文章编号:1000-5404(2005)01-0081-02

技术方法

大鼠体外循环动物模型的建立

Establishment of rat model of cardiopulmonary bypass

商宏伟,肖颖彬,刘 梅,倪海峰 (第三军医大学新桥医院心血管外科,重庆 400037)

提 要: 目的 建立大鼠体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)动物模型。**方法** 选用体质量 350 ~ 500 g 的 SD 大鼠 10 只,经颈动、静脉插管建立 CPB,并且自行设计改进 CPB 环路元件,检测血流动力学指标和血气变化。**结果** 成功建立大鼠 CPB 动物模型,CPB 中血流动力学稳定,氧合器氧合性能完全符合 CPB 标准要求。**结论** 采用本方法建立的大鼠 CPB 模型操作简单、安全、经济实用,是进行 CPB 基础研究的理想模型。

体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)动物模型目前多采用大动物,如猪、狗、羊、猫和兔等,但是其价格较贵,并且杂种动物间个体差异大,而纯种的小动物价格便宜,个体差异小,可以增强实验的准确性和可信性。但是由于其体质量小,手术操作困难,心血管系统比较脆弱,所以小动物的 CPB 模型建立不易,成功率低。我们尝试改进相关的技术设备,建立经济实用、操作简便可靠的大鼠 CPB 模型,以期能够满足 CPB 基础研究的需求。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康成年雄性清洁级 Sprague-Dawley (SD)大鼠(第三军医大学新桥医院实验动物中心提供)10 只,体质量 350 ~ 500 g,平均(424 ± 70)g。术前 6 h 禁食水。

1.2 仪器设备

体外循环滚压式血泵(丹麦 polystan A/S, Denmark),配套的硅胶泵管内径 4 mm;大鼠专用膜式氧合器(表面积 0.10 m^2)和热交换器(均由西安西京医疗器械公司定制);变温水箱(Sarns, Ann Arbor, Michigan48103,美国)。体外转流管道由硬塑料管组成、颈静脉插管为 18 G 一次性静脉留置针替代(BD Intima-Ⅱ integrated catheter),平均动脉压测压管和动脉灌注管均为 22 G 的一次性静脉留置针。贮血器由 20 ml 空针筒代替。表式血压计改装后用于监测平均动脉压(mean arterial pressure, MAP),温度计测定肛温。气管插管由 8 号婴儿胃管代替;小动物呼吸机(浙江大学医疗仪器厂)。微量泵(B Braun, Melsungen AG Germany TYP:8714827)。

1.3 预充

预充液总量 30 ml,其中氧合器和热交换器一共 20 ml,其它管道 10 ml。成分:新鲜的同种大鼠血液 10 ~ 15 ml(术前由 1 只大鼠的颈动脉穿刺抽取并肝素化)、血定安 10 ml、乳酸林格液 8 ml、5%碳酸氢钠 2 ml、20%甘露醇 2 ml、肝素钠 150 IU/kg。

1.4 手术方法

1.4.1 动物麻醉 术前 30 min 皮下注射阿托品 0.03 mg/kg。10%乌拉坦溶液 10 ml/kg 腹腔注射麻醉,手术过程中根据情况追加。大鼠仰卧固定于实验操作台上。气管切开插管,呼吸机内空气吸入,呼吸频率 70 次/min,吸呼比为 1:2,潮气量 16 ~ 20 ml/kg。

1.4.2 CPB 建立 经左侧股动脉插入 22 G 套管针后接动脉测压表;游离出左颈动脉、右侧颈静脉,并双重过线,然后分别结扎头侧缝线。经右颈静脉注射肝素钠 300 IU/kg 肝素化。采用 22 G 静脉留置针经左颈动脉逆行插入作为动脉灌注管;经右颈静脉将 18 G 静脉留置针穿刺直至右心房水平作为静脉引流管,借助重力引流静脉血入位于大鼠心脏平面下约 40 cm 的贮血器,经变温器变温,氧合器氧合后通过血泵灌注入左颈动脉。各部分妥善固定,连接管道后开始转流。转流开始时灌注流量约为 35 $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$,逐渐增加到 90 ~ 100 $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$,平均流量为(85.0 ± 12.5)$ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$。转流开始后停止呼吸机辅助呼吸,氧合器供氧($FiO_2$ 100%),氧流量与灌注流量比值保持在 0.8 ~ 1.0,建立并行体外循环。转流过程中动脉压保持在 55 ~ 60 mmHg(1 kPa = 7.5 mmHg)。转流开始后即应用变温水箱注意保温,转流稳定后将肛温逐渐降至约 32.0 ℃,转流 45 ~ 60 min 后逐渐复温,肛温达到约 37.0 ℃后停止 CPB。恢复机械通气,待自主呼吸平稳后撤离呼吸机。

1.4.3 检测指标 CPB 转流过程中持续监测心率、MAP 和肛温;根据动静脉血气分析结果调整电解质和酸碱平衡,维持 pH 值在 7.3 ~ 7.5,BE 在 - 3 ~ 3 mmol/L。由血气分析造成的失血需要加入相当数量的血定安补充。转流过程中根据静脉引流情况调整流量,满足灌注要求。呼吸机参数调节使得大鼠的气道峰压维持在 8 ~ 12 cmH_2O。撤机后血压、心率稳定达到 2 h 视为存活。

1.5 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS11.0 软件进行 t 检验。

2 结果

10 只大鼠中 1 只死于 CPB 建立过程中的出血,2 只在左颈

作者简介:商宏伟(1972 -),男,辽宁省朝阳市人,博士研究生,主治医师,主要从事体外循环病理生理学方面的研究,原工作于天津市解放军第 254 医院心胸外科。电话:(023)68774607

通讯作者:肖颖彬,电话:(023)68755607

收稿日期:2004-03-22;修回日期:2004-11-11

动脉插管时出血被迫结扎后改行右股动脉插管建立 CPB。其余 7 只均顺利建立 CPB，CPB 过程中平均动脉压和静脉压均在正常范围，转流时间平均为(61±7)min，降温复温过程中未出现心律失常等情况。转流过程中各时相血气分析结果均在正常范围(表 1)。CPB 结束后平均呼吸机辅助呼吸时间为(17±9) min。血压和心率随肛温的变化而相应变化，未出现明显的波动($P<0.05$)。实验中动物血流动力学稳定，氧合器氧合性能完全符合满意 CPB 标准。

呼吸、血压和心率在撤离呼吸机后 2 h 内保持稳定则认定为存活，本实验其余 9 只大鼠均存活。

表 1 各时相血气分析、血流动力学以及肛温结果($\bar{x}\pm s$)

转流时相	PaO_2(mmHg)	$PaCO_2$(mmHg)	pH	BE	HCT(%)	HR(次/min)	MAP(mmHg)	肛温(℃)
CPB 5 min	209.1±94.3	33.4±5.2	7.37±0.03	−0.89±2.46	26±5	324±19	92±12	36.8±0.3
复温开始	281.5±67.6	36.5±4.9	7.34±0.05	−2.37±1.89	21±2	228±24	67±20	31.7±1.6
CPB 结束	147.6±56.8	42.7±6.8	7.41±0.06	−1.46±2.65	20±1	319±41	97±26	37.1±0.8
撤离呼吸机	103.0±9.8	46.8±5.9	7.35±0.02	−1.36±1.32	21±3	347±56	79±10	37.0±0.4

PaO_2：动脉氧分压；$PaCO_2$：动脉血二氧化碳分压；BE：碱剩余；HCT：红细胞压积；HR：心率；MAP：平均动脉压

3 讨论

深入探讨 CPB 的病理生理学变化及其机制离不开适合的动物模型。实验动物模型的选择是否妥当，是研究成败的关键。目前常用的主要是大动物的 CPB 模型，如狗、牛、羊、猪、和兔等。但是大动物模型操作繁琐，对人员、设备和经济条件要求较高，所以多年来人们一直在探索用小动物来建立操作简便、经济实用的 CPB 动物模型[1,2]。我们通过改进相应的设备建立了稳定的大鼠 CPB 模型。因为大鼠的体质量小，操作困难，术中术后不易管理，所以我们实验早期几只动物成功率不高，但是随着经验的积累，成功率明显提高。我们认为只要熟练掌握操作技术，简化操作过程，即可顺利建立模型。应用本方法建立的大鼠 CPB 模型操作简单不易出血，可获得满意的灌注指标，转流成功率高。

成功的经验：①手术操作：插管一定要固定确切。本组实验一开始就因为经验不足，插管脱落导致大鼠出血死亡。我们采用 18 G 静脉留置针经过左颈动脉逆行插入作为动脉灌注管，操作简单，节省时间，效果确切，并得到有效的灌注流量保证。如果颈动脉插管未获成功，可以改用股动脉插管进行灌注。②静脉引流通畅是成功建立 CPB 模型的关键：颈静脉引流管必须有足够大的内径方可满足回流的需要。所选插管的壁尽可能地薄，软硬适中，过软则引流不畅，过硬容易刺穿血管壁，并可能造成心脏及大血管的显著移位。另外颈静脉的壁较之动脉壁更薄，并且分离过程中受刺激极易挛缩，在实验过程中避免过度刺激，必要时局部应用罂粟碱，促进血管扩张，并且采用 18 G 的静脉留置针进行穿刺插管直至右心房水平，能够获得充分的静脉引流。本组实验中无 1 例因静脉引流不佳导致失败，证明了经颈静脉-右心房插管的可行性。③血泵和氧合器是转流环路中关键的设备，应事先认真准确地标定泵管每圈的流量，根据转速计算流量。以往采用的鼓泡式氧合器预充量较大，并且产生明显的溶血[3]。而我们定制的大鼠专用膜式氧合器避免了上述问题，取得较好的实验效果。CPB 管道尽量地细、短，定制的大鼠专用的氧合器和热交换器预充量仅为 20 ml，既能满足氧合需求，又保证了最小的预充量，是模型建立成功的另一关键。大鼠总体血容量小，为了避免过度的血液稀释，在预充液中加入同种大鼠新鲜血液，可以提高 HCT 水平。CPB 过程中用于进行指标分析的血量也必须进行及时的补充。④MAP 是 CPB 灌注的重要监测指标：将表式血压计经过改装后与测压管相连实时测量 MAP，方法简便实用，很好地指导了灌注流量调节。在转流过程中或者转流结束后必要时应用小剂量的多巴胺，剂量为3 $\mu g\cdot kg^{-1}\cdot min^{-1}$，以维持平均动脉压稳定。

采用外周插管方法成功地建立大鼠 CPB 动物模型，避免开胸、操作简便、经济可行，脱离呼吸机后能够短期存活，为体外循环的病理生理学变化及相关机制的研究提供了新的工具。

关键词：体外循环；大鼠；动物模型

中图法分类号：R-332；R654.1 **文献标识码**：B

参考文献：

[1] Ballaux P K, Gourlay T, Ratnatunga C P, *et al*. A literature review of cardiopulmonary bypass models for rats[J]. Perfusion, 1999, 14(6): 411-417.

[2] Hayashi Y, Sawa Y, Fukuyama N, *et al*. Inducible nitric oxide production is an adaptation to cardiopulmonary bypass-induced inflammatory response [J]. Ann Thorac Surg, 2001, 72(1): 149-155.

[3] Gourlay T, Ballaux P K, Draper E R, *et al*. Early experience with a new technique and technology designed for the study of pulsatile cardiopulmonary bypass in the rat[J]. Perfusion, 2002, 17(3): 191-198.

(编辑 刘洪娥)