文.碱性成纤维细胞生长因子在自体脂肪颗粒填充面部凹陷中的作用[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(41):7753-7756.
- [12] Li W H,Sun Z C,Wang W.Effects of basic fibroblast growth factor on treating facial depression deformity with autologous fat transplantation[J].Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research,2010,14(41):7753-7756.
- [13] 吴绍尧.TDP 治疗 307 例闭合性软组织损伤的疗效观察[J].重庆医药,1984,2(增刊):66.
- [14] Wu S R.Application of TDP in treatment closed soft tissue injury;307 cases[J].Chongqing Medicine,1984,2(s):66.
- [15] 姚玉周.特定电磁波照射对骨折愈合的影响[J].右江医学,2003,31(5):453-454.
- [16] Yao Y Z.Effect of TDP on bone fracture healing[J].Youjiang Medical Journal,2003,31(5):453-454.
- [17] 黄泽春,晏丹,谭章梅,等.红外线治疗对自体脂肪颗粒注射移植隆乳临床效果的影响[J].中国美容医学,2010,19(11):1583-1585.
- [18] Huang Z C,Yan D,Tan Z M,et al.Influence of infrared therapy on clinical effects of autologous fat transplant for breast augmentation[J].Chinese Journal Aesthetic Medicine,2010,19(11):1583-1585.
- [19] 张英男,王海涛,姜维良,等.胰岛素对人血管内皮细胞保护作用的实验研究[J].哈尔滨医科大学学报,2011,45(1):23-26.
- [20] Zhang Y N,Wang H T,Jiang W L,et al.Protective effect of insulin to human vascular endothelial cells[J].Journal of Harbin Medical University,2011,45(1):23-26.
- [21] 李书国,曾秋棠.胰岛素对牛胸主动脉内皮细胞血管内皮生长因子及其受体表达的影响[J].中国病理生理杂志,2004,20(12):2232-2235.
- [22] Li S G,Zeng Q T.Effect of insulin on the secretion of VEGF and its receptor in serum-free cultured bovine thoracic aortic endothelial cells[J].Chinese Journal of Pathophysiology,2004,20(12):2232-2235.

(责任编辑:关蕴良)