

· 论 著 ·

兔两种体外循环模型建立的实验研究

张祖列¹, 林菁艳², 闵 苏³, 董蒲江³

(1. 武警重庆总队医院麻醉科 400061; 2. 川北医学院附属第一医院麻醉科, 四川南充 637000;
3. 重庆医科大学附属第一医院麻醉科 400016)

摘要:目的 研究兔经胸与非经胸式两种体外循环(CPB)模型的建立,为 CPB 脑、肺、肝及肾等重要脏器损伤的基础研究提供经济、合适的模型。方法 将兔随机分成经胸组(A组)与非经胸组(B组),每组各 15 只,分别建立 CPB,转流时间 1h,术中及停机后进行有创动脉压、ECG 监测和血气分析。结果 A、B 组均成功建立 CPB 模型,CPB 期间血流动力学、动脉血气指标正常。停 CPB 后,心血管和呼吸功能顺利恢复。同 A 组相比,B 组在 CPB 5、60min,CPB 结束后 60min,拔出气管导管后 4 个时间点红细胞压积(Hct)降低较少($P<0.05$);心率(HR)、平均动脉压(MAP)波动小($P<0.05$)。另外,B 组建模所需时间、麻醉剂(乌拉坦)使用量也比 A 组低($P<0.05$),建模成功率较高(B 组 93.3%,A 组 73.3%)。结论 A、B 组建立兔 CPB 模型均成功,但 B 组建立 CPB 模型操作较简单,更经济适用,是进行 CPB 基础研究的理想模型。

关键词:动物模型;体外循环;兔

中图分类号:

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2009)22-2841-03

Two models of extracorporeal circulation experiment on rabbits

ZHANG Zu-lie¹, LIN Jing-yan², MIN Su³, et al.

(1. Department of Anesthesiology, Chongqing Corps Hospital of Armed Police Forces, Chongqing 400061, China;

2. Department of Anesthesiology, First Affiliated Hospital, Chuanbei Medical College,

Nanchong, Sichuan 637000, China; 3. Department of Anesthesiology, First Affiliated Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To make research in the extracorporeal circulation model of chest-opening and non-chest opening with rabbits to find more economical, applicable models for basic research in injuries of such important organs as brain, lung, liver and kidney in CPB. **Methods** Thirty rabbits were divided into 2 groups randomly: group A (chest-opened) and group B (non-chest-opened). CPB is performed in each group for 1h. In and after the performance, test and analysis of arterial pressure, ECG and blood gas were made. **Results** CPB model was successfully established in both group A and group B, in the CPB process, indexes of haemodynamics and arterial blood gas were normal. After it, normal heart blood vessel and respiratory function were restored. Compared with group A, at the four time points of CPB 5min, CPB 60min, 60min after CPB and after the endotracheal catheter was drawn, hematocrit lowered less ($P<0.05$); heart rate and mean arterial pressure fluctuated less ($P<0.05$). Besides, it needed less time and ethyl-carbamate than group A ($P<0.05$), and was more successful in establishing the model (group B 93.3% > group A 73.3%). **Conclusion** CPB model can be successfully established both in A and B, but B is more easily performed, more economical and applicable, and thus the more ideal model for basic research in CPB.

Key words: animal model; extracorporeal circulation; rabbit

体外循环可对脑、肺、肝等重要脏器造成损害,其机制仍未得到阐明,这需要一种理想的动物模型从细胞和基因水平进行研究。本实验通过颈动、静脉插管分别建立兔经胸与非经胸式两种体外循环(CPB)动物模型,比较其优劣,试图找出最能满足围 CPB 期多脏器损伤及其机制的基础研究所需要的理想模型。

1 材料与方

1.1 动物分组 成年新西兰白兔 30 只(重庆医科大学动物中心提供),雌雄不限,体质量(3.12±0.35)kg。随机分成经胸组(A组)、非经胸组(B组),每组 15 只。术前 6h 禁食禁饮。

1.2 仪器设备 GD-771 血泵(广州东方红医疗器械厂),TKR-200 小动物呼吸机(江西省特力麻醉呼吸设备公司),HX-10555 恒温循环器(北京四环科学仪器厂),婴、幼儿膜肺,S648 恒温水浴箱(上海医疗器械厂),循环式水泵,自制腔房引

流管(由内径 3.5~5.0mm 静脉输液管制成,前端刻有 1~2 个侧孔),气管导管(内径 3.5~4.0mm),18G 套管针作为动脉灌注管,表式血压计改装用于监测平均动脉压(MAP),温度计测定肛温,自制水柱表监测中心静脉压(CVP),MAP、CVP 插管分用 7、9 号头皮针塑料管,转流管道从婴幼儿 CPB 管道中选取等。

1.3 预充 CPB 预充采用无血预充,共 75mL。由乳酸林格液 45mL、贺斯 26mL 及甘露醇 4mL 组成。

1.4 经胸与非经胸式两种 CPB 动物模型建立 (1)非经胸式 CPB 模型建立:实验兔术前禁食 6h,自由饮水,术前 30min 肌注阿托品 0.02mg/kg,穿刺耳缘静脉,建立静脉通道,并固定。采用 20%乌拉坦(用 0.9%NS 现配)按 0.75~1g/kg 静脉注射麻醉后,仰卧固定于小动物手术台上,气管切开插管,使用小动物呼吸机辅助呼吸,吸入纯氧,呼吸频率 36~45 次/分。麻醉

表 1 各时间点血气分析、血流动力学及肛温变化($n_A=14, n_B=11, \bar{x} \pm s$)

指标	组别	CPB 5min	CPB 60min	CPB 结束后 60min	拔出气管导管后
PaO ₂ (mm Hg)	A 组	200.10±89.8	271.20±60.2	147.90±54.2	100.90±12.6
	B 组	202.40±91.5	275.30±64.2	145.20±53.1	102.80±10.5
PaCO ₂ (mm Hg)	A 组	34.20±5.0	38.80±4.9	42.50±5.1	47.10±5.6
	B 组	33.10±4.9	37.90±5.2	41.30±5.7	46.10±6.3
pH 值	A 组	7.36±0.02	7.32±0.03	7.37±0.05	7.29±0.04
	B 组	7.38±0.05	7.35±0.03	7.40±0.04	7.34±0.03
碱剩余	A 组	-0.80±0.04	-2.23±1.69	-1.81±2.50	-1.60±1.51
	B 组	-0.76±2.50	-2.18±1.76	-1.63±2.47	-1.49±1.41
Hct(L/L)	A 组	0.31±0.03	0.29±0.03	0.27±0.02	0.25±0.03
	B 组	0.36±0.03*	0.34±0.04*	0.33±0.03*	0.30±0.02*
心率(次/min)	A 组	320.00±15.00	301.00±24.00	324.00±17.00	331.00±13.00
	B 组	301.00±17*	273.00±21*	280.00±18*	315.00±12*
MAP(mm Hg)	A 组	59.00±4.3	65.00±5.4	84.00±5.4	91.00±6.7
	B 组	51.00±3.9*	56.00±4.9*	75.00±6.2*	80.00±5.9*
CVP(cm H ₂ O)	A 组	6.10±1.9	6.50±2.1	9.00±2.1	8.50±1.7
	B 组	6.30±2.5	6.70±1.9	8.70±1.8	8.30±1.5
肛温(°C)	A 组	36.80±0.4	36.50±0.3	36.80±0.3	37.00±0.2
	B 组	36.90±0.3	36.80±0.5	37.20±0.2	37.10±0.1

* : 与 A 组比较, $P < 0.05$ 。

期间可酌情采用乌拉坦 1/3~1/2 静注维持麻醉深度。经右股动脉插入 7 号头皮针塑料管, 后接动脉测压表; 剪开左颈外静脉插入 9 号头皮针塑料管。再游离出右颈总动、静脉, 并双重过线, 然后分别结扎头侧缝线。肝素化后 (500IU/kg), 采用 18G 套管针经右颈总动脉逆行插入作为动脉灌注管, 经右颈总静脉将合适内径 (3.5~5mm) 的静脉引流管插入右心房, 再分别用近心端缝线妥善固定。随后转流开始。转流量为 90~120mL·kg⁻¹·min⁻¹, 转流开始时灌注流量约为 50mL·kg⁻¹·min⁻¹, 逐渐加到约 90~120mL·kg⁻¹·min⁻¹。转流过程中 MAP 保持 55~75mm Hg。转流开始后即应用循环式水泵注意保温。(2) 经胸式 CPB 模型建立: 转流以前的操作同上, 转流开始后, 沿胸骨正中开胸, 暴露心脏, 肛温降至 30°C 时, 将主动脉阻断 30min, 同时于阻断钳近端插入灌注针, 灌注 St. Thomas II 型心脏停搏液 (15~20mL/kg)。由于兔主动脉干较短, 且在肺动脉下方, 加之心脏搏动, 主动脉干暴露仅约 1cm, 因此, 插入灌注针时一定要小心仔细, 防止灌注针脱出致兔出血死亡。

1.5 指标监测 转流过程中监测心率、MAP、CVP 和肛温; 根据血气分析结果调整电解质和酸碱平衡。血气分析造成的失血需加入等量贺斯补充。停机后呼吸、血压、心率稳定达到 2h 视为存活。

1.6 统计学方法 采用 SPSS11.5 软件进行统计分析, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 实验前、后自身对照和组间对照采用 t' 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 A 组 15 只兔中 1 只死于泵管打折致灌注失衡, 血压剧烈波动, 心跳骤停; 1 只死于兔主动脉插入灌注针失败致兔出血死亡; 2 只死于心脏复跳失败。其余 11 只均顺利建立 CPB。B

组 15 只兔中仅有 1 只死于 CPB 建立过程中的出血。其余 14 只均顺利建立 CPB。两组兔在 CPB 过程中, MAP 和 CVP 均在正常范围内, 平均转流时间 (60±5)min, 转流过程中各时相血气分析结果均在正常范围。CPB 后, A 组在呼吸机辅助呼吸 (21±4)min、B 组辅助呼吸 (43±3)min 后均能顺利脱机。期间血压和心率平稳, 无异常情况发生。A、B 两组兔脱机后根据 MAP、CVP、心率及尿量变化, 给予适量多巴胺或补液, 维持生命体征平稳。建模持续 2h 以上, 则认为兔 CPB 模型完全成功。

2.2 A、B 组均成功建立 CPB 模型, CPB 期间血流动力学、动脉血气指标正常, 停 CPB 后, 心血管和呼吸功能顺利恢复。同 A 组相比, B 组在 CPB 5、60min, CPB 结束后 60min, 拔出气管导管后 4 个时间点红细胞压积 (Hct) 降低较少 ($P < 0.05$); 心率、MAP 波动小 ($P < 0.05$)。而 PaO₂、PaCO₂、pH 值、碱剩余、CVP 和肛温的变化不大 ($P > 0.05$); 另外, B 组建模所需时间、麻醉剂 (乌拉坦) 使用量也比 A 组低 ($P < 0.05$), 建模成功率较高 (B 组为 93.3%, A 组为 73.3%)。见表 1、2。

表 2 各组建模所需时间、建模成功率及乌拉坦使用量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	建模所需时间 (min)	建模成功率 (%)	乌拉坦使用量 (g)
A 组	201±13	73.3	5.4±0.3
B 组	180±15*	93.3	4.6±0.5*

* : 与 A 组比较, $P < 0.05$ 。建模所需时间指麻醉开始到实验结束拔出气管导管后这段时间。

3 讨 论

有文献报道 CPB 可对大脑、肺、肝等重要脏器造成损害, 临床上表现为 CPB 术后神经系统并发症 (如脑卒中及精神障

碍)、肺水肿及肺不张、肾功能衰竭等。这些损伤往往不能被核磁共振或 CT 所发现,其机制仍未得到阐明,这需要从细胞和基因水平进行研究。作者建立兔 CPB,旨在为 CPB 术后多脏器损伤,尤其脑损伤病理生理及其保护机制研究提供经济、适用的动物模型。

目前 CPB 动物模型主要选用犬、猪、羊等大型动物^[1-3],而兔模型报道较少。兔 CPB 模型大多采用腹主动脉灌注及右心房插管引流,操作繁琐,容易出血,且影响心脏复跳,成功率低^[4]。基于此,本实验比较建立了兔经胸和非经胸两种 CPB 模型,发现非经胸 CPB 模型操作简单,不易出血,且心脏不停跳,冠脉循环存在,有利于心肌保护;不开胸,减少了肺损伤。因而,建模成功率高(93.3%)。

本实验采用体外插管法建立兔非经胸 CPB 模型,创伤小,操作相对简单,关键步骤是心房-腔静脉引流。如果颈静脉插管方向不正确或用力不当或插管过深,可导致引流管穿破腔静脉或心脏从而导致实验失败。避免此类失误在于熟悉心脏位置和腔静脉走向,而且操作手法要轻柔。另外,转流开始适当调整引流管深度和方向,使腔房引流完全,这从动脉波形得到证实,如果引流不充分,则动脉波形仍为搏动性,血压不降甚至升高,此时为部分 CPB;如果引流充分,则为完全 CPB,虽然有心脏搏动,但动脉波形近乎直线,动脉压迅速降低。而心房-腔静脉引流充分的先决条件是选好引流管,于洋等^[5]认为所选引流管内径不得小于 4mm,本实验发现,有的兔虽然体重较重,其颈内静脉内径可能较小,因此,本实验把引流管内径定为 3.5~5.0mm,并间隔 0.5mm 制作一根引流管,根据术中情况选择合适的导管。CPB 转流时,转流量一定,但转速可因泵管内径、血泵型号的不同而产生较大差异。因此,转流量不能看

血泵显示的流量,应事先认真地测定泵管每转流量,根据转速计算流量,调整转速。另外,CPB 刚开始时,转速一定要控制好,避免过快排空右心房血液,致灌-引失衡,导致发生不可逆转的并发症。其他,如兔的体质量小,应尽量减少预充量,本实验婴儿膜肺的预充量仅 75mL。CPB 管道应尽可能的细、短。术中应根据 MAP、CVP 等监测指标及时调整灌注流量,必要时给予升压药维持循环稳定。

总之,兔非经胸 CPB 可模拟临床 CPB,模型建立可靠,同经胸 CPB 模型相比,其对血流动力学的干扰较小,不开胸,操作简便且建模所需时间短,成功率高,经济可行,并可以长期存活,因而更适用于 CPB 术后多脏器损伤,尤其脑损伤病理生理及其保护机制的基础研究。

参考文献:

- [1] 赵赞,胡克俭,杨改生,等.犬的体外循环模型建立和管理[J].中国体外循环杂志,2004,4:217.
- [2] 邢建洲,杨辰垣,于君,等.猪体外循环模型用于脑保护研究[J].医学研究生学报,2002,4:312.
- [3] 周成斌,庄建,陈奇梅,等.胎羊心脏转流模型的建立[J].中华实验外科杂志,2003,20:852.
- [4] Kim WG, Moon HJ, Won TH, et al. Rabbit model of cardiopulmonary bypass[J]. Perfusion, 1999, 14(2):101.
- [5] 于洋,叶明,夏求明.兔体外循环模型的建立[J].中国胸心血管外科临床杂志,2003,2:151.

(收稿日期:2009-05-29 修回日期:2009-06-20)

(上接第 2840 页)

泌和旁分泌效应促进血管新生,在缺血组织中表现为血管趋向成熟,毛细血管和动脉密度增高;从而促进组织工程骨的血管化,使组织工程骨植入体内后迅速建立良好的血供,并在成骨的早期促进骨缺损区的成骨细胞及成软骨细胞增殖、分化,加快软骨岛的形成和钙盐的沉积,有利于骨愈合。组织学观察证实,复合了 EPCs 的组织工程骨能完成早期血管化,在骨愈合的早期提高了组织工程骨的成骨活性,有效地促进了大段骨缺损的修复重建。同时,EPCs 和 BMSCs 均来自于同一动物的骨髓,无免疫排斥的问题,为临床应用提供了实验基础。

参考文献:

- [1] Stahl A, Wu X, Wenger A, et al. Endothelial progenitor cell sprouting in spheroid cultures is resistant to inhibition by osteoblasts: a model for bone replacement grafts [J]. FEBS Lett, 2005, 579(24):5338.
- [2] Mastrogiacomo M, Corsi A, Francioso E, et al. Reconstruction of extensive long bone defects in sheep using resorbable bioceramics based on silicon stabilized tricalcium phosphate [J]. Tissue Eng, 2006, 12(5):1261.
- [3] Andreas HZ. Tissue engineering of angiogenesis with autologous endothelial progenitor cells [J]. Curr Opin Bio-

tech, 2004, 15(5):424.

- [4] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis [J]. Science, 1997, 275(5302):964.
- [5] Arpornmaeklong P, Kochel M, Depprich R, et al. Influence of platelet-rich plasma (PRP) on osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells. An in vitro study [J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2004, 33(1):60.
- [6] Niagara MI, Haider HK, Ye L, et al. Autologous skeletal myoblasts transduced with a new adenoviral bicistronic vector for treatment of hind limb ischemia [J]. Vas Surg, 2004, 40(4):774.
- [7] Friedrich EB, Walenta K, Scharlau J, et al. CD34⁻/CD133⁺/VEGFR-2⁺ endothelial progenitor cell subpopulation with potent vasoregenerative capacities [J]. Cir Res, 2006, 98(3):20.
- [8] 吴雪晖,谢肇,许建中,等.放射性骨显像在组织工程骨修复骨缺损实验中的应用. [J]. 重庆医学, 2007, 36(9):777.

(收稿日期:2009-09-18)