doi:10.11659/jjssx.01E025124

·基础研究·

经口经胃内镜下胆囊切除术的动物实验研究

郑泓量,杨 欢,聂绪彪,彭 学,谯秋建,柏健鹰 (陆军军医大学第二附属医院消化内科,重庆 400037)

[摘 要] **目的** 探讨在小型猪体内行经口经胃自然腔道内镜手术(TG-NOTES)胆囊切除术的可行性及安全性。**方法** 选取11只小型猪为实验对象,行TG-NOTES胆囊切除术,按手术术式分为A组和B组,其中A组7只小型猪内镜下不解剖胆囊三角进行胆囊切除,B组4只小型猪内镜下解剖胆囊三角后再进行胆囊切除。统计2组小型猪手术成功率、手术各阶段时间时间、并发症发生情况、胆囊切除成功率、存活率。A组选取1只小型猪、B组4只小型猪进行生存实验,存活1周后处死并解剖,观察切口愈合情况和并发症情况。**结果** 实验动物手术存活率为100%,胆囊切除成功率为100%。2组小型猪手术时间、切胃入腹时间、探查胆囊时间及胆囊取出时间比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。B组小型猪结扎胆囊动脉时间长于A组,剥离胆囊时间短于A组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。2组小型猪并发症事件平均数比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。动物生存实验后解剖发现,切口愈合良好,未见严重并发症。**结论** 本研究成功建立TG-NOTES胆囊切除术模型,并证实TG-NOTES胆囊切除术具有一定安全性和可行性。

[关键词] 经自然腔道内镜手术;胆囊切除术;动物实验;可行性;并发症

[中图分类号] R575.6 [文献标志码] A [收稿日期] 2025-01-23

Animal experimental study of transoral transgastric endoscopic surgery cholecystectomy

ZHENG Hong-liang, YANG Huan, NIE Xu-biao, PENG Xue, QIAO Qiu-jian, BAI Jian-ying (Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To investigate the feasibility and safety of transoral transgastric natural orifice transluminal endoscopic surgery (TG-NOTES) cholecystectomy in miniature pigs. **Methods** A total of 11 miniature pigs were selected as the experimental subjects and underwent TG-NOTES cholecystectomy. These pigs were divided into the Group A and Group B according to the surgical procedures. Among them, 7 miniature pigs in the Group A underwent endoscopic cholecystectomy without dissecting the gallbladder triangle, while 4 miniature pigs in the Group B underwent endoscopic cholecystectomy after dissecting the gallbladder triangle. The success rate of surgery, the time of each stage of surgery, the incidence of complications, the success rate of cholecystectomy and the survival rate of miniature pigs in the two groups were counted. One miniature pig in the Group A and 4 miniature pigs in the Group B were selected for survival experiments. After surviving for 1 week, they were killed and dissected to observe the healing of incision and incidence of complications. **Results** The surgical survival rate of experimental animals was 100%, and the success rate of cholecystectomy was 100%. There was no significant difference in the surgical time, time of cut the stomach into the abdomen, time of gallbladder exploration or time of gallbladder removal of miniature pigs between the two groups ($P>0.05$). The time of ligating gallbladder artery of miniature pigs in the Group B was longer than that in the Group A, and the time of isdating gallbladder was shorter than that in the Group A, with statistically significant differences ($P<0.05$). There was no significant difference in the average number of complications of miniature pigs between the two groups ($P>0.05$). The dissection of animals after survival experiments revealed that the incisions healed well without serious complications. **Conclusion** This study successfully establishes the surgical model of TG-NOTES cholecystectomy, and confirms the safety and feasibility of TG-NOTES cholecystectomy.

Keywords: natural orifice transluminal endoscopic surgery; cholecystectomy; animal experiment; feasibility; complications

经自然腔道内镜手术(natural orifice transluminal endoscopic surgery,NOTES)是指使用软式内镜,通过人体的自然腔道进入纵隔、胸腔或腹腔等部位,进行诊断和治疗的微创手术方式[1]。NOTES具有减轻术后创伤疼痛、避免皮肤瘢痕及切口疝、降低肠梗阻及肠粘连风险、缩短住院时间、加速恢复等潜在优势,与现代超微创手术的治疗理念相契合[2-4]。依据手术入路差异,NOTES可分为经口经胃、经结直肠、经膀胱、经阴道等入路。经口经胃自然腔道内镜手术(transoral transgastric natural orifice transluminal endoscopic surgery,TG-NOTES)已有相关报道,展现出良好的临床应用前景[5-6],但关于TG-NOTES胆囊切除术的具体流

[基金项目] 重庆英才创新领军人才项目(2022CQ010);陆军军医大学2019重点扶持对象项目(2019R039)

[通信作者] 柏健鹰,E-mail:baijianying_xq@tmmu.edu.cn

程、安全性评估等还有待深入探讨。本研究拟在动物体内开展TG-NOTES胆囊切除术，旨在建立手术流程，并系统评估TG-NOTES胆囊切除术的安全性和可行性。

1 资料与方法

1.1 实验动物

本研究在2020年1月至2022年2月期间进行，并通过陆军军医大学第二附属医院伦理审查（批准号：2019-研第100-01）。选取来源于陆军军医大学实验动物中心的11只6月龄的雄性小型猪，体质量20~27 kg，平均（23.35±2.28）kg。小型猪均行TG-NOTES，按不同术式分为A组和B组，其中A组7只小型猪内镜下不解剖胆囊三角进行胆囊切除，B组4只小型猪内镜下解剖胆囊三角后再进行胆囊切除。

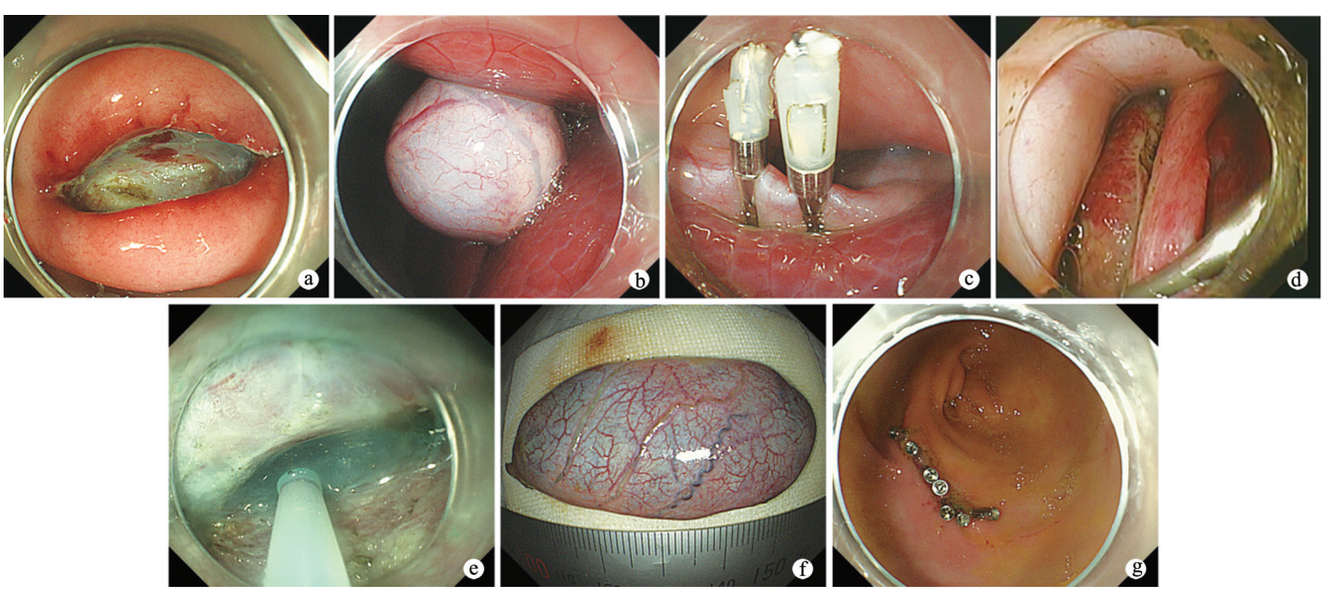
1.2 材料及器械

OLYMPUS公司260型双孔道结肠镜及主机，高频电刀、监护仪、吸引器、内镜注射针、内镜软组织夹及其释放器、圈套器、尼龙圈及其释放器、异物钳、气腹针等。

1.3 方法

术前24 h实验动物予以禁食，确保胃部排空，麻醉方案：术前30 min静脉注射头孢噻肟钠2 g预防感染，术前20 min肌肉注射1 mL盐酸赛拉嗪注射液镇静，5 mL丙泊酚静脉注射诱导麻醉后，喉镜辅助行气管插管，连接呼吸机，调节潮气量为200~300 mL，监测生命体征、心率、血氧饱和度等。术中以10 mL/h速率通过静脉输入丙泊酚维持麻醉。术前通过内镜用生理盐水行胃腔冲洗，选择腹部约5 cm×10 cm区域备皮，电极片贴于备皮区域。

实验动物左侧卧位，常规于腹壁穿刺置入气腹针，注入CO_2建立气腹，术中监测气腹，使压力维持在14 cmH_2O水平，以确保充分显露肝、胆囊等，优化手术视野。常规经口进镜到达胃窦部。以胃窦前壁小弯侧区域作为手术入口，使用高频电刀逐步切开胃壁到腹腔（图1a），内镜通过胃部切口进入腹腔，探查胆囊位置（图1b），充分暴露胆囊。处理胆囊管及胆囊动脉。A组7只小型猪使用3~4枚软组织夹直接结扎胆囊管及胆囊动脉（图1c），在第1、2枚软组织夹之间离断胆囊管及胆囊动脉。B组4只小型猪以高频电刀对胆囊动脉、胆囊三角进行解剖，游离胆囊动脉和胆囊管，用3~4枚软组织夹结扎胆囊动脉和胆囊管，在第1、2枚软组织夹之间离断胆囊管及胆囊动脉（图1d）。于胆囊与肝毗邻处，在胆囊浆膜下注射生理盐水，从胆囊底部向胆囊颈部使用高频电刀剥离胆囊（图1e），剥离过程中按需反复在胆囊浆膜下注射生理盐水，直至胆囊完全剥离。以圈套器圈套剥离胆囊，经胃经口取出胆囊（图1f）。检查术区有无活动性出血，若有出血采取电凝止血。检查胆囊管及胆囊动脉有无渗血或胆囊渗漏，若有，采用软组织夹夹闭。检查周围脏器有无损伤并处理。以1 000 mL生理盐水灌洗腹腔及手术创面，并用内镜吸引干净。退镜至胃窦区，采用软组织夹或软组织夹联合尼龙圈关闭胃部切口（图1g）。经口退出内镜，术毕。



a：逐层切开胃壁；b：探查胆囊位置；c：A组动物直接结扎胆囊动脉；d：B组动物解剖胆囊三角后结扎胆囊动脉；e：剥离胆囊；f：取出胆囊；g：关闭胃部切口

图1 TG-NOTES操作相关图

A组1只和B组4只小型猪继续1周的生存实验，其余小型猪术后当日实施安乐死。术后首日，所有存活动物输头孢噻肟钠2 g预防感染，术后24 h禁食不禁水，逐渐从流质饮食过渡至正常饮食，饲养1周后，均实施安乐死并解剖检查。

1.4 观察指标

记录手术时间、手术各阶段时间、胆囊切除成功率、手术相关并发症和存活率。生存实验期间观察记录术后存活动物一般情况、进食情况、活动情况。实验动物解剖打开腹腔后，肉眼观察评估胃部切口是否完全愈合；检查腹腔和手术区域情况，统计有无切口漏、腹膜炎症、脓肿、出血、腹腔粘连等并发症发生。

1.5 统计学分析

应用SPSS 27.0软件进行统计学分析，计量数据行*Shapiro-Wilk*正态性检验及*Levene*方差齐性检验，不符合正态分布的数据以中位数（四分位间距）[$M(P_{25}, P_{75})$]表示，组间比较采用*Mann-Whitney U*检验；符合正态分布及方差齐性的数据以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，组间比较采用独立样本t检验。计数资料以频数表示，组间比较采用χ^2检验。检验水准α值取双侧0.05，$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 手术情况

所有动物均成功完成TG-NOTES，胆囊切除成功率为100%；未出现中转腹腔镜或者开腹手术的情况；术中动物耐受性良好，心率、呼吸、血氧饱和度指标平稳，未出现术中死亡，手术存活率为100%。

2组小型猪手术时间、切胃入腹时间、探查胆囊时间、取出胆囊时间比较差异无统计学意义（$P>0.05$），手术时间最短为67 min，最长为142 min。B组小型猪结扎胆囊动脉时间长于A组，差异有统计学意义（$P=0.006$）。B组小型猪剥离胆囊时间短于A组，差异有统计学意义（$P=0.014$），剥离胆囊时间最长为75 min，最短为24 min。A组小型猪采用内镜软组织夹缝合，B组小型猪采用内镜软组织夹联合尼龙圈缝合。B组小型猪关闭胃部切口时间长于A组，差异有统计学意义（$P=0.010$），见表1。

表1 2组手术时间及手术各阶段时间比较(min)

组别	n	手术时间	切胃入腹时间	探查胆囊时间	结扎胆囊动脉时间	剥离胆囊时间	取出胆囊时间	关闭胃部切口时间
A组	7	96.14±16.32	7.14±3.48	7.00 (5.00,25.00)	6.00 (5.00,7.00)	58.00 (54.00,72.00)	4.00 (4.00,5.00)	4.00 (4.00,5.00)
B组	4	105.50±25.21	5.75±0.96	3.50 (1.25,13.25)	32.50 (24.25,49.00)	38.50 (26.80,48.00)	5.50 (3.50,30.00)	5.50 (3.50,30.00)
P		0.469	0.462	0.220	0.006	0.014	0.400	0.010

2.2 术中并发症

2组小型猪经胃切开胃壁造口均顺利完成，未发生大量出血。术中共出现胆囊剥离出血8例，均及时处理。术中共出现胆管残端漏2例、胆囊渗漏3例，胆囊切除后用生理盐水冲洗腹腔，将漏液洗净。术中出现邻近脏器轻度灼伤6例，其中肝损伤4例，腹壁损伤2例，均为电刀灼伤导致。2组小型猪并发症事件平均数比较差异无统计学意义（$P=0.699$），见表2。

表2 2组手术并发症比较

组别	n	胆囊剥离出血（例）	胆囊渗漏（例）	胆管残端漏（例）	邻近脏器损伤（例）	并发症事件总数（件）	并发症事件平均数（件）
A组	7	5	2	2	4	13	1.86
B组	4	3	1	0	2	6	1.50
P							0.699

2.3 生存实验及解剖检查结果

进行生存实验的5只小型猪均顺利存活1周。生存实验期间，未发现实验动物死于腹腔感染、出血、瘘口穿孔等并发症，无致死并发症。5只小型猪术后24 h过渡到正常饮食，无发热、厌食状况，进食良好，活动良好，体表毛发有光泽，全身皮肤、巩膜未见黄染，未见黑便、血便。术后1周处死后解剖检查：腹部触诊示腹部柔软，腹部叩诊未见气腹征。解剖腹部后行腹腔探查，未见出血、脓肿、严重腹腔粘连、腹腔积液、明显渗出物。胃浆膜面切口处存在网膜轻度粘连，剥离网膜后，见胃部切口愈合良好，其中4只小型猪胃腔内有软组织夹残留。所有小型猪胆囊缺如，胆囊床创面及周围局部黏膜稍水肿，出现少量粘连，可见部分网膜包裹夹闭胆囊动脉残端的软组织夹。

3 讨论

入路的选择是NOTES成功的关键之一[7]。虽然经阴道内镜下手术在临床胆囊切除术中应用较早较广，但其受限于患者性别且存在术后性交痛等潜在风险[8-10]，并不适用于所有人群或动物模型研究。经结直肠内镜下手术则面临更高的感染风险和更严格的肠壁闭合技术要求[11]。TG-NOTES利用胃的酸性环境

(理论上可降低感染风险)、更好的探查视野、相对宽阔的操作空间(利于多象限探查)以及相对成熟的内镜下胃壁闭合技术[12-13],使其成为动物实验模型中系统、可控地研究和验证内镜下胆囊切除术的理想入路。因此,本研究选择在小型猪建立TG-NOTES胆囊切除术模型,结果表明,TG-NOTES胆囊切除术具有较高的可行性和安全性。

在可行性方面,本研究中11只小型猪均成功建立了标准化的TG-NOTES胆囊切除术操作流程,包括切胃入腹、胆囊探查、胆囊动脉结扎(直接结扎或解剖胆囊三角后结扎)、胆囊剥离、胆囊取出及关闭胃部切口,手术成功率为100%,未出现中转腹腔镜或开腹手术情况,证明了该术式在动物模型上的可重复性和技术可行性。本研究中手术时间最长为142 min,最短为67 min,且手术时间组间未见统计学差异,随着操作实践经验的积累、技术的成熟,TG-NOTES胆囊切除术手术时间还可进一步缩短。在各个手术步骤中,剥离胆囊时间最长,其是操作的关键点和难点,但通过技术优化(如本研究中采取的胆囊浆膜下注射生理盐水)可以降低剥离过程并发症发生的风险。B组剥离胆囊时间短于A组,提示解剖胆囊三角后,有利于界定解剖层次,进一步精准剥离胆囊。2005年美国消化内镜学会和美国消化内镜外科医师学会联合发表的白皮书中提出,安全有效的NOTES入路闭合技术是NOTES的关键[14]。内镜缝合先驱者于2005—2006年先后完成TG-NOTES胆囊切除、空肠造瘘、胃肠造口吻合等动物实验,并介绍了胃切口关闭方法[15-16]。在关闭切口这一关键步骤中,本研究选择应用软组织夹或软组织夹联合尼龙圈2种方式成功操作,且术中未出现切口漏;术后解剖证实,所有实验动物胃部切口愈合良好,仅观察到轻度网膜粘连,未发生切口漏、腹腔脓肿等。上述结果验证了使用常规内镜器械进行胃壁闭合的可行性,通过精准内镜操作与软组织夹应用,直接结扎胆囊动脉,可规避解剖胆囊三角引发的误伤,这为进一步简化手术流程提供了新思路,同时其经济性与普适性显著优于缝合器或生物胶等替代方案[13]。综上,本研究建立的手术流程是可行的,两种术式的对比为临床个体化选择提供了依据

在安全性方面,首要的安全指标是手术存活率和并发症事件。本研究中所有实验动物均成功度过手术期,手术存活率为100%。TG-NOTES因其微创优势被视为胆囊切除术的重要发展方向,但感染、胆囊渗漏及出血等并发症仍限制其临床应用[14]。本研究中术中并发症主要包括胆囊剥离出血(8例)、邻近脏器受损(6例)、胆囊渗漏(3例)及胆管残端漏(2例),这些并发症均在术中被及时发现并通过电凝止血、软组织夹夹闭或生理盐水冲洗等方式有效处理,未导致动物死亡或术后生命体征恶化,表明内镜下手术可以及时有效地处理术中并发症,凸显了“术中监测-即时处理”对于保障手术安全的关键作用。术后生存实验的5只动物均健康存活1周,期间活动、进食正常,无发热、黄疸、黑便等异常表现。术后解剖检查显示,腹腔内无活动性出血、脓肿、严重腹腔粘连、腹腔积液或明显渗出物;虽然观察到胆囊床局部黏膜稍水肿、少量粘连及网膜包裹软组织夹的现象,但这些均属术后常见且可控的炎症反应或愈合过程,未构成致死风险。已有研究显示,胃腔灌洗对预防感染有积极作用[17]。胡三元等[18]在NOTES胆囊切除术研究中得出:胃内菌量随冲洗盐水的增加而减少。Eickhoff等[19]在一项关于TG-NOTES的研究中指出:与仅用生理盐水灌洗相比,静脉滴注抗生素及质子泵抑制剂,配合胃腔局部抗菌药物灌洗可减少腹膜炎的发生。本研究中为了减少手术相关感染发生,采取了预防性应用抗生素(头孢噻肟钠2 g,术前及术后首日)、术中严格执行无菌操作并辅以1 000 mL生理盐水腹腔灌洗、精细操作等多项措施以避免胆囊破损,确保胃部切口安全关闭;术中及术后监测未出现发热或感染征象,术后解剖亦未见腹腔感染征象。本研究将胃部切口位置定位于胃窦前壁小弯侧,有效降低了血管损伤及操作困难风险(仅1例因位置偏差导致胆囊取出困难)[20]。本研究结果证实了TG-NOTES胆囊切除术的安全性。

本研究在小型猪模型中成功实施了TG-NOTES胆囊切除术,优化了手术入路的选择,建立了标准化手术流程,证明了该手术的可行性和安全性,为其临床转化提供了技术支撑与风险应对策略。但本研究样本量较少,随访时间短,未来需进一步开展大样本、长期随访研究以验证其远期安全效益,并对比研究不同手术策略的特点。尽管存在挑战与局限,NOTES的未来发展前景依然广阔。加强多学科协作是推动该技术发展的重要方向。随着经验的积累,技术、器械的优化,人工智能技术、机器人平台[21]的进一步应用,NOTES将更加便捷和精准。深入评估该技术的安全性和有效性,制定规范化的操作流程和指南,将有助于促进该技术在临床中的广泛应用。

[参考文献]

[1] Shang L,Shen X,Niu W,et al. Update on the natural orifice transluminal endoscopic surgery for gallbladder preserving gallstones therapy: a review [J]. Medicine (Baltimore), 2022, 101 (46): e31810. doi: 10.1097/MD.0000000000031810.

[2] Wu X, Li X, Xie A, et al. Transvaginal natural orifice endoscopic surgery for hysterectomy: a prospective cohort study[J]. BMC Womens Health,2024,24(1):631. doi:10.1186/s12905-024-03461-w.

[3] Stone R, Carey E, Fader AN, et al. Enhanced recovery and surgical optimization protocol for minimally invasive gynecologic surgery: an AAGL white paper[J]. J Minim Invasive Gynecol,2021,28(2):179-203. doi:10.1016/j.jmig.2020.08.006.

[4] Ullah S, Ali FS, Liu BR. Advancing flexible endoscopy to natural orifice transluminal endoscopic surgery[J]. Curr Opin Gastroenterol, 2021,37(5):470-477. doi:10.1097/MOG.0000000000000753.

[5] 中国医师协会结直肠肿瘤专业委员会NOTES专委会. 经自然腔道内镜手术(NOTES)专家共识[J]. 中华结直肠疾病电子杂志,2021,10(4):337-342. doi:10.3877/cma.j.issn.2095-3224.2021.04.001.

[6] Shih S, Kantsevoy SV, Kalloo A, et al. Hybrid minimally invasive surgery--a bridge between laparoscopic and translumenal surgery[J]. Surg Endosc, 2007, 21(8): 1450-1453. doi: 10.1007/s00464-007-9329-2.

[7] Park PO, Bergström M, Ikeda K, et al. Experimental studies of transgastric gallbladder surgery: cholecystectomy and cholecystogastric anastomosis (videos)[J]. Gastrointest Endosc,2005,61(4):601-606. doi:10.1016/s0016-5107(04)02774-9.

[8] Marescaux J, Dallemagne B, Perretta S, et al. Surgery without scars: report of transluminal cholecystectomy in a human being[J]. Arch Surg,2007,142(9):823-827. doi:10.1001/archsurg.142.9.823.

[9] Kellerhals G, Nef J, Hurni Y, et al. Transvaginal natural orifice transluminal endoscopic surgery for early-stage ovarian cancer and borderline ovarian tumors: a case series[J]. Front Surg, 2025, 12: 1542486. doi:10.3389/fsurg.2025.1542486.

[10] Xu D,He L,Lin Y,et al. Does transvaginal natural orifice transluminal endoscopic surgery affect female sexual function?: a prospective cohort study[J]. BMC Womens Health, 2023, 23(1): 405. doi: 10.1186/s12905-023-02566-y.

[11] Zhang Y, Mao XL, Zhou XB, et al. Feasibility of transgastric endoscopic gallbladder-preserving surgery for benign gallbladder diseases (with video)[J]. Surg Endosc, 2022, 36(4): 2705-2711. doi:10.1007/s00464-021-08890-4.

[12] Trunzo JA, Poulose BK, McGee MF, et al. The diagnostic efficacy of natural orifice transluminal endoscopic surgery: is there a role in the intensive care unit?[J]. Surg Endosc,2010,24(10):2485-2491. doi: 10.1007/s00464-010-0990-5.

[13] 李 杉,吴宏博,吕辰艳,等. 经胃自然腔道内镜手术行胆囊探查术的可行性及安全性研究[J]. 局解手术学杂志,2020,29(4):257-261. doi:10.11659/jjssx.02E020094.

[14] Rattner D, Kalloo A, ASGE/SAGES Working Group. ASGE/SAGES Working Group on natural orifice translumenal endoscopic surgery. October 2005[J]. Surg Endosc,2006,20(2):329-333. doi:10.1007/s00464-005-3006-0.

[15] Sclabas GM, Swain P, Swanstrom LL. Endoluminal methods for gastrotomy closure in natural orifice transenteric surgery (NOTES)[J]. Surg Innov, 2006, 13(1): 23-30. doi: 10.1177/15533506061300105.

[16] Kantsevoy SV, Hu B, Jagannath SB, et al. Transgastric endoscopic splenectomy: is it possible?[J]. Surg Endosc,2006,20(3):522-525. doi:10.1007/s00464-005-0263-x.

[17] Donatsky AM, Holzknecht BJ, Arpi M, et al. Oral chlorhexidine and microbial contamination during endoscopy: possible implications for transgastric surgery. A randomized, clinical trial[J]. Surg Endosc, 2013,27(6):1914-1922. doi:10.1007/s00464-012-2686-5.

[18] 胡三元,杨庆芸,张光永,等. 经胃及阴道内镜胆囊切除动物实验研究[J]. 腹腔镜外科杂志,2008,13(6):479-483. doi:10.13499/j.cnki.fqjwkzz.2008.06.006.

[19] Eickhoff A, Vetter S, von Renteln D, et al. Effectivity of current sterility methods for transgastric NOTES procedures: results of a randomized porcine study[J]. Endoscopy, 2010, 42(9): 748-752. doi:10.1055/s-0030-1255597.

[20] Flora ED,Wilson TG,Martin IJ,et al. A review of natural orifice translumenal endoscopic surgery (NOTES) for intra-abdominal surgery: experimental models, techniques, and applicability to the clinical setting[J]. Ann Surg, 2008, 247(4): 583-602. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181656ce9.

[21] Wu H,Xue D,Deng M,et al. Progress,challenges,and future perspectives of robot-assisted natural orifice specimen extraction surgery for colorectal cancer: a review[J]. BMC Surg, 2024, 24(1): 255. doi: 10.1186/s12893-024-02538-5.

(编辑:贺绍梅)