



[12] 发 明 专 利 说 明 书

专利号 ZL 99809774.8

[45] 授权公告日 2005 年 10 月 5 日

[11] 授权公告号 CN 1221291C

[22] 申请日 1999.6.18 [21] 申请号 99809774.8

[30] 优先权

[32] 1998.6.18 [33] AU [31] PP4214

[86] 国际申请 PCT/AU1999/000495 1999.6.18

[87] 国际公布 WO1999/065536 英 1999.12.23

[85] 进入国家阶段日期 2001.2.16

[71] 专利权人 澳大利亚微研究基金会

地址 澳大利亚新南威尔士

共同专利权人 麦夸里研究有限公司

[72] 发明人 E·R·欧文 P·麦兹

R·I·特里科特 J·M·戴维斯

J·A·皮博 P·戴克

审查员 刘桂英

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 李华英

权利要求书 2 页 说明书 27 页 附图 12 页

[54] 发明名称 用于组织修复的组合物及其应用

[57] 摘要

本发明涉及一种用于接合组织的基本上是固体的生物分子连接物，它包括部分变性生物分子(例如蛋白质或多肽)。该连接物可以形成合适的形状例如管型。本发明还涉及用于接合组织的方法和用于制备所述连接物的方法。

1. 一种用于修复人或动物组织或器官的生物分子连接物，它包括在制备该连接物的过程中至少部分变性的蛋白质，所述的蛋白质是那些可以交联成基质且可以身体重吸收的蛋白质，所述的变性改变所述连接物的机械特性，使得在湿润时它表现出与修复过程中的组织类似的机械特性，所述蛋白质同时是湿润的，以使得蛋白质结合在一起，并且该连接物在体温下在生理液体中的溶解度降低。

2. 权利要求 1 的连接物，其中该连接物在变性之前成形。

3. 权利要求 1 的连接物，其中该连接物在变性之后成形。

4. 根据权利要求 1 所述的连接物，其中所述的蛋白质选自清蛋白、弹性蛋白、血纤蛋白原、胶原蛋白或其混合物，其中该混合物包含具有相似变性温度的蛋白质。

5. 一种根据权利要求 4 所述的连接物，它进一步包括用于在所述连接物与能量接触时改善能量蓄积入所述连接物中的染料，所述染料选自靛蓝花青绿、亚甲蓝和异硫氰酸荧光素。

6. 一种根据权利要求 4 所述的连接物，它进一步包括用于促进组织快速或更完全愈合的辅剂，所述辅剂选自生长因子、透明质酸钠、激素和抗凝剂。

7. 一种根据权利要求 4 所述的连接物，它进一步包括用于改善所述连接物强度的物质，其选自聚四氟乙烯纤维或陶瓷纤维。

8. 一种包括上述权利要求任意一项所述连接物的试剂盒。

9. 制备权利要求 1 的连接物的方法，该方法包括下列步骤：

(a) 将浓度范围为 40%-80%w/w 的蛋白质与含水溶剂组合形成蛋白糊，所述的含水溶剂包括水和盐水，条件是在变性时现存的任何盐等不会对连接物产生不良影响；

(b) 挤压、压制或切割该蛋白糊成所期望的形状；

(c) 使该蛋白糊脱水，和

(d) 通过将该连接物浸入 80℃-90℃温度的热水中大约 30

秒的时间或用 100℃-150℃温度的蒸汽处理该连接物大约 10 分钟的时间而使步骤 (c) 的蛋白糊至少部分变性, 同时连接物是湿润的, 以使得蛋白质结合在一起, 并且连接物的预定形状由此得以基本维持, 并且连接物在体温下在生理液体中的溶解度降低。

10. 制备权利要求 1 的连接物的方法, 该方法包括下列步骤:

(a) 将浓度为 40%-80%w/w 的蛋白质与含水溶剂组合形成蛋白糊, 所述的含水溶剂包括水和盐水, 条件是在变性时现存的任何盐等不会对连接物产生不良影响;

(b) 通过将该连接物浸入 80℃-90℃温度的热水中约 30 秒的时间或用 100℃-150℃温度的蒸汽处理该连接物大约 10 分钟的时间使蛋白质至少部分变性, 同时连接物是湿润的, 以使得蛋白质结合在一起, 并且该连接物在体温下在生理液体中的溶解度降低;

(c) 挤压、压制或切割连接物成所期望的形状。

11. 一种根据权利要求 9 或 10 所述的方法, 其中在步骤 (a) 中将用于改善能量蓄积入所述连接物的染料加入到连接物中, 浓度为 0.25%w/w-2.5%w/w, 所述染料选自靛蓝花青绿、亚甲蓝或异硫氰酸荧光素。

12. 一种根据权利要求 11 所述的方法, 其中在将所述溶剂与所述蛋白质混合前使所述染料与所述含水溶剂混合。

13. 一种根据权利要求 9 或 10 所述的方法, 其中在使所述蛋白质发生变性前将所述连接物施用于网状物、刚性体或移植材料。

14. 一种根据权利要求 9 或 10 所述的方法, 该方法进一步包括在蛋白质变性之后将所述连接物灭菌的步骤。

15. 一种根据权利要求 9 或 10 所述的方法, 该方法进一步包括在蛋白质变性之后将所述连接物干燥的步骤。

16. 权利要求 1-7 中任一项的连接物在制备用于修复人或动物组织或器官的产品中的用途。

17. 权利要求 15 的用途, 其中在施用于待修复的组织部位之前使所述连接物湿润。

用于组织修复的组合物及其应用

技术领域

本发明涉及用于接合活体管状组织、器官及其覆盖物、皮肤和附属物以及身体的各种内部和外周神经、脊髓及其分枝的方法，本发明还涉及用于这些方法的连接物和用于制备该连接物的方法。

背景技术

在修复合体组织的过程中，通常用缝合线和手术钳来封闭缺损、组织接合面或将身体的管状部分连接在一起（吻合术）。

该方法包括下列步骤：在身体内放置材料，它对所涉及组织产生某些损害，但保持了那些组织的接合，同时身体自身的愈合过程将要达到更为永久性的接合。各种接合材料产生的损害是不同的、但是，甚至在吻合术过程中在最小体管中谨慎放置显微缝合线这一过程也可在原位遗留的每一缝合线周围产生纤维组织反应。

然而，所进行的接合耗时且通过在管形接合中放置各缝合线所进行的那些连接最为耗时。在环形缝合区内进行缝合以便在身体内部实现这类接合的过程要求切口较大以便为实现操作所需装置和仪器所进行的充分自由的手术所需的入口。显微缝合需要相当高的熟练技术。

动脉和其它管

流体和悬浮在其中的物质可以流过身体开放的管。动脉携带血从心脏到达身体的其它器官和组织。它们具有3层：内部特殊粘膜（称作内膜）；含有胶原蛋白和弹性蛋白连接蛋白的较厚的中间肌肉和结构层（血管中层）；和具有均可提供动脉功能的纤维组织、血管和神经的支架的外层（外膜）。动脉的内部容积是腔。

对于在高压下起输送血液作用的诸如动脉这样的管来说，要求它们较为牢固。实际上当血团流过时它们通过扩张和松弛（舒张期和收

缩期)而起输送血压波的作用。接合这类活性管需要考虑促进血流这样的生理活性和在接合后使所述活性持续下去的吻合术方法的设计。

动脉损伤对动物或人均有潜在的严重性,此时流经动脉的血液处于高压状态并且可以出现快速失血。如果内膜损伤,那么中间的结构层即血管中层与血液接触。这将引发一种起封闭伤口作用并通过在伤口上形成血块而防止进一步出血的重要修复机制,这是由血液与血管中层中暴露的胶原蛋白接触所导致的。

尽管显微缝合是对切断的动脉的标准临床修复技术,但是它存在几个缺陷。要求较高的熟练技术水平来进行6-12次单独的缝合以便修复动脉。因异物反应缝合物留在体内起形成纤维组织的部位的作用;且甚至在认为已经愈合后这种纤维组织仍是动脉中的薄弱点。尽管缝合不会产生液密性封闭,但是外科医师通常在修复完成后依赖于由上述机制引发的血液凝块来迅速封闭血管。

已经研究了大量激光辅助的连接技术以便找到一种更为方便不会导致如此多的疤痕形成的技术。为了达到成功的结果,这些技术几乎始终需要支撑缝合物(用于在激光处理前接合血管的缝合物,随后可以将其除去或可以不除去)。在这种情况下,将两个血管的末端彼此连接起来以便使插入支撑缝合物且然后在接合处使用激光加热组织,使得在该部位的蛋白质发生凝固且彼此结合。已经使用了诸如红外掺钕的YAG和二氧化碳激光这样的激光,这是因为这些技术可产生被组织中的水强吸收的波长。另一方面,可以将染料溶液施用于组织以便提高在合适激光波长处的光吸收。总之,关键是2端的内层要处于连续状态,从而避免阻滞或凝块并促进所修复血管中的平滑层的流动。这在厚壁血管中实现是困难的,其中激光能量不能通过血管的所有3层被吸收而形成与平滑内层的强有力结合。

已经将某些蛋白质胶粘物用于修复血管,诸如纤维蛋白(它可引发血液凝块反应而影响组织的接合)。这类胶粘物可能存在的缺陷可能与血管内的血液凝块有关,可以部分或完全阻止它发生。

还使用了激光活化的流体清蛋白连接物,而这种连接物需要支撑

缝合物来达到对携带高压血液的动脉的充分修复强度。流体胶粘物和连接物倾向于在组织末端之间运动，从而有阻滞内腔的危险；且难以在组织修复时准确控制和定位。为了达到封闭的目的，已经将它们施用在接合处周围，然后沿周边接合。随后，这些接合处随后表现出可产生血管或管狭窄或阻滞的较厚疤痕。

由于胶粘物或流体连接物的稠度中的差异、用于施用这类胶粘物或流体连接物的涂药器装置类型的变化和需要形成接合的压力的原因，所以在这类技术中还缺乏精确性。

目前流体连接物的主要缺点在于当它们进入湿环境时它们可快速变质且可改变组成。

类似地，现存的固体连接物在进入潮湿的动脉时必须保持干燥以便防止它们吸收水分，从而削弱它们的内部结合力并使其失去强度，不过，这比流体连接物发生得更为缓慢。

其它体管的修复在原理上类似。由于每种管的结构对其功能及其内容物的性质来说是特定的，所以必须谨慎选择修复管的方法，使得它不会干扰管的功能且特别是不会干扰对管内腔的保持。

外周神经

控制身体器官并将信息前后传输至中枢神经系统（CNS）的电信号沿外周神经传递。

外周神经具有由诸如胶原蛋白这样的结缔组织组成的外膜。该膜（神经外膜）可保护并支撑独立的神经束或混合的神经束。这些束彼此组合传送给身体的特定区域的神经轴突并被神经外膜包裹。每个轴突均被束内的神经膜细胞支撑。神经的代谢得到了来自神经外部和内部的血管系统的维持。

当外周神经被切断时，远离伤口的所有轴突（远离脊柱）改变了其特性。甚至当将神经重新连接时，这些轴突仍然在远侧持续变性。通常在隔离时使其自身围绕轴突进行覆盖的神经膜细胞引导轴突再生。经排列相应的束而尽可能准确地接合神经这一过程能够使封闭轴

突更有效地再生。

外周神经可以具有约 1cm - 约 50 微米的直径范围。

通过使用放大法和特殊的显微外科仪器来帮助进行对神经和其它小尺寸组织的手术。精确的神经修复需要在束状水平上实现，从而确保再生沿通向那些轴突传送给的原始区域的正确束发生。

当前的外周神经修复技术应用显微缝合术。如果使用三种或多种显微缝合物（使用称作 70 微米直径的针和 30 微米的线）对许多束中的仅一束进行显微缝合这一过程需要进行长时间手术，那么这种技术需要受过专门训练的外科医师来操作。因缝合物穿透了薄神经周鞘而存在对内轴突损害的可能。缝合物的应用因异物反应而导致出现修复疤痕。过多的疤痕会影响神经功能并可能与神经瘤有关。很明显，从长远观点看疤痕组织形成和疤痕成熟可以影响接合的神经。

在将激光单独用于实现神经接合方面已经进行了工作。为了开始这一过程，一般使用诸如二氧化碳激光这样的依赖于水吸收的能量转移的红外激光来进行连接。连接前的组织制备依赖于使神经膜重叠。激光连接的难题之一的事实在于完整轴突组织处于神经束内的压力下，使得当它被切断时，轴突突出。激光处理由此可以导致产生疤痕和纤维组织增生的轴突物质变性。

还尝试使用了激光活化的蛋白质连接物，正如对上述动脉和血管所述。此外，由于难以控制流体连接物且在潮湿环境中产生的结合减弱，所以如不添加支撑缝合物这些修复通常过于脆弱。这使得外科手术技术复杂化并导致另外的疤痕和异物反应。

使用激光连接形成如现有技术中所述的结合一般缺乏强度且由此除了用于强化这些接合的连接以外已经使用了显微缝合。

在 W096/22054 中教导了对这些难题中的至少某些问题的解决方法。本发明涉及另一种解决方法。

发明描述

在本发明的第一个方面中，提供了一种生物分子连接物，它包括

已经以高浓度与含水溶剂混合的至少一种生物分子的至少一种基本上是固体的组合物，将该组合物进行处理以便使所述连接物中的所述生物分子成分至少部分发生变性并使所述的连接物至少部分干燥。

所述的生物分子一般是蛋白质，而预计可以将其它天然出现的生物分子用作可选择物。此外，可以使用生物的、可生物降解的多肽类的类似物。用于本发明连接物中的生物的、可生物降解的多肽类的类似物包括合成多肽类和其它能够形成本发明连接物而不会在进行组织修复过程中产生不良反应的其它分子。

如果所述的生物分子是蛋白质，那么该蛋白质可以是任意的蛋白质或蛋白质的混合物，不过，优选该蛋白质在相关宿主中是可生物降解的。合适的蛋白质的实例包括清蛋白、胶原蛋白、血纤蛋白原和弹性蛋白。合适的蛋白质一般是那些可以交联成基质且可以被身体重吸收的蛋白质。如果使用蛋白质的混合物，那么预计那些混合物属于具有类似变性温度的蛋白质。一个实例是清蛋白和胶原蛋白的混合物。所关注的是包括牛、马、人、大鼠、羊和家兔清蛋白在内的不同清蛋白的用途。可以对特殊清蛋白进行选择以便减少患者体内对连接物的免疫反应。预计存在这样一种情况，其中可以对所用的清蛋白进行选择以便与患者血型相匹配且甚至更具体地说是与上述患者的组织相容性标记相匹配。

溶剂一般是水，不过可以使用包括盐水在内的其它含水溶剂，条件是在变性时现存的任何盐等不会对连接物产生不良影响。

可以由蛋白质糊状物制成所述的连接物，所述的蛋白质糊状物由在一般是水的含水溶剂中高度浓缩的蛋白质制成。高度浓缩的蛋白质包括浓度范围在 40 - 80 % w/w 的蛋白质浓度。优选的蛋白质浓度在 45 - 75 % w/w 的范围。更具体地说，所述蛋白质的浓度在 50 - 60 % w/w 的范围。对于牛血清清蛋白、或大鼠或家兔或羊或人清蛋白来说，特别优选的范围在 50 - 60 %。起始浓度的蛋白质中失去了水（或含水溶剂），因为它干燥了或在加工过程中被干燥。所制备的连接物几乎可以不含或完全不含溶剂。

优选将吸光物质诸如染料混入连接物以便改善能量在连接物中的蓄积。合适染料的实例是优选以 0.1 - 2.5 % w/w 范围的浓度混入的靛蓝花青绿。其它的合适染料包括亚甲蓝和异硫氰酸荧光素。可以理解的是将吸光物质选择成与用于形成涉及使用所述连接物的组织修复的能源相适合。通过在向所述溶剂中添加生物分子之前添加到溶剂中并将其溶解可以混入所述的吸光物质。

在一个实施方案中，由下列组分组成的组合物来制备所述的连接物：

55 - 75 % w/w 清蛋白；

45 - 25 % w/w 水；

0.25 % w/w 靛蓝花青绿。

所述的清蛋白可以是牛、家兔、人、羊或大鼠的清蛋白。

所述生物分子的至少部分变性基本上降低了所述连接物的溶解度。一般来说，使所述连接物中的生物分子变性至可确保该连接物在体内具有形成修复物（该连接物用于修复物）的足够寿命的充分程度。变性可有利地改变所述连接物的机械特性，使得在湿润时它表现出与修复过程中的组织的类似的机械特性。通过加热、光照、辐射、超声或化学方式可以达到变性的目的。加热变性一般在水环境诸如在蒸汽或加压蒸汽的水浴中进行。不希望受到理论的限制，本发明者认为水环境使得至少部分发生变性而不会溶解并且维持所述生物分子完整性中所涉及的“结构”水。在使所述连接物成形之前、过程中或之后可以实现变性。

可以将所述连接物制备成各种形状。更具体地说，本发明的连接物适合于挤压成管型，即一种不能使用现有技术的连接物轻易获得的形式。还可以将其挤压成具有弯曲截面的部分管（partial tubes），所述的弯曲截面上带有可宽可窄的延伸的开放通道。可以制备具有平滑表面或至少轻度粗糙的表面的连接物。粗糙有助于促进组织与连接物之间的接触。粗糙可以使外观在宏观水平上看起来是平滑的，而在微观水平上看起来是粗糙的。管型和部分管型一般具有圆形或卵圆形轮

廓而包括正方形、锯齿形和其它几何形式在内的其它轮廓也是所关注的。本发明的管型连接物可以是锥形或具有均匀截面。本发明的管型连接物充分适用于神经修复应用且特别适用于水分含量不适于现有技术连接物的血管应用。可以根据特殊应用的需要将所述连接物制备成其它形状，包括条形、补片、固体柱形和具有至少一种突缘形端部的空心管。

可以向所述连接物中加入各种辅剂以便促进组织的快速愈合或更完全的愈合，所述的辅剂例如血纤蛋白原（用于血管）、生长因子、透明质酸钠（用于改善的粘性处理和可能更好的愈合）、激素类和/或诸如肝素这样的抗凝剂。

可以向所述连接物中加入各种纤维物质以便改善该连接物的强度（例如胶原蛋白或聚四氟乙烯纤维（它以 goretex 和 teflon 的商品名销售）或陶瓷纤维）。所述的纤维一般是生物适合性聚合物。可以通过化学方式（诸如用酸或氢氧化物）或通过加热可以用连接物内的纤维物质使其发生变性且所述的变性可以包括使蛋白质与纤维的结合。

所述的连接物并不需要自始至终组成均匀。在某些应用中，需要一份或多份连接物中包括一种或多种辅剂而其它份则不需要。类似地，可以在一些份中混入纤维而其它份则不需要，或者在不同份数中混入不同纤维。此外，可以在一定份数的连接物中混入一份或多份吸光物质而其它份则不需要或可以在一份或多份连接物中混入不同浓度的吸光物质。认识到这类改变可以对使用诸如管型这样的各种成形的连接物形式特别有用。更进一步说，可以将连接物的不同部分变性至不同的程度且可以使连接物的不同部分具备不同的表面网纹，诸如一部分平滑而另一部分至少轻度粗糙。

所述的连接物可以用于网状物、刚性体或由例如金属、合成纤维或塑料制成的移植材料。这种连接物由于其柔曲性而可以被包埋在网状物的空间内或可以将它用作所有或部分网状物、刚性体或移植材料的覆盖物。在一个实施方案中，仅将它用于移植材料、网状物或刚性体的端部以便实现移植物、网状物或刚性体与合适组织的接合。

这类物质的形成可包括用连接物共挤出或包敷生物惰性多孔结构（诸如 goretex 管或形状）的步骤。在这种实施方案中如果使用包敷的步骤，那么最初可以将所述连接物制成流体形式，即生物分子的浓度基本上较低。施用所述流体溶液，使之干燥并可重新施用它在至少部分变性前使之干燥。干燥过程可减少溶剂的含量，使得最终的连接物稠度与通过由如上所述高浓度溶液制成连接物而获得的稠度相同。

本发明的连接物可以由外科医师引入到相关组织中并使用手术钳将其放置在正确的部位。如果需要，可以将所述的连接物在手术过程中切成所需的大小或形状。

所述连接物中的至少部分变性的生物分子具有强内在结合力并且基本上不受吸水的影响。发生的任何吸水过程起提高所述连接物的柔韧性的作用而不是导致其溶解或破裂。

可以以一种合适的湿润形式将所述连接物引入相关组织中。在这种形式中，所述连接物是柔性的并且在用外科手术仪器切割、挤压或处理时不会折断。

在变性后和应用前通过例如 γ 射线照射、例如以 2000 拉德/分钟照射 50 分钟可以将所述连接物灭菌。其它合适的灭菌方式包括压热器灭菌、蒸汽处理和加热处理。

经连接物激活组织结合的过程通过加热来引发。该过程可以按照各种方式实现，而激光活化是最常用的。因为已经使生物分子至少发生部分变性，所以至少基本上可防止溶解，从而获得完成更复杂操作的时间。使用这种连接物能够通过激光激活经重叠组织的结合，即将该连接物施用在所接合的组织之下、之上或之下和之上。

在第二个方面中，本发明提供了连接物管、部分管和由本发明第一个方面的连接物制成的形状的试剂盒。该试剂盒可以包括管型、部分管型和/或适于不同外科手术应用的不同大小的形状。不同大小的管可以包括不同的腔大小、壁厚和长度。预计通常可以将管切成适于在手术过程中达到修复目的的长度，由此将需要调整的不同长度的数量

减小到最低限度。该试剂盒可以包括管、部分管或由用不同生物分子构成的连接物制成的形状，所述的连接物包括那些反映出需要与进行修复的动物或人患者体内的组织适合性标记相适应的生物分子构成的连接物。另外的管、部分管或形状可以不同的形式提供，包括一系列不同的辅剂、吸光物质和/或纤维以及贯穿于管、部分管或形状中的不同连接物组成。

在第三个方面中，本发明提供了一种制备第一个方面的连接物的方法，该方法包括下列步骤：在含水溶剂中形成一种或多种生物分子的高浓度溶液、使所述的生物分子至少部分发生变性并干燥该连接物。

一般来说，该方法包括将固体连接物制成优选是空心管的形状。其它合适的形状包括部分管、条形、补片、带有一突缘形端部的空心管或适合于所修复组织的固体柱形。

为了形成空心管，通过使用高压挤压法和由不锈钢或其它合适生物惰性物质生产的饮食设备将所述的连接物挤压成空心管，它可以具有非常平滑的表面以有可能挤压出平滑连接物的形状。

也可以通过注模法制备成形的连接物。另一方面，可以制备具有至少轻度粗糙表面的挤压的连接物以便促进所述连接物与所施用组织之间的接触。在这种形式中，所述的连接物可以具有微观上粗糙而宏观上看起来平滑的表面。管的尺寸可以在 0.2mm - 6cm 直径的范围，可变的壁厚可以低到 50 μ m，这取决于管的直径和所述连接物的强度。可以理解的是：对于兽医应用来说，可以包括很大的动物和很小的动物，甚至需要较大的管大小差异以适合于需要修复的各种生理性管的要求。本发明的连接物适合于精确生产所需尺寸的管。

在一个实施方案中，用于形成管型连接物的方法包括下列步骤：在含水溶剂中形成至少一种生物分子的高浓度溶液；挤压该溶液而不必使之干燥；使所挤压出的物质干燥；使所挤压的物质至少部分发生变性；使至少部分变性的挤压的物质干燥；使该物质湿润；将该物质切成一定长度；最终干燥该物质并将该物质灭菌。

起始浓度的生物分子在干燥或在加工过程中被干燥时，它会失去

含水溶剂。在所制备的连接物中，几乎可以不含或完全不含溶剂。

该方法可以包括下列步骤：将吸光物质诸如一种染料混入所述连接物以便改善光能在该连接物中的蓄积，其中所选择的吸光物质对于用于形成涉及使用所述连接物的组织修复物的能源来说是合适的。如果要混合吸光物质，那么可以通过将吸光物质混入溶剂且然后将该溶液添加到混合用生物分子中来实现这一目的。

可以将靛蓝花青绿（例如，如果将连接物放置在所接合组织之上，那么制成 0.25mg/ml 的浓度；而如果将连接物放置在所接合组织之下，那么制成 2.5mg/ml 的浓度）混入清蛋白的蛋白质糊状物（在混合时的近似浓度为 60% 重量/重量），然后优选使其通过将所述蛋白质连接物在升温条件下（优选约 85℃）浸入水浴经合适的时间期限（优选 30 秒）或将所述蛋白质连接物浸入使用超过 100℃ 温度的蒸汽中而发生变性。

一般来说，使所述连接物中的生物分子变性至可确保该连接物在体内具有形成修复物（该连接物用于形成所述修复物）的足够寿命的充分程度。通过诸如加热（直接或间接）、光照、辐射、超声这样的物理方式或化学方式可以达到变性的目的。变性一般在水环境诸如在蒸汽或加压蒸汽的水浴中进行。如果所述的生物分子是蛋白质，那么可以通过将蛋白质糊状物在超过 40℃ 的温度（对于牛血清清蛋白（BSA）来说优选 85℃）下浸入热的液体（优选水）合适的时间（对于 BSA 来说优选 30 秒）或将其浸入使用超过 100℃ 的蒸汽中合适的时间期限来实现这一目的。对于人或家兔血清清蛋白来说，优选通过例如在 100℃ - 150℃ 下的温度下高压灭菌来进行蒸汽处理，更优选 110℃ - 130℃ 的温度范围。合适的温度实例大约是 120℃。蒸汽处理一般进行约 10 分钟。在连接物成形之前、过程中或之后均可以实现变性。

该方法可以包括向所述连接物中添加各种辅剂的步骤，所述的辅剂例如血纤蛋白原（用于血管）、生长因子、透明质酸钠（用于改善的粘性处理和更好的愈合）、激素类和/或诸如肝素这样的抗凝剂。

该方法还可以包括向所述连接物中加入各种纤维物质的步骤以便

改善该连接物的强度（例如胶原蛋白或聚四氟乙烯纤维或陶瓷纤维）。所述的纤维一般是生物适合性聚合物。可以通过化学方式（诸如用酸或氢氧化物）或通过加热可以用连接物内的纤维物质使其发生变性且所述的变性可以包括使生物分子与纤维结合。

可以改变该方法来生产自始至终并不具有均匀组成的连接物。例如，在某些应用中，需要在一份或多份连接物中包括一种或多种辅剂而其它份则不需要。类似地，可以在一些份中混入纤维而其它份则不需要，或者在不同份数中混入不同纤维。此外，可以在一定份数的连接物中混入一种或多种吸光物质而其它份则不需要或可以在一份或多份连接物中混入不同浓度的吸光物质。在所述的连接物中可含有梯度浓度或曲线浓度的吸光物质以控制该连接物内热量的蓄积和避免过度热组织损害。在制备所述连接物的过程中或在形成管型连接物后通过对染料溶液上色可以生成上述梯度。更进一步说，可以将连接物不同的部分变性至不同的程度。再进一步说，可以将连接物制备成具有至少部分粗糙的部分表面和平滑的部分表面。

该方法还可以包括在变性后和应用前灭菌连接物的步骤。合适的灭菌方法包括例如以 2000 拉德/分钟照射 50 分钟的 γ 射线照射法、高压灭菌法、加热处理法和气体灭菌法。

所述连接物的最终变性在组织的原位发生，该过程通过应用激光或其它能源来实现，其中由所述连接物和/或组织吸收能量。

在第四个方面中，本发明提供了一种修复生物组织的方法，该方法包括应用第一个方面中的连接物实现修复的步骤。

可以将该方法用于在动物以及人患者体内实现修复。

一般来说，该方法包括使用所述连接物、应用诸如激光这样的能源实现组织接合的步骤。如果能源是激光，那么所选择的激光具有适于任何所用吸光物质的波长以便使所述能量集中在修复部位。所选择的激光还应适合于所修复的组织，即该组织很难吸收由这种激光产生的能量。对于血管来说，将二极管激光与靛蓝花青绿结合使用是合适的。所提供的能量应足以使连接物与下层组织或上层组织结合，而将

对下层组织的损害降到最低限度。所用的能量可以根据不同的组织而改变且可以使它与实现结合所需的能量输出量相匹配。

实现每种结合的处理时间可以根据诸如环境条件、高度、湿度和所接合组织的性质以及所接合组织的水分含量这类因素而改变。

在一个实施方案中，本发明提供了一种接合体管的方法，该方法将应用第一个方面中的管型连接物和激光融合装置结合使用。可以将所述的管型连接物（取决于所修复的生理性管）用于配合管两切割端的内部或外部或内部和外部。可以直接或通过活体管对连接物进行激光处理以改变其特性，从而使之粘合。

该连接物管可以混合吸光物质以便吸收用于形成接合物的激光束波长。

结合可以包括使连接物管周边的至少一边附着在体管柱面的内部或外部。可以通过下列步骤来完成体管的接合：在连接物管内放置体管的两端并经该连接物施用能量而使连接物与下层组织结合；或将体管的两端置于所述连接物管上（附图 10）并经上层组织对连接物施用能量；或将体管的一端置于所述连接物管内而将一端置于该连接物管上并施用能量以便实现结合。如果需要修复的管包括一需要替换的损伤断面，可以将带有至少在端部施用的连接物的移植物在每一端与切断管的自由端接合（附图 9）。

如果组织修复是就神经组织或其它组织的管而言，其中需要防止管的内含物受到损害，那么特别重要的是不应使连接集中在所接合的边缘，因为这会损伤挤压的组织。相反，连接对于断裂处的边缘来说应是横向的。

可以将本发明的连接物以管形与合适的神经元生长启动子一起使用，从而对神经的再生提供指导。在这种应用中，将切断的神经端插入管的端部并在适当位置上连接。

本发明的连接物还可以以带封闭端的管形用于切断的神经末端，该封闭端作为神经末端的帽，以便辅助有不适感的患者，这种情况可能极其严重，例如，其中在残肢切除术中，不能对切断的神经进行重

新接合。

如果所修复的组织是一种特别宽的空心体管，那么修复可以包括在修复过程中在管的内部插入薄壁空心柱体的可生物降解的连接物，使得柱体跨越管的切断部分。

端与端相接的修复还可以通过下列步骤来进行：通过管拉出修复部位的一端并在管上部折起组织套箍且然后在该套箍上套上另一端并实现在适当位置上固定管和端部的接合。可以理解在这种特殊方法中，有必要对能源进行选择以便实现通过上层组织传导的连接。

本发明的管的修复可以包括端与侧面相接以及端与端相接的管型修复。

端与侧面相接的修复可以通过给管中的一端上提供一种适合于端部插入的所述管的侧面上的 x 形切口的突缘的步骤来进行。连接物管的自由管型端与插入 x 形切口的管端相连。围绕所述连接物管的周边连接 x 形切口的侧面从而封闭插入部位。可以以不同的角度进行端与侧面的接合且由此可以按照为形成接合的适宜角度保持管的突出部分。

本发明的修复方法可以用于接合不同的活体管型组织，包括：动脉、静脉、淋巴管、微管；任意的体管诸如其导管-胰、肝、胆囊、泪腺、前列腺的导管、以及输尿管、尿道、附睾、脉管、面神经管、肠、支气管和其它胃肠和呼吸和身体和大脑的导管和管形物。

还可以通过使用至少一种本发明的进行修复用的适当成形的连接物而将本发明的修复方法用于修复器官及其覆盖物诸如肝、脾、肾、子宫、睾丸、膀胱、胆囊、correal、大脑和其它囊状物；覆盖物和皮肤和附属物；以及身体的各种内部和外周神经、脊髓及其分支。

本发明提供了一种激光-连接-融合的新型系统，其中需要或不需控制激光手术，我们证明它适合于彼此接合以便在啮齿动物体内的切断的活体管中产生常用的功能，所述的管即动脉、静脉、神经和输送管和肠。这些切断的管型结构不仅被接合且随后不渗漏，而且它们在接合后立即起作用，这些接合至少最终是牢固的且当能够使用合适的

缝合物时可以长久延续，它们能够在格外短的时间接合，另外，进行这种接合不会遇到由其它方法引起的损伤。该系统目前可以通过仪器来应用且今后可以为了进行显微侵入疗法而对其进行发展。

附图的简要说明

附图 1 表示 2mm 长和 1.1mm 内径和 1.3mm 外径的本发明固体蛋白质柱。

附图 2 表示本发明第四个方面操作技术的图解：(A) 将连接物压在近管端上并将管壁拉回。(B) 在连接物远端部分上使用激光能量。(C) 将管远端缓慢套在完整长度的连接物上。(D) 在连接物近端施用激光能量。

附图 3 表示在夹钳刚松开后 (A) 和 6 周后 (B) 进行的激光连接显微吻合术的外观。

附图 4 表示作为手术后时间函数的大鼠主动脉缝合物和激光吻合连接物的抗张强度的图解代表。(时间是对数级)

附图 5 表示激光照射后立即在纵面上进行的激光连接的吻合术。(马森三色染剂 (Masson's trichrome), (A) 箭头表示血流方向, 5x 放大倍数; 和 (B) 50x 放大倍数)

附图 6 表示 6 周后管壁中遗留的连接物。注意内膜和中层的正常外观。注意在连接物表面上存在吞噬细胞。(甲苯胺蓝, 放大倍数 20 x)

附图 7 表示重新灌注后 10 分钟进行激光连接吻合术的腔的扫描电子显微图 (纵面)。(放大倍数 x 100)。

附图 8 是使用套接技术形成的血管的吻合术的截面示意图。

附图 9 表示内部的移植物和使用本发明第四个方面的套接技术在所述移植物两端上形成的截面示意图。

附图 10 表示通过在体管内部放置本发明的连接物管而形成的接合的图解形式。可以在外部使用连接物条以便强化吻合。

实施本发明的最佳方法

1. 连接物的制备

原料组成:

蛋白质	55 - 75 % (w/w)
水	45 - 25 % (w/w)
染料	0.25 % (w/w)

蛋白质是牛、家兔、人、羊或大鼠的清蛋白。牛血清清蛋白的合适浓度包括约 55% 且人和家兔清蛋白的合适浓度包括约 57%。靛蓝花青绿是合适的染料。清蛋白可以获自 Sigma-Aldrich Corporation。合适的清蛋白制备物包括:

牛清蛋白	A 2153 V 级粉 (最低 96 %);
人清蛋白	A1653 V 级粉 (96-99% 清蛋白);
家兔清蛋白	A 0639 V 级粉;
羊清蛋白	A3264 V 级粉;
马清蛋白	A9888 V 级粉。
- 羊清蛋白	

靛蓝花青绿可以获自 Becton Dickinson Microbiology Systems, Maryland 21030 USA。

人和家兔清蛋白的特殊配方如下:

原料组成:

清蛋白	57.3 % (w/w)
水	42.45 % (w/w)
ICG 染料	0.25 % (w/w)

制备:

1. 将成分 (准确测定) 混合成糊状形式以便获得用于挤压或压制

的最佳稠度。例如，首先通过涡旋来混合水和染料以便形成一致的染料溶液，然后将该溶液加入到蛋白质中，随后混合成糊状物。混合步骤可以通过物理或机械方式进行且对于小批量来说（<2g 总质量）使用涡旋混合器来进行以便获得一致浓度。在该阶段不使连接物干燥，否则会导致所述连接物易碎且由此不适于挤压或压制。

2. 可以在该阶段挤压所述的糊状物，且如下所述可以通过延迟最终的成形获得优良的产物。

3. 然后使挤压的糊状物脱水，由此增加蛋白质的浓度并使所述连接物取得更为坚固的形式。

4. 在 80 - 90℃ 下（例如对于牛清蛋白来说是 85℃）将刚性连接物浸入热水中约 1 分钟以使蛋白质发生变性。如果用人或家兔清蛋白来制备该连接物，那么使用蒸汽在约 120℃ 下将相关的处理进行 10 分钟（预计温度可以低至 100℃ 或高达 150℃）。这种变性处理导致所述连接物在其自身内发生结合且该连接物几乎不溶于水。

5. 在该阶段连接物具有弹性且可以将其进一步方便地切成所需的形状而不会引起压力或折断。所需的形状包括片形、管形、部分管形和柱形。如果在步骤 4 前切成一定形状，只要它过于干燥，那么该连接物就可以通过存在的结晶结构断裂；否则，如果它过于湿润，那么它可以变形。

6. 优选将该连接物在这一阶段脱水并用 γ 射线照射或高压灭菌并保存在干燥、无菌和避光的容器中。

已经成功地使用上述人或家兔血清清蛋白配方的特定方案是：

1. 混合蛋白质制备物；
2. 挤压该制备物；
3. 使该制备物干燥；
4. 在 120℃ 下将该制备物进行高压灭菌 10 分钟。

2. 修复方法

已经实现了下列修复：

大鼠主动脉:	1.3mm 直径
所用的柱体:	1.4mm 内径
	1.7mm 外径
	2mm 长

家兔股骨

主动脉:	2mm 直径
所用的柱体:	1.6mm 内径
	2.1mm 外径
	2mm 长

接合管的过程可以包括使连接物管周边的至少一边附着在体管柱面的内部或外部的步骤。可以通过下列步骤来完成体管的接合：在连接物管内放置体管的两端并经该连接物施用能量而使连接物与下层组织结合；或将体管的两端置于所述连接物管上并经上层组织对连接物施用能量；或将体管的一端置于所述连接物管内而将一端置于该连接物管上并施用能量以便实现结合。如果需要修复的管包括一需要替换的损伤断面，可以将带有至少在端部施用的连接物的移植物在每一端与切断管的自由端接合。

如果组织修复是就神经组织或其它组织的管而言，其中需要防止管的内含物受到损害，那么特别重要的是不应使连接集中在所接合的边缘，因为这会损伤挤压的组织。相反，连接对于断裂处的边缘来说应是横向的。

端与侧面相接的修复可以通过给管中的一端上安装一种适合于端部插入的所述管的侧面上的 x 形切口的突缘的步骤来进行。连接物管的自由管端与插入 x 形切口的管端相连。围绕所述连接物管的周边连接 x 形切口的侧面边以便封闭插入部位。可以以不同的角度进行端与侧面的接合且由此可以按照为形成接合的适宜角度保持管的突出部分。

端与侧面相接的修复还可以通过给部分管形连接物提供一种适合于套在与新管端结合的体管内侧上的纵向切口上的突缘的步骤来进行。将纵向切口侧面通过连接物的突缘部分拉出、围绕该突缘部分反转并与连接物突出部分的外部连接。然后将侧面分支的自由端拉到预先连接的体管和突缘部分上并与部分管形连接物的主体连接。接着将部分管形连接物的主体与主体管的外部连接。可以按照许多角度来进行端与侧面的接合且由此可以按照合适的角度来维持管的突出部分。

通过与能源一起使用本发明的至少一种适当成形的连接物以使连接物与组织有效结合可以实现非管形组织的修复。

3. 套法的描述

使用特制的夹钳通过连接物管拉出近端动脉（管）并折回到其上很短的距离，所用的夹钳具有适于提供起维持开放形式管端作用的表面的端部，诸如附图 2 中图释的夹钳。用激光将折叠回的动脉照射至可观察到色彩轻度改变和特定的温度为止，该过程可使蛋白质变性并使它与血管壁特定接合区周围的环形物中的两侧或至少一侧粘合。使远端动脉（或管）轻度伸展并在已经用激光照射过的区域上或相同激光照射区中还未经激光照射过的连接物管的外部缓慢处理。然后以相同方式用激光照射该区域并导致用激光照射的动脉环形部分变成柱形。这就完成了接合。

实施例 1

将总计 90 只大鼠随机分成两组。在一组中，使用常规的显微缝合技术进行吻合术，而在二组中，使用我们的新型激光连接技术进行吻合术。此外，将两组中的每一组均分成 5 个亚组并在随后的不同期限时（10 分钟、1 小时、1 天、1 周和 6 周）进行评估。在这些间隔时，评估吻合术的能效和强度（抗张强度测定）。将每个亚组中的 3 只经吻合术的动物进行光和电子显微检查法处理。

发现所有进行的吻合术均是明显有效的。与用激光活化连接吻合

术所用的 7.2 分钟相比, 使用常规缝合进行的吻合术的平均连接时间为 20.6 分钟 ($p < 0.001$)。张力测定表明在开始阶段缝合吻合术的机械性结合力较强。然而, 在 6 周时, 激光连接吻合术的抗张强度比常规的缝合技术的抗张强度高。组织学评估显示在 6 周后连接物接近被完全吸收。血管端的接合部位不能由动脉的腔侧面来决定。

总之, 由二极管激光活化的用作连接物的可重吸收蛋白质可以为一种可靠、安全和快速的动脉吻合术提供帮助, 该吻合术可以由任意的显微外科医师在短期学习后进行, 它比常规的缝合快。

在过去, 简化外科中的血管吻合术且特别是小直径血管的吻合术已经成为一个重要课题。近来的公开文献总结出自本世纪开始以来在该领域中的技术开发情况[1]。在吻合部位最大限度地降低异物反应已经成为一个重要问题, 且许多作者已经描述了缝合物、夹板和夹钳对血管壁柔顺性和活性作用产生的负面影响[2-6]。Jain 在 1979 年已经首先报导了将激光连接技术用于血管吻合术的技术[7、8]。已经使用了不同类型的激光[9-12]以便将潜在的对组织的负面影响降到最低限度。大多数所报导的技术要求至少有三种永久停留的缝合物且由此仅将激光连接用于封闭血管而不以机械方式相互支撑血管端部。将激光用于连接组织因组织吸收光而依赖于热量的有效蓄积。已经使用的激光的波长由此与水、血红蛋白或其它组织染色体的强吸收带一致。引入诸如靛蓝花青绿[13、14]或异硫氰酸荧光素[15]这样的染料可促进激光能量到靶组织的准确输送。此外, 已经证实激光活化蛋白质连接物的应用强化了诸如神经这样的组织中的激光连接[16-18]。我们的研究提供出一种不需缝合的快速而可靠的技术以便成功地对小直径动脉实施吻合术, 从而通过消除任何永久性植入的装置而避免了血管壁的纤维化。我们将 Payr 在 1900 年报导的吻合技术[19]与可完全生物降解的用于连接小直径动脉的二极管激光活化蛋白质管的技术结合起来。

材料和方法

在本研究中使用总计为 90 只重量为 450 - 550g 的年轻的成熟雄性 Wistar 大鼠（远交的）。本研究得到了我们的 Institution's Animal Ethical Review Committee 许可和赞同。全部手术过程均在用氟烷/氧混合物（在 4L/分钟氧时，氟烷为 4%，用于引发麻醉；在 2L/分钟氧时，氟烷为 2%，用于维持麻醉）的一般麻醉条件下进行。在手术过程中维持清洁但并非无菌的条件，使用 Zeiss OPMI 7 手术显微镜进行手术。实施中线剖腹术并暴露肾外（infrarenal）主动脉，切开腹膜、分离出组织且如果必要连接腰部和腰部回肠（ileolumbar）血管。将双微血管夹钳（Edward Weck Inc., 近似值为 1.5mm × 8.0mm 的微血管用刀片，19mm 光栅）施用于用直的显微剪切断的主动脉。在用盐水冲洗两残根后，除去过量的结缔组织，而保留完整的外膜。在 45 只动物中，通过常规的显微缝合进行吻合术（带有 140 μ 针头的 9/0 Nylon，间断缝合 10 - 12 针）并在剩余的 45 只动物中通过激光连接来进行吻合术。记录全部过程的夹定时间以使用学生 t 检验进行随后的统计学分析。不使用局部或全身性抗凝药，也不在手术后给予动物抗菌素。

激光连接

使用具有 250mW 的极小能量和 805nm 波长的 GaAlAs 激光二极管（Spectra Diode Labs Inc., San Jose CA）。使激光照射与 100 μ m 直径的芯（在纤维盘中用手固定的数字开孔（NA 0.28）光学纤维）相匹配。通过 SDL-800 二极管驱动器来控制二极管电流和温度。用脚踏开关操作二极管并在手术过程中将其设定在 90mW，组织位置上的斑大小为 200 μ m 直径，与组织表面上的 286W/cm² 的最大辐照度相当。用 Scientech 能量计（Boulder Inc., CO USA）测定激光能量。对每个环形连接物的总照射时间约为 10 秒。

在本研究中使用的连接物是水、浓缩的牛血清清蛋白和靛蓝花青绿（ICG）染料（Becton Dickinson, Maryland USA）的混合物。ICG 在 805nm 波长处具有的最大吸收系数为 $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 。ICG 优选与诸如清蛋白这样的血清蛋白质结合[20]，从而确保热量有效地转化以便使蛋白质连接物变性。通过剧烈搅拌所述成分来获得高蛋白质浓度的混

合物（按重量计的原料为 55.40 % 清蛋白：44.33 % 水：0.27 % ICG）。使该混合物形成适合于大鼠主动脉尺寸的管。使所述连接物管预变性以使它们更具有柔韧性和化学稳定性（附图 1）。

然后，当使用可吸收的镁环时，以与 Payr 在 1900 年所述[19]类似的方式使用所述的连接物蛋白质管（附图 2）。使血管近端通过柱体、使之外翻在 1mm 长的边缘上且然后通过激光能与蛋白质柱体连接，从而进一步使连接物中所含的蛋白质变性（附图 2A、B）。根据可通过手术显微镜观测到的组织反应，激光能量通过光学手控纤维传输一定的时间期限（约 10 秒/周边）。当注意到组织最轻微的回缩时，激光斑移动至邻近组织，直到将血管的完整周边连接在蛋白质柱体上为止。然后双钳的两个分支接近并缓慢地将远端血管拉至完整的蛋白质柱上（附图 2C）。接着施用激光以便在动脉的远端与所述连接物最接近的部分之间产生结合（附图 2D）。

在取出夹钳后立即通过挤出试验来检验吻合以便评估功效。然后将每组分成 5 个亚组，每个亚组中有 9 只动物，分别在不同的间隔（10 分钟、1 小时、1 天、1 周、6 周）重新评估。在所选择的时间处，使所有的吻合处重新暴露并用挤出试验检验效果。在每个亚组的 6 只动物体内，取出近血管和远血管彼此相距 5mm 的吻合部分并进行抗张强度测定。通过使血管的一端与校准的能量转换器（FT30C, Grass Instruments, Quincy, MA）连接而另一端与螺旋驱动转换器连接来进行上述步骤[18]。在每个亚组的 3 只动物体内，夹住血管、用盐水和固定剂（缓冲至 pH 7.4 的 5 % 戊二醛）冲洗且最终取出它们用于组织学检查。对于光学显微镜来说，用马森三色染剂进行染色以便将天然蛋白质与变性蛋白质清楚地区分开来并用甲苯胺蓝进行同样过程。将扫描电子显微镜用于研究吻合的内表面。

结果

所有的动物在手术过程中均存活且在重新进行检查时所有的吻合均是有效的。在 6 周时，在缝合部位或激光连接吻合部位均没有动脉

瘤出现(附图3)。

缝合吻合术的平均夹定时间为 20.6 分钟 (SD2.82, SEM 0.52), 它明显比激光连接吻合术的平均夹定时间的 7.2 分钟 (SD2.26, SEM 0.41) 长; ($p < 0.001$; 学生 t 检验)。

抗张强度测定显示: 当在短期内与激光连接的吻合术比较时, 缝合的吻合术的抗张强度较强(在应力下)(分别为 134.6gm 和 45.3gm)。然而, 在 6 周时, 激光连接吻合术的抗张强度稍高于缝合吻合术(分别为 134.2gm 和 103.9gm, $p = 0.005$, 学生 t 检验)(附图4)。当进行牵引时, 缝合的吻合处以从血管壁上撕下环带的接合程度破裂, 而激光连接的血管在结合的远端分离, 这可能是吻合的最薄弱点。

在应用激光后立即用马森三色染剂染色吻合部位, 此后进行的光学显微镜术评估显示出直接与连接物邻接的层中的变性蛋白质, 而在动脉的血管中层中没有观察到改变(附图5)。6 周后, 所述连接物几乎被完全重吸收且可以观察到不间断的内层。愈合与成肌纤维细胞增生一起出现且不能从动脉腔中检测到吻合部位(附图6)。然而, 正如附图 3b 中所示, 可以在外膜上观察到一些纤维化反应, 但动脉血管中层仍没有显示出任何改变。在重新灌注 10 分钟后, 对吻合部位进行的扫描电子显微镜术表明在吻合部位上沉积有一定的红细胞, 而它对功效没有任何影响(附图7)。

讨论

由于 Jain 氏首先报导了激光能量在血管修复中的成功应用[7], 所以已经进行了大量尝试来开发应用激光连接的无缝合血管吻合术技术。激光连接的优点已经因接合处封闭完整没有渗漏和因没有缝合物而没有异物反应而得到了证实。然而, 对维持血管端接近的固定缝合物的需求已经导致产生了术语激光辅助的吻合术[21-15], 其中在预先插入 3-5 种固定缝合物后将激光用于封闭吻合部位。另一方面, 已经通过使用管腔内斯腾特固定模来确保内膜的排列进行了逼真的无缝合吻合术[26-28]。这些斯腾特固定模主要被设计成可在管腔内吸收且由此可能

导致动脉栓塞和/或血栓形成。上述报导的修复管形结构的技术[18]应用了含有靛蓝花青绿染料的蛋白质连接物带,将它们设计成可吸收激光能且由此使热量集中在蛋白质连接物和邻接的周围组织。

仅在紧密与所述连接物接触的组织层中观察到了因激光能产生的加热所导致的组织中的改变。为了得到对于成功进行显微血管吻合术来说是关键的最好的内层排列,将所述的蛋白质连接物挤压成具有与所修复血管直径相符合的管。通过应用由 Payr 在本世纪开始的时候引入的一种技术[19]来完成最好的内层排列。这项技术由消除对将血管固定在环形物上的结扎线需求的 Landon[29]和由 Carter[30]进一步发展用于使用聚乙烯环的冠状动脉手术。Haller[31]报导在 4-mm 直径血管的吻合术中使用应用钽环的 Payr 的技术的有效率为 92%。这项技术防止了血液与蛋白质连接物接触,这样可消除凝固级联被激活的危害并可产生平滑的内层排列。激光连接技术可通过组织和连接物中的蛋白质变性使组织与蛋白质连接物管结合。

在早期的研究中,已经将由激光连接产生结合的确切机理鉴定为外膜可能的匀化以及平滑肌细胞的凝固坏死;不过,弹性片层没有改变[32]。在直接激光连接研究中,使用电子显微镜术观察到了胶原纤维的蛋白质变性,内膜轻度破裂且随后在 10 天内内皮重新愈合[33]。将存在于动脉壁中的破坏了随后重新形成其它胶原分子的范德瓦尔斯键的胶原三重螺旋分子结构的脱水报导为可能的结合机理[34]。我们的技术将动脉壁中激光诱发的改变限制在直接与蛋白质连接物接触的层中,由此将管壁的任何弱化减少到最低限度。特别地,正如组织学评估所证实的,用激光能既不会改变近端血管的中层也不会改变远端血管的中层。所以可以建议:使用这项技术仅可最低限度地改变动脉壁而不会失去其机械特性。在吻合部位愈合后,抗张强度测定显示激光连接的吻合术比缝合吻合术具有更好的结果,这可能是对中层膜中缝合物的纤维反应的结果。

参考文献:

- 1) Werker PMN, Kon M., “血管吻合术的强化手段综述”《胸外科年鉴》(Ann. Thorac. Surg.) 63: S122, 1997.
- 2) Serure A. Withers EH, Thomson S, Morris J., “二氧化碳激光辅助的微血管吻合术与常规微血管缝合吻合术的比较”《外科论坛》(Surg. Forum.) 34: 634, 1983.
- 3) Lidman D, Daniels RK., “微血管吻合术的正常愈合过程”《整形外科研究杂志》(Scan. J. Plast. Surg.) 15: 103, 1981.
- 4) Servant J, Ikuta Y, Harada Y., “微血管吻合术的扫描电镜研究”《整复外科》(Plast. Reconstr. Surg.) 57: 329, 1976.
- 5) Acland RD, Trachtenberg L “微血管吻合术后小动脉的组织病理学”《整复外科》(Plast. Reconstr. Surg.) 59: 868, 1977.
- 6) Dalsing MC, Packer SC, Kueppers P, Griffith SL, Davis TB., “激光和缝合吻合术: 被动顺应性和主动力的产生”《激光外科医学》(Lasers Surg. Med.) 12: 190, 1992.
- 7) Jain K. K., Gorisch W., “使用 Nd-Yag 激光修复小血管”《外科学初步报告》(A preliminary report Surgery) 51: 684, 1979.
- 8) Jain K. K., Gorisch W., “使用 Nd-Yag 激光修复微血管”《神经化学志》(Acta Neurochir.) (Wien) 增刊 28: 260, 1979.
- 9) White RA, Abergel RP, Lyons R, Klein SR, Kopchok G, Dwyer RM, Uitto J., “激光连接对血管愈合的生物作用”《激光外科医学》(Lasers Surg. Med.) 6: 137, 1986.
- 10) Kopchok GE, White RA, White GH, Fujitani R, Vlasak J, Dykhovsky L, Grundfest WS., “CO₂和氩激光血管连接”“急性组织学和热力学比较”《激光外科医学》(Lasers Surg. Med.) 8: 584, 1988.
- 11) Nakata S, Campbell CD, Pick R, Replogle RL., “使用二氧化碳激光的端与侧面和端与端衔接血管吻合术”《心血管胸外科杂志》(J. Thorac. Cardiovasc. Surg.) 98: 57, 1989.
- 12) Lewis W J, Uribe A., “接触二极管激光微血管吻合术”《喉

镜》(Laryngosc.) 103: 850, 1993.

13) Reali UM, Gelli R, Gianotti V, Clori F, Pratesi R, Pini R., “实验二极管激光辅助的微血管吻合术”《整复显微外科杂志》(J. Reconstr. Microsurg.) 3: 203, 1993.

14) Oz, MC, Johnson JP, Paranagi S, Chuk RS, Marboe CC, Bass, LS, Nowygrod R, Treat MR., “通过近红外二极管激光使用靛花青绿染料强化的血纤蛋白原进行的组织连接”《血管外科杂志》(J. Vasc. Surg.) 11: 718, 1990.

15) Chuck RS, OZ MC, Delohery TM, Johnson JP, Bass LS, Nowygrod R, Teat MR., “染料强化的激光组织连接”《激光外科医学》(Lasers Surg. Med.) 9: 471, 1989.

16) Bass LS, Moazami N, Avellino A, Trosaborg W, Treat MR., “激光连接物神经缝术的可行性研究”《SPIE 学报》(Proc. SPIE) 2128: 472, 1994.

17) Menovsky T, Beek JF, van Gemert MJC., “CO₂激光神经连接”“最佳激光参数和连接物的体外应用”《显微外科》(Microsurg.) 15: 44, 1994.

18) Lauto A, Trickett R, Malik R, Dawes JM, Owen ER., “用于外周神经修复的激光活化的固体蛋白带”“一种体外研究”《激光外科医学》(Lasers Surg. Med.) 21: 134, 1997.

19) Payer E., “Beitraege zur Technique der Blutgefassaend Nervennaht nebst Mittellungen ueber die Verwendung eines resorblerbaren Metalles in der Chirurgie.”《临床化学记录》(Arch. Klin. Chir.) 62: 67, 1900.

20) Sauda K, Imasaka T, Ishibashi N., “通过高效液相层析测定人血清中的蛋白质”《分析化学》(Analytical Chemistry) 58: 2649, 1986.

21) McCarthy WJ, LoCicero J, Hartz RS, Yao JST., “激光辅助的吻合术在小血管中的功效: 一年随访”《外科学》(Surgery) 102:

319, 1987.

22) Okada M, Shimizu K, Ikuta H, Horii H, Nakamura K., “使用激光的另一种血管吻合术方法: 实验和临床研究”《激光外科医学》(Lasers Surg. Med.) 7: 240, 1987.

23) Abrahamson DL, Shaw WW, Kamat BR, Harper A, Rosenberg CR., “激光辅助的静脉吻合术: 比较研究”《整复显微外科杂志》(J. Reconstr. Microsurg.) 7: 199, 1991.

24) Kiyoshige Y, Tsuchida H, Hamasaki M, Takayanagi M, Watanabe Y., “CO₂ 激光辅助的微血管吻合术: 生物机械性研究和临床应用”《整复显微外科杂志》(J. Reconstr. Microsurg.) 7: 225, 1991.

25) Tang J, Godlewski G, Rouy S, Dauzat M, Juan JM, Chambettaz F, Salathe R., “使用非接触二极管激光的显微动脉吻合术与对照研究”《外科医学使用物》(Users Surg. Med.) 14: 229, 1994.

26) Jain KK., “使用 Nd-YAG 激光的无缝合微血管吻合术”《显微外科杂志》(J. Microsurg.) 1: 436, 1980.

27) Niijima KH, Yonekawa Y, Handa H, Taki W., “使用 Nd-YAG 激光和水溶性聚乙烯醇夹板的无缝合微血管吻合术”《神经外科杂志》(J. Neurosurg.) 67: 579, 1987.

28) Bass LS, Treat MR, Dzakonski C, Trokel SL., “使用 THC: YAG 激光的无缝合微血管吻合术-初步报告”《显微外科》(Microsurg.) 10: 189, 1989.

29) Landon LH., “用自保留管直接输血的简化方法”(JAMA) 61: 490, 1913.

30) Carter EL, Roth Ej., “狗体内的直接无缝合冠脉吻合术”《外科学年鉴》(Ann. Surg.) 148: 212, 1958.

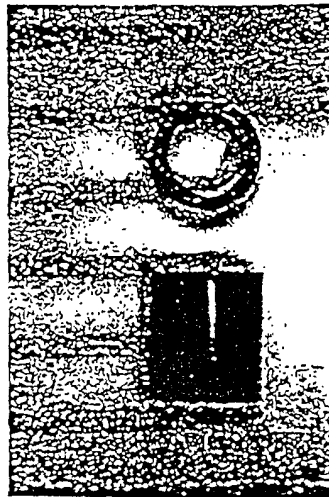
31) Haller JD, Kripke DC, Rosenak 55, Roberts DR, Rohman M., “使用环技术的小血管吻合术的长期结果”《外科学年鉴》(Ann. Surg.) 161: 67, 1965.

32) Schober R, Ulrich F, Sander T, Duerselen H, Hessel S., “激光诱发的胶原蛋白亚结构的改变要求显微外科组织连接”《科学》(Science) 232: 1421, 1986.

33) Godlewski G, Rouy S, Dauzat M., “氩激光显微吻合术后动脉壁修复的超微结构研究”《激光外科医学》(Lasers Surg. Med.) 7: 258, 1987.

34) Fenner J, Martin W, Moseley H, Wheatley Dj., “作为结合温度函数的组织结合力的剪切强度: 提出的激光辅助的组织连接的机理”《激光医学科学》(Lasers Med. Science) 7: 39, 1992.

图 1



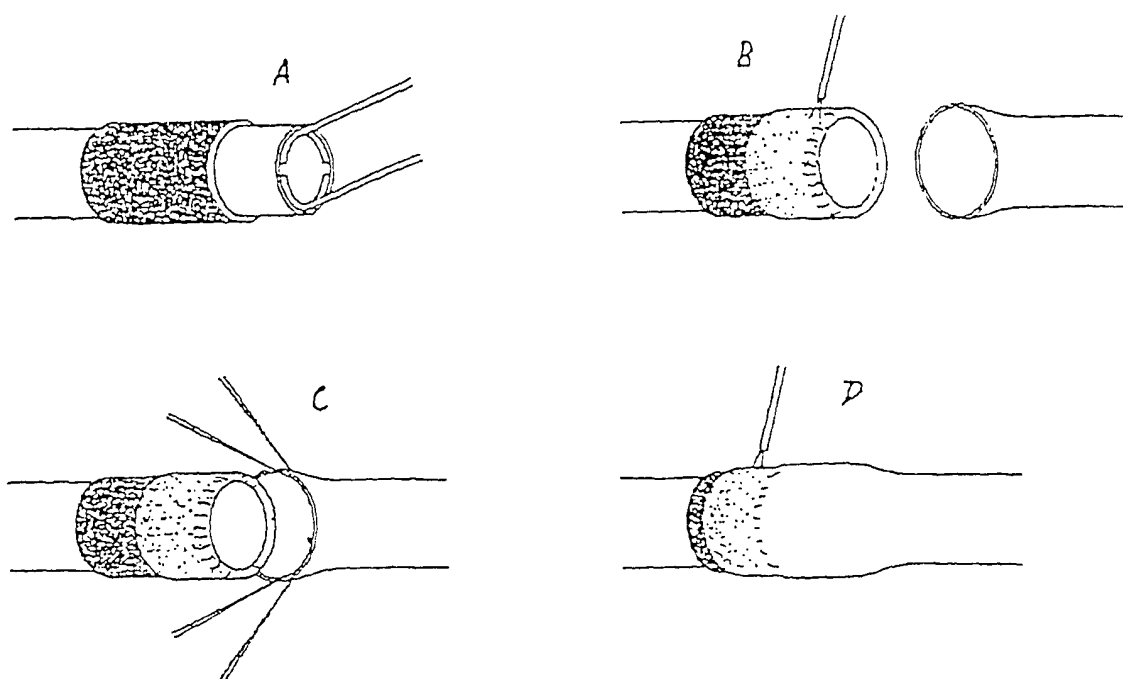


图 2

图 3A



↓
血流

图 3B



血流

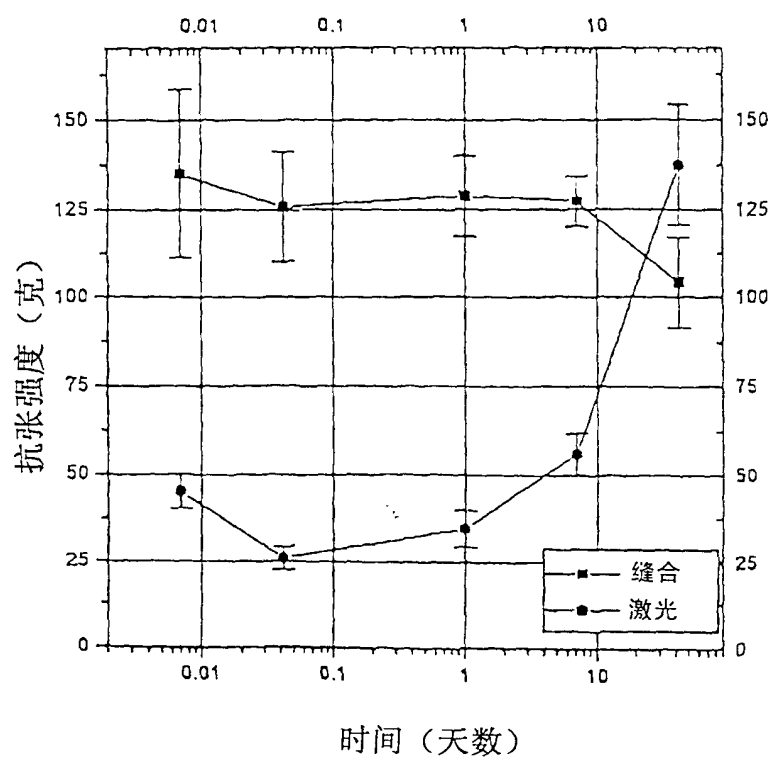


图 4

图 5A



图 5B

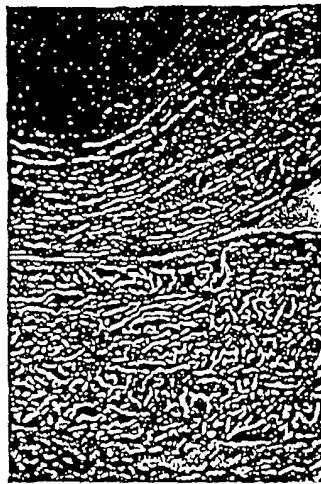


图 6

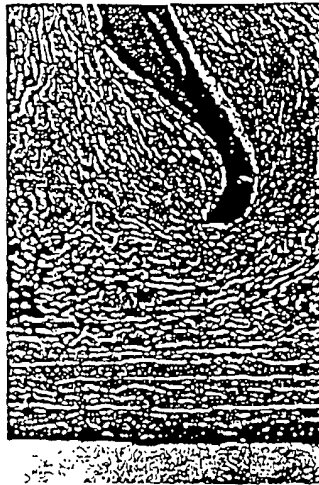


图 7



图 8

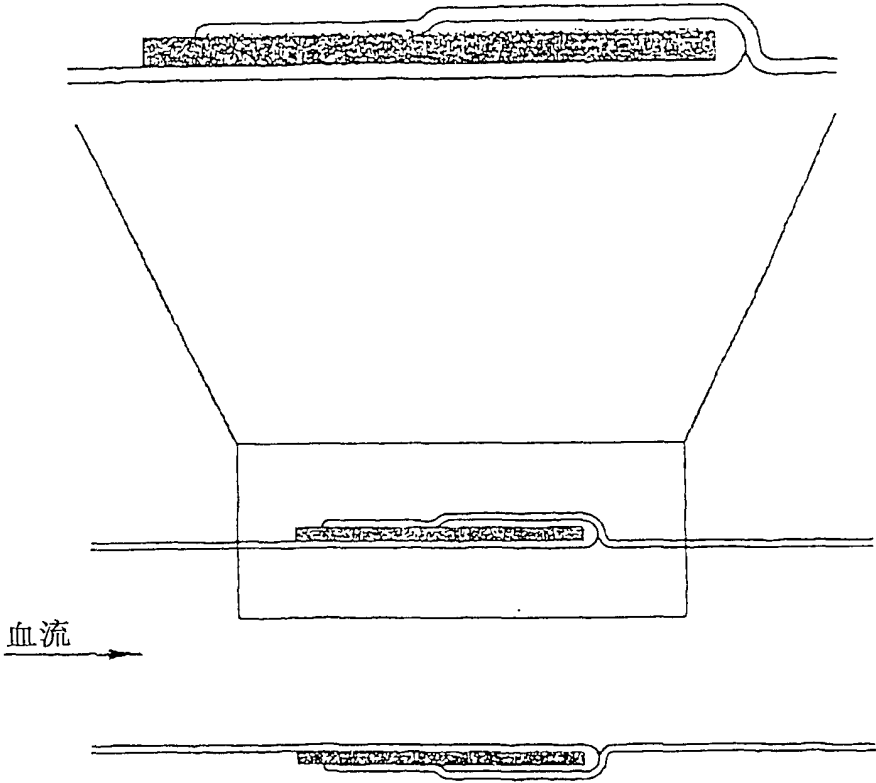


图 9

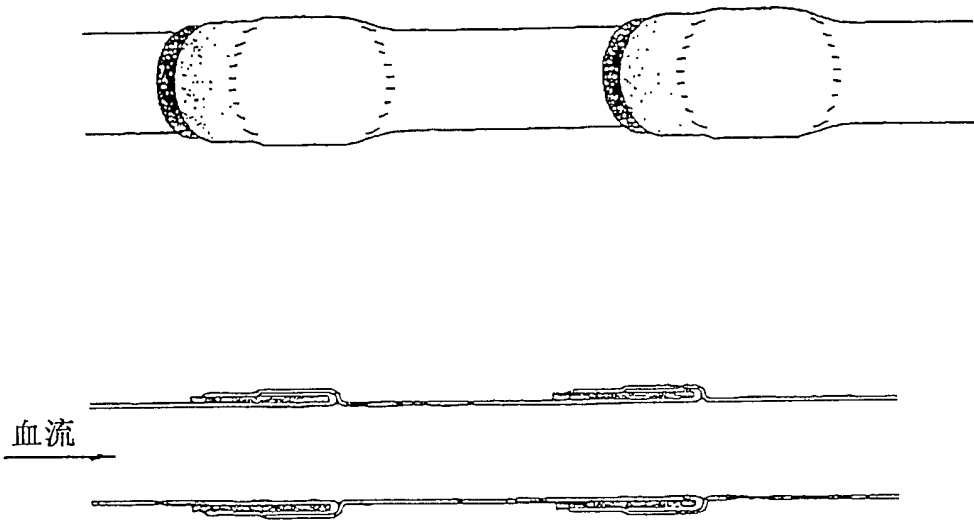


图 10

