论著

文章编号:1000-5404(2011)14-1502-04

猪源生物型人工心包可行性及疗效的实验研究

彭秀凡,曾伟生,乔贵宾,蒋仁超,廖 明 (广州 510010,广州军区广州总医院胸外科)

[摘要] **目的** 探讨用生物材料进行心包修复重建的可行性及疗效。**方法** 对6只中国杂种犬进行右侧开胸,切除直径为8 cm类圆形心包,用生物材料人工心包进行修复重建。术后2周、1个月、3个月、6个月、1年、2年分别进行心脏彩超检查,观察有无粘连、积液、破损及增厚钙化。术后1年及2年各解剖2只动物,分别进行大体检查,观察人工心包的内外表面、组织的柔韧性及生物膜性组织有无钙化、增厚;进行组织学检查,观察内膜组织构成及完整性,了解纤维结缔组织层有无血管形成及神经纤维长入。余下2只进行长期观察,以预测人工心包长期置入体内的可能性及转归。**结果** 6例动物全部长期存活,心脏彩超动态随访观察未发现人工心包有破损、积液、粘连及钙化增厚等情况发生,大体观察见人工心包浆膜层光滑、无粘连,人工心包与犬正常心包连接处内光滑,无接痕;组织学检查发现人工心包内膜与正常心包已无缝连接,组织结构相同,在人工心包内见到血管及神经纤维结构。**结论** 猪源生物型人工心包是一种优质心包重建材料,置入机体后具有自体化倾向。

[关键词] 生物材料;人工心包;重建
[中图法分类号] R318.08;R318.11;R654.2 [文献标志码] A

Feasibility and efficacy application of porcine bioartificial pericardium in dogs

Peng Xiufan, Zeng Weisheng, Qiao Guibin, Jiang Renchao, Liao Ming (Department of Chest Surgery, General Hospital of Guangzhou Military Command, Guangzhou, Guangdong Province, 510010, China)

[**Abstract**] **Objective** To explore the feasibility and efficacy of pericardial repair and reconstruction with porcine biomaterial in dogs. **Methods** Six Chinese mongrel dogs were inflicted with a defect of pericardium in 8-cm-diamter circle through right extrapleural thoracotomy. Subsequently, neoplasty of pericardium was proceeded using our patent porcine biomaterial. The pericardial adherence, effusion, breakage, and thickening was evaluated by cardiac color doppler sonography at 6 postoperative time points, including 2 weeks, 1, 3 and 6 months, 1 and 2 years after operation. Gross examination was performed at 1 year and 2 years after operation to observe pericardial surface and flexibility and to evaluate calcification and thickening of implanted biomaterial patches. Histological examination was also performed at the same time points to observe the construction of pericardial endomembrane and integrity of pericardium. The last 2 animals were used to anticipate the ability of long lasting implanted patches and the relationship between artificial pericardium and post-treatment outcomes. **Results** All animals survived through all the experiment. No breakage, effusion, adherence, calcification or thickening was detected by cardiac color doppler sonography during the followed check period. The plasma membrane of bioartificial pericardium was smooth without any adherence. The endomembrane of specimens immigrated from dog's pericardium to bioartificial pericardium. The connection between two kinds of pericardium was smooth and integrity. **Conclusion** Our porcine pericardial biomaterial is a satisfactory prothesis in application of pericardial reconstruction, and it is turning to autologous tissue after implanting.

[**Key words**] biomaterial; artificial pericardium; reconstruction

Supported by the Science and Technology Plan Projects of Guangdong Province (2006B35801009). Corresponding author: Peng Xiufan, Tel: 86-20-36653543, E-mail: p. xiufan@163.com

心包是维持心脏功能、保护心脏不受侵害的重要器官,心包的间皮细胞层具有重要的内分泌功能[1],所分泌的心钠素、脑钠素、内皮素等血管活性物质与维持正常心脏功能有密切关系[2-3],间皮细胞还具有激活血浆纤溶酶原活性,降解渗入心包腔内的纤维蛋白从而有效地抑制纤维性粘连的作用[4]。心包缺损时,心脏直接与胸骨及周围纵隔组织粘连,其搏动受限、功能储备下降而易发生心功能不全;冠状动脉易扭曲、变形及损伤;裸露的心脏再次手术时,容易发生心血管损伤导致大出血。缺少心包保护,肿瘤、病原等致病因素

[基金项目] 广东省科技计划项目(2006B35801009)
[通信作者] 彭秀凡,电话:(020)36653543,E-mail: p. xiufan@163.com

可直接侵害心脏。临床上自体心包片被广泛应用于心血管领域修复重建[5-6]和普通材料不易修补成功部位(如气管)的修复重建[7-8],心包本身病变(如心包肿瘤、炎症等)也是造成心包缺损常见原因。随着对心包作用认识加深,心包缺损对心脏造成的远期损害也逐渐受到重视,然而,近十余年来,文献对心包修复重建及心包替代材料方面的研究报道甚少,临床上也没有成熟的心包替代品,故进行心包替代品的研究具有重要价值。猪心包大小、厚薄、组织结构及理化特性与人体心包相似,经戊二醛(glutaraldehyde, GA)处理的猪心包虽然未能在临床推广应用,但在进行犬心包移植研究时取得较满意效果[9]。由广东冠昊生物科技有限公司研制的猪源性人工脑膜在动物实验及临床应用均效果满意[10-11],在此基础上,该公司为本研究提供了猪源人工心包,我们通过动物实验探讨该材料的安全性及可行性。

1 材料与方法

1.1 人工心包的制作

猪源生物型人工心包由广东冠昊生物科技有限公司研制提供,该材料是应用该公司自有专利技术(已获美国专利U.S. P6106555;6231614)把猪心包经过环氧化物(epoxy compound, EC)交联后再进行表面修饰、改性等处理制成,该材料经过中国药品生物制品检定所检测符合人体置入标准。实验前对材料行组织学检查。

1.2 实验动物

中国杂种犬6只,分成3组,每组2只,第1组均为雄性,体质量分别为17.5、23.5 kg,平均20.5 kg; 第2组均为雄性,体质量分别为16.5、26.5 kg,平均21.5 kg;第3组雌雄各半,体质量分别为17.0、26.5 kg,平均21.8 kg。术前常规检疫,左旋咪唑驱虫,肌注犬五联疫苗。

1.3 手术方法

右侧第4、5肋间进胸探查,分离心包表面,显露心包前面及右侧面,切除直径约8 cm近似圆形犬心包,用人工心包进行替换。用4号丝线将人工心包与四周犬正常心包间断缝合。术毕,生理盐水冲洗胸腔,置引流管,24 h拔除引流管。

1.4 观察指标

1.4.1 大体及组织学检查 术后1、2年各解剖2只,大体观察人工心包内膜、外膜情况及人工心包柔韧性及有无钙化增厚;进行组织学检查,镜下观察人工心包的组织学结构及有无钙化和排异反应。余下2只动物拟进行长期观察,以观察人工心包长期置入机体内有无排异、机化等改变。

1.4.2 心脏彩超检查 术后2周、1个月、3个月、6个月及1、2年分别进行心脏彩超检查,观察有无粘连、积液、钙化及破损。

2 结果

2.1 材料组织学检查

经EC处理猪心包胶原纤维及弹力纤维结构完整,内皮层基本消失,纤维组织中有核细胞明显减少。见图1。

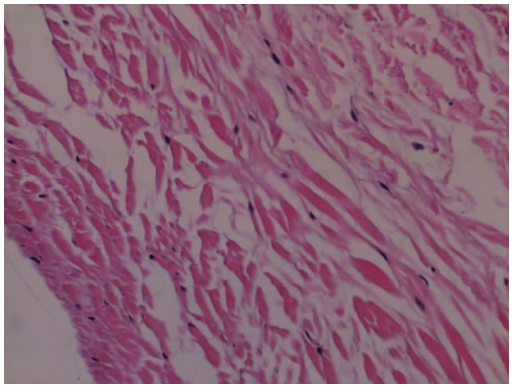
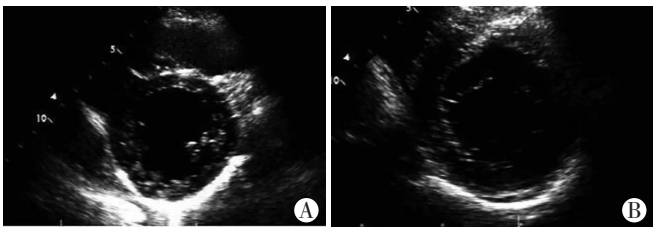


图1 猪心包经EC处理后置入前组织学观察(HE ×200)

2.2 心脏彩超

心脏彩超动态随访观察见图2。只有1只动物术后1个月内发现有少量心包积液,所有的动物未发现人工心包破损、粘连、增厚、钙化及心腔扩大及心脏活动受限等。



A:术后1个月;B:术后2年

图2 猪心包修补犬心包缺损术后随访心脏彩超检查结果

2.3 大体观察

1、2年后分别各解剖2只动物,大体见人工心包内膜表面光滑,与心脏无粘连,外侧面与肺组织粘连,人工心包犬与正常心包内膜光滑连接,无接痕,纤维结缔组织层与正常心包有明显界限。人工心包色泽鲜亮,与正常活性组织相似,质感柔韧。见图3。

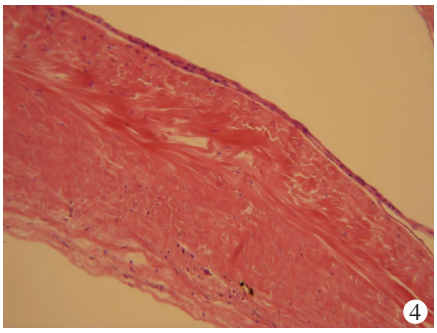
2.4 组织学检查

人工心包内膜1年已完全内皮化,内膜为完整单层上皮细胞,与正常犬心包内膜组织结构相同,光滑无界限。在人工心包纤维结缔组织层内见到新生血管及神经纤维结构,但人工心包纤维组织层有核细胞稀少,纤维组织仍有肿胀、变性。置入后1、2年人工心包组织学观察到的情况基本相似。见图4、5。

3 讨论

近几年,由于对动物组织材料处理方法的改进,使生物材料的组织相溶性、韧性、抗钙化和抗退行性变等作用均有显著提高,这类材料的临床应用也明显增加[12]。图2、3显示用EC处理的猪心包置入犬体内2年,动态观察未发现有破损、增厚、钙化等现象,内表面光滑,心包腔内无粘连,人工心包柔韧而色泽鲜亮,这些特点与正常犬心包的生物学特性非常相似,说明人工心包为心脏提供了非常理想的工作环境。图4、5显示:人工心包内侧新生的间皮细胞内层与犬残留正常





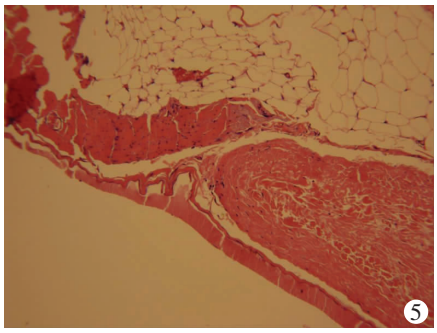


图3 术后2年人工心包大体观察

图4 猪心包修补犬心包缺损术后2年的组织学观察 （HE ×100）

图5 猪心包修补犬心包缺损术后2年人工心包与犬心包交界处组织学观察 （HE ×100）

心包的内膜相延续，两者内膜层组织结构相同，均为单层扁平上皮细胞构成，其交界处内膜平整、光滑无分界线，两者外层均为由弹力纤维和胶原纤维构成的致密纤维结缔组织层，结构相似。以上结构说明人工心包与犬残留心包已形成满意的生物连接，重建的心包腔是一个完全密闭且具有生物活性的腔隙，这种结构为心脏提供了良好的屏蔽作用，可以有效地防止周围致病因素直接侵害。唐承君等[9]曾用GA处理的牛心包和猪心包进行动物实验，也观察到人工心包具有较满意的抗感染、抗钙化等作用。

术后粘连是移植心包失败的主要原因之一，本实验中移植心包2年未产生粘连，分析其原因与该材料良好的生物学特性相关。第一，该材料为致密结缔组织，可阻止心包外组织成分渗入心包腔形成粘连。王顺民等[13]以膨体聚四氟乙烯（expanded polytetrafluoroethylene，ePTFE）作为心包替代材料移植入人体，有效地减轻了心脏的粘连发生，分析原因认为ePTFE的微小孔径有效地防止了心包外组织成分渗入心包腔而减轻粘连，ePTFE是山聚四氟乙烯树脂经特殊拉伸等工艺制成，0.1～0.2 mm厚、0.1 μm孔径的薄膜，0.1 μm孔径能有效阻止细胞及组织成分渗过。谈梦伟等[14]归纳国内外多家研究结果认为心脏直视术中心包的完整性被破坏致组织成分渗入心包腔是引起缩窄性心包炎的重要原因。第二，该材料去除抗原彻底，组织相容性好，无排斥反应发生。机体对材料的免疫排斥是远期产生粘连、退行性变及钙化的重要原因，EC的环氧基具有极高的反应活性，能与猪心包中所含活泼氢原子的基团（如羟基、氨基、羧基及巯基等）结合发生反应[15]，经EC处理的猪心包其细胞成分基本去除，同时去除了相应抗原，并将组织中多肽、糖脂、脂蛋白及脂多糖等具有抗原的成分交联，形成不溶性大分子，封闭其抗原决定簇，EC的这种双重去抗原作用使材料的抗原性去除较彻底[16]。另外EC不仅交联组织多肽链的N端，且同时交联其C端[17]，与GA等其他交联剂相比，经EC处理的生物材料抗原去除更完全，同时也更有效地减少材料对补体激活。第三，该材料置入犬体内后诱导形成了完整的间皮细胞层而产生抗粘连作用。研究认为心包的间皮细胞层具有内分泌功能，可参与激活血浆纤溶酶原活性，降解渗入心包腔内纤维蛋白，有效地抑制纤维性粘连的形成[4]。

生物材料长期置入时常发生钙化和退行性变，最终丧失其功能。理想的生物材料，不但抗原去除彻底，而且要具有一定的生物活性，最终向自身组织转化。图1显示经EC交联的猪心包，其细胞成分基本去除，组织构架完整，纤维结构保持良好，说明其组织学结构与脱细胞组织基质（acellular tissue matrix，ACTM）相近，也就是说该材料可能具有ACTM某些生物特性。Badylak等[18]的研究证明ACTM不但能够诱导创缘细胞长入，也可诱导周围血中的造血祖细胞迁入并增殖。余喜讯等[16]用多聚环氧化物处理猪胸腔血管也观察到相似情况，并认为该组织中保留了某些利于细胞黏附、生长的成分（如生长因子等）。本实验中人工心包内表面形成了完整间皮细胞层，其纤维组织中见到有新生毛细胞血管长入，这些现象提示实验中所采用的材料具有一定的自体化倾向，可望向自身组织转化。

综上所述，本研究中所用生物型人工心包是安全有效的，是一种优质生物材料，值得深入研究。

参考文献：

[1] 张丽，王书美，张连峰. 心包液的活性物质研究进展[J]. 中国比较医学杂志，2009，19(1)：67－71.

[2] 温绍君，王耀宏，王卫梅，等. 心脏病患者心功能与心包液中心钠素和内皮素浓度的关系[J]. 中华心血管病杂志，2000，28(5)：377－378.

[3] Szokodi I, Horkay F, Kiss P, *et al*. Characterization and stimuli for production of pericardial fluid atrial natriuretic peptide in dogs[J]. Life Sci, 1997, 61(14): 1349 - 1359.
[4] Nkere U U, Whawell S A, Thompson E M, *et al*. Changes in pericardial morphology and fibrinolytic activity during cardiopulmonary bypass [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1993, 106(2): 399 - 345.
[5] 许锁春, 夏鹏, 耿希刚, 等. 自体心包修复心血管畸形或病变 850 例报告[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2005, 26(3): 302 - 303.
[6] Allen B S, El-Zein C, Cuneo B, *et al*. Pericardial tissue valves and Gore-Tex conduits as an alternative for right ventricular outflow tract replacement in children [J]. Ann Thorac Surg, 2002, 74(3): 771 - 777.
[7] 姜格宁, 丁嘉安, 张鹏, 等. 心包加镍钛记忆合金支架气管置换术[J]. 中华胸心血管外科杂志, 2005, 21(5): 313.
[8] 曹子昂, 顾旭东, 林海平, 等. 自体心包包裹人工气管修复气管缺损的组织相容性评估[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(14): 2645 - 2647.
[9] 唐承君, 朱晓东, 薛淦兴, 等. 铬复合物处理猪心包的实验研究[J]. 中国循环杂志, 1995, 10(12): 732 - 734.
[10] 刘鹏, 黄胜平, 漆松涛, 等. 生物型人工硬脑膜应用的实验研究[J]. 第一军医大学学报, 2004, 24(11): 1242 - 1244.
[11] 邱炳辉, 方陆雄, 冯文峰, 等. 颅脑损伤术中人工脑膜的应用及方法[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(1): 93 - 95.
[12] 孙浩峰, 梁家立. 牛心包在心脏外科中的应用[J]. 实用心脑肺血管病杂志, 2010, 18(9): 1314 - 1316.
[13] 王顺民, 苏肇伉, 丁文祥. 膨体聚四氟乙烯人工心包膜[J]. 中华小儿外科杂志, 1995, 16(2): 75 - 76.
[14] 谈梦伟, 徐志云. 心脏直视手术后缩窄性心包炎[J]. 国际心血管病杂志, 2010, 37(5): 275 - 278.
[15] 孙曼灵, 吴良义. 环氧树脂应用原理与技术[M]. 北京: 机械工业出版社, 2002.
[16] 余喜讯, 陈槐卿. 多聚环氧化合物处理的猪胸腔动脉性能特征的研究[J]. 四川大学学报: 医学版, 2005, 36(5): 692 - 695.
[17] Noishiki Y, Kodaira K, Furuse T, *et al*. Method of preparing antithrombogenic medical materials: US, 4806599[P], 1989.
[18] Badylak S F, Park K, Peppas N, *et al*. Marrow-derived cells populate scaffolds composed of xenogeneic extracellular matrix[J]. Exp Hematol, 2001, 29(11): 1310 - 1318.

(**收稿**:2011-05-19;**修回**:2011-06-01)
(编辑 冷怀明)

(上接 1501 页)

夹层,手术停止。患者及家属坚持介入治疗,于 2010 年 5 月 6 日再次尝试开通右冠脉,导丝不能进入真腔。患者转上级医院行搭桥手术。手术顺利,随访至今无心绞痛发作。

2 讨论

冠脉造影显示两支冠状动脉慢性闭塞,仅 1 支血管开通,可有严重狭窄,以往被称为仅存单支开放冠状动脉。陈明等[1]报道 10 例仅存单支开放冠状动脉的冠心病(CHD-SPV)的介入治疗,前降支单支开放 6/10,回旋支 2/10,右侧冠状动脉 2/10,其中开放血管给闭塞血管提供 2 ~ 3 级侧支循环的 6 例,提供≤1 级的侧支循环 4 例,只对开放冠状动脉进行介入治疗的 3 例,同时进行闭塞血管介入治疗的 7 例,介入全部成功。与适合左主干支架术的患者相比,单支开放冠状动脉 CHD 患者介入治疗风险相似,但很难达到完全血管重建,故从远期预后和治疗风险考虑,原则上这类患者应首选冠状动脉旁路移植(CABG)[2]。从 SYNTAX 评分分析 CHD-SPV 患者属于积分较高患者(≥33),其病变多较为复杂,选择 CABG 能降低 12 个月主要不良心血管事件(MACE)发生率(PCI 23.4% 比 CABG 10.9%)[3]。对于某些特定情况,如患者及家属拒绝 CABG 并要求进行血管介入治疗、合并严重肺部疾病及脑血管病不能耐受手术、急性心肌梗死合并心源性休克且不能行急诊 CABG,可考虑行介入治疗。术前充分用药,稳定病情,必要时进行主动脉内球囊反搏支持,尽量减少手术时间,注意适可而止。

本例心电图提示左主干病变或前降支近段闭塞。冠脉造影显示回旋支、右冠脉慢性闭塞,前降支中段闭塞(第一对角支予回旋支提供逆灌注),类似于左主干闭塞的急性心肌梗死,急性期死亡率极高,且溶栓治疗往往不能获得满意的再灌注效果。本例合并心源性休克,可能无法耐受 CABG,因而治疗原则上尽可能稳定患者血流动力学状态,同时尽快开通闭塞血管以挽救患者的生命。主动脉内气囊反搏(IABP)是心源性休克、左主干病变介入治疗的一项重要治疗手段。安放 IABP 后在心脏收缩期气囊放气,使外周血管阻力不增加,而在心脏舒张期气囊放气,使冠状动脉灌注压和冠状动脉灌注增加,减轻心脏后负荷。IABP 支持下急诊 PCI 治疗可以挽救部分无保护左主干患者的生命和改善预后[4]。在 IABP 支持下,快速开通前降支并植入支架,患者得以存活。另外右冠脉自身侧支形成、未闭塞第一对角支向回旋支提供逆灌注,也是手术成功的重要解剖支持。支架远段残余狭窄未进行后扩张,复查造影支架内出现再狭窄。患者拒绝行 CABG,尝试开通右冠脉(右优势型)两次失败,患者转行 CABG,近期效果理想。从本例患者治疗经过,总结以下经验:对于仅存单支开放冠状动脉急性闭塞,无急诊 CABG 条件时,IABP 支持续下急诊 PCI 治疗有可能挽救患者,患者病情稳定后尽可能行 CABG 是一种明智的选择。

参考文献:

[1] 陈明, 霍勇, 高炜, 等. 仅存单支开放冠状动脉的介入治疗[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2003, 11(4): 201 - 202.
[2] SoS Investigators. Coronary artery bypass surgery versus percutaneous coronary intervention with stent implantation in patients with multivessel coronary artery disease (the Stent or Surgery trial): a randomized controlled trial[J]. Lancet, 2002, 360(9338): 965 - 970.
[3] Lemesle G, Bonello L, de-Labriolle A, *et al*. Prognostic value of the Syntax score in patients undergoing coronary artery bypass grafting for three-vessel coronary artery disease[J]. Catheter Cardiovasc Interv, 2009, 73(5): 612 - 617.
[4] 陈曦, 土井修, 望守月, 等. 无保护左主干的急诊介入治疗[J]. 中华急诊医学杂志, 2007, 16(4): 369 - 372.

(**收稿**:2011-03-10;**修回**:2011-04-01)
(编辑 栾 嘉)