文章编号:1000-5404(2006)14-1473-03

论著

心导管留置术对大鼠脏器功能影响的实验研究

王 宁,郑 江,郭毅斌,魏利召 (第三军医大学西南医院综合实验研究中心,重庆 400038)

提 要:目的 观察心导管留置术对大鼠血培养和脏器形态、功能的影响,为临床前药理研究制备稳定可靠的动物模型。**方法** 采用改良的心导管留置术建立大鼠模型,每24小时定时采血作血培养并检测血白细胞(WBC)和丙氨酸转氨酶(ALT)、天门冬氨酸转氨酶(AST)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、肌酸磷酸激酶(CK)等生化指标和血浆内毒素(LPS)水平,术后7 d取心、肝、肾作病理形态学观察。**结果** 术后大鼠血培养均未检出细菌,血中WBC、ALT、AST、BUN、Cr及LPS基本在正常范围内,CK值变化较大但术后第7天恢复正常。心、肝、肾无病理学改变。**结论** 此心导管留置术对大鼠感染和脏器功能影响小,动物模型稳定可靠。

关键词: 心导管留置术;大鼠;器官功能
中图法分类号: R-332;R36;R540.46 **文献标识码:** A

Effect of heart catheterization on organ function in rat

WANG Ning, ZHENG Jiang, GUO Yi-bin, WEI Li-zhao (Medical Research Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To observe the impact of heart catheterization on blood and organ function, and create an stable animal model. **Methods** Ten male Wistar rats were divided into control group undergoing sham operation and experimental group undergoing improved heart catheterization ($n=5$ in each group). Blood samples were obtained every day from 10 rats before and after operation, and white blood cell (WBC), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr), creatine phosphokinase (CK) and lipopolysaccharide were detected. The pathomorphology of heart, liver and kidney in catheterized rats was observed on postoperative day 7. **Results** For the catheterized rats, blood cultures were negative of bacteria and the markers above were within normal range except for CK that recovered to normal value in 7 d, while the control rats had no obvious damage. **Conclusion** Heart catheterization causes no infection and organ function changes in rats. The animal model of heart catheterization for clinical pharmacological research is reliable.

Key words: heart catheterization; rat; organ function

在进行临床前药理研究中,经常需要对动物进行多次给药、采血等操作,以了解药效和药代动力学情况,从而对药物的作用进行评估。以往的研究多采用多组动物各时相点处死的方法,其缺点是动物用量大,测量值不稳定,差异性较大,最终对实验药物的药理学及药效学产生影响[1]。为此,我们通过制备大鼠心导管留置术的动物模型拟解决上述问题,同时观察置管后大鼠各个器官功能的变化,为临床前药理研究建立稳定可靠的动物模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物与材料

清洁级Wistar大鼠10只,均为雄性,体质量200~250 g,由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供(医动字第24301045号)。心导管为美国Dow Corning公司产品,内径0.51 mm,外径0.94 mm。

1.2 动物模型与分组

大鼠分为对照组和手术组,每组5只。手术置管参考文献[2,3]并加以改良,大鼠经腹腔0.6%戊巴比妥钠4 mg/100 g

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目("973"项目)(G1999054203)
Supported by the National Key Basic Research and Development Plan of China ("973" Projects, G1999054203)

作者简介:王 宁(1982-),女,陕西省西安市人,技师,主要从事感染性方面的研究。电话:13228686218

收稿日期:2005-09-21;修回日期:2006-01-10

注射麻醉后，颈部皮肤常规备皮、消毒，于颈外侧下颌至心脏的中点作一约 1 cm 的横切口，分离皮下组织，暴露右侧颈外静脉，沿血管向近心端方向插入留置针约 1 cm，将导管从留置针管与颈外静脉夹孔中把心导管慢慢置入达右心房，结扎固定，导管末端经皮下隧道从颈后中央引出并固定于皮肤，管内注射 125 U/ml 肝素 0.5 ml 抗凝，插入置管针封闭导管。对照组未行置管，采尾静脉血作为正常检测值；手术组每隔 24 h 经导管采血 1 次。7 d 后活杀动物取心、肝、肾及肠标本。

1.3 观察指标

①脏器功能指标：丙氨酸转氨酶（ALT）、天门冬氨酸转氨酶（AST）、尿素氮（BUN）、肌酐（Cr）、肌酸磷酸激酶（CK）等用 7170 全自动化生物分析仪检测。②感染指标：血白细胞（WBC）检测和血培养。③血浆内毒素（LPS）水平检测：采用动态浊度法鲎实验，具体操作按 EDS-99 细菌内毒素测定系统说明书进行。④病理形态学检查：动物活杀后立即取肺、肝和肾组织标本，甲醛溶液固定后石蜡包埋、切片行 HE 染色，光镜下观察组织学改变。另肠黏膜标本置 3% 戊二醛中固定，二甲胂酸钠缓冲液漂洗后锇酸固定，丙酮脱水后常规包埋，制成超薄切片供透射电镜观察。

1.4 统计学处理

各项指标以 $x \pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 统计软件进行 t 检验和方差分析。

2 结果

2.1 动物的一般情况

实验大鼠连续观察 7 d，手术组大鼠当天精神萎靡，饮食、活动度差，术后 24 h 动物的一般情况逐步恢复，48 h 后大鼠活动基本恢复正常，精神状况良好，但饮食仍比对照组稍少。

2.2 血培养和血象

2 组大鼠采血培养均无细菌生长，WBC 变化见表 1。

2.3 血生化指标

AST 在术后当天出现一过性增高；ALT 也一度增高，第 3 天恢复正常；BUN 和 Cr 术后则一直在正常范围内；CK 术后即持续增高，到第 7 天基本恢复正常。

2.4 内毒素水平检测

手术组变化与对照组无显著差别（表 1）。

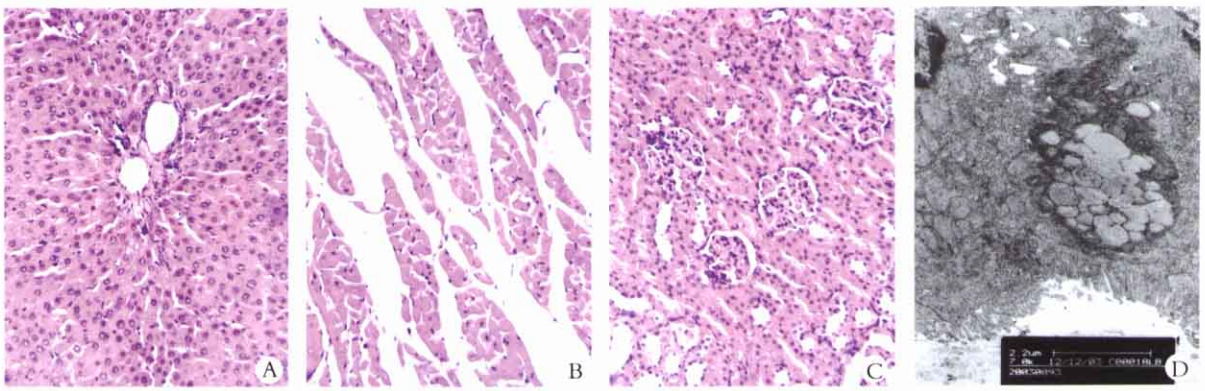
2.5 心、肝、肾、肠病理改变

手术组肝小叶形态完整，枯否细胞未见明显增多，汇管区未见明显的淋巴细胞浸润；心、肾光镜下未见出血、坏死和炎性细胞浸润。透射电镜（transmission electron microscope，TEM）下大鼠小肠上皮细胞绒毛结构完整，排列整齐，细胞间连接完整，细胞器无明显损害。见图 1。

表 1 大鼠术前、术后血生化指标和内毒素的变化

组别	WBC（$\times 10^9$/L）	ALT（U/L）	AST（U/L）	BUN（mmol/L）	Cr（μmol/L）	CK（IU/L）	LPS（EU/ml）
术前	10.7 ± 1.6	41.6 ± 6.6	121.0 ± 32.9	9.8 ± 2.1	40.6 ± 17.6	48.4 ± 21.0	0.15 ± 0.02
术后即刻	10.3 ± 2.3	49.4 ± 7.6	292.8 ± 100.5^b	9.2 ± 1.0	39.2 ± 17.0	475.0 ± 79.5^b	0.14 ± 0.02
术后 1 d	11.9 ± 3.0	61.0 ± 11.7^a	152.6 ± 48.5	9.1 ± 1.7	36.8 ± 16.4	219.4 ± 75.8^b	0.16 ± 0.03
术后 2 d	12.3 ± 3.3	89.4 ± 10.4^b	156.2 ± 40.7^a	6.8 ± 0.6^a	34.4 ± 15.1	129.4 ± 48.4^a	0.16 ± 0.02
术后 3 d	11.4 ± 2.8	77.4 ± 10.6^b	165.0 ± 48.6	6.0 ± 1.4^b	38.2 ± 12.5	96.6 ± 7.8^a	0.15 ± 0.03
术后 4 d	12.8 ± 3.3	56.2 ± 7.9^a	138.4 ± 51.8	4.8 ± 1.4^b	29.6 ± 11.2	91.8 ± 37.2	0.14 ± 0.03
术后 5 d	11.6 ± 3.0^a	50.6 ± 9.4	122.8 ± 42.4	5.2 ± 1.7^b	27.4 ± 7.8	95.8 ± 30.0^a	0.15 ± 0.02
术后 6 d	12.5 ± 2.1	42.2 ± 3.4	130.8 ± 53.7	5.2 ± 1.4^b	33.4 ± 14.3	83.6 ± 16.3^a	0.13 ± 0.03
术后 7 d	10.7 ± 2.2	41.0 ± 7.7	110.4 ± 20.8	5.8 ± 0.8^b	38.6 ± 14.8	66.2 ± 27.1	0.14 ± 0.03

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与术前相比



A：肝小叶（HE ×200）；B：心肌细胞（HE ×200）；C：肾小球（HE ×200）；D：肠上皮细胞（TEM ×7 000）

图 1 手术组心、肝、肾、肠病理改变

3　讨论

脓毒症是目前 ICU 病房的主要死亡原因[4,5]，在研究脓毒症的发生机制及其拮抗策略时，经常使用大鼠模型观察研制药物的疗效，稳定可靠的动物模型是实验科学性的基础。导管大鼠模型是近年国外开展应用的动物实验模型，具有快捷稳定、使用时间长等优点[6]。本研究采用改进的颈外静脉置管直至右心房，可经导管输注各种药物或毒物，或采血检测各项生化指标，以进行药代动力学、药效学及疾病发生机制等多方面的研究。应用留置心导管术的大鼠模型，具有药品用量少、动物需求量少，数据偏差小，实验结果重复性好、节约时间等优点。此外，导管末端位于右心房，为进一步的血流动力学研究创造了条件。

在研究中，笔者通过观察模型动物的一般情况及重要器官功能的变化，以探讨此模型应用于临床药理学研究的可行性并确定最佳时机。本研究结果显示，手术大鼠采用留置心导术后，其外周血 WBC 的变化与对照组无显著差别，该结果与连续 7 d 血培养阴性基本相符，同时其血浆 LPS 水平与正常无显著差别，表明手术中严格的无菌操作可有效避免静脉途径所致的细菌感染，该结果对建立动物模型进行脓毒症研究具有重要意义，毕竟 LPS 是脓毒症的重要启动子。

脏器功能指标的时相点检测显示，大鼠的 BUN 和 Cr 基本保持正常，表明手术对动物肾功能基本不产生影响。血清中转氨酶水平已是国际上公认的评价肝功能的主要指标[7,8]。术后大鼠 ALT、AST 出现一过性的升高，与术前相比明显增高（$P<0.05$），由于实验大鼠手术过程中无明显出血，肠黏膜的电镜结果显示未受到损伤，可排除缺血缺氧性损伤，该变化可能与手术后的应激反应有关。变化较大的是 CK，考虑除了手术轻微创伤对动物造成短暂的影响外，主要原因可能是心导管作为直接进入心腔的异物，对动物心肌刺激较大，故 CK 值明显增高并持续较长时间[9,10]。

综上，本研究建立的大鼠心导管留置术模型，可满足一般的药理学实验，此模型的制备对下一步开展内毒素血症的机制和拮抗措施的研究提供了实验基础[11,12]。我们的体会是：外置 T 形帽并肝素封管可防止血液的凝固以利采血，每次可顺利采血约 1.5 ml。此外，为排除手术刺激产生的干扰，我们认为要用此模型进行动物药理学、药物代谢动力学研究时，建议在置管后第 4 天进行给药及采血检测等操作较为适宜。

参考文献：

[1] 周　红，郑　江，肖光夏. 猪源杀菌性/通透性增加蛋白对大鼠烧伤脓毒症模型的治疗作用[J]. 中华创伤杂志，1998，14（增刊）：16－18.

[2] 施新猷. 现代医学实验动物学[M]. 北京：人民军医出版社，2000：298－335.

[3] XIANG D Z, VVERBEKEN E K, VAN LOMMEL A T, *et al*. Intimal hyperplasia after long-term venous catheterization[J]. Eur Surg Res, 2000, 32(4): 236－245.

[4] MARTIN G S, MANNINO D M, EATON S, *et al*. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000[J]. N Engl J Med, 2003, 348(16): 1546－1554.

[5] 李红云，姚咏明，董　宁，等. 脓毒症大鼠多器官白介素 18 表达及其与内毒素血症的关系[J]. 解放军医学杂志，2004，29（1）：30－32.

[6] BENO D W, KIMURA R E. Nonstressed rat model of acute endotoxemia that unmasks the endotoxin-induced TNF-alpha response[J]. Am J Physiol, 1999, 276(2 Pt 2): H671－H678.

[7] IMBERTI R, VAIRETTI M, GUALEA M R, *et al*. The effects of thyroid hormone modulation on rat liver injury associated with ischemia-reperfusion and cold storage[J]. Anesth Analg, 1998, 86(6): 1187－1193.

[8] FROST L, MAHONEY J, FIELD J, *et al*. Impaired bile flow and disordered hepatic calcium homeostasis are early features of halothane-induced liver injury in guinea pigs[J]. Hepatology, 1996, 23(1): 80－86.

[9] KIM H C, BING G, JHOO W K, *et al*. Oxidative damage causes formation of lipofuscin-like substances in the hippocampus of the senescence-accelerated mouse after kainate treatment[J]. Behav Brain Res, 2002, 131 (122): 211－2201.

[10] KHORRAM O, GARTHWAITE M, GOLOS T. The influence of aging and sex hormones on expression of growth hormone-releasing hormone in the human immune system[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(7): 3157－3161.

[11] STRAUB R H, CUTOLO M, ZIETZ B, *et al*. The process of aging changes the interplay of the immune, endocrine and nervous systems [J]. Mech Ageing Dev, 2001, 122(14): 1591－1611.

[12] LIU H, YE S L, YANG J, *et al*. The microcell mediated transfer of human chromosome 8 into highly metastatic rat liver cancer cell line C5F[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(3): 449－453.

（编辑　张大春）