

技术方法

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.000338

家兔腹壁疝模型建立及其判定标准的探索研究

陈思宇, 赵 渝, 蒙喜云, 张灏龙

(重庆医科大学附属第一医院血管外科, 重庆 400016)

【摘要】目的:通过动物实验研究探索出 1 种能够建立稳定动物腹壁疝模型方法的可行性以及判定其成功标准。**方法:**将 40 只雄性家兔完全随机分为 A、B、C、D 4 组, 每组 10 只, A 组为空白对照组, 其余 3 组为实验组, 分别切除 2 cm × 2 cm、3 cm × 3 cm、4 cm × 4 cm 全层腹壁组织结构, 1 个月后观察各组动物腹壁突出情况、动物体质量变化及死亡情况。**结果:**1 个月后各组动物体重 A、B、C 3 组较术前无差异 (P 值分别为 0.504, 0.465, 0.090), D 组动物体质量较术前减轻 ($P=0.000$), 且较其他组体质量变化量大 ($P=0.000$); A 组动物无腹壁包块突出, 无死亡例数, B 组 2 例, 1 例死亡, C 组 6 例, 1 例死亡, D 组 6 例, 3 例死亡。**结论:**切除腹壁 3 cm × 3 cm 全层腹壁组织结构(肌肉和腹膜)可以得到稳定的动物疝模型, 并提出 1 种成功建立疝模型的方法及判定标准, 为未来疝相关研究提供了稳定的动物模型。

【关键词】腹壁疝; 模型; 家兔**【中图分类号】**R656.2**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-12-30

Construction of rabbit abdominal hernia model and its criteria

Chen Siyu, Zhao Yu, Meng Xiyun, Zhang Haolong

(Department of Vascular Surgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the feasibility of establishing a stable animal model of abdominal hernia and the criteria to determine its success through animal studies. **Methods:** The 40 male rabbits were randomly divided into A, B, C and D groups with 10 rabbits in each group. A group was taken as control group and the remaining three groups were taken as experimental groups. Full structure of abdominal wall (muscle and peritoneum) of rabbits in experimental group was cut by sizes of 2 cm × 2 cm, 3 cm × 3 cm, 4 cm × 4 cm, respectively. Protruding abdominal mass, body weight and mortality of rabbits were observed one month later. **Results:** There was no significant difference in body weight in groups A, B, C before and after the surgery ($P=0.504, 0.465, 0.090$). Body weight was decreased in group D after the surgery compared with that before the surgery ($P=0.000$). No case of abdominal mass and no death case in group A, two cases of abdominal mass and one death case in group B, six cases of abdominal mass and one death case in group C, six cases of abdominal mass and three death cases in group D were observed. **Conclusion:** Removal of abdominal tissues by size of 3 cm × 3 cm can build a stable animal model of abdominal hernia and propose a method to build hernia model and criteria, paving the way for the research of the hernia in the future.

【Key words】abdominal hernia; model; rabbit

腹股沟疝是普外科常见病和多发病, 发病人群大多集中在老年人, 腹股沟疝的治疗措施为手术治疗, 在开放或是腹腔镜疝修补中都需在麻醉下进行, 一部分老年患者因无法耐受麻醉或是基础疾病较多而放弃治疗, 国内外众多学者也是着力于疝修补网片材料学方面的相关研究以及各种疝修补材料的对比研究^[1-3], 对于疝修补方法的革新也需要引起足

够的重视, 两者的共同发展才能促进腹股沟疝治疗的前进。众多新型手术治疗方法摆在临床医生面前, 但开展新型疝修补术需要在大量动物实验基础上才能进入临床实验, 且缺乏稳定的动物模型是目前比较棘手的问题之一, 国内外鲜有报道动物疝模型的稳定建立方法及标准, 如何标准化地建立动物疝模型需要引起疝研究学者的重视, 本文中通过建立动物腹壁疝模型, 希望探索出成功建立动物疝模型行之有效的方法以及判定标准, 为未来疝相关研究提供稳定疝模型奠定一定基础。

作者介绍: 陈思宇, Email: 415347575@qq.com,

研究方向: 疝新型修补术式。

通信作者: 赵 渝, Email: 820994765@qq.com。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000338.html>

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 实验家兔由重庆医科大学动物实验中心提供,在普通清洁环境下饲养,自然光照周期,正常饮食,体质量 2~2.5 kg,均为雄性,年龄 2 月,实验过程中对动物处置符合 2006 年科学技术部颁布的《关于善待动物的指导性意见》。

1.1.2 器械及药品 外科手术器械及无菌单,动物去毛器 1 台,20 cm 标尺 1 把,10%水合氯醛 500 ml。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组 将 40 只雄性家兔按照完全随机分为 A、B、C、D 4 组,体质量为 (2.26 ± 0.16) kg。每组 10 只,A 组为空白对照组,体质量 (2.25 ± 0.16) kg,该组家兔不作任何操作,其余 3 组为实验组,B 组家兔拟切除全层腹壁(包括腹壁肌肉和腹膜)大小为 $2\text{ cm} \times 2\text{ cm}$,体质量 (2.20 ± 0.09) kg,C 组拟切除 $3\text{ cm} \times 3\text{ cm}$,体质量 (2.37 ± 0.15) kg,D 组拟切除 $4\text{ cm} \times 4\text{ cm}$,体质量 (2.35 ± 0.14) kg。切除腹壁组织结构后观察家兔 1 个月,观察腹壁疝形成(包块突出及测量疝环直径)及家兔全身情况(包括营养情况,切口感染及死亡情况)。

1.2.2 家兔腹壁疝模型建立方法 (1)动物麻醉:配置 10% 水合氯醛根据家兔体重 (3 ml/kg) 于耳缘静脉缓慢推注^[4-5],待家兔四肢肌张力降低,瞳孔反射消失视为麻醉成功标志;(2)备皮及消毒:采用动物去毛器去除家兔腹壁毛发,5%碘伏消毒操作区,铺无菌洞巾及无菌单;(3)腹壁组织结构切除:如图 1 所示于家兔腹壁作 5 cm 正中切口切开皮肤,显露腹壁肌肉,距正中线 3 cm 处纵行切开左侧腹外斜肌,如图 2、图 3 所示逐层分离腹壁各层肌肉和腹膜,如图 4 所示各组家兔按照实验设计将腹壁全层组织结构(肌肉+腹膜)切除,并用 3-0 可吸收缝线沿肌肉切缘缝合 1 周,将腹壁缺损修饰为圆形或类圆形,最后缝合皮肤。

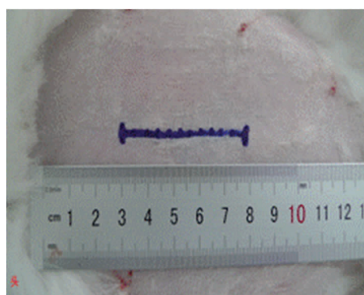


图 1 家兔腹壁正中切口

Fig.1 Rabbit abdominal incision

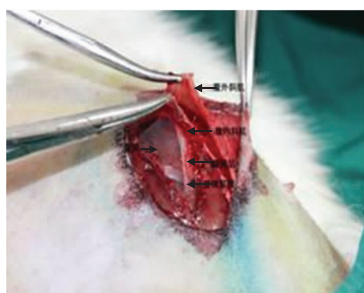


图 2 家兔腹壁肌肉解剖关系

Fig.2 Anatomical relationship of abdominal muscles



图 3 切除家兔全层腹壁结构

Fig.3 Removal of rabbit abdominal wall muscles

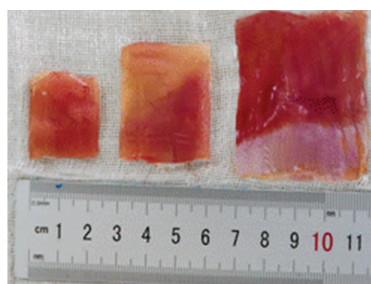


图 4 切除不同大小家兔腹壁组织

Fig.4 Removal of rabbit abdominal tissues with different sizes

1.3 家兔腹壁疝模型建立判定标准的设立

术后观察期为 1 个月,以下几点为观察指标:①术后腹壁包块突出情况,包括视诊、触诊;②测量疝环直径大小;③术后 1 个月各组动物体质量变化情况;④在观察期内各组动物死亡情况。

1.4 统计学方法

所有数据采用 SPSS 19.0 软件包进行统计分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,计数资料采用构成比表示。各组动物体质量变化采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 法;各组动物手术前后体质量变化采用配对 t 检验;疝环直径采用两独立样本 t 检验;腹壁包块突出情况及动物死亡率采用卡方检验和 Fisher 确切概率法。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 实验动物体质量变化

30 d 后各组动物体质量变化量(绝对值)方差分析 $P = 0.000$,各组体质量变化不全相等,单因素方差分析,各组体重变化值 LSD 法两两比较,D 组动物体质量变化有统计学差异,较其他 3 组变化大($P = 0.000$),如表 1。如表 2,术后观察 30 d,再次对动物称重,其中 A 组(空白对照组)动物体质量为 (2.26 ± 0.15) kg,B 组动物体质量为 (2.19 ± 0.08) kg,C 组动物体质量为 (2.25 ± 0.13) kg,D 组动物体质量为 (2.26 ± 0.13) kg,运用 SPSS 19.0 统计软件与术前同组样本配对 t 检验,其中 A、B、C 3 组动物体质量与术前比较无统计学差异(P 值均大于 0.05),而 D 组动物体质量比术前明显减轻且有统计学意义($P = 0.001$)。

表 1 各组动物体重变化组间比较

Tab.1 Changes in body weight between groups

项目	A vs. B	A vs. C	A vs. D	B vs. C	B vs. D	C vs. D
P 值	0.100	0.694	0.000	0.055	0.000	0.000

注:ANOVA 分析,LSD 法各组之间两两比较,当 $P<0.05$ 时,差异有统计学意义。

表 2 实验各组动物术前及术后 30 d 体质量情况 ($\bar{x} \pm s$, kg)

Tab.2 Weight of experimental animals in each group before and 30 days after the surgery ($\bar{x} \pm s$, kg)

组别	术前体重	术后体重	t 值	P 值
A 组	2.25 ± 0.16	2.26 ± 0.15	-0.696	0.504
B 组	2.20 ± 0.19	2.19 ± 0.08	0.768	0.465
C 组	2.24 ± 0.15	2.25 ± 0.13	1.897	0.090
D 组	2.35 ± 0.14	2.31 ± 0.13	14.892	0.001

2.2 腹壁包块突出情况及疝环直径测量

观察期间实验 B 组(腹壁缺损 2 cm × 2 cm)中 2 只于术后第 2 天出现腹壁包块,但 15 d 后腹壁包块消失,其余动物腹壁未见明显包块;C 组(腹壁缺损 3 cm × 3 cm)中 6 只可见腹壁包块突出(其中 2 只于术后第 3 天明显,并且逐渐增大,3 只于术后第 15 天可见腹壁包块突出,1 只于术后 17 d 可见腹壁包块突出),如图 5、图 6,包块触诊质地软,手法回纳后疝内容物再次突出,可扪及腹壁缺损,即疝环,并且 30 d 后 6 只动物腹壁包块未消失,其疝环直径平均值为 2.3 cm;D 组(腹壁缺损 4 cm × 4 cm)中 7 只可见腹壁包块突出(其中 4 只于术后第 5 天,2 只于术后第 10 天,1 只于术后第 12 天形成),腹壁包块均不能回纳;其疝环直径平均值为 3.2 cm。两组疝环直径经独立样本 t 检验, $t=-13.590$, $P=0.000$,差异有统计学意义,疝环直径大小与腹壁组织切除面积可能有关系。表 3 为各组动物腹壁包块突出情况及疝环直径大小。

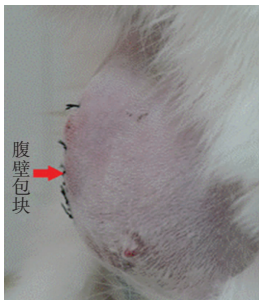


图 5 家兔腹壁包块突出(侧面)

Fig.5 Protruding abdominal mass of rabbits(lateral side)



图 6 家兔腹壁包块突出(正面)

Fig.6 Protruding abdominal mass of rabbits(front side)

表 3 各组动物腹壁包块突出情况及疝环直径

Tab.3 Protruding abdominal mass and Hernia ring diameter in different groups

	A组	B组	C组	D组
腹壁包块突出例数(只)	0(10)	2(10)	6(10)	7(10)
疝环直径大小(cm)	0	0	2.30 ± 0.11	3.20 ± 0.09

注:因 B 组动物腹壁包块不稳定,未测量其疝环直径,C、D 2 组疝环直径大小经独立样本 t 检验, $t=-13.590$, $P=0.000$,差异有统计学意义,疝环直径大小可能与腹壁组织切除面积有关。卡方检验比较 C、D 2 组腹壁包块突出情况, $P=1.000$, Fisher 确切概率法,差异无统计学意义,尚不能认为腹壁包块突出例数与腹壁组织切除大小有关系

2.3 实验动物术后情况观察

在术后 30 d 观察过程中,A 组动物无死亡,B 组动物 1 只死亡(术后第 3 天出现伤口红肿,给予口服庆大霉素后无好转,术后第 5 天死亡),C 组动物 1 只死亡(术后第 2 天进食次数减少且出现腹泻症状,给予口服庆大霉素后并无好转,术后第 10 天死亡),D 组动物 3 只死亡(其中 2 只术后不进食,同时未见排便,术后第 2 天死亡,死后打开腹部可见部分肠管颜色发黑,1 只于术后第 2 天切口感染,给予抗生素后无法控制感染,术后第 5 天死亡)表 4 为各组动物死亡情况及其原因。因 B、C 2 组死亡例数相同,故将 B、C 组与 D 组死亡率相比较,通过卡方检验得出 B、C 2 组与 D 组死亡率无差别。

表 4 各组动物腹壁疝模型死亡例数及其死亡原因

Tab.4 Death cases in each group and the reasons

组别	死亡例数	伤口感染	胃肠道症状	肠梗阻
A组	0(10)	0(10)	0(10)	0(10)
B组	1(10)	1(10)	0(10)	0(10)
C组	1(10)	0(10)	1(10)	0(10)
D组	3(10)	1(10)	0(10)	2(10)

注:卡方检验比较 B、C、D 组死亡率差异, Fisher 确切概率法, $P=0.583$,差异无统计学意义,尚不能认为 3 组动物死亡率有差异

3 讨 论

本研究中,动物腹壁疝建立的主要目的是为后续新型疝修补装置研究提供模型,前期实验过程中通过对实验动物解剖学^[6]及兽医学专业文献的分析研究,家兔腹壁解剖结构与人体大致相似,存在腹内、外斜肌及腹横肌,对于从解剖学上建立动物疝模型是较好的选择。在实验过程中解剖发现家兔也存在腹股沟管这一解剖结构,因其空间较小及未发现组织结构通过,无法满足实验要求。其次,家兔腹壁疝模型较腹股沟疝建立更为简洁,因此选择人为切除家兔全层腹壁组织(包括肌肉和腹膜)观察腹壁有无包块突出,即腹壁疝形成。在腹壁疝建立方法上,有学者在盆底疝建立研究中采取对实验动物禁

水不禁食,造成限水型便秘,使动物腹腔压力增高提高模型成功率^[7],但在本实验中并未得到满意效果,原因可能在于人为造成的便秘对于盆底肌肉影响较大,但对于腹壁无确切效果。另外,在前期实验中,借鉴腹腔镜气腹原理,在家兔腹腔内注入二氧化碳气体增大腹腔压力以期提高模型成功率,但在具体操作过程中气体量不足,无法使腹腔压力增加,对于提高成功率无明显效果,且注入气体量过大动物会出现呼吸困难,心跳加速,后因呼吸衰竭导致动物死亡。即使有个别动物情况较好,在后期观察过程中,气体漏至皮下形成皮下气肿。对于注入动物腹腔内气体量大小无法获得一个临界值,即在增加腹内压力同时保持动物情况良好的注入气体量还需通过相关实验继续摸索。

目前国内外极少文献报道建立疝模型的方法以及与之相契合的判定标准。根据疝形成原因,即腹壁存在薄弱结构及腹腔压力增加两者共同作用导致腹腔脏器通过腹壁薄弱处突出于腹壁。对实验组动物分别切除不同大小的全层腹壁结构,其结果也出现不同大小的腹壁包块。虽然 D 组动物在术后可见明显腹壁包块突出,成功例数较其他实验组多,但其全身情况较差(主要为体质量较术前明显减轻)且死亡比例较其他实验组高,因此腹壁较大的缺损并不能稳定的建立动物腹壁疝模型。反之,B 组动物腹壁缺损较小,动物全身情况较好,死亡例数少,但其包块突出情况不稳定,出现包块自行回纳,可能因缺损较小,肌肉形成皱缩瘢痕填补了腹壁缺损导致成功例数较少。研究中 C 组动物腹壁包块突出情况较为理想且死亡例数低,证明其腹壁缺损大小对于建立稳定腹壁疝模型是一个较为合理的范围。另外,正常人体腹腔压力(intra-abdominal pressure, IAP)接近于零,在腹壁肌肉抗张强度减弱情况下 IAP 增高是疝形成重要因素,在家兔腹壁肌肉抗张强度原本比人体弱的基础上,切除部分腹壁肌肉使抗张强度更弱,常理下增加 IAP,疝形成应更为容易,但在上述实验过程中并未取到良好效果。可能与实验过程中操作方法不当以及动物体位及相关解剖结构不同有相关性。

本文首次提出家兔腹壁疝模型判定标准:①肉眼可见包块突出腹壁,包括突出范围大小,无法回纳,触诊可扪及疝环;②存在完整疝环。两者同时存在才能作为模型成功依据。本研究中 C、D 2 组组动物模型腹壁包块突出稳定,可扪及完整疝环,成功例数较大,但 D 组动物其死亡率较高,所以不能盲目认为缺损越大,模型建立成功的几率就越高。其次

本研究中虽然都对实验组动物肌肉切缘做了相应处理,但 B 组成功例数中未扪及完整疝环,因此疝环的存在是判定模型成功建立与否的重要标准。

目前国内外对于疝的治疗措施都倾向于手术治疗,无论是在开放或腹腔镜下行疝无张力修补术均需在硬膜外麻醉或全麻下进行,一部分老年患者因基础疾病可能无法耐受麻醉而放弃治疗,如何达到真正微创下行疝无张力修补,发展并创新出新的疝修补术式成为临床医师面前巨大的挑战,另外,国内外对于疝修补网片抗张强度和组织相容性的相关研究不胜枚举^[8-10],但均是对其力学性质及其相容性等材料学方面研究,并未在疝模型基础之上研究相关属性,其中根本原因是缺乏对于疝动物模型成功建立方法及其判定标准,本研究中提出的疝模型建立方法及判定标准并不全面,需要在未来研究中继续探索,如 IAP 测定等,并制订一套完整有效的方法和标准。

参 考 文 献

- [1] Jacob DA. Comparison of a lightweight polypropylene mesh (Opti-lene® LP) and a large-pore knitted PTFE mesh (GORE® INFINIT® mesh)—Biocompatibility in a standardized endoscopic extraperitoneal hernia model[J]. *Langenbecks Arch Surg*, 2012, 397(2): 283-289.
- [2] Mandai Y, Naito M, Hayashi T, et al. Impact of endoscopic and histological evaluations of two different types of mesh plug for a groin hernia model[J]. *Surg Today*, 2011, 41(11): 1512-1518.
- [3] Fujino K, Kinoshita M, Saitoh A, et al. Novel technique of overlaying a poly-L-lactic acid nanosheet for adhesion prophylaxis and fixation of intraperitoneal onlay polypropylene mesh in a rabbit model[J]. *Surg Endosc*, 2011, 25(10): 3428-3436.
- [4] 王元占. 实验动物的麻醉[J]. *中国比较医学杂志*, 2004, 14(4): 245-247.
- [5] 周 昆. 动物实验常用麻醉剂的比较与选择[J]. *实验动物学*, 2008, 25(2): 41-43.
- [6] 王太一, 韩子玉. 实验动物解剖图谱[M]. 辽宁: 科学技术出版社, 274-276.
- [7] 杨 硕, 陈 杰. 犬盆底疝动物模型的建立[J]. *中华实验外科杂志*, 2013, 30(1): 163-164.
- [8] 黄 磊, 唐健维, 陈 革, 等. 应用脱细胞生物材料修补腹壁疝 11 例报告[J]. *中国实用外科杂志*, 2008, 28(12): 1065-1066.
- [9] Melman L, Jenkins ED, Hamilton NA, et al. Hamilton, Early biocompatibility of crosslinked and non-crosslinked biologic meshes in a porcine model of ventral hernia repair[J]. *Hernia*, 2011, 15(2): 157-164.
- [10] Silverman RP, Li EN, Holton LH 3rd, et al. Ventral hernia repair using allogenic acellular dermal matrix in a swine model[J]. *Hernia*, 2004, 8(4): 336-342.

(责任编辑: 关蕴良)