

恒河猴大脑中动脉 M1 段栓塞建模中麻醉方案的选择

田肇隆, 马艳辉, 李 丽, 王天龙, 周凌雪

(首都医科大学宣武医院麻醉科, 北京 100053)

【摘要】 目的 为需要进行大脑中动脉 M1 段栓塞模型建立的恒河猴及其它大型实验动物提供一种简捷、迅速、安全的麻醉方法。**方法** 采用健康成年恒河猴 20 只, 均为雄性, 年龄 7~9 岁, 体重 7~11 kg, 基础麻醉应用 0.1 mL/kg 氯胺酮及速眠欣的混合液肌内注射, 待动物入睡后行气管插管 (ID:4.5~5.5#)。随后送入介入中心, 入室后连接监护并建立静脉通路, 完成有创动脉压及导尿管置入等。术中实验动物采用呼吸机控制呼吸, 丙泊酚 2~4 mg/kg/h 持续泵入进行麻醉维持, 术中根据动物的生命体征和肢体活动情况变化调整剂量, 必要时追加上述氯胺酮与速眠欣的混合液, 并根据手术的需要调整心率、血压、体温等。溶栓前后行脑 MRI 造影, 造影时停止输注麻醉药物, 恢复动物自主呼吸。术中监测实验动物的心率、体温、有创动脉血压及血氧饱和度, 并于麻醉诱导后和术中抽取动脉血行血气分析。**结果** 共进行实验 20 次, 均按预计方案实施完成, 术中未发生动物躁动、呼吸抑制、心律失常等严重并发症, 实验结束停药后, 实验动物很快清醒并送回动物实验中心, 进行后续处理。20 只恒河猴 15 只存活 24 h 以上, 5 只死于溶栓后脑出血和大面积脑梗死面积较大。**结论** 气管内插管全身麻醉合并复合麻醉维持为此类比较复杂的介入及 MRI 实验的顺利完成提供了一种安全、实用的麻醉方式。

【关键词】 恒河猴; 大脑中动脉栓塞; 溶栓; 气管插管; 全凭静脉麻醉

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 06-0053-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.06.011

Selection of anesthesia suitable for the establishment of a rhesus monkey model of M1 segment of middle cerebral artery occlusion

TIAN Zhao-long, MA Yan-hui, LI Li, WANG Tian-long, ZHOU Ling-xue

(Department of Anesthesiology, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China)

【Abstract】 Objective To provide a simple, convenient, and safe anesthesia method for the establishment of a M1 segment of middle cerebral artery occlusion model in rhesus monkey or other large laboratory animals. **Method** Twenty male rhesus monkeys weighing 7~11 kg (ages 7~9 years) from Academy of Military Medical Sciences were used in this study. Sumianxin injection combined with 0.1 mg/kg ketamine was given before endotracheal intubation (ID:4.5~5.5#). The animals were then transported to an interventional operation room, where the intravenous access was established and a urinary catheter was inserted into the urinary bladder. Mechanical ventilation was used during the surgery, propofol was continuously injected in a speed of 2~4 mg/kg/h, and Sumianxin-ketamine could be given if necessary to maintain adequate anesthesia depth. The dose was adjusted according to vital signs of the rhesus such as body movements, physiological parameters, and demand of surgery. Brain MRI examination was performed before and after thrombolysis.

【基金项目】北京市医院管理局“登峰计划”专项经费资助(编号 DFL20150802);国家自然科学基金项目(编号 81500996);中国博士后科学基金资助项目(编号 2016T90114)。

【作者简介】田肇隆,男,研究方向:功能神经外科麻醉及围麻醉期脏器保护。E-mail: 15910851623@163.com。

【通讯作者】李丽(1983-),女,研究方向:脑损伤脑保护,危重病人麻醉。E-mail: lili2009kaoyan@163.com;王天龙(1964-),男,研究方向:脑损伤脑保护,危重病人麻醉。E-mail: w_tl5595@hotmail.com。

Anesthetic injection was suspended and the animals were allowed to have a spontaneous breathing every time before the MRI text. Heart rates, temperature, non-invasive blood pressure, and SpO_2 were monitored during the whole surgery. Blood samples were taken from the radial artery for blood gas analysis after anesthesia induction and during operation. **Results** All the 20 animals underwent the operation successfully, no animal had restlessness, respiratory depression, arrhythmia and other serious complications. At the end of the study, animals awake soon. Fifteen of them survived longer than 24 hours, only 5 died from serious cerebral hemorrhage and larger cerebral infarction. **Conclusions** General endotracheal anesthesia is safe for rhesus monkeys during such interventional operation and MRI examination.

【Key words】 Rhesus monkeys; Middle cerebral artery occlusion; Thrombolysis; Endotracheal intubation; Intravenous anesthesia

恒河猴与人类亲缘关系密切,在器官代谢功能、体格特点及基因遗传水平等许多生物学特性方面与人类较为接近,因此成为近年来各种药物、疾病的病理生理机制研究的重要模型。恒河猴大脑中动脉 M1 段栓塞模型的建立过程,不仅对动物制动要求很高,同时需要在溶栓前后的脑部 MRI 扫描过程中恢复动物自主呼吸。如何顺利达到合适的麻醉深度同时不影响动物的循环和呼吸是亟待解决的问题。我们研究小组通过建立恒河猴大脑中动脉 M1 段栓塞模型,对 20 例大脑中动脉 M1 段栓塞模型恒河猴的麻醉方法、麻醉维持过程进行讨论,并对最终的麻醉效果进行评价。

1 材料和方法

1.1 麻醉药品

丙泊酚 (10 mL/100 mg, 批号: 320040, Astra Zeneca UK Limited. U); 氯胺酮 (2 mL/0.1 g, 批号: 111207, 江苏恒瑞医药股份有限公司, 中国); 速眠新 (批号: 201403, 广州莱绿宠商贸有限公司, 中国)。

1.2 实验动物及模型建立

采用实验用恒河猴 20 只,由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:【SCXK-军 2007-004】,均为雄性,年龄 7~9 岁,体重 7~11 kg,外观健康,皮色光亮,经检疫无传染性疾病,可供实验研究用。于麻醉下行恒河猴大脑中动脉 M1 段栓塞术并行溶栓术,溶栓术术前术后均需恢复动物自主呼吸行脑部 MRI 扫描。

1.3 动物准备及麻醉

实验动物术前禁食水大于 8 h,氯胺酮与速眠新原液混合按 0.1 mL/kg 肌内注射,待动物入睡后行气管插管(气管导管 ID4.5~5.5#),随后送往介入中心。入室后连接监护,9 号套管针行下肢静脉穿

刺建立静脉输液通道,并将置入导尿管导尿。电热毯保温 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ (肛温)。丙泊酚 $2 \sim 4 \text{ mg/kg/h}$ 持续泵入。

麻醉完成后将动物平卧位于特制的动物实验台架上,待动物生命体征平稳后,消毒、铺巾,股动脉穿刺置管、行全脑血管造影,观察脑血管分部及走行等情况,确定导管位于需要栓塞的血管部位,行大脑中动脉 M1 段栓塞术。经脑血管造影证实栓塞后观察 1~3 h,待自主呼吸恢复后,停机观察 10~20 min,呼吸平稳后带气管导管运送至 MRI 中心,行脑部 MRI 扫描。完成 MRI 数据采集后,将实验动物再次转运至介入中心,加深麻醉后行大脑中动脉栓塞部位溶栓术。待溶栓完成后,同前待恢复自主呼吸后,再次送往 MRI 中心进行溶栓后脑部 MRI 扫描,扫描结束后,将实验动物送往动物中心,由动物中心根据情况给予补液、抗生素等后续对症处理。

1.4 麻醉监测指标

麻醉手术期间监测实验动物的心率、无创动脉血压和体温(肛温)、血氧饱和度(SpO_2)、睫毛反射、瞳孔大小和对光反应、呼吸频率等,麻醉诱导后和手术期间分别采集动脉血液行血气分析。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件,所有统计数据均用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。

2 结果

实验过程中,实验动物安静、无体动,各项监测指标及药物输注速度等均在正常范围内,监测数据见表 1 及表 2。全部实验动物均在实验结束停药后 30 min 内清醒安全返回动物房,无一例发生麻醉意外。20 只恒河猴中,15 只存活 24 h 以上,5 只因溶栓后出现严重的脑出血和较大面积的脑梗死而死亡。

表 1 恒河猴不同时刻心率、体温、有创血压和变化($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Changes of heart rate, temperature and invasive blood pressure in the rhesus at different time points

监测项目 Items	入室 Entering	麻醉后 After anesthesia	栓塞术中 During embolization	溶栓术中 During thrombolysis	手术结束 After surgery
心率(次/分) Heart rate	62 ± 16	69 ± 12	90 ± 9	72 ± 10	74 ± 13
体温(℃) Temperature	35.2 ± 1.5	35.5 ± 1.3	36.1 ± 1.2	36.5 ± 1.0	36.9 ± 0.9
血压 Blood pressure (mmHg)	(101 ± 16)/ (46 ± 12)	(106 ± 18)/ (52 ± 12)	(110 ± 16)/ (53 ± 11)	(111 ± 13)/ (54 ± 9)	(115 ± 23)/ (57 ± 11)

注: ** 表示差异极显著性, * 表示差异显著性。
Note. ** Very significant difference, * Significant difference.

表 2 恒河猴不同时刻的动脉血气分析结果($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Changes of the blood gas analysis in twenty rhesus at different phases

项目 Items	单位 Unit	麻醉诱导后 After anesthetic induction		术中 During surgery	
		$\bar{x} \pm s$	正常值	$\bar{x} \pm s$	正常值
pH 值		7.42 ± 0.02	7.35 – 7.45	7.39 ± 0.03	7.35 – 7.45
二氧化碳分压(PCO ₂)	mmHg	34 ± 11	35 – 45	37 ± 9	35 – 45
氧分压(PO ₂)	mmHg	473 ± 125	83 – 108	460 ± 121	83 – 108
实际碳酸氢根 HCO ₃ ⁻ (act)	mmol/L	23.6 ± 2.2	21.4 – 24.8	24.0 ± 2.3	21.4 – 24.8
标准碳酸氢根 HCO ₃ ⁻ (std)	mmol/L	24.1 ± 1.8	21.3 – 24.8	23.1 ± 1.3	21.3 – 24.8
总二氧化碳(CtCO ₂)	mmol/L	28.7 ± 4.1	24 – 32	28.3 ± 3.8	24 – 32
总血红蛋白(ctHb)	g/dL	14.6 ± 2.2	12 – 18	13.8 ± 1.8	12 – 18
剩余碱绝对值(BE)	mmol/L	1.3 ± 1.5	0 – 3	2.0 ± 0.9	0 – 3
血氧饱和度(SpO ₂)	%	99 ± 1	92 – 100	98 ± 2	92 – 100

注: ** 表示差异极显著性, * 表示差异显著性。
Note. ** Very significant difference, * Significant difference.

3 讨论

恒河猴因其物种更接近人类,是理想的实验动物,近年来不断被用于模拟人类进行脑功能、血液循环、呼吸生理、内分泌、生殖生理等多方面的研究,实验结果对指导临床工作意义很大^[1]。应用恒河猴建立大脑中动脉 M1 段栓塞模型在国内尚不多见,其实验过程比较复杂,首先要进行全脑血管造影确定栓塞血管的位置,然后行栓塞术,数小时后将猴送往 MRI 中心进行脑部 MRI 扫描,完成后返回介入中心进行溶栓术约需 1 ~ 2 h,待溶栓结束后再次转运至 MRI 中心进行溶栓术后的二次脑部 MRI,整个实验过程中要求恒河猴始终保持安静、无体动、否则直接影响造影、溶栓及 MRI 成像的质量,因此整个过程对麻醉的要求较高。

为保证实验的顺利进行,本实验在以往研究的基础上^[2],采用气管插管全身麻醉的方法,选择速眠新加氯胺酮进行诱导麻醉,并用丙泊酚进行麻醉维持。速眠新是麻醉诱导的理想药物,起效时间较快,一般 3 min 内可起到麻醉作用,镇痛、镇静,肌肉松弛度较好,在猕猴麻醉中的适宜剂量为 0.1 ~ 0.2

mL/kg,但可能会出现麻醉不全的情况,对心血管系统有一定抑制作用^[3,4]。而氯胺酮镇痛作用强且诱导迅速,在猕猴麻醉中的适宜剂量为 10 mg/kg,对呼吸影响轻微,对血管具有显著兴奋作用,但肌肉松弛的作用效果相对较差^[5,6],因此二者同时使用可以扬长避短、互补优缺,减轻各自的不良反应,增强麻醉效果。丙泊酚是一种起效快、作用时间段、苏醒迅速的静脉麻醉药物,是常用的麻醉维持药物^[7]。根据文献报道和预实验结果,本实验小组确定了速眠新加氯胺酮诱导麻醉丙泊酚静脉持续泵入的麻醉方法。

麻醉实施要点有以下几个方面:(1)在大脑中动脉 M1 栓塞模型建立的过程中要确保动物不能出现体动,否则影响手术操作、MRI 数据的采集,甚至造成脑血管破裂等严重并发症,因此术中最好采用气管内插管,便于术中管理并维持适当的麻醉深度;(2)在介入中心手术麻醉过程中,必要时需穿戴铅衣做好防护工作;(3)大脑中动脉栓塞后需到核磁共振室进行脑部 MRI 扫描,该过程需让实验猴恢复自主呼吸,呼吸频率和潮气量平稳后才能停止辅助呼吸

(下转第 62 页)

行病学传染病学杂志,1997, 24(2): 56-60.

[4] 刘新铭. 弯曲菌属(Campylobacter)耶森氏菌属、沙门氏菌属和志贺氏菌属引起的肠道传染病[J]. 微生物学免疫学进展,1981, 9(1): 61-65

[5] 沈培清, 郑红, 刘汝文, 等. 中国树鼩实验动物化研究进展和展望[J]. 动物学研究, 2011, 32(1): 109-114.

[6] 王传清, 何磊燕, 王爱敏 等. 上海地区急性细菌性肠炎儿童中沙门菌弯曲菌及志贺菌感染临床及分子流行病学研究[D]. 中国临床微生物学大会暨微生物学与免疫学论坛, 2012.

[7] 唐梦君, 周生, 张小燕, 等. 空肠弯曲杆菌 PCR-ELISA 检测方法的建立[J]. 吉林农业大学学报,2013, 35(3): 340-345.

[8] 阳成波, 蒋原, 黄克和, 等. 基于 TaqMan 探针的 Real-time PCR 定量检测空肠弯曲杆菌[J]. 中国预防兽医学报,2003, 25(3): 183-187.

[9] 阳成波, 蒋原, 黄克和, 等. 应用 SYBR Green I 的 Real-time PCR 方法定量检测空肠弯曲杆菌[J]. 动物医学进展, 2003, 24(1): 74-78.

[10] 刘俊华, 张欣强, 陈守义, 等. 实时荧光 PCR 方法快速检测空肠弯曲菌方法的建立[J]. 热带医学杂志,2009, 9(7): 729-731.

[11] 孔繁德, 徐淑菲, 陈琼, 等. 沙门菌 PCR 快速检测试剂盒的研制与应用[J]. 中国兽医科学,2007, 37(2): 103-107.

[12] 郑友联, 杨育红, 陈培蓉, 等. TaqMan 探针法实时荧光定量 PCR 快速检测沙门菌的探讨[J]. 中国食品卫生杂志,2006, 18(4): 311-313.

[13] 陈峰, 吴尔翔, 丁锁顺, 等. 二聚体蝎型探针荧光定量 PCR 快速检测志贺菌方法的建立及初步应用[J]. 中国人兽共患病学报,2013, 29(9): 886-890.

[14] 王晨, 吴晖, 肖性龙, 等. 沙门菌和志贺菌二联实时荧光定量 PCR 的临床检测应用研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(7): 1397-1399.

[15] 石晓路, 扈庆华, 张佳峰, 等. 多重实时 PCR 快速同时检测沙门菌和志贺菌[J]. 中华流行病学杂志,2006, 27(12): 1053-1056.

[16] 于新芬, 潘劲草, 孟冬梅, 等. 多重实时 PCR 检测沙门菌、志贺菌和致泻性大肠埃希菌[J]. 中华预防医学杂志, 2007, 41(6): 461-465.

[修回日期]2016-11-29

(上接第 55 页)

进行脑部 MRI 扫描。如呼吸功能恢复不足则可能导致实验动物缺氧,甚至死亡;(4)完成脑部 MRI 后需再次回到介入中心行溶栓术,此阶段需 1~2 h,要维持一定的麻醉深度,并根据其生命体征进行补液;因全身麻醉后实验猴的体温调节功能降低,受外界温度影响较大,需采取保温措施。

速眠新加氯胺酮诱导麻醉丙泊酚静脉持续泵入可维持适宜的麻醉深度并可随时调整麻醉深度,为恒河猴大脑中动脉 M1 段栓塞模型建立提供了一种安全、简便、易行的麻醉方法。

参考文献:

[1] 马诺山, 姚咏明, 于勇. 速眠新与盐酸氯胺酮对猕猴麻醉效果的初步观察[J]. 中国实验动物学报, 2003, 11(03): 191-192.

[2] 田肇隆,王小华,许亚超,等. 恒河猴脊髓半断模型行脑和脊髓 fMRI 检查麻醉方案的实验研究[J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23(03): 39-41.

[3] 刘雪萍, 谢莉萍, 韦祝梅. 四种麻醉药物对食蟹猴麻醉效果分析和选择应用[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(02): 45-47.

[4] 和占龙, 鲁帅尧, 陈丽雄, 等. 速眠新在实验猕猴麻醉中的应用[J]. 实验动物与比较医学, 2005, 25(04): 236-237.

[5] 陶静茹, 任荣荣, 赵璇, 等. 猕猴视觉光学成像的麻醉方法[J]. 上海医学, 2012, 35(10): 871-873.

[6] 肖建华, 王洪斌, 亢飞飞, 等. 猴专用复方麻醉剂安全性试验[J]. 畜牧与兽医, 2009, 41(01): 70-71.

[7] 刘辉梅, 庾俊雄, 丁可, 等. 食蟹猴肝纤维化不同阶段对丙泊酚代谢的影响[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(22): 3700-3702.

[修回日期]2016-10-26