

·实验研究 Experimental research·

选择性急性肺血管栓塞实验模型的建立

樊济海, 顾秀莲, 巢胜吾, 张 鹏, 潘瑞麟, 王丽娜, 王璐璐,
王 玲, 李 博, 陈涛涛

【摘要】 目的 建立绵羊急性肺血栓栓塞(APTE)模型。**方法** 实验用绵羊 10 只,采用 Seldinger 血管穿刺技术,建立股静脉和股动脉导管通路,在 C 型臂数字减影 X 线透视下,将导管插入肺动脉,将羊自体血栓注入选择的肺动脉分支,监测肺动脉造影,肺动脉压力、股动脉压力、心率、 PaO_2 等指标评估肺栓塞模型的建立。**结果** 基础肺动脉压力(27.3 ± 9.6) mmHg,股动脉收缩压(126.4 ± 13.7)mmHg,心率(103 ± 15)次/min,股动脉血 PaO_2 (87.7 ± 12.0)mmHg, $n = 10$;注入血栓剂量(30 ± 5)ml 后 60 min,肺动脉压力(52 ± 49)mmHg;股动脉收缩压(100 ± 21)mmHg;心率(150 ± 26)次/min;股动脉血 PaO_2 (62.4 ± 11.1)mmHg, P 均 < 0.01 ;肺动脉造影显示选择的肺动脉栓塞成功。**结论** 实验绵羊股静脉、腔静脉系统及右心系统解剖学特征适合于建立导管通路,建立选择性急性肺栓塞模型;建立选择性绵羊急性肺栓塞实验模型可行性、稳定性良好,具有栓塞部位、范围、严重程度的可控制性,影像学特征更适合于急性肺栓塞的实验研究。

【关键词】 肺血栓栓塞症;肺栓塞;动物模型;导管插入术;绵羊

中图分类号:R-332 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2010)-08-0639-03

Establishment of selected acute pulmonary thromboembolism model in experimental sheep FAN Ji-hai, GU Xiu-lian, CHAO Sheng-wu, ZHANG Peng, PAN Rui-lin, WANG Li-na, WANG Lu-lu, WANG Ling, LI Bo, CHEN Tao-tao. Department of cardiology, No.455 Hospital of PLA, Shanghai 200052, China
Corresponding author: FAN Ji-hai, E-mail: fanjihai@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To establish a selected acute pulmonary thromboembolism model in experimental sheep suitable for animal experiment. **Methods** By using Seldinger's technique the catheter sheath was placed in both the femoral vein and femoral artery in ten sheep. Under C-arm DSA guidance the catheter was inserted through the catheter sheath into the pulmonary artery. Via the catheter appropriate amount of sheep autologous blood clots was injected into the selected pulmonary arteries. The selected acute pulmonary thromboembolism model was thus established. Pulmonary angiography was performed to check the results. The pulmonary arterial pressure, femoral artery pressure, heart rates and partial pressure of oxygen in arterial blood (PaO_2) were determined both before and after the treatment. The above parameters obtained after the procedure were compared with the recorded parameters measured before the procedure, and the sheep model quality was evaluated. **Results** The baseline of pulmonary arterial pressure was (27.30 ± 9.58) mmHg, femoral artery pressure was (126.4 ± 13.72) mmHg, heart rate was (103 ± 15) bpm and PaO_2 was (87.7 ± 12.04) mmHg. Sixty minutes after the injection of (30 ± 5) ml thrombotic agglomerates, the pulmonary arterial pressures rose to (52 ± 49) mmHg, femoral artery pressures dropped to (100 ± 21) mmHg. The heart rates went up to (150 ± 26) bpm. The PaO_2 fell to (25.3 ± 11.2) mmHg. After the procedure the above parameters were significantly different from that measured before the procedure in all ten animals ($P < 0.01$). The pulmonary arteriography clearly demonstrated that the selected pulmonary arteries were successfully embolized. **Conclusion** The anatomy of sheep's femoral veins, vena cava system, pulmonary artery and right heart system are suitable for the establishment of the catheter passage, for this reason, selected acute pulmonary thromboembolism model can be easily created in experimental sheep. The technique is feasible and the model has the advantage of excellent stability, in addition, the occluded site,

extent and degree can be well controlled.

Moreover, the imaging features of the model are very suitable for experimental

基金项目:上海市长宁区卫生局局级课题(编号:20074Y16001)
作者单位:200052 上海 中国人民解放军第四五五医院心内科
通信作者:樊济海 E-mail: fanjihai@yahoo.com.cn

study of acute pulmonary thromboembolism. (J Intervent Radiol, 2010, 19: 639-641)

【Key words】 pulmonary thromboembolism; pulmonary embolism; animal model; catheterization; sheep

急性肺血管栓塞症 (acute pulmonary thromboembolism, APTE) 已成为我国常见心血管疾病, 每年约 29.64 万例死亡^[1]。近年来 APTE 的实验和临床研究广受重视。实验研究中, 建立理想的急性肺栓塞实验动物模型是必要的环节, 本实验探讨了绵羊急性肺栓塞模型的建立。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 本动物实验经由中国人民解放军第二军医大学动物实验中心审核许可, 实验动物使用许可证号: SYXK(沪)2007-0003。实验绵羊 10 只, 雌雄不拘, 体重 (32 ± 2.2) kg。

1.1.2 自体血栓制备 实验前 1 周经股静脉抽取羊自体血 100 ml 注入无菌血袋置于 10℃ 冰箱保存, 使用前去除血清, 血凝块切成 20 mm × 20 mm 小块, 用对比剂(碘必乐 370)浸泡 60 min。

1.1.3 仪器设备及手术材料

1.1.3.1 设备: DSA 为 OEC 9800 C 型臂 X 光设备及配套高压注射器(美国), 用于透视及造影。多道心电图生理仪: 48 道多道生理仪(美联, 美国), 用于心电图检测, 有创压力监测。心电图机: 同步 12 导联心电图机, 用于栓塞前后心电图记录。10 F、6 F 血管鞘, 0.035 英寸造影导丝, 6 F 猪尾导管, 8 F Jukins R 指引导管等均为 Corrdis(美国)产品。

1.1.3.2 自制血栓注射器: 将 20 ml 注射器前端适当削切, 嵌入并连接 12 F 硬质导管, 使用前环氧乙烷消毒。体外测试血栓注射顺利。

1.2 方法

1.2.1 手术方法 基础麻醉以氯胺酮 100 mg 联合地西泮 5 mg 肌注, 行麻醉诱导, 术中根据麻醉深度间歇以氯胺酮 2 mg/kg 肌注维持麻醉。双侧腹股沟区域备皮, 碘伏消毒, 常规铺无菌巾。以股动脉搏动为标志, 采用 Seldinger 穿刺法一侧股静脉穿刺, 留置 8 F 血管鞘; 同侧或对侧股动脉穿刺留置 6 F 血管鞘, 连接压力监测系统监测股动脉压力。抽取动脉血送检血气, 静脉血测生化指标。记录心电图。下腔静脉-股静脉造影: 经股静脉鞘插入 6 F 猪尾导管行下腔静脉造影和股静脉造影, 评价绵羊下腔静脉、股静脉影像学特征。肺动脉造影, 将 6 F 猪尾导管插入主肺动脉, 记录肺动脉压力, 连接高压注射

器, 压力 600 Pa, 流速 16 ml/s, 总量 32 ml, 行肺动脉造影。选择性分支肺动脉造影则采用手工注射。交换为 8 F Jukins R 指引导管, 在 0.035 英寸导丝指引下经右心至所选择肺动脉后撤出导丝。

1.2.2 血栓注入 拔出自制血栓注射器活塞, 将绵羊自体血栓团块填入注射器, 重新安装活塞, 再连接 8 F Jukins R 指引导管, 以每次 5 ml 剂量团注入血栓。每次注入后观察肺动脉压力 5 min。

本实验选择单个左/右肺动脉主支栓塞, 逐渐增加血栓剂量, 以肺动脉压力主要指标, 建立中度急性肺栓塞模型, 可用于多数急性肺栓塞的病理生理, 药物干预, 机械去栓及外科治疗等实验研究。注入血栓时间为 (30 ± 5) min。滴定的血栓平均剂量 (30 ± 5) ml。

1.2.3 观察项目

1.2.3.1 测压及其他项目: 血栓注入 60 min 后检测肺动脉压力, 股动脉压力, 动脉血气指标, 静脉生化指标, 记录心电图。

1.2.3.2 肺动脉造影: 评估靶血管血栓栓塞效果及栓塞区域血流灌注。

1.3 统计学方法

所有数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 应用 SPSS 软件配对 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

采用 Seldinger 穿刺法 10 只绵羊全部顺利建立血管通路。6 只同侧穿刺股动脉和股静脉, 4 只一侧股静脉, 对侧股动脉。下腔静脉-股静脉造影, 评价绵羊解剖、影像学特征。平均股静脉内径 (2.9 ± 0.4) mm, 下腔静脉内径(髂静脉分叉前) (6.5 ± 0.5) mm。采用 6 F 猪尾导管经右心系统顺利到达肺动脉, 完成基础肺动脉造影并作选择性血栓栓塞。

2.2 栓塞前后的血流动力学指标肺动脉压力(PAPs), 股动脉收缩压(FAPs), 平均心率(HRs), 股动脉 PaO_2 列于表 1。确证 APTE 模型建立成功。肌酸激酶, 碱性磷酸酶, 天冬氨酸转氨酶均无明显变化。

3 讨论

肺栓塞的动物实验研究中动物模型的建立不乏采用小型动物大鼠、兔^[2-3], 大型动物猪、犬等^[4-6],

表 1 肺动脉栓塞前后各参数比较

时间	PAP (mmHg)	股动脉收 缩压(mmHg)	心率 (次/分)	PaO ₂ (mmHg)
栓塞前	27.30 ± 9.58	128 ± 8	103 ± 15	85.5 ± 14.48
栓塞后	80.20 ± 27.77 [#]	100 ± 2 [#]	150 ± 26 [#]	43.86 ± 8.63 [#]
差值	52 ± 20.56	33.8 ± 17.23	36 ± 10	41.78 ± 11.03

[#] 配对 *t* 检验, $P < 0.01$, $n = 10$

少有采用绵羊者^[6]。体重 30 kg 左右的绵羊,其体型、静脉系统、肺循环解剖学特征等与人类较接近,此外绵羊性格温顺,仅需镇静催眠,不必全麻,减少麻醉药物剂量和麻醉药对实验参数影响,易化实验过程。实验中股静脉造影显示股静脉直径 3 mm 左右,适合于插入最大可达 10 F 血管鞘,这为肺栓塞模型建立后的经导管去栓等实验研究创造了条件。

经导管选择性肺动脉内注入一定量绵羊自体血栓后,肺动脉造影显示血栓栓塞性肺动脉血流中断或阻塞,肺动脉压力升高,股动脉压力下降,PaO₂降低,心率加快(P 均 < 0.01),确证急性肺栓塞模型成功建立。显示应用心导管技术采用经皮穿刺建立急性肺栓塞动物实验模型可行性,稳定性良好。

实验显示,绵羊股静脉、腔静脉系统及右心系统解剖学特征适合于建立导管通路,建立经导管注入血栓的急性肺栓塞实验动物模型;使用该导管技术,可选择不同的肺动脉及其分支、不同的栓塞范围、严重程度的急性肺栓塞动物模型,从而更有利于模型建立后的基础和临床研究,如导管技术,外科手术及药物干预措施研究等。

实验中应避免肺动脉内注射急速及低温血栓,该研究预实验中曾因快速注入 10℃低温血栓 20 ml 致心动过速(170 次/min)、严重低血压、一度呼吸停止^[7],DSA 造影显示广泛肺血管床痉挛,经快速补液,升压,简易呼吸机辅助呼吸后逐渐恢复。本实验采用间断团注方法,每剂注射 5 ~ 10 ml,之后观察肺动脉压力、股动脉压力、心率、呼吸等指标 10 min 左右,稳定后再行下一剂注射,直到稳定的肺栓塞实验模型指标。该实验注栓时间平均 30 min 左右,滴定的血栓平均剂量(30 ± 5)ml。更危重的急性肺栓塞模型,可能需要调整注射时间和剂量。

文献报道采用经外周静脉注入血栓团块者较多^[3-8]。本实验显示了经导管选择性肺动脉内血栓团注血栓块的优点:①可避免从外周或中心静脉注入血栓,可能导致的血栓在静脉、右心系统中的黏附,滞留及制作模型时间控制上缺陷。②使急性肺栓塞

模型的栓塞靶血管,栓塞范围,严重程度更加具有可选择性和可控性,更有利于研究不同栓塞部位、范围肺栓塞的病理、病理生理学及临床特征。③操作技术的可行性良好,应用常规的心导管操作技术,可任意选择栓塞靶血管;注入血栓剂量的可控性良好,以肺动脉压力、股动脉压力及 DSA 影像学特征为主要监护指标,间断团注血栓块,可有效控制栓塞程度。

实验中记录到的绵羊平均基础及栓塞后肺动脉压力较文献报道偏高^[9-10],可能与导管,对比剂注射肺血栓刺激,动物应激等有关,因采用前后对照,应不影响模型建立。该实验显示,制作绵羊选择性急性肺栓塞动物实验模型,在急性肺栓塞的基础研究中具有诸多优势。

[参考文献]

- [1] 中华医学心血管分会肺血管组,中国医师协会心血管内科医师分会.急性肺血栓栓塞诊断治疗中国专家共识[J].中华内科杂志,2010,49:74-81.
- [2] 周小慧,董小黎.肺栓塞实验动物模型的制备及其进展[J].实验动物科学与管理,2005,22:40-47.
- [3] 季颖群,高鹤立,张中和.家兔自体血凝块制作肺栓塞模型的探讨[J].实验动物科学与管理,2001,18:1-4.
- [4] Soe JB, Im JG, Goo JM, et al. Comparison of contrast-enhanced CT and gadolinium-enhanced MR angiography in detection of subsegmental-sized pulmonary embolism. An experimental study in a pig model[J]. Acta Radiol, 2003, 44: 403-410.
- [5] Screaton J, Coxson HO, Kaloger SE, et al. Detection of lung perfusion abnormalities using computed tomography in a porcine model of pulmonary embolism[J]. J Thorac Imaging, 2003, 18: 14-20.
- [6] 李建军,翟仁友,张东波,等.犬肺栓塞缺血-再灌注损伤模型的实验研究[J].介入放射学杂志,2009,18:40-43.
- [7] 许俊堂,袁训芝,黄永麟,等.犬急性肺动脉栓塞模型的建立[J].基础医学与临床,1997,17:77-79.
- [8] 崔宝奎,钟梅.实验性肺栓塞模型的制备[J].医学综述,2003,9:220-221.
- [9] Verma RK, Pfeffer JG, Stopinsky T, et al. Evaluation of a newly developed percutaneous thrombectomy basket device in sheep with central pulmonary embolisms [J]. Invest Radiol, 2006, 41: 729-734.
- [10] Schmitz-Rode T, Verma R, Pfeffer JG. Temporary pulmonary stent placement as emergency treatment of pulmonary embolism. first experimental evaluation[J]. J Am Coll Cardiol, 2006, 48: 812-816.

(收稿日期:2010-03-01)