未成熟心肌体外循环动物模型的建立

熊荣生,刘邕波,邓 盛,杨 娜,陈华夏 (南溪山医院心胸外科,广西 桂林 541002)

[摘 要] **目的** 探讨建立未成熟心肌体外循环动物模型的方法。**方法** 选用小于 8 周的同种健康本地幼犬 20 只,将 20 只幼犬随机分为浅低温体外循环不停跳组(实验组)及冷晶体液间断灌注心脏停跳组(对照组)2 个组。2 种动物模型建立后,观测转流过程中血液动力学和血气分析指标的变化。**结果** 2 组实验动物模型体外循环转流过程中,血液动力学平稳和血气分析指标正常。**结论** 幼犬体外循环动物模型的建立能满足对未成熟心肌的研究要求。

[关键词] 心脏;体外循环;动物模型

[中图分类号] R654.1;R-332 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2012)06-0642-02

The method of setting up immature myocardium cardiopulmonary bypass (CPB) animal model

XIONG Rong-sheng, LIU Yong-bo, DENG Sheng, YANG Na, CHEN Hua-xia (Department of Cardiothoracic Surgery, Nanxishan Hospital, Guilin Guangxi 541002, China)

Abstract: Objective To explore the method of setting up immature myocardium cardiopulmonary bypass (CPB) animal model. **Methods** 20 healthy local young dogs (<8 weeks) were randomly divided into 2 groups: one is beating heart with mild hypothermia cardiopulmonary bypass group (experimental group), the other one is cardiac arrest with crystalloid intermit perfusion group (control group). The changes of homodynamic index and blood-gas analysis index were observed in the process of bypass. **Results** Animal models of the two groups were all of stable blood dynamics and normal blood-gas analysis index in the process of bypass. **Conclusion** The establishment of young dog CPB animal models can meet the requirements of studying immature myocardium.

Keywords: heart; cardiopulmonary bypass; animal model

随着心脏外科的发展,儿童心外科手术日趋低龄、复杂、危重,由于婴幼儿的心肌发育还不成熟,研究如何保护未成熟心肌就显得日益重要,而这些研究需要模型动物。因此,建立相应的动物模型至关重要,我们对幼犬体外循环实验模型的建立进行了相应研究,共同行参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物与设备

选用体质量为 2.8 ~ 4.2 kg、犬龄小于 8 周的同种健康幼犬 20 只,随机分为浅低温体外循环不停跳组(实验组)及冷晶体液间断灌注心脏停跳组(对照组),每组 10 只。体外循环采用 Sarns7400 人工心肺机,Baxter 和希健膜肺,Sarns 变温水箱。心脏停搏液为改良 St. Thomas 液。

1.2 动物模型的建立

1.2.1 术前准备 采用苯巴比妥钠 30 mg/kg 腹腔注射麻醉成功后,犬取仰卧位固定,常规备皮、消毒。穿刺股静脉建立液体通道,并给予芬太尼 5 μg/kg,维库溴铵 4 mg。行气管插管后接呼吸机进行机械通气,机械通气的参数为 $FiO_2$100%、潮气量 18 mL/kg、频率每分钟 10 ~ 20 次,并根据 $PaCO_2$ 调整呼吸频率。下肢静脉持续点滴芬太尼、利多卡因和间断给予 γ-羟丁酸钠维持麻醉效果。用针式电极监测心电图。穿刺股动脉进行动脉压力监测和血标本采集。右颈外静脉穿刺置入 5 号深静脉导管进行液体补充和血流动力学的检测。

1.2.2 手术方法 两组动物均采用胸骨正中切口,直接剪开胸骨,切开心包,暴露心脏,静脉给予肝素 4 mg/kg,分别在主动脉根部、右心房、左心耳作荷包缝合后行主动脉插管、上下腔静脉插管、左心引流管,建立体外循环。对照组阻断主动脉、上、下腔静脉,切开右心房,从主动脉根部灌注 4 ℃心脏停跳液,首次剂量为 15 mL/kg,在 30 min、60 min 各灌注一次,剂量为首次剂量的 1/3,使心脏处于停跳状态。主动脉阻断 120 min 后,进行全身复温至 34 ℃左右,心脏内排气,开放主动脉,并进行心肺复苏,恢复机械通气,于血流动力学稳定后停止体外循环。实验组使体温降到 32 ~ 34 ℃,阻断上、下腔静脉,不阻断主动脉,不灌注心脏停跳液,保持心脏处于空跳状态,维持机械通气。转流 120 min 后停止体外循环,静脉注入 1.5∶1 的鱼精蛋白肝素溶液,拔除主动脉插管,彻底止血后关胸。

1.2.3 体外循环控制 低温维持在 28 ~ 30 ℃,常温在 36 ~ 38 ℃。中度血液稀释,预充液为 40 mL/kg 左右。低温时灌注流量为 50 ~ 80 $mL \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}$,复温后逐渐增加至 80 ~ 100

[基金项目] 广西壮族自治区卫生厅立项课题(Z2006141)

[收稿日期] 2012-06-04 [修回日期] 2012-07-19

$mL \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}$，常温时则维持在 100 $mL \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}$左右。灌注压维持在 50 ~ 80 mmHg。术中如果有效循环血量不足，可适当补充晶体或胶体液。术中膜肺的气血流量之比在 0.5∶1 ~ 0.7∶1。

1.2.4 检测指标 监测心率，有创动脉压，动脉血气分析，血球压积，转流时间。

1.3 统计学处理

数据采用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，使用 SPSS 11.0 软件进行分析，$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

两组实验动物体外循环时间都能达到 120 min 左右，术中监测心率，有创动脉压正常，PO_2 监测结果见表 1，PCO_2 监测结果见表 2，红细胞压积见表 3。经 t 检验，在转机前、体外循环期间、停体外循环后这三个时间点，PO_2、PCO_2、HCT 组间的比较结果 $P > 0.05$，无统计学差异。

表 1 术中 PO_2 监测对比（mmHg）

组别	转机前	体外循环期间	停体外循环后
对照组	193.5 ± 25.6	312.5 ± 66.4	136.0 ± 13.9
实验组	192.6 ± 22.3	356.0 ± 53.7	137.0 ± 18.4

表 2 术中 PCO_2 监测对比（mmHg）

组别	转机前	体外循环期间	停体外循环后
对照组	33.5 ± 5.6	30.5 ± 6.4	36.0 ± 4.9
实验组	34.6 ± 7.3	30.7 ± 5.7	37.1 ± 6.4

表 3 术中红细胞压积（HCT）监测对比

组别	转机前	体外循环期间	停体外循环后
对照组	32.5 ± 4.1	24.0 ± 2.9	30.0 ± 3.5
实验组	33.8 ± 5.7	23.1 ± 2.3	31.1 ± 3.2

3 讨论

未成熟心肌在细胞结构、生理功能、能量代谢及缺血缺氧耐受方面与成熟心肌存在明显的差异[1]。对于婴幼儿心脏手术，目前最常采用的是阻断升主动脉、在低温下使心脏迅速停跳，并用冷停跳液间断灌注心肌的保护方法[2]，此方法能为术者提供安静清晰的术野，但存在心肌缺血缺氧性损害和心肌再灌注损伤，这是导致术后并发症和死亡的主要原因。因此，有必要寻求更好的未成熟心肌保护方法。

未成熟心肌的发育成熟是一个循序渐进过程。动物种类不同，生长环境不同，其心肌细胞发育成熟的时限并不一致，一般把未成熟哺乳动物（如小于 8 W 的幼犬等动物）、新生儿、婴幼儿的心肌称为未成熟心肌[3]。8 周以内的幼犬一般有 3 ~ 4 kg，接近婴幼儿的体重，且耐受性好，比较适合于心脏外科方面的研究。

浅低温不停跳心脏手术，既能充分发挥体外循环的功能，又能使冠状动脉得以持续的氧合血灌注，维持心脏的血循环，减轻缺血再灌注对心肌的损伤[4]。浅低温还避免了传统低温停跳手术所带来的高钾、低温、缺氧、除颤以及心肌缺血缺氧性损伤。但此技术主要应用于成熟心肌的保护，对未成熟心肌保护的基础研究尚不多[5-6]。本研究建立了浅低温体外循环不停跳的未成熟心肌保护的模型，为心脏不停跳下未成熟心肌保护的基础研究提供参考。由于幼犬心脏较小，血压较高，血管壁薄，极易出血，因此在进行荷包缝合及主动脉、右心房、左心耳插管操作时，务必轻柔，否则易引起大出血，导致模型建立失败。由于幼犬体重较轻，有效循环血量较少，所以在转机前，我们采用林格氏液和代血浆预充。预充量不宜过多，并且肝素化前止血一定要彻底，尽量减少术中失血，否则血液稀释过多，不能保证足够的氧供，也影响抽血检查结果的准确。在 CPB 中，不仅要维持左右心的转流平衡，而且要维持合适的灌注流量，以保证满意的灌注压，维持重要脏器的生理功能。转流过程中维持适当、稳定的体温也是实验成功的一个重要因素。开始体外循环后，体温应维持在 33.0 ~ 35.5 ℃较为合适，既能维持较长的转流时间，又不影响电生理实验结果。本模型动物术中生命体征平稳，血气分析等检测指标均达到实验要求，证明幼犬体外循环动物模型的建立能满足对未成熟心肌的研究要求。

[参考文献]

[1] Hammom JW Jr. Myocardial Protection in the immature heart[J]. Ann Thorac Surg, 1995, 60(3): 839 - 842.

[2] Warner KG, Khuri SF, Kloner RA, et al. Structural and metabolic correlates of cell injury in the hypertrophied myocardium during valve replacement[J]. J Thorac Cardiocasc Surg, 1987, 93(5): 741 - 754.

[3] Jonas RA. Myocardial Protection for neonates and infants[J]. Thorac Cardiovasc Surg, 1998, 46(Suppl 2): 288 - 291.

[4] Alwan K. Faleoz PE. Alwan J. Beating venus arrested heart coronary revascularization: evaluation by cardiac troponin I release[J]. Ann Thorac Surg, 2004, 77(6): 2051 - 2055.

[5] 张镜芳，庄 建，岑坚正，等. 应用体外循环主动脉不阻断法施行小儿法乐氏三联症矫治术[J]. 中华小儿外科杂志，1995，16(6)：341 - 342.

[6] 林 辉，何 巍，彭青云，等. 心脏不停跳心内直视手术的临床研究（附 1106 例报告）[J]. 中华胸心血管外科杂志，2001，17(3)：129 - 131.

（编辑：兰阳军）