

·实验研究 Experimental research·

卵圆孔未闭动物模型的制备

高力明, 宗书峰, 游晓华, 徐荣良, 秦永文

【摘要】 目的 探讨采用经皮房间隔穿刺和球囊扩张法制备犬卵圆孔未闭 (patent foramen ovale, PFO) 动物模型的可行性。**方法** 采用 22 只健康成年犬, 经皮房间隔卵圆窝穿刺、球囊扩张术制备犬 PFO 模型, 对其中 2 只犬的卵圆窝穿刺点进行病理学等检查。**结果** 22 只犬均成功进行房间隔卵圆窝穿刺和球囊扩张术, 右房造影可见对比剂由右房进入左房, 成功建立了犬 PFO 模型。完成房间隔卵圆窝穿刺及球囊扩张平均用时 (25.1 ± 5.1) min, X 线曝光时间平均 (5.8 ± 1.6) min。穿刺前右心房平均压为 (1.9 ± 0.8) mmHg, 穿刺后测得左心房平均压为 (2.5 ± 0.7) mmHg。对 2 只犬的心脏大体观察见心包膜完整; 房间隔卵圆窝缺损分别为 $5 \text{ mm} \times 6 \text{ mm}$ 和 $6 \text{ mm} \times 6 \text{ mm}$, 缺损周边均见少量淤血, 未见血栓附着, 余心内膜均完整。**结论** 经皮穿刺犬的房间隔卵圆窝、球囊扩张方法制备 PFO 模型可行。

【关键词】 卵圆孔未闭; 房间隔穿刺; 动物模型; 实验研究

中图分类号: R541.1 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2012)-12-1011-04

The preparation of patent foramen ovale model in dogs GAO Li-ming, ZONG Shu-feng, YOU Xiao-hua, XU Rong-liang, QIN Yong-wen. Department of Cardiology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Corresponding author: QIN Yong-wen, E-mail: ywqin1@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate the feasibility of establishing animal model of patent foramen ovale (PFO) in dogs by percutaneous atrial septal puncture and balloon dilation. **Methods** A total of 22 healthy adult dogs were selected for this study, The PFO models were established by percutaneous puncture of the atrial septa and balloon dilation of the fossa ovalis. Two dogs were randomly selected and sacrificed, and the tissues of fossa ovalis around the punctured site were removed for pathological examination. **Results** The percutaneous puncture of the atrial septa and balloon dilation of the fossa ovalis were successfully carried out in all the dogs. Angiography of the right atrium performed immediately after the procedure showed that the contrast medium flew from the right atrium into the left atrium in all dogs, indicating that PFO models were successfully established. The mean time for the performance of percutaneous puncture of the atrial septa and balloon dilation of the fossa ovalis was (25.1 ± 5.1) min. The mean X-ray exposure time was (5.8 ± 1.6) min. Before puncturing the atrial septa the mean pressure of the right atrium was (1.9 ± 0.8) mmHg, which was increased to (2.5 ± 0.7) mmHg after puncturing the atrial septa. Gross examination of the heart samples from the two sacrificed dogs showed that the cardiac pericardium was intact. The size of the fossa ovalis defect in the two dogs was $5 \text{ mm} \times 6 \text{ mm}$ and $6 \text{ mm} \times 6 \text{ mm}$ respectively. A little amount of ecchymosis was observed around the fossa ovalis defect, and no attached thrombus formation was observed. The rest part of the endocardium was well intact. **Conclusion** It is feasible to establish PFO model in dogs by percutaneous atrial septal puncture and balloon dilation. (J Intervent Radiol, 2012, 21: 1011-1014)

【Key words】 patent foramen ovale; atrial septal puncture; animal model; experimental study

为了评价新型左盘无铆型卵圆孔未闭(PFO)封

堵器的安全性、可行性和有效性,选择合适的实验动物作为动物模型尤为关键。犬的心脏解剖学形态与人类较接近,因此,可以采用犬制备 PFO 动物模型。本实验设计采用经皮房间隔卵圆窝穿刺和球囊扩张方法制备 PFO 动物模型,并对穿刺点进行病

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2012.12.011

作者单位: 200433 上海 第二军医大学长海医院心内科

通信作者: 秦永文 E-mail: ywqin1@yahoo.com.cn

理、生理学研究,明确该方法建立犬 PFO 动物模型的可行性和安全性,为新型 PFO 封堵器的顺利置入打下基础。

1 材料和方法

1.1 动物准备

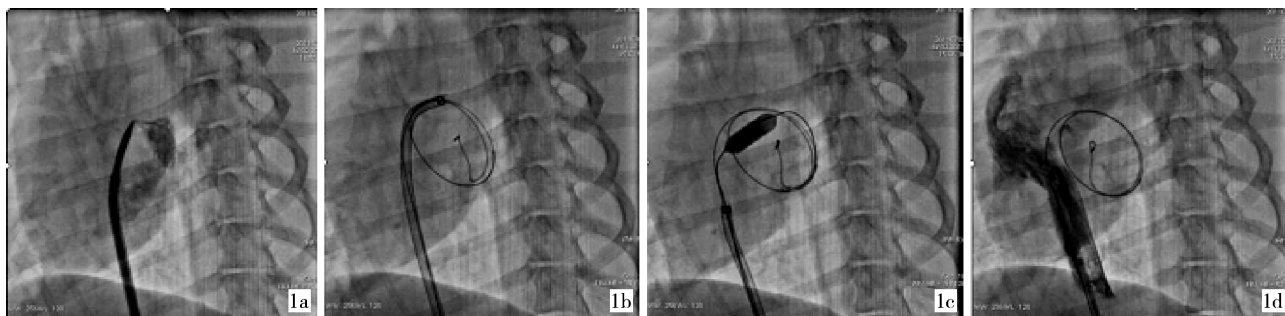
健康成年杂交犬 22 只,雌雄不限,体重 18.60 ~ 23.50 kg,平均 (20.91 ± 1.48) kg,由上海市奉贤区实验动物饲养中心提供。实验犬以氯胺酮 10 mg/kg、地西泮 0.3 mg/kg 肌注麻醉。

1.2 房间隔卵圆窝穿刺及球囊扩张术

犬双侧腹股沟区常规消毒、铺巾,右侧腹股沟处股动脉内侧 3 ~ 4 mm 处穿刺股静脉,插入 7 F 动脉鞘管行预扩张。经鞘管送入 0.032 英寸 \times 260 cm 导引导丝至上腔静脉,退出动脉鞘管,X 线透视下沿导丝送入 8 F 房间隔穿刺鞘管及扩张鞘管至上腔静脉,退出导丝后经扩张鞘管腔内送入房间隔穿刺针。后前位 X 线透视下将鞘管尖端指向 4 点钟方向,同时缓慢回撤房间隔穿刺鞘管和穿刺针,当鞘管前端呈现“点头感”,于右前斜位(right anterior oblique, RAO)45°及左前斜位(left anterior oblique, LAO)45°分别定位。RAO 45°时穿刺鞘管尖端位于右心缘前方 1/2 ~ 3/4 个椎体宽度;LAO 45°时鞘管尖端应最大弯曲指向左侧。上述 3 个体位分别定位后,于 RAO 45°X 线透视下向前推送房间隔穿刺鞘管,使之进入卵圆窝顶部陷窝并紧贴房间隔组织,

然后固定房间隔穿刺鞘管并作向前推送房间隔穿刺针 2 ~ 5 mm,使房间隔穿刺针经卵圆窝顶部陷窝膜状组织刺入左心房。穿刺针突破房间隔卵圆窝组织时可出现突破感或落空感,此时接注射器回抽如见鲜红色血液回流,提示穿刺针已进入左心房,DSA 下注射少许对比剂可见对比剂迅速弥散入左心房^[1-2]。此时固定穿刺针,推送扩张鞘管使其远端进入左房,末端超出穿刺针尖端 1 ~ 2 mm,再推送穿刺鞘管进入左心房,固定扩张鞘管,退出穿刺针后经扩张鞘管送入左心房钢丝,左心房钢丝前端在左心房内弯曲 2 ~ 3 圈,防止鞘管脱出或进入过高过深致左房壁损伤或穿孔、心脏压塞^[3]。再退出穿刺鞘管内芯,予肝素 100 u/kg 由鞘管内注入。经穿刺鞘管送入 0.014 英寸 \times 190 cm 导引导丝至左心房,作为预扩球囊的导引钢丝,沿该导丝送入 7 mm \times 20 mm 预扩球囊至左心房内,回撤穿刺鞘管至右心房,经穿刺鞘管送入猪尾造影导管至右心房内,然后回撤球囊使其横跨于卵圆窝,行右心房造影确认球囊准确位置。球囊系统接压力泵,以 8 atm \times 20 s 扩张卵圆窝。退出球囊和 PTCA 导丝,再次进行右心房造影,在球囊扩张处可见少量对比剂由右心房进入左心房,提示犬 PFO 模型建立成功。退出猪尾导管和房间隔穿刺鞘管。仅 2 只犬退出左心房钢丝,退出 7 F 动脉鞘管,穿刺点予包扎。余 20 只犬保留左心房钢丝,见图 1。

1.3 主要观察和对比指标



1a 穿刺针刺破卵圆窝进入左心 1b 左心房钢丝和穿刺鞘管均位 1c 预扩球囊扩张卵圆窝穿刺点 1d 球囊扩张后右心房造影显示少量对比剂进入左心房
房,“冒烟”后左心房、左心室、升主动脉相继显影

图 1 犬房间隔卵圆窝穿刺和球囊扩张制备卵圆孔未闭模型过程

1.3.1 制备犬 PFO 模型的成功率 术后即刻评价经皮房间隔卵圆窝穿刺、球囊扩张制备犬 PFO 模型的成功率、并发症、操作时间和曝光时间。

1.3.2 术中动态压力监测 犬房间隔卵圆窝穿刺前测定右心房压力,穿刺至左心房后,穿刺鞘管头端位于左心房内,测定左心房压力。

1.3.3 心脏大体标本观察及测量卵圆窝缺损大小 术后 2 h 将退出鞘管的 2 只实验犬处死,迅速开胸即刻分离心脏,观察心脏大体标本及测量房间隔卵圆孔缺损大小。

1.3.4 组织学检查 经生理盐水反复冲洗,去除心腔内残留血液,留取卵圆窝缺损周围心肌组织 2

块,以 4%多聚甲醛固定液固定 24 h,常规石蜡包埋、切片,苏木精-伊红(HE)染色。

1.3.5 心电图检查 术前行肢体导联心电图检查,术中持续心电监护,观察心率及有无心律失常。

1.4 统计学处理

应用 SPSS16.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 制备犬 PFO 模型的成功率

22 只犬均成功进行了房间隔卵圆窝穿刺和球囊扩张术,成功建立了犬 PFO 模型。实验中有 4 只犬因体位不正,使定位时 RAO 45°和 LAO 45°非理想体位,影响定位的准确,导致穿刺针偏离房间隔的卵圆窝,推注对比剂时见心肌染色。发现后及时回撤穿刺针至右心房,重新操作,后前位下透视观察犬双侧肋骨及脊柱位置,调整 C 臂角度,以此为校正后后前位角度,再次穿刺卵圆窝,随后进行球囊扩张,最终建立犬 PFO 模型成功,建模成功率为 100%。完成房间隔卵圆窝穿刺及球囊扩张共用时 20.5 ~ 46.4 min,平均 (25.1 ± 5.1) min, X 线曝光时间 4.5 ~ 12.5 min,平均 (5.8 ± 1.6) min。

2.2 术中动态压力监测

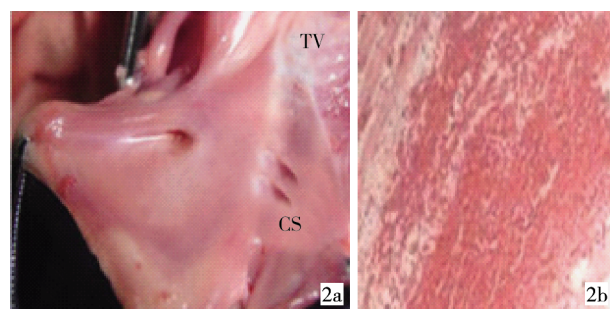
22 只犬穿刺前右心房平均压为 (1.9 ± 0.8) mmHg,穿刺后测得左心房平均压为 (2.5 ± 0.7) mmHg。

2.3 心脏大体标本观察及卵圆窝缺损大小测量

取得 2 只犬的心脏大体标本,外观正常,心包膜完整;房间隔卵圆窝缺损分别为 5 mm × 6 mm 和 6 mm × 6 mm,缺损周边均见少量淤血,未见血栓附着,余心内膜均完整,见图 2a。

2.4 组织学检查

卵圆窝缺损周围组织经 HE 染色,光镜下可见缺损周围心内膜下大量红细胞聚集(图 2b)。



2a 心脏大体标本见卵圆窝缺损位于 2b 卵圆窝缺损周围心内膜下大量红细胞聚集

图 2 犬卵圆孔未闭模型心脏大体标本及病理检查(HE, × 20)

2.5 心电图检查

22 只犬术前肢体导联心电图检查均未见明显异常。术中持续心电监护可见行卵圆窝穿刺时心率增快,未见明显的心律失常。

3 讨论

PFO 是指出生后卵圆孔瓣未能充分闭合卵圆孔,从而导致心房水平分流的一种心脏畸形。胎儿时期卵圆孔是正常循环途径,由于胎儿时期右心房压力高于左心房,心房水平分流是由右心房至左心房,卵圆孔瓣在左心房内,出生后由于肺循环建立,肺动脉压下降,左心房压大于右心房压,血流压迫卵圆孔瓣贴附于卵圆孔处,使卵圆孔闭合。出生后 1 年卵圆孔瓣出现纤维素附着而永久性闭合,如果 3 岁后仍保持潜在的心房间通道则称为 PFO^[4-5]。出生后由于各种病变,导致右心房压始终高于左心房,或者左心房扩大,卵圆孔内径增大,卵圆孔瓣无法遮盖卵圆孔,导致 PFO,出现心房水平分流。

随着对 PFO 临床意义认识的不断深入,PFO 的介入封堵治疗及封堵器的研制成为目前结构性心脏病领域的研究热点之一^[6-7]。随着双盘封堵装置广泛应用于治疗房间隔缺损,这些装置也被用于 PFO 的介入封堵中^[8]。由于 PFO 与房间隔缺损在解剖上有所不同,成功建立 PFO 动物模型将有助于新型 PFO 封堵器的研制和动物实验研究。

房间隔位于左、右心房之间,居于右心房后部偏左,与额面和矢状面均呈 45°夹角,房间隔呈长方形,其中下 1/3 处为卵圆窝。卵圆窝的面积约占房间隔总面积的 1/5,中心部很薄,厚约 1 mm,卵圆窝组织由原发隔组成,除卵圆窝外的房间隔主要由继发隔组成,心房肌较多,因此卵圆窝是房间隔穿刺的最佳部位^[9-10]。

卵圆窝大小不一,其右侧面凹成窝状,左侧面则轻度突出于左心房内。卵圆窝位于主动脉根部下后方,后缘靠近右心房游离壁,前下方为冠状窦和右心房(右房室瓣)环隔侧。房间隔穿刺时,当穿刺鞘管和穿刺针一起从上腔静脉向下缓慢回撤至右心房的同时顺时针旋转指向左后下方,从下往上看为时钟 4 点的位置。继续向下缓慢回撤时,顶端越过主动脉根部的隆突向右移动而与脊柱影重叠。再向下回撤时鞘管顶端突然向左侧移位,即滑进卵圆窝,推送穿刺针即可刺入左心房内。有 25% ~ 29% 成人正常心脏,原发隔与继发隔并未融合,二者之间残留一潜在的缝隙通路,此时穿刺房间隔往往

不用出针,直接用穿刺鞘即可弹入左心房^[4-5]。因此,房间隔卵圆窝穿刺的位置是 PFO 模型的理想位置^[10]。

在建立结构性心脏病动物模型的研究中,我们发现猪、犬等动物的心脏与人类心脏较为接近^[11-12]。因此,可用犬作为实验动物建立 PFO 动物模型。虽然,犬卵圆窝的解剖学位置与人类相近,但是犬的心脏较小,在房间隔穿刺技术上要求更为严格,以避免并发症的发生。为使犬卵圆窝穿刺后原发隔与继发隔之间出现的机械性分离形成或接近于裂隙状通道,本研究采用球囊扩张进一步增大卵圆窝穿刺孔的直径^[13]。实验中应用 7 mm 球囊缓慢扩张犬的卵圆窝穿刺点,术后 2 个心脏大体标本分别可见 5 mm × 6 mm 和 6 mm × 6 mm 的缺损,右心房造影可见对比剂由右心房进入左心房。尽管穿刺和球囊扩张所形成的缺损不同于解剖学上的狭小裂隙,但理论上具备了反常性栓塞、偏头痛、神经性减压病等 PFO 常见合并症的必需条件之一。

22 只犬中有 4 只犬在房间隔卵圆窝穿刺过程中出现对比剂心肌染色,在重新调整穿刺角度后获得成功,未发生严重心律失常、心脏压塞或心脏破裂等并发症。一旦出现穿刺位置偏低或偏高,或球囊扩张时压力上升过快,均可能出现卵圆窝撕裂或心包填塞。因此,充分掌握和熟悉心脏影像解剖以及房间隔穿刺术基本要领尤为重要。

由于实验中使用的穿刺鞘、穿刺针、球囊等器械是按照人类心脏结构特点进行的设计,应用到犬的心脏上,其长度、角度等规格可能会影响 PFO 模型的建立。需要术者操作时加以注意。

[参 考 文 献]

[1] Croft CH, Lipscomb K. Modified technique of transseptal left

heart catheterization [J]. J Am Coll Cardiol, 1985, 5: 904 - 910.

[2] 马长生,董建增,刘旭,等.右前斜 45°透视指引下房间隔穿刺术方法学评价 [J]. 中国介入心脏病学杂志, 2003, 11: 190 - 193.

[3] McGinty PM, Smith TW, Rogers JH. Transseptal left heart catheterization and the incidence of persistent iatrogenic atrial septal defects [J]. J Interv Cardiol, 2011, 24: 254 - 263.

[4] Hagen PT, Scholz DG, Edwards WD. Incidence and size of patent foramen ovale during the first 10 decades of life: an autopsy study of 965 normal hearts [J]. Mayo Clin Proc, 1984, 59: 17 - 20.

[5] Homma S, Tullio MD. Patent foramen ovale and stroke [J]. Circulation, 2010, 121: 134 - 141.

[6] Martin F, Sánchez PL, Doherty E, et al. Percutaneous transcatheter closure of patent foramen ovale in patients with paradoxical embolism [J]. Circulation, 2002, 106: 1121 - 1126.

[7] Meier B. Closure of patent foramen ovale: technique, pitfalls, complications, and follow up [J]. Heart, 2005, 91: 444 - 448.

[8] Khairy P, O'donnell CP, Landberg MJ. Transcatheter closure versus medical therapy of patent foramen ovale and presumed paradoxical thromboemboli: a systematic review [J]. Ann Intern Med, 2003, 139: 753 - 760.

[9] Han YM, Gu X, Titus JL, et al. New self-expanding patent foramen ovale occlusion device [J]. Catheter Cardiovasc Interv, 1999, 47: 370 - 376.

[10] 姜卫剑,肖湘生.卵圆孔未闭动物模型的建立 [J]. 中华放射学杂志, 2007, 41: 413 - 416.

[11] 张杨杨,王永武,张惊,等.猪心脏房间隔解剖参数测定 [J]. 实验动物与比较医学, 2007, 27: 244 - 245.

[12] 朱玉峰,黄新苗,白元,等.介入法建立犬房间隔缺损模型的应用解剖和操作要点分析 [J]. 介入放射学杂志, 2010, 19: 635 - 638.

[13] Steiner MM, Di Tullio MR, Rundek T, et al. Patent foramen ovale size and embolic brain imaging findings among patients with ischemic stroke [J]. Stroke, 1998, 29: 944 - 948.

(收稿日期:2012-06-02)

(本文编辑:侯虹鲁)