

二尖瓣狭窄动物模型的建立

张 浒, 陶 杰, 白向锋, 段冰松, 孙 毅, 李丽娜, 张桂敏
(昆明医科大学第一附属医院心血管外科, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的** 探讨建立猪二尖瓣狭窄实验模型的可行性. **方法** 选择质量 42~56 kg 的大型猪 6 头, 采用全麻体外循环 (cardiopulmonary bypass, CPB) 下经左心耳入路, 4-0 无创缝线分别于二尖瓣 A1-P1 区和 A3-P3 区水平褥式缝合. **结果** 共制备出猪二尖瓣狭窄模型 6 个, 总成功率 100%, 心脏超声提示二尖瓣口的血流速度、跨瓣压差及瓣口面积手术前后比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$). **结论** 大型猪制备二尖瓣狭窄动物模型, 科学可靠, 可行性强, 成模率高, 可用于心瓣膜疾病发病机制的研究.

[关键词] 二尖瓣狭窄; 体外循环; 动物模型

[中图分类号] R332 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2015) 02-0000-00

Establishment of Animal Model of Mitral Stenosis

ZHANG Hu, TAO Jie, BAI Xian-feng, DUAN Bing-song, SUN Yi, LI Li-na, ZHANG Gui-ming
(Dept. of Cardiacvascular Surgery, The First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objective** To assess the feasibility of establishing the model of mitral stenosis in swine. **Methods** Six swines (42-56 kg) were performed operation in which the the anterior leaflet and posterior leaflet were sutured at A1-P1 and A3-P3 through the left atrial appendage route under the cardio pulmonary bypass and general anesthesia. **Results** A totally 6 swine models of mitral stenosis were made successfully, the success rate was 100%. There were significant differences in the blood flow velocity, mitral pressure of gradient and effective orifice area between pre-operation and post-operation. **Conclusions** The method of preparing mitral stenosis model in swine is simple, scientific, and effective with good feasibility and satisfying success rate. The model can be used for reseaching the pathogenesis of rheumatic heart disease

[Key words] Mitral stenosis; CPB; Animal model

心瓣膜病在我国是一种十分常见的疾患, 不同病因所导致的瓣膜损害通常表现为狭窄或关闭不全, 并引起心功能受损, 导致心力衰竭和多脏器功能不全. 风湿热是国内瓣膜疾病最主要的病因^[1]. 二尖瓣生物力学性能改变是风湿性心瓣膜病发病过程的一个重要环节. 在初始狭窄的基础上, 瓣膜随跨瓣压差的增加, 胶原纤维网状排列聚集程度增大, 间质细胞增生, 这种改变可能与瓣膜的重构有关而非风湿活动的直接损害. 因此, 探索二尖瓣狭窄早期瓣区生物应力对瓣膜及辅助结构的损伤及重

构将为心瓣膜疾病的防治提供新理论和治疗新靶点. 但这类研究在人体很难实施, 因此, 建立二尖瓣狭窄动物模型就具有非常重要的意义.

1 材料与方法

1.1 实验动物

采用昆明医科大学动物科提供的 13~16 月, 平均 (14 ± 1.5) 月龄大型成年猪 6 头, 体重在 42~56 kg, 平均 (50.5 ± 6.4) kg, 雌雄不限. 所

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (31360227)

[作者简介] 张浒 (1978~), 男, 重庆市人, 医学博士, 讲师, 主要从事临床心血管外科工作.

[通讯作者] 张桂敏. E-mail:1036496536@qq.com

选动物符合云南省实验动物质量合格标准。

实验动物入选标准：(1) 体重 > 40 kg；(2) 月龄 > 12 月；(3) 不合并有任何心脏疾病和解剖异常。

1.2 动物模型制作

1.2.1 术前准备 术前于饲养间观察 1 周，饲养期间进行灭虫处理。术前 1 周分别取猪自体血储备，按体重 0.6% 采血。

1.2.2 麻醉准备 术前 12 h 禁食，术前 8 h 禁饮，术前 30 min 肌注阿托品 0.02 mg/kg，安定 0.2 mg/kg，动物安静后，沿耳缘静脉留置静脉套管针，以 3% 戊巴比妥钠 15 ~ 25 mg/kg 于耳缘静脉注射，速度控制在 6 ~ 8 mL/min。观察动物反应，当出现肌肉紧张度下降、活动减少、角膜反射减退后停止推药，将实验动物仰卧位固定于实验手术台上，动物前胸、颈部、腹股沟区备皮。连接心电监护仪，留置导尿管。

1.2.3 麻醉方法 戊巴比妥钠 30 mg/kg 于耳缘静脉缓慢注射。2 min 后，掰开动物上下颌，用卵圆钳将动物舌头拉出口腔并固定于一侧，置入喉罩，调整喉罩放置位置，机控呼吸密闭不漏气为宜。用绷带将导管固定。机控呼吸，潮气量 (Vt) 8 ~ 10 mL/kg，呼吸频率 (RR) 12 ~ 18 次 /min，吸入氧浓度 (FiO₂) 100%，吸呼比 (I/E) 1:1.5。术中麻醉维持采用戊巴比妥钠 8 mg/(kg·h)+ 芬太尼 0.001 mg/(kg·h) 的方案，留置鼻温、肛温探头。

1.2.4 体外循环 肝素 5 mg/kg 静注，全身肝素化，ACT > 480 s 后主动脉插供血管，右心房插引流管建立体外循环，采用并行循环。

1.2.5 手术方法 常规碘伏消毒，铺巾，正中锯开胸骨，T 形切开心包，提吊心包显露心脏，建立体外循环，沿左心耳长轴切开显露二尖瓣，体位右侧倾斜 30°，提吊，显露手术视野，4-0 无创缝线分别于二尖瓣 A1-P1 区和 A3-P3 区水平褥式缝合，排气、关闭左心房。放置引流。

1.2.6 术后管理 术毕动物清醒，拔出气管插管，安返饲养间，置于不锈钢饲养笼内。采取保暖措施维持室温在 23℃ 左右。

1.3 观察项目

选用 GE Vivid S5 彩色超声机，3S-RS 超声探头，探头频率 1.5 ~ 2.5/D2.0MHZ。实验动物在镇静下分别探查左室长轴、心尖四腔和二尖瓣水平短轴观，测量二尖瓣口的血流速度、跨瓣压差及瓣口面积。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 软件进行统计学分析，所有正态分

布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示，手术前后比较采用配对 *t* 检验，*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

共制备出猪二尖瓣狭窄模型 6 个，总成功率 100%，心脏超声提示二尖瓣口的血流速度、跨瓣压差及瓣口面积手术前后比较差异有统计学意义 (*P* < 0.05)，见表 1。

表 1 手术前后血流速度、压差及瓣口面积比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of the blood flow velocity, mitral pressure of gradient and effective orifice area between pre-operation and post-operation ($\bar{x} \pm s$)

项 目	术前	术后
血流速度 (m/s)	0.53 ± 0.05	1.18 ± 0.30*
跨瓣压差 (mmHg)	4.32 ± 0.63	7.95 ± 1.20*
瓣口面积 (cm ²)	4.2 ± 0.33	2.42 ± 0.49*

与术前比较，**P* < 0.05。

3 讨论

3.1 实验动物的选择

建立能真实模拟二尖瓣狭窄动物模型，首先要追求实验动物的心脏解剖结构、血流动力学必须同人体接近，这样才能够模拟人体二尖瓣狭窄的血流动力学改变，并提供一些对临床研究有参考价值的实验数据。国外相关研究证明，大型猪心脏和人体心脏在解剖上，尤其在二尖瓣瓣膜应力的分布上，很接近^[2-6]。因此，近年来许多心脏瓣膜病理机制研究均选择大型猪作为实验动物^[7-10]。

3.2 开胸路径的选择

人体行心脏手术多采用平卧正中开胸，但实验中笔者发现猪心脏较人稍稍左旋，而且实验动物心脏均为正常大小，较风湿性心脏瓣膜病患者左心房偏小，左心房较不易暴露，因此，本实验采用了正中开胸路径，CPB 建立后改为右侧倾斜 30° 的体位摆放，实验证实通过适当提吊可以获得了较好的手术野显露。

3.3 围手术期的管理

3.3.1 呼吸系统管理 猪颈部脂肪厚，咽喉部狭长，气道分泌物较多，麻醉后容易造成气道梗阻。体外循环引起的全身炎症反应可造成肺组织损伤，肺泡通透性增加，同时体外循环后血液稀释，胶体渗透压降低，这些都将导致心脏手术后肺组织渗出

增多。这提示笔者实验过程中的呼吸道管理非常重要。笔者术后采取了以下措施：(1) 及时输血、补充胶体和利尿，提高胶体渗透压，防止肺间质水肿；(2) 选用喉罩而不是气管插管或是气管切开，减少对上呼吸道的干扰；(3) 术中严密止血，术后尽早拔除引流管，帮助猪恢复正常生理体位。

3.3.2 循环系统管理 猪脂肪比重大，相同体重的猪较人血容量较小，对失血更敏感，在动物模型建立过程中，失血性休克一直是一个不容忽视的问题。猪的血型有15种，远较人类A、B、O、AB四种复杂，异体输血配型较困难。但猪的自我修复能力远较人类强，失血后骨髓造血功能旺盛，因此本实验采用了术前1周按体重0.6%采血备用的自体输血方法，实验证明术前备血对保证动物模型的顺利建立起到了关键性的作用。6例猪围术期均未出现输血反应，成功建立动物模型6例，成膜率100%。另外，术中严密止血，术后积极补充代血浆以扩充血容量也较为重要。

3.3.3 感染防治 手术过程中加强无菌技术防止感染性并发症是保证实验动物术后存活的重要环节。笔者主要采取了以下措施：(1) 术前动物进行单独饲养，对饲养室使用40%甲醛熏蒸消毒，对猪进行常规灭虫处理。(2) 手术前1d对手术间和饲养间用紫外线照射消毒，所有手术器械术前均在2%戊二醛浸泡10h以上。(3) 术前30min、术后24h预防性使用抗生素，静脉滴注足量抗生素，预防感染。

大型猪制作二尖瓣狭窄动物模型能模拟人体二尖瓣狭窄后瓣膜下游血流流体力学分布情况，可用于二尖瓣狭窄病理机制的研究。

[参考文献]

[1] 吴在德, 吴肇汉. 外科学[M]. 第7版. 北京: 人民卫生

出版社, 2008: 372 - 378.

- [2] WALTERS E M, AGCA Y, GANJAM V, et al. Animal models got you puzzled: think pig [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2011, 12(45): 63 - 64.
- [3] TREW M L, CALDWELL B J, SANDS G B, et al. Three-dimensional cardiac tissue image registration for analysis of in vivo electrical mapping [J]. *Ann Biomed Eng*, 2011, 39(1): 235 - 248.
- [4] NEIZEL M, KRAMER N, SCHUTTE A, et al. Magnetic resonance imaging of the cardiac venous system and magnetic resonance-guided intubation of the coronary sinus in swine: a feasibility study [J]. *Invest Radiol*, 2010, 45(8): 502 - 506.
- [5] SKALLERUD B, PROT V, NORDRUM I S. Modeling active muscle contraction in mitral valve leaflets during systole: a first approach [J]. *Biomech Model Mechanobiol*, 2011, 10(1): 11 - 26.
- [6] SCHNEIDER R J, PERRIN D P, VASILYEV N V, et al. Mitral annulus segmentation from 3D ultrasound using graph cuts [J]. *IEEE Trans Med Imaging*, 2010, 29(9): 1676 - 1687.
- [7] FUNDER J A, WINTHER FROST M, WIERUP P, et al. Turbulence downstream of subcoronary stentless and stented aortic valves [J]. *J Biomech*, 2011, 44(12): 2273 - 2278.
- [8] TROIANI D, MANNI E. The work by Giulio Ceradini in explaining the mechanism of semilunar cardiac valve function [J]. *Adv Physiol Educ*, 2011, 35(2): 110 - 113.
- [9] WALTER E M, VASILYEV N V, SILL B, et al. Creation of a tricuspid valve regurgitation model from tricuspid annular dilatation using the cardioport video-assisted imaging system [J]. *J Heart Valve Dis*, 2011, 20(2): 184 - 188.
- [10] KIM J H, KOCATURK O, OZTURK C, et al. Mitral cerclage annuloplasty, a novel transcatheter treatment for secondary mitral valve regurgitation: initial results in swine [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54(7): 638 - 651.

(2014 - 12 - 03 收稿)