犬不停跳冠状动脉搭桥模型的构建

赵 亮[1],文 灿[2],孙建森[3],吴杨霄[3],杨爱军[2],张天飞[2],李晓辉[1] (1. 解放军白求恩国际和平医院胸心外科,河北 石家庄 050200;2. 第三军医大学卫勤训练基地医学综合教研室,重庆 40038;3. 第三军医大学基础部人体解剖学教研室,重庆 40038)

[摘 要] **目的** 比较两种不同方法构建不停跳冠状动脉搭桥动物模型,探讨模型构建方法的可行性和优劣性。**方法** 家犬 20 只随机分为头臂干组和降主动脉组,以小口径异种血管为桥血管。左侧第 4 肋间切口入胸,先行头臂干动脉或降主动脉端血管吻合,再行冠状动脉端血管吻合,术毕结扎左冠状动脉前降支近端。**结果** 2 组犬均无术中死亡。头臂干组和降主动脉组主动脉端血管吻合用时分别为(33.9 ± 4.8) min 和(29.6 ± 3.5) min($P < 0.05$),冠状动脉端血管吻合用时分别为(28.5 ± 3.0) min 和(28.1 ± 2.3) min($P > 0.05$),2 组术中出血量分别为(77.5 ± 16.2) mL 和(66.5 ± 12.3) mL($P > 0.05$)。降主动脉组术中侧壁钳夹降主动脉后股动脉血压明显降低,术后 2 只犬出现黑便。**结论** 将小口径异种血管吻合在头臂干动脉或降主动脉均可成功构建犬不停跳冠状动脉搭桥模型;降主动脉组股动脉血压波动大,存在腹腔脏器缺血再灌注损伤;头臂干组血管吻合用时稍长,但术中股动脉血压波动小,模型构建相对更安全。

[关键词] 不停跳冠状动脉搭桥;犬;动物模型

[中图分类号] R654.2;R-332 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2014)01-0036-03

Structure of off-pump coronary artery bypass graft model in dogs

ZHAO Liang, WEN Can, SUN Jian-sen, WU Yang-xiao, YANG Ai-jun, ZHANG Tian-fei, LI Xiao-hui (Department of Thoracic-cardiovascular Surgery, Bethune International Peace Hospital of PLA, Shijiazhuang Hebei 050200, China)

Abstract: Objective To study the feasibility of model building methods by analyzing the advantages and disadvantages between the two different methods to build off-pump coronary artery bypass graft animal model. **Methods** Twenty dogs were randomly divided into two groups: brachiocephalic artery group and descending aorta group. Small-caliber heterogeneous vascular vessels were used as bridge vessels. The incision was in the fourth intercostal space of the left chest. Vascular anastomosis was firstly done between the brachiocephalic artery and bridge vessels, or between descending aorta and bridge vessels, prior to coronary vascular and bridge vessels anastomosis. **Results** The dogs of two groups were not dead during operation. Brachiocephalic artery group and the descending aorta group: aortic vascular anastomosis times were (33.9 ± 4.8) min and (29.6 ± 3.5) min respectively ($P < 0.05$), coronary vascular anastomosis time were (28.5 ± 3.0) min and (28.1 ± 2.3) min respectively ($P > 0.05$). The surgical blood losses of the two groups were (77.5 ± 16.2) mL and (66.5 ± 12.3) mL respectively ($P > 0.05$). After side clamping descending aorta, femoral blood pressure significantly decreased in descending aorta group, and the two dogs had melena after operation. **Conclusion** Off-pump coronary artery bypass graft models were both constructed successfully by the two ways. Descending aorta group of femoral artery blood pressure violently fluctuated and had abdominal organs' ischemia reperfusion injury. Though brachiocephalic artery group anastomosis group spent a little longer time, they had stable artery blood pressure during operation. As a result, the way of constructing animal model of brachiocephalic artery group is safer.

Keywords: off-pump coronary artery bypass graft; dogs; animal model

不停跳冠状动脉搭桥手术具有创伤小、全身炎症反应轻、患者术后恢复快等优点[1],但手术技术难度大、风险高。心外科医生多采用离体心脏进行临床前培训,然而,离体心脏尚不能模拟出在心脏跳动下进行血管吻合的真实状况。与此同时,有望替代自身血管桥的小口径异种血管,能否作为冠状动脉搭桥的桥血管也需明确。因此,探讨构建不停跳冠状动脉搭桥动物模型的可行性方法成为心外科医生和基础研究人员共同关注的问题。犬作为实验动物,其心脏四腔和冠状动脉结构与人相似,可被用作构建急性心肌梗死模型[2-3]。在此基础上,本实验以小口径异种血管为桥血管,采用两种不同方法构建犬不停跳冠状动脉搭桥模型,探讨模型构建的可行性方法。

doi:10.11659/jjssx.1672-5042.201401013

[收稿日期] 2013-05-29 [修回日期] 2013-07-05

1 材料与方法

1.1 材料

健康成年家犬 20 只(第三军医大学实验动物中心提供),体质量 18 ~ 20 kg,随机分为头臂干组和降主动脉组,各 10 只。按实验动物使用的"3R"原则给予人道的关怀。小口径异种血管(第三军医大学人体解剖学教研室提供),直径 3 ~ 5 mm,长 12 ~ 17 cm。戊巴比妥钠注射液(北京化学试剂公司),利多卡

因注射液(华北制药集团制剂有限公司),心脏固定器(北京米道斯公司),动物呼吸机(上海医用电子仪器厂),电生理记录仪(美国 BIOPAC 公司)。

1.2 方法

1.2.1 麻醉与术前准备 术前 12 h 禁食,4 h 禁饮。静脉注射 3% 戊巴比妥钠注射液(30 mg/kg),全身麻醉满意后,左侧胸部祛毛、气管插管。心电监护,右侧股动脉置管监测血压,留置静脉留置针,舌尖置脉搏氧探头。静滴青霉素钠 320 万单位预防感染。取右侧卧位。皮肤消毒、铺单。接麻醉呼吸机,检测呼气末二氧化碳,调整呼吸参数。

1.2.2 手术方法 头臂干组:沿左侧第 4 肋间切开皮肤、皮下及肌层,置开胸器。静脉注射肝素 1 mg/kg 行肝素化。修剪小口径异种血管两端成 45°角。分离、暴露头臂干动脉,远、近端无损伤血管钳阻断。根据桥血管口径,尖刀刺破血管壁全层,取长约 3 ~ 5 mm 的纵行切口。用 6-0 无损伤缝线,将桥血管与头臂干行端侧连续吻合。桥血管侧的针距和边距各为 1.0 ~ 1.5 mm,头臂干侧的边距为 2.0 ~ 2.5 mm,呈放射状。缝合完毕,放开头臂干动脉阻断钳,"哈巴狗"夹闭异种血管,检查吻合口的漏血情况。而后,在膈神经前约 1 cm 处纵行剪开心包,钝性推离壁层胸膜,悬吊心包于胸壁切口。暴露左冠状动脉前降支及其分支,在第 1 分支起点以远,根据冠状动脉直径、肌桥位置和冠状动脉分支的分布情况,确定吻合口的位置。置心脏固定器。剪开左冠状动脉前降支的壁层心包膜,长约 3 cm。游离冠状动脉吻合口的远、近端及分支动脉,套 4 号丝线,两圈,硬质海绵垫置于线圈内。静注利多卡因(1 mg/kg)后,行缺血预处理[4],以减少室性心律失常的发生,增加心肌缺血的耐受性。收紧套线,阻断左前降支及其分支,冠状动脉刀刺破冠状动脉,经破口纵行剪开冠状动脉。冠状动脉的剪开长度与异种桥血管口径相匹配。采用 7-0 无损伤缝线行端侧连续吻合,冠状动脉边距 0.5 ~ 1.0 mm,针距 0.5 ~ 1.0 mm。打结前松开排气。冠状动脉阻断开放前静推利多卡因(1 mg/kg)。检查吻合口有无漏血。结扎冠状动脉近冠状动脉开口端阻断线,阻断自体冠状动脉血流灌注。去除冠状动脉侧支阻断线。逐层缝合胸壁肌层、皮下和皮肤。经第 5 肋间置入胸腔闭式引流管(输液管),接引流瓶。降主动脉组:"U"形血管侧壁钳钳夹降主动脉,尖刀刺破血管壁全层,采用直径 5 mm 的打孔器打孔。连续缝合桥血管和主动脉。主动脉侧的缝针边距为 2 ~ 3 mm,针矩 2 ~ 3 mm。其余步骤同头臂干组。术后心电、血压监测、呼吸机辅助呼吸 6 h,待自主呼吸恢复后去除呼吸机,顺次拔除气管插管。胸腔内无气体溢出后拔除胸腔引流管。生命体征稳定后,送回饲养室观察。术后 3 d 每日肌注青霉素钠 160 万单位预防感染。

1.3 观察指标

犬的存活情况,冠状动脉搭桥术后精神、饮食恢复情况,以及行为是否改变。术中平均股动脉压变化;心率、ST 段及心律变化。血管吻合时间;手术失血量。

1.4 统计分析

本实验对象采用随机分组,数据采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,所有分析采用 SPSS 13.0 统计学软件,2 组犬术前、术后心功能变化比较,使用配对设计 t 检验分析,差异显著性水平设为 $P < 0.05$。

2 结果

2.1 一般情况

2 组术中探查冠状动脉,6 只犬伴有肌桥,5 只犬左前降支均分为两大分支。2 组犬无术中死亡,术后 3 d 正常饮食,未见认知、行动障碍。降主动脉组 2 只犬分别于术后当日及次日出现黑便,口服洛赛克胶囊、云南白药后大便恢复正常。

2.2 手术前后血流动力学变化和心律失常

股动脉血压监测结果:2 组犬术前以及术后 6 h 股动脉血压无显著差异。术中降主动脉组在侧壁钳钳夹降主动脉后,其股动脉压降低显著(表 1)。心电监护示 2 组犬在结扎左冠状动脉前降支后,均出现 ST 段抬高,呈急性缺血表现;搭桥完毕后 ST 段抬高程度减低,伴有室性早搏,静推利多卡因后早搏可明显减少或消失。

2.3 血管吻合时间、阻断时间和术中失血量

主动脉端的血管吻合用时:头臂干组(33.9 ± 4.8)min,长于降主动脉组(29.6 ± 3.5)min,$P < 0.05$。冠状动脉端血管吻合时间无显著差异。头臂干组的失血量(77.5 ± 16.2)mL,多于降主动脉组(66.5 ± 12.3)mL,但无统计学差异($P > 0.05$),见表 1。

表 1 头臂干组和降主动脉组的结果比较($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

组别	股动脉压(mmHg)			血管吻合时间(min)		失血量(mL)
	术前	阻断后	术后	主动脉端	冠状动脉端	
头臂干组	113.8 ± 6.9	104.7 ± 3.4	88.5 ± 4.2	33.9 ± 4.8	28.5 ± 3.0	77.5 ± 16.2
降主动脉组	114.5 ± 4.4	50.5 ± 2.2	87.9 ± 3.9	29.6 ± 3.5	28.1 ± 2.3	66.5 ± 12.3
P 值	0.741	0.000	0.551	0.044	0.606	0.084

3 讨论

构建不停跳冠状动脉搭桥犬模型有助于临床心外科医生掌握冠状动脉搭桥手术的相关技术,如判断冠状动脉的走行、分支及静脉的伴行情况[5];在心脏跳动下分离、阻断冠状动脉;选择吻合部位,体会处理冠状动脉肌桥[6],匹配靶血管的口径与桥血管的切口长度。另外,有助于掌握显微血管缝合的关键技术,如掌握合适的针距、边距和缝合线路,利于体会桥血管与冠状动脉成不同角度的吻合方法。相对于离体猪心脏搭桥模

型[7],不停跳冠状动脉搭桥犬模型具有更逼真的手术场景模拟效果。此外,小口径异种血管作为冠状动脉桥血管具有临床应用前景,目前仍处于研发阶段。虽有报道将小口径异种血管移植到颈动脉进行活体观察[8],然而,桥血管吻合的部位不同,血流状态不同,血管应力反应和生物学反应亦不相同。本文认为采用不停跳冠状动脉搭桥模型研发小口径异种血管可为临床应用提供更具说服力的基础研究数据资料。

本实验采用侧开胸的微创切口,主动脉端的吻合口分别缝合在头臂干和降主动脉起始部。两种方法均可以成功构建不停跳冠状动脉搭桥模型。结果显示头臂干组血管位置深,血管吻合操作难度稍大,血管吻合用时较长。术中虽仅有一侧脑血管供血,但术后观察未见认知和行为异常。然而,降主动脉组侧壁钳夹闭主动脉后,股动脉压明显下降,提示存在较严重的腹腔脏器缺血再灌注损伤。该组术后2只犬因胃肠道缺血再灌注损伤导致便血。因此,本文推荐采用头臂干组的模型构建方法。

以往在构建犬不停跳冠状动脉搭桥动物模型时采用了与人冠状动脉搭桥相同的手术程序。犬的冠状动脉靶血管为正常血管,为避免血流竞争需结扎冠状动脉近端[9]。因此,本实验采用了与人的冠状动脉搭桥不同的手术程序,即先行头臂干或降主动脉端的血管吻合,而后行冠状动脉端吻合。采用这样的血管吻合顺序主要基于以下几方面考虑:首先,简化了操作步骤,避免了反复套线、阻断和开放冠状动脉。其次,先行主动脉端吻合,如吻合口漏血,可通过注水实验明确后修补。还减少了因修补主动脉端吻合口、阻断桥血管血流造成心肌缺血时间延长,减轻了心肌缺血损伤。此外,头臂干或降主动脉重新开放后易造成血流动力学紊乱,先行主动脉端血管吻合,心脏更易承受血流动力学变化。

构建不停跳冠状动脉搭桥模型时,本实验根据建模成本和冠状动脉特点选择实验动物。兔的实验成本低,但是心脏太小,与人的心脏血管相差太远,不宜行冠状动脉搭桥。猪的心脏与人的最为相近,然而冠状动脉分支少、术中死亡率高,需在心脏不停跳下进行搭桥手术,实验成本高。本实验所用犬为其他实验结束拟行安乐死的实验犬,符合"3R"原则,且使动物得到了充分利用,进一步降低了实验成本。犬心脏有与人相似的冠状动脉分支、直径和肌桥分布。此外,犬也有独特的冠状动脉特点:犬冠状动脉侧支粗大,左、右冠状动脉交通支较多,一根冠状动脉伴行两根静脉。在模型构建过程中,心肌缺血再灌注损伤的心电变化常表现为室性心律失常,静推利多卡因是行之有效的抗心律失常措施。

实验不足之处:相对于自体血管,小口径异种桥血管质地稍硬,与真实的血管缝合手感稍有差距,缝合的难度大,导致血管吻合用时较长。此外,从未进行过显微血管外科缝合训练的初学者,构建该模型前,建议首先进行3周、每天8 h静态下的血管显微吻合。否则,构建此模型可能会非常困难。

[参考文献]

[1] 陈晓伟,池一凡,牛兆倬,等. 非体外循环与并行循环不停跳冠状动脉搭桥术炎性因子的比较[J]. 现代生物医学进展,2010,10(21):4082-4086.

[2] 鲁健军,钟佛添,王治平,等. 犬自体心包和同种异体腹膜管道替代冠状动脉搭桥移植血管[J]. 中山大学学报,2004,25(35):102-105.

[3] 张晋煜,蔡 颖,唐 禾,等. 缺氧和氰化钠中毒对犬心电信号及血清AST、ALT的影响[J]. 局解手术学杂志,2011,20(3):263-265.

[4] 赵 亮,杨爱军,李晓辉,等. 缺血预处理制备急性心肌梗死动物模型[J]. 局解手术学杂志,2013,22(1):31-33.

[5] 孙勇新,陆晨希,夏利民,等. 外科治疗冠状动脉解剖异常28例[J]. 复旦学报(医学版),2007,34(4):589-591.

[6] 申 彪,李秀玲,郭志坤,等. 犬左冠状动脉前室间支心肌桥的形态学特征[J]. 解剖科学进展,2006,12(1):44-46.

[7] Schachner T, Bonaros N, Ruttmann E, et al. Training models for coronary surgery[J]. Heart Surg Forum, 2007, 10(4): E248-E250.

[8] 王学宁,陈长志,杨 岷,等. 小口径异种血管作为冠状动脉旁路移植术桥材料的研究[J]. 中国胸心血管外科临床杂志,2006,13(4):247-250.

[9] 马润伟,吴若彬,郭惠明,等. 竞争血流与冠状动脉移植血管的相互作用[J]. 中国胸心血管外科临床杂志,2005,12(5):335-338.

(编辑:余汇洋)

(上接第35页)

[11] 张学军. 纵切横缝加侧方内括约肌切断术治疗慢性肛裂45例体会[J]. 重庆医学,2007,36(6):535.

[12] 陈新静. 纵切横缝术治疗陈旧性肛裂的临床观察[J]. 中国肛肠病杂志,2007,27(9):11-12.

[13] 仲 培. 改良内括约肌侧切术治疗陈旧性肛裂105例疗效分析[J]. 中国社区医师(医学专业),2010,12(22):75.

[14] 王兆春,卢艳君,曾碧娟. 改良纵切横缝术治疗慢性肛裂的临床研究[J]. 海南医学,2013,24(5):673-674.

[15] 石章铁,钟 艳,彭东辉. 改良纵切横缝术治疗慢性肛裂的临床研究[J]. 结直肠肛门外科,2010,16(3):146-148.

(编辑:魏 源)