DOI:10.16016/j.2097-0927.202312083

“锚定结”法小鼠颈部异位心脏移植模型构建及其稳定性测试

李子炫,方易冰,程 伟 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院心脏外科

[摘要] **目的** 在传统 Cuff 法(“袖套”法)血管吻合技术基础上进行改良,优化小鼠颈部异位心脏移植操作步骤、过程,以建立更稳定的小鼠颈部异位心脏移植模型。**方法** 将 6~8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠(体质量 20~24 g)分为实验组(通过“锚定结”法进行小鼠颈部异位心脏移植)和对照组(用传统 Cuff 法进行小鼠颈部异位心脏移植)。记录各项操作步骤时间、血管外翻次数、血管修剪次数、实验失败原因等。术后每天观察、触摸判断小鼠颈部供心存活情况,存活>48 h 为移植成功。术后第 7、14 天 HE 染色观察实验组小鼠吻合血管处组织;第 7 天心肌肌钙蛋白 T(cardiac troponin T,cTnT)染色观察 2 组小鼠供心。**结果** ①实验组共进行 25 只移植,失败 2 只,供心存活率 92%;对照组共进行 25 只移植,失败 8 只,供心存活率 68%。实验组动脉平均外翻 1.16 次,修剪 0.04 次;静脉平均外翻 1.16 次,修剪 0.04 次。对照组动脉平均外翻 2.00 次,修剪 0.21 次;静脉平均外翻 2.28 次,修剪 0.46 次。②实验组、对照组的颈部心脏移植总时间[(77.22±3.82) *vs* (87.49±8.01) min]、分离血管+套管时间[(30.06±2.68) *vs* (36.50±6.67) min]、颈部血管吻合时间[(7.31±1.08) *vs* (12.34±2.58) min]差异有统计学意义($P<0.05$)。③术后第 7 、14 天实验组吻合血管处组织 HE 染色显示血管通畅。④术后第 7 天供心 cTnT 染色情况提示对照组、实验组均无大面积坏死。**结论** “锚定结”法进行小鼠颈部异位心脏移植保证了单人显微操作的稳定、高效,术后供心存活时间长、吻合血管通畅率高、心功能状态好、术后并发症少。

[关键词] 心脏移植;袖套法;小鼠;模型
[中图法分类号] R-332; R617; R654.2 [文献标志码] A

Establishment and stability assessment of mouse cervical heterotopic heart transplantation model with “Anchoring Node”

LI Zixuan, FANG Yibing, CHENG Wei Department of Cardiac Surgery, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To optimize the operational steps and processes in mouse cervical heterotopic heart transplantation by modifying the conventional cuff technique for vascular anastomosis and consequently establish a more stable cervical heterotopic heart transplantation model in mice. **Methods** C57BL/6 male mice (6~8 weeks old, weighing 20~24 g) were categorized into control (conventional cuff technique) and experimental groups (our “Anchoring Node” technique). Time for each surgical step, frequencies of vascular everting and vascular trimming, and the reasons for failure were recorded and compared between the 2 groups. Postoperative survival of heart allograft was determined by daily observation and touching, and the mice with the survival time >48 h were considered as successful model establishment. On the 7th and 14th days after surgery, HE staining was used to observe the pathologic changes in the vascular tissues at anastomosis. The expression of troponin T (cTnT) in the heart on the 7th day was detected with immunofluorescence assay. **Results** ① In the 25 hearts from each group, 2 hearts from the experimental group and 8 from the control group failed, and the survival rate of heart allografts was 92% and 68%, respectively. In the experimental group, arterial and venous everting occurred at an average of 1.16 times, with an average frequency of

[通信作者] 程 伟, E-mail: yjchw@126.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

trimming of 0.04 times, while in the control group, arterial and venous everting was 2.00 and 2.28 times, respectively, with an average frequency of trimming of 0.21 and 0.46 times, respectively. ② Significant differences were observed in the overall duration for cervical heterotopic heart transplantation (77.22±3.82 *vs* 87.49±8.01 min), vascular separation plus cannulation (30.06±2.68 *vs* 36.50±6.67 min), and cervical anastomosis (7.31±1.08 *vs* 12.34±2.58 min) between the experimental and control groups (all $P<0.05$). ③HE staining displayed that vascular patency was observed in the experimental group on the 7th and 14th days after surgery. ④ cTnT staining indicated no massive myocardial necrosis was seen in both groups. **Conclusion** Based on conventional cuff technique for mouse cervical heterotopic heart transplantation, our modified "Anchoring Node" technique ensures the stability and efficiency of one-man microscopic operation with controllable quality, with the advantages of longer postoperative survival of heart allograft, high patency rate of anastomotic vessels, good cardiac function, and fewer postoperative complications.

[**Key words**] heart transplantation; cuff technique; mice; model

Corresponding author: CHENG Wei, E-mail: yjchw@126.com

心脏移植是治疗终末期心力衰竭最有效的方式,但目前心脏移植仍面临很多问题,主要有同种移植供心短缺、术后免疫排斥等,这极大地限制了心脏移植的发展,严重影响患者生活质量及预期寿命。因此,寻求更广泛的供体来源、减轻心脏移植后的排斥反应、甚至诱导免疫耐受是解决上述问题的关键。而动物实验作为其重要的研究手段,可用于同种或异种心脏移植研究、免疫排斥/耐受机制研究、器官保护研究、新型抗排斥药物研发等[1-2]。相较于其他动物,小鼠与人类基因相似度在90%以上,且遗传背景清晰,可使用的生物制剂广泛,有多种基因编辑模型等优势。因此,小鼠是心脏移植免疫排斥等相关研究的理想实验动物。

1973年CORRY等[3-8]首次建立小鼠腹部异位心脏移植模型,具有可重复性强、成本低的优点。但存在手术技术要求高、创伤大、时间长、术后腹腔粘连严重、术后存活率低、不易观测供心存活状态等问题,未得到广泛应用。1991年CHEN等[3-4,9]首次建立小鼠颈部异位心脏移植模型。后来MATSUURA等[4,10-16]成功地将Cuff法("袖套"法)血管吻合技术应用于小鼠颈部异位心脏移植,其优点在于无需血管缝合、可减少手术时间、降低手术操作难度等,但存在需双人操作、较匹配的套管难以获取、血管外翻训练周期长、外翻成功率低(如:血管撕裂、血管滑脱等)等问题[17-20]。本研究通过不断尝试逐步优化操作流程、完善操作方法等改良小鼠心脏移植模型,以提升小鼠颈部心脏移植模型稳定性。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本研究实验动物采用6~8周C57BL/6雄性小鼠,体质量20~24 g,购自陆军军医大学动物实验中心[实验动物生产许可证号SCXK(渝)2022-0011,使用许可证号SYXK(渝)2022-0018]。本研究实验动物的使用严格遵守动物伦理使用规范,获得陆军军医大学实验动物福利伦理委员会批准(AMUWEC20227010)。

1.2 分组

采用简单随机抽样将小鼠分为对照组和实验组($n=25$),实验组使用"锚定结"法进行小鼠颈部异位心脏移植,对照组采用传统Cuff法进行小鼠颈部异位心脏移植。

1.3 手术主要设备及药品

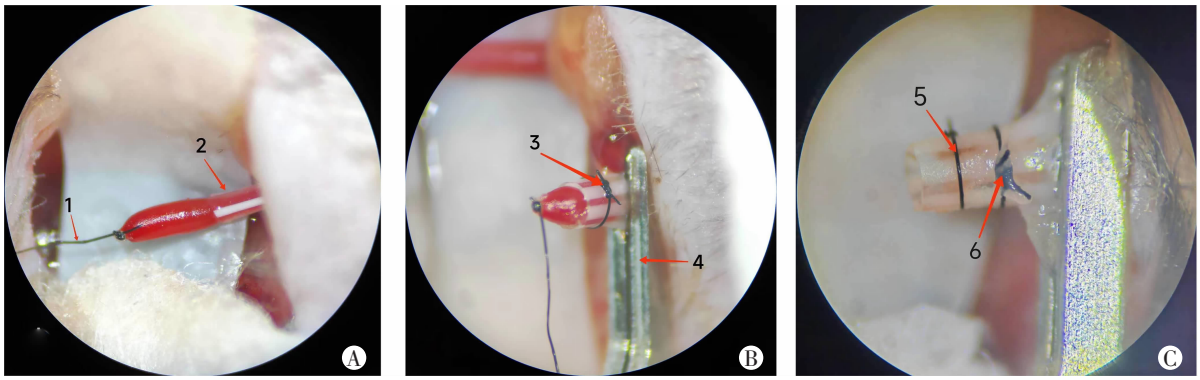
体视显微镜、小动物保温仪、小动物麻醉机购自深圳华阳生物技术有限公司;显微手术器械、异氟烷购自深圳瑞沃德生命科技股份有限公司,7-0、9-0尼龙线购自上海浦东金环医疗用品有限公司,22 G、26 G静脉留置针购自威海洁瑞医用制品有限公司,Del Nido心脏停搏液购自陆军军医大学第一附属医院药剂科。操作前准备:22 G静脉留置针做静脉套管,26 G静脉留置针做动脉套管,9-0尼龙线做预制线圈。

1.4 受体手术方法

1.4.1 麻醉、固定 3%~4%浓度异氟烷诱导受体小鼠麻醉,维持麻醉浓度1%~2%。通过定期评估脚趾挤压退缩反射,确保在整个手术过程中得到充分的麻醉。麻醉成功后,仰卧位,置于保温毯上,固定四肢,消毒,备皮。腹腔注射125 U/mL肝素0.15~0.20 mL。

1.4.2 切皮、游离下颌下腺 右侧颈部横切口,游离并完整切除右侧下颌下腺。实验组将切除的下颌下腺保存于4 ℃生理盐水中备用。对照组无需保存。

1.4.3 分离血管 先游离右侧颈外静脉,远心端至血管分叉处以上,近心端至右侧锁骨上,离断分支血管。再游离右侧颈总动脉,远心端游离至分叉处,近心端至锁骨上。

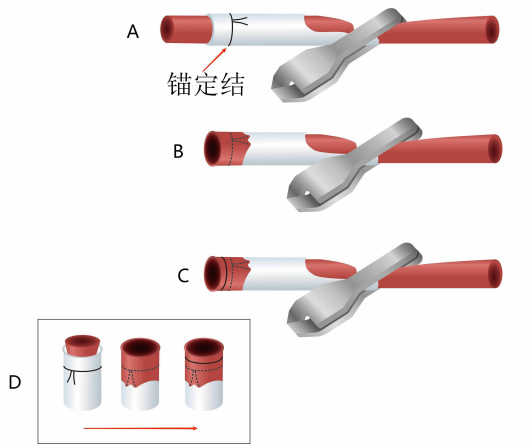


A:放置套管 1:血管牵引线;2:套管;B:阻断血供,制作锚定结 3:锚定结;4:血管夹;C:血管外翻、固定 5:固定线结;6:锚定结及外翻血管壁

图 1 “锚定结”法小鼠颈部异位心脏移植操作步骤直观图

1.4.4 血管结扎 使用 7-0 尼龙线双重结扎颈外静脉远心端,保留近心端一支结扎线做血管牵引线,自双重结扎线间离断颈外静脉。血管牵引线穿过静脉套管(图 1A),血管夹阻断颈外静脉血流(图 1B)。

1.4.5 血管外翻、固定 实验组使用预制线圈在套管上段做一线结(锚定结),修剪线尾使其呈“V”型(图 2A),剪断远心端血管及血管牵引线,125 U/mL 肝素水冲洗血管腔,使用锚定结稳定外翻血管(图 2B),7-0 尼龙线结扎固定(图 1C、2C),同样方法处理颈总动脉。对照组剪断远心端血管及血管牵引线,125 U/mL 肝素水冲洗血管腔后进行血管外翻,7-0 尼龙线结扎固定,同样方法处理颈总动脉。



A:制作锚定结;B:外翻血管(利用锚定结“V”型线尾结构,使外翻血管稳定在套管上);C:外翻血管结扎固定;D:血管外翻过程

图 2 “锚定结”法小鼠颈部异位心脏移植血管外翻、固定操作示意图

1.5 供体手术方法

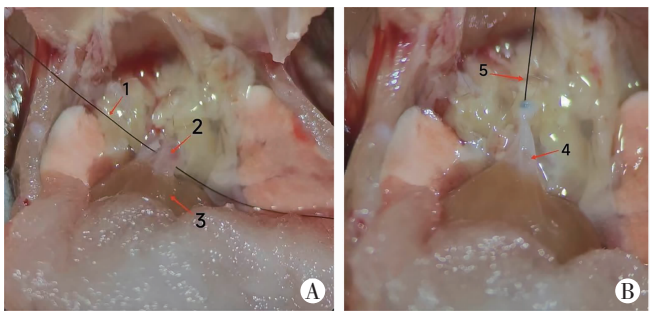
1.5.1 麻醉 供体小鼠腹腔注射 0.2~0.3 mL 浓度 0.3 %戊巴比妥钠。

1.5.2 固定、切皮 麻醉成功后,仰卧位固定,消毒,切皮,上至胸骨上窝,下至膀胱,暴露下腔静脉。

1.5.3 肝素化 自下腔静脉注射 125 U/mL 肝素水 1 mL,1 min 后横断腹主动脉和下腔静脉全身放血。

1.5.4 暴露心脏、心肌保护 “U”型打开胸骨,将整个胸骨上翻后固定,暴露心脏,分离胸腺暴露升主动脉,自主动脉弓处注入 4 ℃心脏停搏液 1 mL,心脏停跳后,用 4 ℃含心脏停搏液的湿棉球或湿纱布覆盖心脏。

1.5.5 供心摘取 7-0 尼龙线集束结扎肺静脉、上下腔静脉。游离升主动脉至主动脉弓处并离断,游离肺动脉至左右肺动脉分叉处(图 3)。实验组:使用 9-0 尼龙线结扎肺动脉后离断,保留一支结扎线留作肺动脉牵引线,于肺动脉侧壁剪一侧口(图 3B、图 4);保留集束结扎线做心脏固定线,离断肺静脉、上下腔静脉等,完整取出供体心脏。对照组:直接离断肺动脉,离断肺静脉、上下腔静脉等,完整取出供体心脏。2 组皆将供心置于 4 ℃的心脏停搏液中轻压心脏排气。

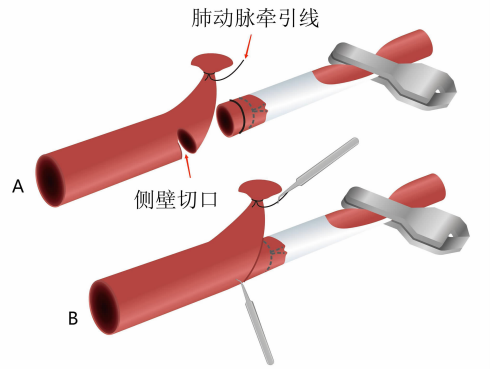


A:放置肺动脉结扎线 1:肺动脉结扎线;2:肺动脉;3:供心;B:结扎、离断肺动脉,做牵引线及侧壁切口 4:肺动脉侧壁切口;5:肺动脉牵引线

图 3 “锚定结”法小鼠颈部异位心脏移植肺动脉游离操作直观图

1.6 供心移植

1.6.1 血管吻合 实验组:用心脏固定线将供心固定于受体小鼠颈部,将预制线圈套入肺动脉。左手牵拉肺动脉牵引线,右手牵拉肺动脉侧口处血管壁,将肺动脉连接于颈外静脉套管处(图 4B),拉紧线圈固定;将预制线圈套入主动脉,将主动脉连接于颈总动脉套管处,拉紧预制线圈固定。对照组:将预制线圈套入肺动脉,双手牵拉肺动脉断端侧壁,将肺动脉连接于颈外静脉套管处,拉紧线圈固定;主动脉-颈总动脉吻合操作同实验组。

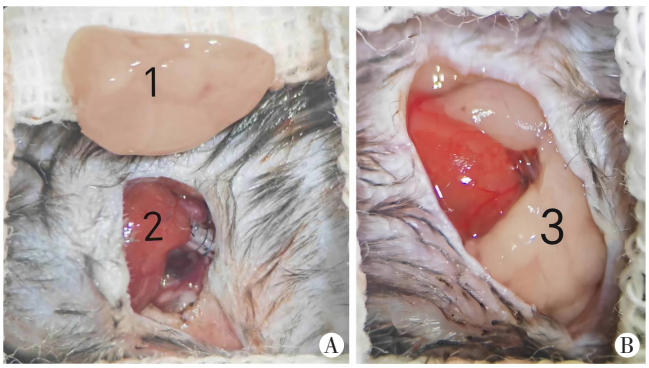


A:肺动脉侧壁切口及肺动脉牵引线操作;B:用肺动脉牵引线将肺动脉套入颈外静脉进行血管吻合

图 4 “锚定结”法小鼠颈部异位心脏移植肺动脉-颈外静脉血管吻合操作示意图

1.6.2 恢复血供 先开放静脉血管夹,再缓慢开放动脉血管夹,可见供心颜色变为鲜红色,并快速复跳。

1.6.3 供心位置固定与缝合 调整供心位置,避免吻合血管扭曲、打折(图 5A)。实验组将受体小鼠自体下颌下腺塑形并回填、包裹吻合血管,填充间隙(图 5B)。对照组无需回填。7-0 尼龙线缝合受体颈部切口。



A:调整后供心位置 可见吻合血管周围间隙;1:下颌下腺;2 供心;B:下颌下腺回填 3:塑形后下颌下腺

图 5 “锚定结”法小鼠颈部异位心脏移植下颌下腺回填直观图

1.7 术后处理与观察

术后给予皮下注射生理盐水 1 mL,单笼饲养,通过视诊和触诊每天观察供体心脏的存活情况,>48 h 为移植成功。术后第 7、14 天采用简单随机抽样选取实验组小鼠,取套管处血管组织做 HE 染色;术后第 7 天 2 组小鼠供心行心肌肌钙蛋白 T(cardiac troponin T,cTnT)染色观察。

1.8 统计学方法

运用 GraphPad Prism 8 进行统计分析,计数资料用频次(%)表示;计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术后 48 h 供心存活率实验组优于对照组

实验组共进行 25 只移植,术后 48 h 供心存活率 92%(23/25)。移植过程失败 2 只,其中开放动静脉后吻合血管出血死亡 1 只,移植过程中受体不明原因死亡 1 只。完成移植后供心全部存活。

对照组共进行 25 只移植,术后 48 h 供心存活率 68%(17/25),失败 8 只。包括移植过程中失败 5 只,其中颈外静脉撕裂 1 只(颈外静脉在血管外翻、套管过程中撕裂,无法完成套管操作),肺动脉撕裂 1 只(肺动脉-颈外静脉吻合过程中血管撕裂,导致吻合失败),吻合血管出血 3 只(开放动静脉后吻合血管出血);完成移植后供心存活<48 h 共 3 只,主要原因为吻合血管扭曲打折。

术后 48 h 供心存活率实验组(92%)要明显优于对照组(68%);并发症发生情况实验组明显少于对照组,移植过程中失败率实验组(8%)小于对照组(20%)。

2.2 动静脉翻转、修剪次数实验组均少于对照组

实验组动脉平均翻转 1.16 次,修剪 0.04 次;静脉平均翻转 1.16 次,修剪 0.04 次。对照组动脉平均翻转 2.00 次,修剪 0.21 次;静脉平均翻转 2.28 次,平均修剪 0.46 次。实验组在血管翻转次数和修剪次数上均少于对照组。

2.3 心脏移植操作时间比较

颈部心脏移植总时间、分离血管+套管时间、颈部血管吻合时间实验组用时明显少于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。2 组取供心时间差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

2.4 实验组术后 7、14 天吻合血管通畅(HE 染色)

术后第 7、14 天实验组吻合血管处组织 HE 染色提示血管壁完整,没有明显损伤、破裂或溃疡。血管壁无明显增厚及纤维化。血管内腔清晰,无明显狭窄或阻塞。血管无血栓形成等病变(图 6)。

表 1 2 组小鼠心脏移植操作时间(min,$\bar{x}\pm s$)

操作时间	实验组(n=23)	对照组(n=20)	t	P
颈部心脏移植总时间	77.22±3.82	87.49±8.01	−5.481	<0.001
分离血管+套管时间	30.06±2.68	36.50±6.67	−4.469	<0.001
取供心时间	24.34±1.51	23.92±2.00	0.820	0.413
颈部血管吻合时间	7.31±1.08	12.34±2.58	−8.743	<0.001

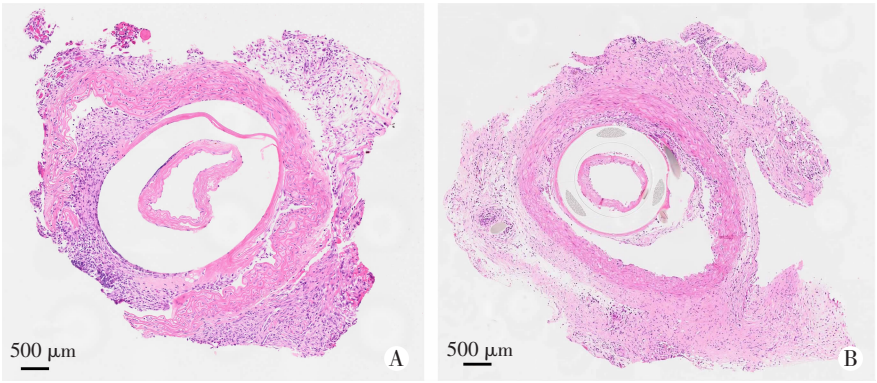


图 6 HE 染色观察“锚定结”法颈部异位心脏移植术后 7(A)、14(B)d 小鼠血管吻合处组织结构

2.5 术后第 7 天 2 组小鼠供心均无无大面积心肌坏死

术后第 7 天供心 cTnT 染色(免疫荧光)情况提示 2 组小鼠均无大面积心肌坏死,心肌细胞存活率高(图 7)。

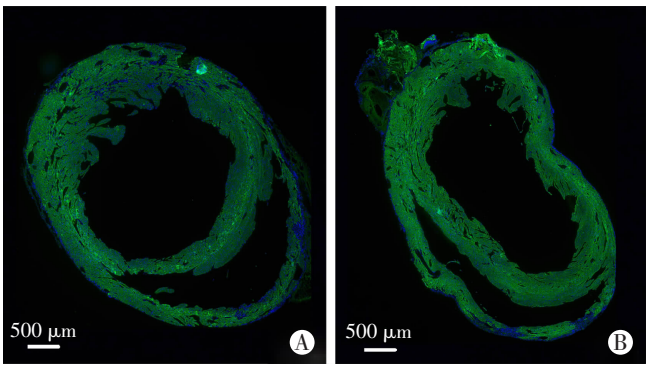


图 7 cTnT 染色观察对照组(A)与实验组(B)“锚定结”法颈部异位心脏移植小鼠术后第 7 天供心组织结构

3 讨论

3.1 小鼠颈部异位心脏移植主要操作难点及改良

在使用传统 Cuff 法(“袖套”法)进行小鼠颈部异位心脏移植过程中,总结血管外翻过程存在的难点:①单人外翻血管过程中稳定外翻血管及结扎固定难以同时进行;②外翻血管容易滑脱,多次外翻血管容易导致血管壁撕裂,以及术后出血、血管夹层形成等并发症。本研究在”袖套”法基础上加入了“锚定结”(图 1B、C,图 2)。采用易获取的尼龙线,在套管上做一线结,保留合适线尾长度使其呈“V”型,原理类似“弓箭头”,制造锚定力量,使外翻血管牢牢稳定于套管上,避免滑脱。在实验组中,分离血管+套管时间短[实验组为(30.06±2.68)min,对照组为(36.50±6.67)min]、血管外翻次数少(动脉平均外翻次数:实验组 1.16 次,对照组 2.00 次;静脉平均外翻次数:实验组 1.16 次,对照组 2.28 次)、血管修剪次数少(动脉平均修剪次数:实验组 0.04 次,对照组 0.21 次;静脉平均修剪次数:实验组 0.04 次,对照组 0.46 次),相较对照组有显著改善,改良方法提升操作效率、提高外翻成功率、减少血管撕裂等风险。

3.1.1 血管吻合过程中存在的难点 ①小鼠肺动脉相较升主动脉薄、短,血管吻合操作时肺动脉血管壁极易撕裂;②肺动脉与静脉套管匹配度差,套管在肺动脉中活动度大,稍有不慎容易造成肺动脉后壁不全结扎,导致开放后吻合血管出血。本研究保留完整的主肺动脉,缝线结扎后,保留结扎线作为肺动脉牵引线,肺动脉侧壁剪开略小于静脉套管直径的切口(图 3B、4A)。使用肺动脉牵引线避免器械牵拉损伤肺动脉壁,同时较小的侧口可保证套管进入后相对稳定,有效避免因结扎不完全导致的出血。该操作可单人实施、成功率高、可重复性强。在操作时间上颈部血管吻合时间实验组明显少于对照组,且实验组肺动脉撕裂数(0 只)、吻合血管出血数(1 只)明显少于对照组肺动脉撕裂(1 只)及吻合血管出血数(3 只)。改良方法可有效减少血管吻合操作时间,吻合后出血等并发症发

生率降低。

3.1.2 保证吻合血管通畅要点 为保证移植后供心长期、稳定的存活,吻合血管通畅是基本要求,在实际实验中:①小鼠右侧下颌下腺摘除及软组织游离后,颈部空间相对较大,供心具有活动度,特别是吻合血管缺乏有效支撑(图 5A),血管容易打折,甚至扭曲,从而导致供血或回流障碍。②小鼠苏醒后头颈部活动以及抓挠等行为,同样容易发生供心移位导致吻合血管扭曲、打折。通过反复实验发现,在血管吻合完成后,将摘除的右侧下颌下腺塑形、回填于吻合血管周围,可包裹、固定吻合血管,降低供心活动度,术后由于腺体的保护(图 5B),从而尽可能避免小鼠抓挠等行为造成吻合血管扭曲、打折,保证供心的动脉供血及静脉回流稳定。术后实验组吻合血管扭曲、打折(0 只)数明显少于对照组(3 只),且术后取材时观察到吻合血管周围被下颌下腺组织紧密贴附,该方法可有效减少术后血管扭曲、打折情况发生,术后供心存活率高。

3.1.3 小鼠颈部异位心脏移植操作关键点 ①游离受体颈部血管时血管长度要足够,以防止血管外翻造成血管撕裂时也可有足够长度血管进行修剪,避免因血管长度不足造成实验失败。②开放静脉血管夹前可适当去除部分套管固定臂,以防后期固定臂处压迫血管导致血管扭曲、打折等,造成血液回流不畅。③在经主动脉弓处注入心脏停搏液时,尽量缓慢推注,避免心脏过度充盈,造成供心主动脉瓣膜损伤。④摘取供心后,放入 4 ℃停搏液中轻压心脏排气、排血,避免气泡等进入供心,造成心肌梗死等。⑤在集束结扎肺静脉、上下腔静脉时,应尽量远离供心处结扎,避免造成心脏形态改变。⑥肺动脉侧壁做切口时注意与颈外静脉套管匹配,过大吻合血管时容易滑脱,过小可能撕裂肺动脉。⑦吻合血管时先吻合肺动脉-颈外静脉,再吻合主动脉-颈总动脉,这样可以避免因肺动脉短、主动脉长而造成肺动脉-颈外静脉血管吻合困难和吻合后血管扭曲、受压。

3.2 *研究意义及局限性*

小鼠异位心脏移植模型因技术要求高、操作难度大、学习曲线长等因素,导致其难以被广泛应用。本研究在传统 Cuff 法("袖套"法)基础进行改良,通过对显微血管外翻套管操作、吻合操作及吻合血管保护等进行技术改良,保证了单人显微操作的稳定、高效,操作过程可控。小鼠颈部异位心脏移植模型术后供心存活时间长、吻合血管通畅率高、术后并发症少,小鼠颈部心脏移植模型的稳定性得到提升,可推广性较强。但本研究存在一定局限性:本研究初步证明了"锚定结"法相较传统 Cuff 法("袖套"法)在操作效率、移植成功率等方面具有优势,但未针对移植术后供心心功能状态做进一步研究;针对下颌下腺回填效果,样本量较少,未来需要更多的样本量来提高研究的可靠性和有效性。

参考文献:

[1] LI W J, SHEPHERD H M, KRUPNICK A S, *et al*. Mouse heterotopic cervical cardiac transplantation utilizing vascular cuffs[J]. J Vis Exp, 2022(184): 10.3791/64089. DOI: 10.3791/64089.

[2] LI C, QI F, LIU T, *et al*. Improved cuff technique for establishing a mouse-rat heterotopic cardiac xenotransplantation model[J]. Transplant Proc, 2015, 47(6): 2026-2031. DOI: 10.1016/j.transproceed.2015.02.028.

[3] 何莹, 宫念樵. 心脏移植动物模型的构建[J]. 实用器官移植电子杂志, 2016, 4(2): 88-92. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2016.02.008.
HE Y, GONG N Q. Construction of animal model of heart transplantation[J]. Pract J Organ Transplant Electron Version, 2016, 4(2): 88-92. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2016.02.008.

[4] 刘一纬, 杨鹏杰, 魏起友. 小鼠颈部异位心脏移植模型的初步探索[J]. 医学研究杂志, 2023, 52(2): 71-75. DOI: 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.02.014.
LIU Y W, YANG P J, WEI Q Y. Preliminary exploration of mouse cervical heterotopic heart transplantation model[J]. J Med Res, 2023, 52(2): 71-75. DOI: 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.02.014.

[5] CORRY R J, WINN H J, RUSSELL P S. Primarily vascularized allografts of hearts in mice[J]. Transplantation, 1973, 16(4): 343-350. DOI: 10.1097/00007890-197310000-00010.

[6] 宋少华, 徐春扬, 郭猛, 等. 小鼠腹部异位心脏移植模型的建立与改进[J]. 第二军医大学学报, 2018, 39(3): 280-284. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2018.03.0280.
SONG S H, XU C Y, GUO M, *et al*. Establishment and improvement of abdominal heterotopic heart transplantation model in mice[J]. Acad J Second Mil Med Univ, 2018, 39(3): 280-284. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2018.03.0280.

[7] 李皓, 孔钢诚, 庄权, 等. 小鼠心脏移植模型手术过程改进与经验总结[J]. 中华移植杂志(电子版), 2018, 12(1): 34-38. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-3903.2018.01.008.
LI H, KONG G C, ZHUANG Q, *et al*. Improve the procedure of heart transplantation in mice and summarize the previous experience[J]. Chin J Transplant Electron Ed, 2018, 12(1): 34-38. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-3903.2018.01.008.

[8] LIU F C, KANG S M. Heterotopic heart transplantation in mice[J]. J Vis Exp, 2007(6): 238. DOI: 10.3791/238.

[9] CHEN Z H. A technique of cervical heterotopic heart transplantation in mice[J]. Transplantation, 1991, 52(6): 1099-1101. DOI: 10.1097/00007890-199112000-00035.

[10] RATSCHILLER T, DEUTSCH M A, CALZADA-WACK J, *et al*. Heterotopic cervical heart transplantation in mice[J]. J Vis Exp, 2015(102): e52907. DOI: 10.3791/52907.

[11] MATSUURA A, ABE T, YASUURA K. Simplified mouse cervical heart transplantation using a cuff technique[J]. Transplantation, 1991, 51(4): 896-898. DOI: 10.1097/00007890-199104000-00031.

[12] MAO X, XIAN P, YOU H, *et al*. A modified cuff technique for mouse cervical heterotopic heart transplantation model [J]. J Vis Exp, 2022(180). DOI: 10.3791/63504.

[13] FUKUNAGA N, BISSOONDATH V, RAO V. Submandibular gland-preserving technique for heterotopic cervical heart transplantation in mice[J]. Transplantation, 2018, 102(11): e464-e465. DOI: 10.1097/TP.0000000000002395.

[14] MA Y H, XIE B Y, DAI H L, *et al*. Optimization of the cuff technique for murine heart transplantation[J]. J Vis Exp, 2020(160). DOI: 10.3791/61103.

[15] OBERHUBER R, CARDINI B, KOFLER M, *et al*. Murine cervical heart transplantation model using a modified cuff technique[J]. J Vis Exp, 2014(92): e50753. DOI: 10.3791/50753.

[16] TAN L, XIE X B, XU Y N, *et al*. Skills to perform vessel eversion in mouse cervical cardiac transplantation with cuff technique[J]. Braz J Cardiovasc Surg, 2021, 36(3): 318-322. DOI: 10.21470/1678-9741-2020-0125.

[17] PLENTER R J, ZAMORA M R, GRAZIA T J. Four decades of vascularized heterotopic cardiac transplantation in the mouse[J]. J Invest Surg, 2013, 26(4): 223-228. DOI: 10.3109/08941939.2012.755238.

[18] TOMITA Y, ZHANG Q W, YOSHIKAWA M, *et al*. Improved technique of heterotopic cervical heart transplantation in mice[J]. Transplantation, 1997, 64(11): 1598-1601. DOI: 10.1097/00007890-199712150-00017.

[19] WANG Q X, LIU Y S, LI X K. Simplified technique for heterotopic vascularized cervical heart transplantation in mice [J]. Microsurgery, 2005, 25(1): 76-79. DOI: 10.1002/micr.20082.

[20] FUKUNAGA N, BISSOONDATH V, RAO V. Custom-made clamp facilitating stabilization of cuffs in murine heterotopic cervical heart transplantation[J]. Transplantation, 2019, 103(4): e62-e63. DOI: 10.1097/TP.0000000000002582.

(**收稿**:2023-12-15;**修回**:2024-02-22)

(编辑 李 玥)