doi:10.11659/jjssx.08E016005

替来他明和唑拉西泮复合麻醉对比格犬生理及血气指标的影响

鲁永玲,范仕郡,陈 倩,郑 江 (第三军医大学西南医院中心实验室,重庆 400038)

[摘 要] **目的** 观察比格犬经替来他明和唑拉西泮复合麻醉前后的心率、体温、血压以及血气的变化规律,为应用比格犬进行研究提供有关麻醉剂影响动物检测指标的实验数据。**方法** 实验选用替来他明和唑拉西泮(1:1)稀释后肌肉注射(10 mg/kg)对比格犬行全身麻醉,麻醉前、后分别采集动脉血,通过血气分析仪检测血气指标,同时应用大动物心电监护仪测定比格犬麻醉前后生理指标(心率、血压、体温)。**结果** 比格犬经替来他明和唑拉西复合麻醉后,动脉血气指标中 pH 值显著降低,差异具有极显著统计学意义($P<0.01$);PCO_2 显著升高,而 PO_2 显著下降,差异具有统计学意义($P<0.05$);Lac 和 HCO_3^- 无明显变化,表现为明显的呼吸性酸中毒。生理指标中血压变化差异,但无统计学意义。心率明显升高,体温明显下降,差异均具有极显著统计学意义($P<0.01$)。上述指标在性别间比较均无统计学差异。**结论** 采用替来他明和唑拉西泮复合麻醉比格犬,可引发呼吸抑制和气道堵塞等现象,导致呼吸性酸中毒的发生,同时还可引起心率升高和低体温的发生。在实验过程中要注意保暖和保持呼吸畅通,在进行动物指标差异比较时要考虑麻醉剂的影响。

[中图分类号] R246.2;Q4-3 [文献标识码] A [收稿日期] 2016-00-00

[关键词] 比格犬;替来他明和唑拉西泮复合麻醉;生理指标;血气

Effect on physiological and blood gas indicators of beagles by combined anesthesia with tiletamine and zolazepam

LU Yong-ling, FAN Shi-jun, CHEN Qian, ZHENG Jiang (Medical Research Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the physiological indicators and arterial blood gas values, and create a reliable data for researchers using beagle dogs. **Methods** Beagle were sampled before and after Zoletil anesthesia (10 mg/kg) via intramuscular injection. Then aterial blood gas was detected by blood gas analyzer. Then the physiological indicators, including heart rate, blood pressure and body temperature were measured via large animal ECG. **Results** For blood gas values, the pH value decreased significantly ($P<0.01$). pCO_2 increased significantly and pO_2 decreased significantly, the differences were significantly ($P<0.05$). In contrast, levels of Lac and HCO_3^- remained unaltered, indicating a typical respiratory acidosis. For physiological indicators, blood pressure increased slightly, but not significant. The heart rate increased significantly ($P<0.01$) and body temperature decreased significantly ($P<0.01$). There was no difference between sexes. **Conclusion** Zoletil anesthesia causes respiratory arrest and respiratory congestion, which further induced respiratory acidosis. Meanwhile, anesthesia also results in elevated heart rhythm and lower body temperature. These data indicate that warming and airway clear are necessary during anesthesia in Beagles. Moreover, it should be considered about the effects of anaesthetics when comparing differents in animals before and after treatment.

Keywords: beagle; tiletamine and zolazepam anesthesia; physiological indicators; blood gas

比格犬(Beagle)原产英国,是猎犬中较小的一种。在以犬为实验动物的研究成果中,只有应用 Beagle 才能被国际公认。因其体形小,形态体质均一,禀性温和,品种固定且优良,在实验中反应一致性好。对环境的适应力、抗病力较强,尤其适合药理、循环生理、眼科、毒理、外科学等的研究,因此被国际医学、生物学界公认为较理想的实验用犬。然而在比格犬作为医学实验动物模型广泛应用于科学研究的过程中,科研人员很快发现,对比格犬麻醉已经成为进行科研项目必须解决的难题,没有良好的麻醉,动物不能耐受外科手术强烈的疼痛刺激,经常出现挣扎、骚动等反应[1-2]。目前,常使用的麻醉方法是吸入麻醉和注射麻醉。吸入麻醉安全可靠,但成本高,而且受实验条件的限制;注射麻醉在科研中的应用最为广泛。临床常用的麻醉剂包括戊巴比妥钠、氯胺酮、氯丙嗪、隆朋、安定、速眠新等,而替来他明和唑拉西泮是目前犬类临床应用最为广泛,最安全的麻醉药物[3-4]。本文仅针对替来他明和唑拉西泮麻醉比格犬后,对其生理指标及动脉血血气值的变化做一些研究,为应用比格犬进行研究的科研人员提供一系列可靠的、客观的实验数据,现报告如下。

[基金项目] 国家自然科学基金(81372089)

1 材料与方法

1.1 材料

比格犬由重庆中药研究所提供,7~8 月龄,数量 40 只,雌雄各半。体质量 7.5~9.5 kg。合格证号:SCXK(渝)2007-0006。替来他明和唑拉西泮(生产厂家:法国维克药厂,生产批号:3NDT)。大动物心电监护仪(北京东唐 TOP-1800);血气分析仪(丹麦雷度 ABL-715);自制固定装置(专利号:ZL201220388076.2);压舌板(10 cm×4 cm×1.5 cm)。

1.2 方法

比格犬麻醉前禁食 12 h,禁水 4 h。精确称量动物体质量后,以 10 mg/kg 的剂量肌肉注射 50 mg/mL 的替来他明和唑拉西泮进行全身麻醉。为保证实验的一致性,比格犬(雌雄各半),实验时间均在上午的 8:00~10:00 进行。将比格犬保定好后,用大动物心电监护仪同时测定 3 只比格犬的心率、血压、体温。每项数据采集 5 次。数据为每分钟 1 次自动传输到中央监护软件,待温度、心率、血压稳定后,收集 5 次结果记录到实验观察表格中。监护结束后,取股动脉血 300 μL,做血气分析。然后肌肉注射麻醉,10~12 min 后,动物进入深度麻醉状态,放好压舌板。再次监护和采动脉血做血气分析。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 13.0 统计软件对麻醉前后(配对 t 检验)及雌雄间各项指标进行(独立样本 t 检验)检验分析。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义,$P<0.01$ 为差异具有极显著性统计学意义。

2 结果

2.1 麻醉后比格犬动脉血血气的变化

肌肉注射麻醉比格犬后,动脉血 pH 值明显下降,差异具有极显著性统计学意义($P<0.01$)。PCO_2 明显升高,PO_2 明显下降,差异均具有统计学意义($P<0.05$),而 LAC 和 HCO_3^- 无明显变化,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

2.2 麻醉后比格犬生理指标的变化

肌肉注射麻醉比格犬后,其血压略上升,但差异无统计学意义($P>0.05$);心率明显上升,体温明显下降,差异均具有极显著性统计学意义($P<0.01$),见表 2。

表 1 比格犬麻醉前后动脉血血气分析比较($\bar{x}\pm s$,$n=40$)

组别	pH	PCO_2(mmHg)	PO_2(mmHg)	LAC(mmol/L)	HCO_3^-(mmol/L)
麻醉前	7.38±0.04	27.97±3.66	74.21±3.44	1.82±0.23	20.12±2.40
麻醉后	6.33±0.06	31.03±3.15	71.63±4.25	1.75±0.35	19.83±1.81
P	0.003	0.021	0.016	0.235	0.084

表 2 比格犬麻醉前后生理指标情况($n=40$)

组别	动脉压/静脉压(mmHg)	心率(bmp)	体温(℃)
麻醉前	145±19/88±10	134±11	37.1±0.12
麻醉后	153±14/91±14	152±13	35.7±0.09
P		0.007	0.006

2.3 比格犬麻醉前后雌雄之间的比较

比格犬麻醉前后的血压、心率、体温和血气值在性别之间比较,差异不具有统计学意义($P>0.05$),见表 3、表 4。

表 3 雌雄比格犬麻醉前后动脉血血气分析比较

组别	n	pH	PCO_2(mmHg)	PO_2(mmHg)	LAC(mmol/L)	$HCO3^-$(mmol/L)
麻醉前	雄 20	7.37±0.03	27.91±3.55	74.5±4.50	1.83±0.25	19.8±2.01
	雌 20	7.40±0.03	27.94±3.70	74.0±3.20	1.82±0.31	20.3±2.62
麻醉后	雄 20	7.32±0.03	31.05±3.20	72.02±4.02	1.74±0.33	19.6±2.21
	雌 20	7.33±0.03	31.01±3.08	71.48±4.33	1.77±0.38	20.0±1.93

表 4 雌雄比格犬麻醉前后生理指标的比较

组别	n	动脉压/静脉压(mmHg)	心率(bpm)	体温(℃)
麻醉前	雄 20	147±17/89±11	135±13	37.0±0.11
	雌 20	144±20/86±10	134±10	37.1±0.10
麻醉后	雄 20	150±12/92±16	151±13	35.8±0.08
	雌 20	154±15/90±12	152±13	35.6±0.09

3 讨论

实验动物的麻醉是影响动物实验成败的必备手段,麻醉药物的合理使用是模型制备和检测标本获取的关键环节[1-3]。此外,研究麻醉药物对动物生理指标的影响,对于正确分析和解读实验结果也具有重要意义[5]。比格犬是一种广泛应用于药理毒理学研究的中大型实验动物。目前国外比格犬实验以吸入麻醉为主

要方法,吸入麻醉效果确实,苏醒迅速且平稳,安全性也较高,是全身麻醉的首选[6-7]。但该方法需要配备专用的麻醉机和监护设备。我国的动物麻醉发展虽然历史悠久,但吸入麻醉发展较为滞后,比格犬实验仍主要以注射麻醉为主,通常采用戊巴比妥钠或速眠新等兽用全身麻醉药物。本研究中采用的麻醉药物为替来他明和唑拉西泮的1:1合剂[8]。其中替来他明是一种分离麻醉剂,具有良好的镇痛作用,唑拉西泮属苯二氮唑类镇静剂,主要发挥肌松作用。实验结果显示,替来他明-唑拉西泮合剂诱导期迅速而稳定,肌松效果好,苏醒快,且安全范围较大,刺激性小,无呕吐现象发生,复苏期稳定和无兴奋现象。除个别犬只有大小便失禁现象外,未观察到其他明显的毒副作用,且未出现麻醉意外死亡。因此特别适宜需进行外科手术动物实验研究。

替来他明-唑拉西泮合剂麻醉后的维持时间相对较短(1 h左右),且呼吸道分泌物较多,易导致呼吸道堵塞,提示在麻醉过程中务必保持比格犬的呼吸畅通,或采用注射阿托品等方法抑制过多的呼吸道分泌物生成。同时麻醉后比格犬体温下降明显,因此术中和术后的保温措施也非常关键。有关研究显示,静脉麻醉药物能够间接或者直接地改变机体血液流通体积,例如血压、血管阻力、心输出量、肾功能和心肌收缩力等[9]。而实验动物30% ~70%的麻醉意外死亡与心肌抑制、节律失常、麻醉过量、低血容量及循环障碍等发生有关。亦有研究显示,中药麻醉药物可以增加麻醉犬的CO、CI和SCI,提高心脏的泵血功能,减少冠状动脉的阻力,增加冠状动脉的血流量,增加心肌的供血和供氧[10-11]。我们在实验中观察到,替来他明和唑拉西泮联用对于比格犬的心率、血压和呼吸频率等都具有显著的下调作用。虽然我们推测该现象属于麻醉药物对机体生理功能的共通性作用,但该结果也提示我们在实际应用时需要注意加强对比格犬的呼吸系统和心血管系统的监护[3-5]。李德文等[12]指出动脉血气分析能够判断在麻醉过程中是否存在酸碱平衡失调以及是否缺氧,还可以判断缺氧的程度,可以有效弥补脉搏变化和血压等指标对于麻醉深浅程度检测的不足。我们在研究中对麻醉前后比格犬的血气指标进行了检测分析,结果显示,比格犬血气指标中pH值显著降低,而PCO_2显著升高,但乳酸和HCO_3^-水平未发生明显改变,该结果提示麻醉过程中主要发生与呼吸受阻有关的呼吸性酸中毒现象,因替来他明-唑拉西泮合剂可导致动物呼吸道分泌增加,因此在麻醉过程中更应注意保持呼吸道通畅和密切观察呼吸性酸中毒的严重程度和恢复情况[13-14]。

综上所述,替来他明-唑拉西泮合剂是一种起效和恢复快、肌松效果好且安全性相对较好的一种注射麻醉药物。特别是在比格犬等中大型实验动物的建模和指标采集等操作中具有良好的应用前景。本研究观察了替来他明-唑拉西泮合剂在比格犬中的麻醉效果,对比分析麻醉前清醒状态和麻醉后的血气和生理指标的变化并提出了相应的注意措施,为更加合理地应用该麻醉药物提供了实验数据支持。本研究选择了术后即刻时相点进行指标检测,在后续研究中,我们将在此基础上进一步不同麻醉时间以及恢复时间对上述指标的影响,以为该麻醉药物的合理应用提供更为丰富的实验支持。

[参考文献]

[1] 刘 澜,李培德,侯加法. 60例临床手术犬舒眠宁静麻醉效果的评价及其对肝、肾功能的影响[J]. 畜牧兽医报,2013,44(12):2007 - 2015. doi:10.11843/j.issn.0366 - 6964.2013.12.022.

[2] Hayashida M,Fukunaga A,Hanaoka K. An animal model for surgical anesthesia and analgesia: characterization with isoflurane anesthesia and remifentanil analgesia[J]. Anesth Analg,2003,97(5):1340 - 1346. doi:10.1213/01.ane.0000083369.63589.a5.

[3] 梁佩红,江 斌,陈居銪,等. 三种麻醉方法在骨科动物实验中效果比较[J]. 中国比较医学杂志,2012,22(11):59 - 62. doi:10.3969/j.issn.1671 - 7856.2012.011.013.

[4] 康纪平,李秋波,冯晓科,等. Beagle犬陆眠灵Ⅰ麻醉的临床观察[J]. 中国比较医学杂志,2014,24(6):46 - 49. doi:10.3969/j.issn.1671.7856.2014.006.010.

[5] 康纪平,李秋波,冯晓科,等. Beagle犬部分生理指标测定[J]. 实验动物科学,2011,28(1):66 - 67. doi:10.3969/j.issn.1006 - 6179.2011.01.021.

[6] 孙荣钊,刘焕奇. 犬恩氟烷吸入麻醉的模型建立及麻醉监测[J]. 中国兽医杂志,2012,48(10):22 - 25. doi:10.3969/j.issn.0529 - 6005.2012.10.007.

[7] 李 妍,刘海玉,姜 胜,等. 犬眠宝异氟醚麻醉及手术对犬血浆中T3、T4影响[J]. 中国兽医杂志,2014,50(8):66 - 68. doi:10.3969/j.issn.0529 - 6005.2014.08.024.

[8] Krimins RA,Ko JC,Weil AB,et al. Hemodynamic effects in dogs after intramuscular administration of a combination of dexmedetomidine-butorphanol-tiletamine-zolazepam or dexmedetomidine-butorphanol-ketamine[J]. Am J Vet Res,2012,73(9):1363 - 1370.

[9] 邓福谋,徐国海,胡衍辉,等. 异丙酚全凭静脉麻醉对犬输液代谢动力学的影响[J]. 南昌大学学报(医学版),2012,5(52):19 - 21. doi:10.3969/j.issn.1000 - 2294.2012.05.005.

[10] 俞 云,许 立,卞 勇,等. 心安灵对麻醉犬血流动力学的影响[J]. 南京中医药大学学报,2012,28(2):160 - 163. doi:10.3969/j.issn.1000 - 5005.2012.02.017.

[11] 王冠楠,张 涛,张 爽,等. 麻醉对比格犬胃腧穴区真皮层微血管舒缩活动的影响[J]. 微循环学杂志,2014,24(3):12 - 15. doi:10.3969/j.issn.1005 - 1740.2014.03.005.

[12] 李德文,李 响,刘建涛,等. 静脉注射利多卡因及利多卡因复合芬太尼对异氟醚麻醉犬的血气影响[J]. 中国兽医杂志,2012,48(9):

doi:10.11659/jjssx.10E016046

白术内酯 I 抑制卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞增殖的作用机制

龙方懿,贾 萍*,王华飞,卿 轶,何梦婕,王晓丽 (四川省妇幼保健院药学部,四川 成都 610041)

[摘 要] **目的** 探讨白术内酯 I 抑制卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞增殖的作用及其分子机制。**方法** MTT 实验检测不同浓度白术内酯 I 作用人卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 24 h、48 h、72 h 后,白术内酯 I 对卵巢癌细胞增殖的影响;流式细胞技术与 PI 染色检测白术内酯 I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞周期的影响,ELISA 实验检测白术内酯 I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 cyclin D1 与 CDK1 表达的影响;Western blot 测定白术内酯 I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 PI3K/AKT 信号通路的影响。**结果** 白术内酯 I 可显著抑制 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞增殖,且白术内酯 I 对 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞的增殖抑制作用具有浓度和时间依赖性;此外,白术内酯 I 还可显著降低 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞的 S 期细胞比例,增加 G2/M 期细胞比例,且白术内酯 I 对 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞周期的调控与其抑制 CDK1 的表达有关;Western blot 实验进一步探讨了白术内酯 I 抑制细胞增殖和调控细胞周期与 PI3K/AKT 信号通路有关。**结论** 白术内酯 I 可通过 PI3K/AKT 途径下调卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 CDK1 的表达,从而使细胞阻滞于 G2/M 期,进而发挥肿瘤细胞增殖抑制作用。

[关键词] 白术内酯 I;细胞增殖;细胞周期;PI3K/AKT;卵巢癌

[中图分类号] R34;R91 [文献标识码] A [收稿日期] 2016-10-20

Mechanisms and proliferation inhibitory effects of atractylenolide I on SK-OV-3 and OVCAR-3 ovarian cancer cell

LONG Fang-yi, JIA Ping, WANG Hua-fei, QING Yi, HE Meng-jie, WANG Xiao-li (Department of Pharmacy, Maternal and Child Health Hospital of Sichuan Province, Chengdu Sichuan 610041, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanisms and proliferation inhibitory effects of atractylenolide I on SK-OV-3 and OVCAR-3 ovarian cancer cell. **Methods** SK-OV-3 and OVCAR-3 cells were treated with atractylenolide I with various concentrations (0, 5, 10, 20, 40, 80 and 160 μM) at 24 hours, 48 hours and 72 hours, and the changes in proliferation were detected by MTT assay. The cell cycles were measured by PI staining and flow cytometry, and the expressions of cyclin D1 and CDK1 were detected by ELISA assay. Western blot was then applied to investigate the effects of atractylenolide I on PI3K/AKT signaling pathway in SK-OV-3 and OVCAR-3 cells. **Results** Atractylenolide I could significantly inhibit the proliferation of SK-OV-3 and OVCAR-3 cells, and its inhibitory effects were concentration and time dependent. In addition, atractylenolide I could also significantly reduce the proportion of cells in S phase and increase the proportion of cells in G2/M phase, and these effects were associated with the down-regulation of CDK1. The results of Western blot indicated that PI3K/AKT signaling pathway was involved in the inhibitory effects of atractylenolide I on proliferation and cell cycle. **Conclusion** Atractylenolide I can down-regulate the expression of CDK1 in ovarian cancer SK-OV-3 and OVCAR-3 cells through PI3K/AKT pathway, which led to cell cycle arrest in G2/M phase, and played an important role in proliferation inhibition of tumor cells.

Keywords: atractylenolide I; proliferation; cell cycle; PI3K/AKT; ovarian cancer

卵巢癌是女性生殖系统三大恶性肿瘤之一,其病死率位居妇科恶性肿瘤首位。近年来,卵巢癌的发病率逐年增加,卵巢癌早期症状隐匿,常在症状出现之前已经出现远处转移,且 60% ~70% 的患者就诊时已处于晚期[1],尽管手术与化疗可使病情有所缓解,但不能完全消除病灶,多数晚期患者仍会在 2 ~3 年内复发,并最终因化疗耐药而死亡[2]。因此,发现新的卵巢癌治疗药物具有重要的临床意义与社会价值。白术为菊

[通信作者] 贾 萍, E-mail:jp178@tom.com

64 -66. doi:10.3969/j.issn.0529 -6005.2012.09.027.

[13] Savvas I, Plevraki K, Raptopoulos D, et al. Blood gas and acid-base status during tiletamine/zolazepam anaesthesia in dogs[J]. Vet Anaesth Analg, 2005, 32(2):94 -100.

[14] Van Deuren B, Van Ammel K, Somers Y, et al. The fentanyl/etomidate-anaesthetised beagle(FEAB) dog:a versatile in vivo model in cardiovascular safety research[J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2009, 60(1):11 -23.

(编辑:周小林)