

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.04.005

经胸右心室穿刺法测量大鼠右心室压力的研究*

劳金泉 邓 燕 张 锋 彭小飞 叶冰冰 庞玉生[△]

(广西医科大学第一附属医院儿科 广西 南宁 530021)

摘要 目的:探索一种技术简单、操作方便、重复性好、容易掌握的大鼠右心室压力测量方法。**方法:**取健康 Sprague Dawley 大鼠 20 只,随机分为实验组(n=10),对照组(n=10)。实验组使用一次性静脉输液针(0.45× 13.5 mm)经胸直接穿刺右心室测量右心室压力,对照组使用右心导管,经颈外静脉沿右心房插入右心室测量右心室压力。比较两者操作时间、成功率、右心室压力等指标。**结果:**实验组从麻醉开始到成功测出右心室压力的时间 5.10± 1.32 min,对照组为 25.21± 10.30 min(P<0.05)。两种方法所检测到的右心室收缩压、右心室舒张压、右心室平均压无统计学差异(P>0.05)。实验组大鼠成功率 100%,对照组 60%(P<0.05)。**结论:**经胸右心室穿刺法能准确、快速穿刺到右心室并能准确测量右心室压力。

关键词:大鼠;右心室;肺动脉;压力

中图分类号:R-33;R54 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)04-619-05

Research of Measurement of Right Ventricle Pressure by Right Ventricle Punctured through Chest in Rats*

LAO Jin-quan, DENG Yan, ZHANG Feng, PENG Xiao-fei, YE Bing-bing, PANG Yu-sheng[△]

(Department of Pediatrics, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi, 530021, China)

ABSTRACT Objective: To explore a technique for measuring right ventricular pressure with simple technique, convenient operation, good repeatability and easy to master. **Methods:** Twenty healthy Sprague Dawley rats were divided into the experimental group (n=10) and the control group (n=10) randomly. The disposable venous infusion needle (0.45× 13.5 mm) was punctured into the right ventricle directly through chest to measure the right ventricular pressure of rats in the experimental group. For the rats in control group, the right ventricular polyethylene catheter was inserted into right ventricular through right external jugular vein and right atrium so as to measure right ventricular pressure. The operation time, right ventricle pressure and successful rate for measuring were calculated in the two groups. **Results:** No significant differences of right ventricle systolic pressure, right ventricle diastolic pressure, and right ventricle mean pressure were found between the experimental and control group (P>0.05). The time spent from anesthetization to measuring was 5.10± 1.32 min in the experimental group while 25.21± 10.30 min in the control group, and the difference between two groups was statistical significant (P<0.05). The percentage of successful measurement was 100% in the experimental group and 60% in the control group with statistical significance (P<0.05). **Conclusions:** The right ventricular pressure could be measured accurately and rapidly by the technique of right ventricle punctured through chest in rats.

Key words: Rat; Right ventricle; Pulmonary artery; Pressure

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R54 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)04-619-05

前言

使用动物模型研究肺动脉高压,肺动脉压力是判断成功建立模型的重要指标。传统的测量方法使用右心导管,通过盲插法将右心导管从颈外静脉、右心房,插到右心室、肺动脉^[1];或在X线透视下使用导丝引导完成插管测压^[2]。有研究者指出,右心室流出道无狭窄及肺动脉无狭窄时,肺动脉收缩压与右心室收缩压(right ventricular systolic pressure, RSVP)基本一致,通过测量右心室收缩压可以间接反映肺动脉收缩压^[3-6]。以上的方法均能测量压力,但操作较复杂、器械要求较高、对实验动物创伤性

大、测压后实验动物的很快死亡、难以在同一实验动物身上前后测量多次、无法自身对照、缺乏重复性。本研究使用一次性静脉输液针经胸右心室穿刺测量压力,并与传统右心导管插管测量压力^[5,7-9]方法比较,以探索一种操作简单、创伤性小、可多次重复测量、能进行自身对照的新的测量压力方法。

1 材料和方法

1.1 动物

健康 Sprague Dawley(SD)大鼠共 20 只,雌雄各半,体重 200-250 g,由广西医科大学实验动物中心提供。按随机数字方

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81160040)

作者简介:劳金泉(1980-),男,博士研究生,主要研究方向:儿科心血管,E-mail: laojinquan1336@163.com

[△] 通讯作者:庞玉生,主要研究方向:儿科心血管,电话:0771-5331053, E-mail: panyush@163.com

(收稿日期:2016-04-16 接受日期:2016-05-14)

法,分为实验组(n=10),对照组(n=10)。

1.2 试剂及仪器

10 %水合氯醛溶液,肝素注射液(100 mg/支),0.9 %氯化钠注射液,一次性使用静脉输液针(江西洪达,0.45×13.5 mm),MPA-CFS 心功能分析及配套的压力换能器(上海奥尔科特生物科技有限公司),5 mL 注射器,1 mL 注射器,止血钳,眼科剪,组织剪,组织弯镊,解剖显微镜,聚乙烯塑料导管(polyethylene catheter, PE, 外径 0.8 mm, 长 10 cm)。

1.3 方法

1.3.1 实验组操作方法 大鼠用 10 %水合氯醛溶液 2-4 mL/kg 腹腔内注射麻醉,仰卧固定。打开一次性使用静脉输液针(0.45 mm×13.5 mm),输液针导管内预充满 1:100 肝素生理盐水,末端连接压力换能器,接到心功能分析系统。打开心功能分析系统并定标调零。术者左手手指触摸大鼠心尖搏动点,在心尖搏动最明显处向头侧上移 0.1-0.3 mm 作为穿刺点垂直刺入。进针约 1 cm,可发现一次性静脉输液针随心跳搏动,有小段暗红色血液回流到一次性静脉输液针导管前端并随心跳搏动,心功能分析系统显示波浪状右心室压力曲线以及显示右心室收缩压、右心室舒张压(right ventricular diastolic pressure, RVDP)及右心室平均压(right ventricular mean pressure, RVMP),提示已进入右心室,记录压力数值及保存压力曲线。实验组大鼠以定位好的穿刺点稍偏左侧进针,即可测到左心室的压力数据及压力曲线。

1.3.2 对照组操作方法 参照文献报道的方法^[8-10],麻醉固定后,分离右颈外静脉,将右颈外静脉远心端用丝线结扎,近心端预留一个松结。PE 导管预充肝素盐水,塑形,连接压力换能器。在解剖显微镜下剥净静脉外膜,并用组织剪自颈静脉中下 1/3 处向下斜行剪开颈外静脉,迅速插入 PE 导管,将松结结扎。根据压力曲线波形以及血压变化判断进入右心房,右心室,肺动脉,置管长度约 4-4.5 cm。记录右心室收缩压、舒张压、平均动脉压,以及压力曲线。

1.4 统计学处理

采用 SPSS19.0 统计学软件进行统计学分析,符合正态分布的数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料比较用 χ^2 检验,计量资料比较用 t 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 操作时间

比较从麻醉开始到测量出右心室压力的时间,实验组所需时间为 5.10 ± 1.32 min,对照组为 25.21 ± 10.30 min ($P < 0.05$)。而实验组从穿刺到成功采集压力数据及压力曲线的时间为 0.30 ± 0.12 min,对照组从右颈外静脉穿刺置管到采集压力数据及压力曲线时间为 11.23 ± 5.06 min,两组差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。实验组若定位准确,一次穿刺即可成功。若不成功,可重新定位后继续穿刺。

表 1 实验组与对照组操作时间比较

Table 1 Comparison of operation time between experimental group and control group

Groups	Total operation time (min)	Puncture or catheter insert time (min)
Experimental group (n=10)	5.10 ± 1.32	0.30 ± 0.12
Control group (n=10)	25.21 ± 10.30	11.23 ± 5.06
P	< 0.05	< 0.05

2.2 位置判断

实验组大鼠以定位好的穿刺点稍偏左侧进针,即可测到左心室的压力数据及压力曲线。所测的大鼠左心室收缩压 61.20 ± 5.27 mmHg,较右心室收缩压 19.94 ± 1.67 mmHg 有显著性差异 ($P < 0.05$)。穿刺左心室时可见回流到一次性静脉输液针导管前端血液颜色为鲜红色,搏动范围较大。左心室压力曲线均匀、波峰高尖、一致(见图 3),而右心室压力曲线不均

匀、波峰不一致、呈周期性变化、波峰有切迹(见图 1,图 2)。因此可通过压力数据、回流到一次性静脉输液针导管前端血液颜色、压力曲线特点,判断穿刺针所处的位置。

2.3 操作成功率

实验组大鼠无死亡。对照组 2 只大鼠由于右颈外静脉痉挛严重,导管穿刺右颈外静脉困难,致使右颈外静脉撕裂,出血过多而死亡。1 只大鼠将导管穿刺插入颈外静脉后进入上腔静

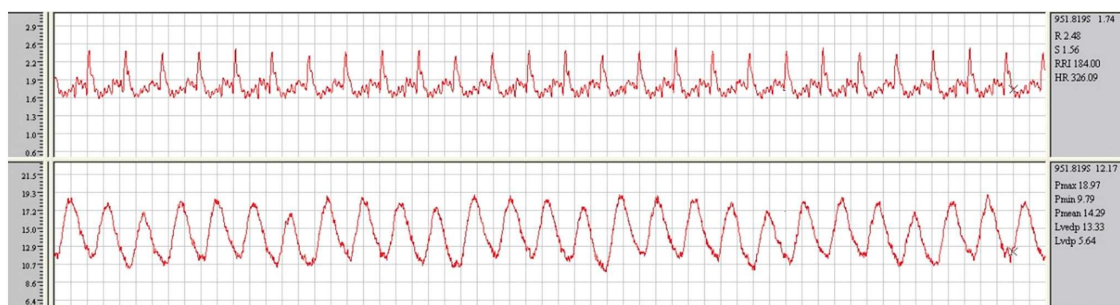


图 1 实验组采集的右心室压力数值及曲线与同步心电图

Fig.1 Right ventricular pressure, pressure curve and corresponding ECG in experimental group

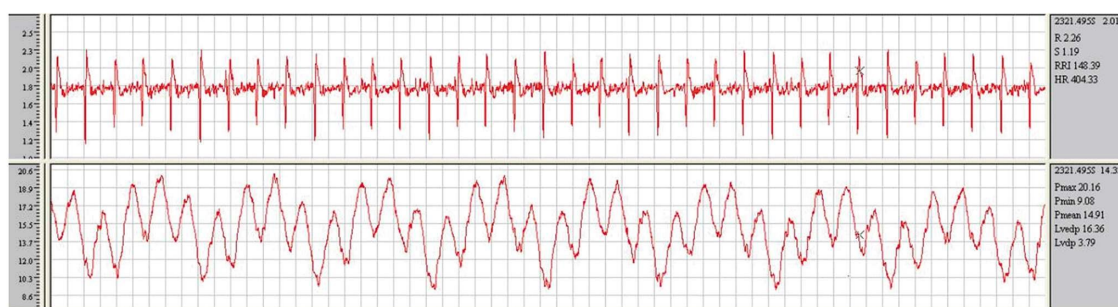


图 2 对照组右心室压力数值及曲线与同步心电图

Fig.2 Right ventricular pressure, pressure curve and corresponding ECG in control group

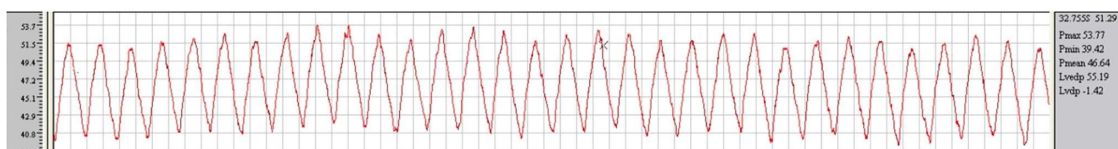


图 3 实验组左心室压力数值及曲线

Fig.3 Left ventricular pressure, pressure curve in experimental group

脉,一直无法进入右心房和右心室,最后大鼠死亡,解剖显示胸腔积血,考虑静脉破裂。1 只大鼠由于置管后进入下腔静脉,导致下腔静脉破裂出血而死亡。实验组操作成功率 100 %,对照组 60 %,两组差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 实验组与对照组操作成功率比较

Table 2 Comparison of operation success rate between experimental group and control group

Groups	Success (%)	Failure (%)
Experimental group (n=10)	100	0
Control group (n=10)	60	40
P	<0.05	<0.05

2.4 两种方法测得的右心室压力结果比较

实验组大鼠及对照组插入右心导管成功的大鼠均能测量

到右心室压力(见表 3),两种方法所测得的右心室压力相比较,无统计学差异($P>0.05$)。

表 3 实验组与对照组大鼠右心室压力比较

Table 3 Comparison of right ventricular pressure in rats between the experimental group and the control group

Groups	RVSP (mmHg)	RVDP (mmHg)	RVMP (mmHg)
Experimental group (n=10)	19.94± 1.67	11.03± 1.46	14.00± 1.41
Control group (n=6)	19.15± 1.14	10.62± 0.69	14.37± 1.42
P	>0.05	>0.05	>0.05

3 讨论

理想肺动脉高压动物模型应该是:所建立的模型能较准确模拟人类肺动脉高压的病理变化及血流动力学改变、来源容易、费用低廉,重复性好。近年来众多研究者建立了许多肺动脉高压的动物模型^[11-13],希望能反映出典型的肺动脉高压的病理特点、符合肺动脉高压病理组织改变^[14],为研究肺动脉高压奠定基础。所建立的肺动脉高压动物模型,肺动脉压力升高是判断模型建立成功的重要指标,使用右心导管测量肺动脉压力是"金标准"。测量方法有非侵入性方法(如超声)以及侵入性方

法(如:右心导管)^[15]等。本研究采用经胸右心室穿刺法测量右心室压力,能够准确测量到右心室压力,所测得到的右心室收缩压、舒张压并与右颈外静脉的右心导管插管法进行比较,并无显著差异,结果可靠,能准确反映右心室压力;所观察到的压力曲线稳定,能明显反映出右心室压力变化的特征。但本研究的操作简单、技术要求不高,所需的操作时间较右心导管插管法明显缩短,具有显著优势。本研究也通过右颈外静脉的右心导管插管法^[16],将导管插入右心室、肺动脉,测量右心室、肺动脉压力数据及压力曲线。本研究采用此法测量压力时发现:分离颈外静脉,刺激、牵拉易引起颈外静脉痉挛甚至血流中

断;颈外静脉壁薄,插管后易刺破静脉,导致大出血;颈外静脉收缩性差,插管处易渗血,严重时可引起大出血死亡;颈外静脉管腔小,穿刺尤为困难,以致较难顺利将导管插入;导管可能通过右心房直接进入下腔静脉,较难通过三尖瓣进入右心室;大鼠血管腔、心腔狭小,右室长轴与肺动脉长轴成一锐角,导管易在右心室在卷曲,导管前端刺激右心室易引起心律失常,以及影响血流动力学,使测出的右心室压力数据及压力曲线受到干扰,且难以进入肺动脉。以上的影响因素,易使测量失败、操作时间延长,造成实验动物死亡。有作者指出,采用右心导管插管法并提高成功率,需要较长时间的训练、大量的动物进行预实验培训以及一定技巧才能较好掌握^[9]。本研究使用右心导管插管法测量,死亡率40%,死于出血过多,静脉破裂等原因。而经胸右心室穿刺法,由于操作简单,所用穿刺针较细小,即使多次穿刺,也不易引起右心室出血,测量压力后对大鼠的解剖表明,并没有心包积液及堵塞。所观察的实验组无死亡现象,能减少实验动物损耗。

本方法的难点在于穿刺时的准确定位。有文献报道直接穿刺右心室时以胸骨右缘4-5肋间紧贴胸骨向心尖方向以60°角斜行刺入^[1],本研究发现由于大鼠肋间隙细小,定位较难;斜行穿刺角度不易确定,而大鼠的右心腔小、心室率400次/分左右(见图1、图2对应的心电图),斜行穿刺、不易进入右心室。也有采用胸部小切口法打开胸腔直视下右心室穿刺插管测压^[17-19],肺动脉穿刺插管^[20],操作过程复杂,需使用动物呼吸机持续机械通气,对大鼠损伤大,测量压力后大鼠很快死亡,不能进行多次,不同时间点测量。由于心尖搏动点易在大鼠心前区触及,心尖搏动点大部分由右心室构成,本研究以心尖搏动点向头侧上移0.1-0.3 cm作为定位点,垂直刺入即可刺入右心室。穿刺时由于针芯直径小,尖端锋利,且大鼠胸骨及肋骨较薄,因此可不需刻意避开胸骨、肋骨而选择肋间隙穿刺,当进针困难时可稍作避开。

本方法的另一难点在于位置判断。有研究者采用导丝,经X线或B超引导将导丝置入右心室、肺动脉。此法能准确判断导管前端位置,但设备要求高,有射线辐射的风险。采用盲插法进行右心导管插管,由于没有B超或X线的引导,难以准确判断导管走向,对初学者较难掌握。本方法,若一次性使用静脉输液针经胸插入心室,即出现压力数据及压力曲线,但需判断其位置是位于右心室还是左心室。本研究对大鼠左心室与右心室的压力数值及压力曲线进行了比较,寻找两者之间的差异。正常的大鼠右心室压力数值较左心室低,压力曲线波形不均匀、呈周期性变化,波峰变异性大、有切迹、波峰点不在同一水平线(见图1);而左心室压力曲线波形均匀,波峰高尖,每个波峰点位于同一水平线上(见图3)。对穿刺后回流到一次静脉输液针导管前端的血液颜色比较,由于右心室血氧饱和度明显比左心室低,因此穿刺右心室回流的血液呈暗红色,穿刺左心室回流的血液呈鲜红色。因此使用本方法,只要操作时体位正确、定位准确,通过压力数值、压力曲线特点、回流血液颜色等基本能判断穿刺后针尖所处的位置,可不需要X线、B超协助判断,准确性高,操作容易。若穿刺针进入右心房或左心房,因右心房、左心房压力数值低,压力曲线低平,较易判断所处位置不是右心室。

本方法使用一次性静脉穿刺针,来源容易,针芯直径仅为0.45 mm,对心脏创伤小,实验后解剖心脏未发现心包积血,测压后大鼠仍能继续生存,因此对于设计自身对照、反复测量、动态监测的肺动脉高压动物模型有显著优势。所测的结果与右心导管插管法无统计学差异,测量结果准确,实验方法简单、可靠,能减少实验动物损耗,节约操作时间,具有较高的应用价值。

参考文献(References)

- [1] Li XQ, Wang HM, Yang CG, et al. Fluoxetine inhibited extracellular matrix of pulmonary artery and inflammation of lungs in monocrotaline-treated rats [J]. Acta pharmacologica Sinica, 2011, 32(2): 217-222
- [2] 杨杰章, 黄石安, 陈灿, 等. 大鼠经颈外静脉导丝引导插管测肺动脉压与传统方法的比较[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(9): 44-50
Yang Jie-zhang, Huang Shi-an, Chen Can, et al. Comparison between the Application of Catheterization in External Jugular Vein between the Conventional Approaches to Measure Pulmonary Artery Pressure in Rats [J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2010, 20(9): 44-50
- [3] 信怡, 黄国英, 夏红萍, 等. 大鼠经胸右心室穿刺测压的可行性研究[J]. 复旦学报(医学版), 2006, 33(5): 639-641
Xin Yi, Huang Guo-ying, Xia Hong-ping, et al. Feasibility of measuring right ventricle pressure by catheter punctured through chest in rats[J]. FuDan University Journal of Medical Sciences, 2006, 33(5): 639-641
- [4] 章新华, 陈磊, 王怀良, 等. 大鼠肺动脉压检测方法学研究 [J]. 中国医科大学学报, 2004, 33(5): 388-389
Zhang Xin-hua, Chen Lei, Wang Huai-liang, et al. Methodological study of determination of rat pulmonary artery pressure[J]. Journal of China Medical University, 2004, 33(5): 388-389
- [5] 徐刚, 高文祥, 陈德伟, 等. 小鼠PE右心室导管的制作及应用研究[J]. 重庆医学, 2014, 43(19): 2401-2403
Xu Gang, Gao Wen-xiang, Chen De-wei, et al. Design and application research of PE right ventricular catheter for mice [J]. Chongqing Medicine, 2014, 43(19): 2401-2403
- [6] Xiong M, Yao JP, Wu ZK, et al. Fibrosis of pulmonary vascular remodeling in carotid artery-jugular vein shunt pulmonary artery hypertension model of rats [J]. European journal of cardio-thoracic surgery: official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery, 2012, 41(1): 162-166
- [7] Wang K, Chen C, Ma J, et al. Contribution of calcium-activated chloride channel to elevated pulmonary artery pressure in pulmonary arterial hypertension induced by high pulmonary blood flow [J]. International journal of clinical and experimental pathology, 2015, 8(1): 146-154
- [8] 陈传斯, 庞玉生, 马建法, 等. 右心导管法测大鼠肺动脉压力的改良[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(15): 2863-2866
Chen Chuan-si, Pang Yu-sheng, Ma Jian-fa, et al. The Improvement of Right Heart Catheterization Method to Measure Pulmonary Artery Pressure in Rats [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2014, 14(15): 2863-2866
- [9] 邹丽珍, 陈马云, 黄晓颖, 等. 改良右心导管法测量大鼠肺动脉压力的实验方法研究[J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(4): 757-762
Zou Li-zhen, Chen Ma-yun, Huang Xiao-ying, et al. A meliorative

- technique to measure pulmonary artery pressure by right heart catheterization in rats [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2014, 30(4): 757-762
- [10] 张利鹏, 杨敬平, 孙德俊, 等. 雾化吸入亚硝酸钠对低氧性肺动脉高压大鼠肺动脉压力及 NO、H₂S 水平的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(1): 122-126
- Zhang Li-peng, Yang Jing-ping, Sun De-jun, et al. Expression of NO and H₂S in hypoxic pulmonary hypertension and intervention of sodium nitrite in rats [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2010, 26(1): 122-126
- [11] Zhang HL, Luo Q, Liu ZH, et al. Abnormal expression of vesicular transport proteins in pulmonary arterial hypertension in monocrotaline-treated rats [J]. Acta biochimica et biophysica Sinica, 2015, 47(3): 156-163
- [12] Polonio IB, Acencio MMP, Pazetti R, et al. Comparison of two experimental models of pulmonary hypertension[J]. Jornal Brasileiro De Pneumologia, 2012, 38(4): 452-460
- [13] Gomez-Arroyo J, Saleem SJ, Mizuno S, et al. A brief overview of mouse models of pulmonary arterial hypertension: problems and prospects [J]. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 2012, 302(10): L977-L991
- [14] Stenmark KR, Meyrick B, Galie N, et al. Animal models of pulmonary arterial hypertension: the hope for etiological discovery and pharmacological cure [J]. American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology, 2009, 297(6): L1013-1032
- [15] Pristera N, Musarra R, Schilz R, et al. The Role of Echocardiography in the Evaluation of Pulmonary Arterial Hypertension [J]. Echocardiography, 2016, 33(1): 105-116
- [16] Rawat DK, Alzoubi A, Gupte R, et al. Increased reactive oxygen species, metabolic maladaptation, and autophagy contribute to pulmonary arterial hypertension-induced ventricular hypertrophy and diastolic heart failure[J]. Hypertension, 2014, 64(6): 1266-1274
- [17] Zaiman AL, Damico R, Thoms-Chesley A, et al. A Critical Role for the Protein Apoptosis Repressor With Caspase Recruitment Domain in Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension [J]. Circulation, 2011, 124(23): 2533-2542
- [18] Hemnes AR, Zaiman A, Champion HC. PDE5A inhibition attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis and pulmonary hypertension through inhibition of ROS generation and RhoA/Rho kinase activation [J]. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 2008, 294(1): L24-L33
- [19] Nagai H, Kuwahira I, Schwenke DO, et al. beta2-Adrenergic receptor-dependent attenuation of hypoxic pulmonary vasoconstriction prevents progression of pulmonary arterial hypertension in intermittent hypoxic rats[J]. PloS one, 2014, 9(10): e110693
- [20] Zhang H, Luo Q, Liu Z, et al. Abnormal expression of vesicular transport proteins in pulmonary arterial hypertension in monocrotaline-treated rats[J]. Acta biochimica et biophysica Sinica, 2015, 47(3): 156-163

(上接第 614 页)

- Jiang Shui-hong, Zha Sheng-hua, Xie Li-fen, et al. Study on the determination of sialic acid in edible bird's nest[J]. Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics, 2009, 30(5): 315-317
- [24] 王芳, 王冰. 脱氨神经氨酸及其在肿瘤中表达的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(24): 5152-5155
- Wang Fang, Wang Bing. Progress on KDN (2-Keto-3-deoxy-D-glycero-D-galacto-nononic acid) and its Expression in tumor [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2011, 11(24): 5152-5155
- [25] Wang F, Xie B, Wang B, et al. LC-MS/MS glycomic analyses of free and conjugated forms of the sialic acids, Neu5Ac, Neu5Gc and KDN in human throat cancers[J]. Glycobiology, 2015, 25(12): 1362-1374