

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.34.001

文章编号: 1005-8982 (2018) 34-0001-05

基础研究 · 论著

## 选择性脊髓麻醉动物模型的复制

张鹏<sup>1</sup>, 李耀<sup>1</sup>, 叶菱<sup>2</sup>

(1. 四川省人民医院 麻醉科, 四川 成都 610072; 2. 四川大学华西医院 麻醉科, 四川 成都 610041)

**摘要: 目的** 利用乳化七氟烷独特药代动力学特点, 用新西兰大白兔复制一种小动物选择性脊髓麻醉模型。**方法** 选取 16 只雄性新西兰大白兔, 分为动脉组和静脉组。动脉组经腹主动脉 (T12 ~ L1) 导管按 8 ml/(kg·h) 持续泵入 8% 乳化七氟烷; 静脉组经右侧耳缘静脉泵入相同剂量的乳化七氟烷。气相色谱仪和顶空二次平衡法测量颈动脉、颈静脉 (代表脑) 和股动脉、股静脉 (代表脊髓) 血液中七氟烷浓度和分压。**结果** 静脉组动物不同部位血液中七氟烷浓度、分压比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。动脉组颈动脉和颈静脉, 股动脉和股静脉中七氟烷浓度、分压比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 动脉组股动脉和颈动脉, 股静脉和颈静脉中七氟烷分压比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。股动脉七氟烷分压是颈动脉的 ( $3.26 \pm 0.37$ ) 倍; 股静脉七氟烷分压是颈静脉的 ( $3.87 \pm 0.85$ ) 倍。**结论** 在保留新西兰大白兔脑和脊髓正常血液循环结构基础上, 利用新西兰大白兔节段性脊髓血供特点和乳化七氟烷独特药代动力学模型, 成功复制了一种小动物选择性脊髓 (腰骶段) 麻醉模型。

**关键词:** 麻醉, 传导; 模型, 动物; 七氟烷 / 麻醉药

**中图分类号:** R614.1

**文献标识码:** A

## Selectively-anesthetized spinal cord model in New Zealand white rabbits

Peng Zhang<sup>1</sup>, Yao Li<sup>1</sup>, Ling Ye<sup>2</sup>

(1. Department of Anesthesiology, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610072, China; 2. Department of Anesthesiology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China)

**Abstract: Objective** To develop a new selectively-anesthetized spinal cord model in New Zealand white rabbits by emulsified Sevoflurane. **Methods** Sixteen New Zealand white rabbits were randomly divided into two groups. In the group vein, 8% emulsified Sevoflurane was infused via the ear vein at 8 ml/(kg·h). In the group artery, 8% emulsified Sevoflurane was infused into abdominal aorta (T12-L1) by catheter at 8 ml/(kg·h). The concentration (Csevo) and partial pressure (Psevo) of Sevoflurane in carotid artery and jugular vein (representing the brain) and femoral artery and vein (representing the spinal cord) were determined using a gas chromatograph with the two-stage head space equilibrium method. **Results** In the group vein, there were no significant differences in Csevo or Psevo among different sites ( $P > 0.05$ ). In the group artery, there was no significant difference in Csevo or Psevo between carotid artery and jugular vein, or between femoral artery and vein ( $P > 0.05$ ). However, the Psevo of the femoral artery was ( $3.26 \pm 0.37$ ) times that of the carotid artery, the Psevo of the femoral vein was ( $3.87 \pm 0.85$ ) times that of the jugular vein, there were significant differences ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Based on the segmental spinal cord circulation system of New Zealand white rabbits, we successfully established selectively-anesthetized spinal cord (lumbar and sacro-coccygeal region) model by emulsified Sevoflurane.

**Keywords:** anesthesia, conduction; models, animal; Sevoflurane/anesthetics

收稿日期: 2018-03-01

[通信作者] 叶菱, E-mail: 583559085@qq.com

脑和脊髓血液循环通过大脑 Willis 环相互交通,能否将脑和脊髓的血液循环隔离开,单独观察麻醉药对脑或者脊髓的作用,一直是麻醉医生感兴趣的话题。有学者利用体外循环技术,分别灌注山羊和新西兰大白兔的脑和脊髓,成功实现了脑或者脊髓的选择性麻醉<sup>[1-5]</sup>,但是此类模型存在过多改变动物正常解剖结构、组织损伤大、操作费时且需要特殊体外循环设备等缺点。国内学者利用乳化异氟烷既可经静脉给药又通过肺排泄的特点,用山羊创新性地实现了脑或者脊髓的选择性麻醉<sup>[6-8]</sup>。这类模型虽然最大程度地保留了动物的正常解剖结构,创伤小,但是存在大动物成本昂贵、又需要多人操作等缺点。本研究拟利用新西兰大白兔节段性脊髓血供特点<sup>[9-10]</sup>,以及乳化七氟烷独特药代动力学优势,在小动物中复制一种新的选择性脊髓麻醉模型。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

本研究经四川省人民医院实验动物管理委员会批准,选取 16 只 2 ~ 3 kg 的成年雄性新西兰大白兔,分为动脉组和静脉组。动脉组经腹主动脉(T12 ~ L1)导管按 8 ml/(kg·h)持续泵入乳化七氟烷;静脉组经右侧耳缘静脉泵入相同剂量的乳化七氟烷。

### 1.2 动物模型的复制

取左侧耳廓中动脉置入 20 G 动脉留置针,以监测有创动脉血压;右侧耳缘静脉置入 22 G 静脉留置针,持续泵注 2 ~ 3 ml/(kg·h)乳酸林格液。利用自制面罩,新西兰大白兔七氟烷吸入诱导后,经口插入内径 3.0 mm 气管导管,套囊充气,牢固固定。然后接小动物呼吸机(成都泰盟软件有限公司)辅助机械通气,参数为:潮气量 8 ml/kg,呼吸频率 40 次/min,维持动脉血二氧化碳分压(PaCO<sub>2</sub>) 35 ~ 45 mmHg。呼吸回路连接飞利浦 M1026B 型麻醉气体检测仪[飞利浦(中国)投资有限公司],监测新西兰大白兔呼气末七氟烷浓度(C<sub>呼末</sub>)。动脉组新西兰大白兔取腹部正中切口,经右侧股动脉直视下放入导管至腹主动脉 T12 ~ L1 位置,牢固固定,缝合皮肤;静脉组动物不做此处理。两组新西兰大白兔右侧颈动脉、颈静脉及右侧股动脉、股静脉穿刺置管方便抽血做血气分析和气相色谱分析。

实验时,动脉组新西兰大白兔经腹主动脉导管持续泵入 8 ml/(kg·h)乳化七氟烷(18.4 ml 的 30% 脂

肪乳注射液+1.6 ml 液态七氟烷制成 8% 乳化七氟烷);静脉组新西兰大白兔经右侧耳缘静脉泵入相同剂量乳化七氟烷。动脉组呼吸回路的吸气端接吸入麻醉药吸附装置,避免七氟烷的重复吸入,控制吸入七氟烷的浓度在 0.1% 以下;静脉组无此装置,通气参数同动脉组。维持泵注乳化七氟烷速度不变,经过 20 ~ 30 min,当 C<sub>呼末</sub>维持稳定不变 15 min 时,认为七氟烷在体内达到平衡,记录此时的 C<sub>呼末</sub>及生命体征,同时从右侧颈动脉、颈静脉(代表脑中七氟烷浓度, C<sub>脑</sub>)以及右侧股动脉、股静脉(代表脊髓中七氟烷浓度, C<sub>脊髓</sub>)抽取 5 ~ 6 ml 血液进行血气分析和气相色谱分析。动脉组动物高浓度乳化七氟烷随血流进入腰动脉,再选择性地作用到腰段脊髓,而回到右心的血液经肺和麻醉药吸附剂会排泄掉大部份七氟烷,最后低浓度七氟烷再作用于脑。随着血流乳化七氟烷全身输注达到平衡, C<sub>脊髓</sub> > C<sub>脑</sub>。

### 1.3 血液中七氟烷分压的检测

抽取的血液样本中七氟烷浓度(C<sub>血</sub>)和血/气分配系数(λ<sub>血/气</sub>)在 4890D 型 Agilent 气相色谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司]上使用顶空二次平衡法测得<sup>[7]</sup>。气相色谱设定的检测条件为:柱温 70℃,检测器温度 200℃,进样口气体温度 100℃,氮气流速 17 ml/min,载气流速 200 ml/min,氢气流速 40 ml/min。根据 λ<sub>血/气</sub> 的值,计算出血液样本七氟烷分压(P<sub>血</sub>) = C<sub>血</sub>/λ<sub>血/气</sub> × 760 mmHg。

### 1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件,计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,平均动脉压和心率的比较采用重复测量设计的方差分析,七氟烷 λ<sub>血/气</sub>、C<sub>血</sub>及 P<sub>血</sub>之间的比较采用单因素方差分析,涉及多重比较时采用 Bonferroni 法, P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组兔不同时间点心率和有创平均动脉压的比较

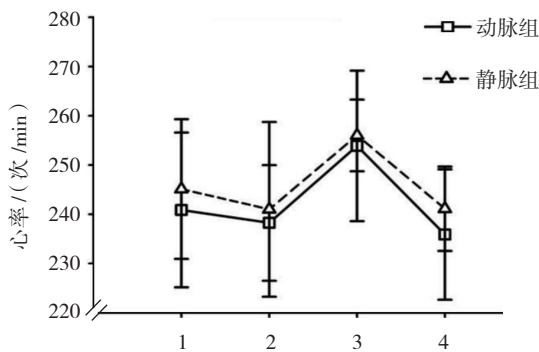
共 16 只新西兰大白兔顺利完成实验。静脉组新西兰大白兔的平均体重为 (2.28 ± 0.11) kg,动脉组为 (2.40 ± 0.19) kg,两组间比较差异无统计学意义 (t = 1.534, P = 0.147)。动脉组和静脉组在 4 个时间点的心率和平均动脉压比较,采用重复测量设计的方差分析,结果:①不同时间点的平均动脉压和心率有差异 (F = 6.052 和 5.593, P = 0.008 和 0.005),在泵注乳化七氟

烷时两组动物的平均动脉压均略有下降, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); ②两组间平均动脉压和心率无差异 ( $F = 0.012$  和  $0.894$ ,  $P = 0.915$  和  $0.360$ ); ③两组平均动脉压和心率变化趋势无差异 ( $F = 1.103$  和  $0.050$ ,  $P = 0.344$  和  $0.970$ )。见表 1 和图 1、2。

表 1 两组不同时间点心率和有创平均动脉压 ( $\bar{x} \pm s$ )

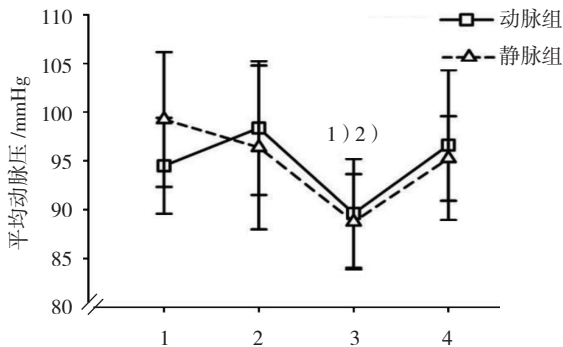
组别	麻醉诱导	手术操作完成	泵注乳化七氟烷	实验结束
<b>静脉组</b>				
心率 / (次/min)	245 ± 14	241 ± 18	256 ± 7	241 ± 9
平均动脉压 / mmHg	99 ± 7	96 ± 8	89 ± 5 <sup>1)</sup>	95 ± 4
<b>动脉组</b>				
心率 / (次/min)	241 ± 16	238 ± 12	253 ± 15	236 ± 13
平均动脉压 / mmHg	94 ± 5	98 ± 7	90 ± 6 <sup>2)</sup>	97 ± 8

注: 1) 与麻醉诱导时比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与手术操作完成时比较,  $P < 0.05$



1: 麻醉诱导; 2: 手术操作完成; 3: 泵注乳化七氟烷; 4: 实验结束

图 1 两组不同时间点心率的变化



1: 麻醉诱导; 2: 手术操作完成; 3: 泵注乳化七氟烷; 4: 实验结束。1) 与麻醉诱导时比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与手术操作完成时比较,  $P < 0.05$

图 2 两组不同时间点有创平均动脉压的变化

## 2.2 两组兔不同部位七氟烷 $\lambda_{血/气}$ 、 $C_{血}$ 及 $P_{血}$ 的比较

静脉组新西兰大白兔经耳缘静脉以  $8 \text{ ml} / (\text{kg} \cdot \text{h})$  泵注 8% 乳化七氟烷, 全身到达平衡时  $C_{呼末} = (2.05 \pm 0.09) \%$ , 不同部位血液中七氟烷  $\lambda_{血/气}$ 、 $C_{血}$  及  $P_{血}$  比较差异无统计学意义 ( $F = 0.961$ 、 $2.585$  和  $1.000$ ,  $P = 0.425$ 、 $0.073$  和  $0.407$ )。动脉组新西兰大白兔经腹主动脉导管泵入相同剂量乳化七氟烷, 全身到达平衡时  $C_{呼末} = (0.98 \pm 0.08) \%$ , 颈动脉和颈静脉血液中七氟烷  $\lambda_{血/气}$ 、 $C_{血}$  及  $P_{血}$  比较差异无统计学意义 ( $F = 1.089$ 、 $0.262$  和  $1.486$ ,  $P = 0.314$ 、 $0.617$  和  $0.243$ ); 股动脉和股静脉血液中七氟烷  $\lambda_{血/气}$ 、 $C_{血}$  及  $P_{血}$  比较差异无统计学意义 ( $F = 0.018$ 、 $2.198$  和  $2.386$ ,  $P = 0.895$ 、 $0.160$  和  $0.145$ )。见表 2。

表 2 两组动物不同部位七氟烷  $\lambda_{血/气}$ 、 $C_{血}$  及  $P_{血}$  ( $\bar{x} \pm s$ )

血液样本来源	$\lambda_{血/气}$	$C_{血} / \%$	$P_{血} / \text{mmHg}$
<b>静脉组</b>			
颈动脉	0.91 ± 0.07	2.84 ± 0.23	23.71 ± 1.78
颈静脉	0.89 ± 0.09	2.68 ± 0.30	22.80 ± 1.75
股动脉	0.89 ± 0.07	2.83 ± 0.21	24.31 ± 2.63
股静脉	0.96 ± 0.07	3.00 ± 0.17	24.10 ± 1.26
<b>动脉组</b>			
颈动脉	0.87 ± 0.13	0.95 ± 0.12	8.32 ± 0.80 <sup>1)</sup>
颈静脉	0.93 ± 0.07	0.91 ± 0.15	7.57 ± 1.56 <sup>2)</sup>
股动脉	0.94 ± 0.06	3.32 ± 0.18	26.95 ± 1.53
股静脉	0.94 ± 0.09	3.49 ± 0.26	28.21 ± 1.71

注: 1) 动脉组中, 与股动脉七氟烷  $P_{血}$  比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与股静脉七氟烷  $P_{血}$  比较,  $P < 0.05$

股动脉血液中七氟烷  $P_{血}$  与颈动脉血液中七氟烷  $P_{血}$  比较, 差异有统计学意义 ( $F = 934.000$ ,  $P = 0.001$ ), 股动脉是颈动脉的 ( $3.26 \pm 0.37$ ) 倍。股静脉血液中七氟烷  $P_{血}$  与颈静脉血液中七氟烷  $P_{血}$  比较, 差异有统计学意义 ( $F = 638.000$ ,  $P = 0.002$ ), 股静脉是颈静脉的 ( $3.87 \pm 0.85$ ) 倍。

## 3 讨论

一般来讲, 脑或者脊髓等实质性器官中吸入麻醉药的浓度或者分压是无法直接测量到的。当血液与靶器官中的麻醉药浓度平衡时, 吸入麻醉药的分压在两者之间是相等的<sup>[7, 11]</sup>。对于本研究而言, 吸入麻醉药到达平衡状态时, 颈动脉和颈静脉血液中七氟烷  $P_{血}$  等

于脑组织中七氟烷  $P_{\text{血}}$ ；而股动脉和股静脉血液七氟烷  $P_{\text{血}}$ （无法置管采集到腰动脉，腰动脉和股动脉均是腹主动脉的直接分支，两者近似相等）等于脊髓组织（腰骶段）七氟烷  $P_{\text{血}}$ 。静脉组新西兰大白兔乳化七氟烷输注到达平衡状态时，不同部位血液中七氟烷  $P_{\text{血}}$  无差异，说明此时脑和脊髓中七氟烷  $P_{\text{血}}$  是相等的，脑和脊髓一起被麻醉了。而动脉组动物到达平衡时，股动脉和股静脉中七氟烷  $P_{\text{血}}$  是颈动脉和颈静脉的 3 ~ 4 倍，说明此时脊髓中七氟烷  $P_{\text{血}}$  是脑的 3 ~ 4 倍。在保留动物中枢神经系统结构和血液循环完整的基础上，本实验成功地用新西兰大白兔复制选择性脊髓（腰骶段）麻醉动物模型。

本研究所选择的新西兰大白兔，其脊髓血供具有同节段性特点，即节段性根动脉参与同节段脊髓血液供应<sup>[9]</sup>。发自腹主动脉的腰动脉是腰段脊髓的根动脉，与相对应的脊神经根一起由椎间孔进入椎管，营养同节段脊髓，它们几乎是新西兰大白兔腰段脊髓的唯一血供来源<sup>[9-10, 12]</sup>。基于其独特的脊髓血供特点，利用体外循环“局部性”和“选择性”灌注技术，既往研究用新西兰大白兔成功复制了选择性麻醉动物模型<sup>[4-5]</sup>。ATHERLEY 等<sup>[5]</sup>通过结扎新西兰大白兔腹主动脉（肾平面水平），形成两个并行的循环系统，当通过膜肺氧合器给予下半身循环 1MAC 异氟烷或氟烷时，下半身吸入麻醉药的浓度是上半身的 4 ~ 5 倍。本课题组前期的研究改进了 Atherley 的模型，通过下腔静脉引流形成 2 个独立的循环系统，当通过膜肺氧合器给予下半身循环 1.5 MAC（最低肺泡有效浓度）七氟烷时，下半身吸入麻醉药的浓度是上半身的 15 ~ 16 倍<sup>[3-4]</sup>。但是，这类新西兰大白兔选择性麻醉动物模型存在明显缺陷：过多改变动物正常血液循环结构，组织创伤大。本研究依据乳化七氟烷经静脉给药又经过肺部排泄的特点，仅利用腹主动脉导管，提供给脊髓高浓度七氟烷，成功地复制了一种小动物选择性脊髓（腰骶段）麻醉动物模型。

利用气相色谱顶空二次平衡法，本研究测得的七氟烷  $\lambda_{\text{血/气}}$  在 0.9 ~ 1.0 之间，高于新西兰大白兔的正常值 0.69<sup>[13]</sup>。吸入麻醉药的  $\lambda_{\text{血/气}}$  易受温度、血液成分变化和年龄等因素的影响。乳化七氟烷是以 30% 脂肪乳为载体，随着输注时间的延长，新西兰大白兔血液中脂肪乳含量逐渐增加。根据吸入麻醉药“容积比分配系数”的概念，新西兰大白兔血液中每增加 1 ml 30% 脂肪乳， $\lambda_{\text{血/气}}$  大约增加 0.07 ~ 0.08<sup>[14]</sup>。实验

过程中，每只动物大约消耗 5 ~ 6 ml 乳化七氟烷。考虑到实验器械的气密性，经“容积比分配系数”计算得出的七氟烷  $\lambda_{\text{血/气}}$  与本研究实测值基本一致。

虽然动脉组新西兰大白兔经过高流量机械通气和吸入麻醉药吸附剂会排泄回心血液中大部分的七氟烷，但是本研究脑中仍然残留 25% ~ 30% 的七氟烷  $P_{\text{血}}$ 。其原因一方面是因为脑和脊髓血液循环难免仍有部分交通吻合；再则是随着输注时间的延长七氟烷消除率也在逐渐下降。受新西兰大白兔自身脑和脊髓血液循环的限制，本研究仅能做到腰骶段脊髓的选择性麻醉，无法做到全节段脊髓的选择性麻醉。即便是经典的山羊选择性麻醉模型，也只能做到颈段脊髓以下的选择性麻醉<sup>[1-2, 6-8]</sup>。全身麻醉机制研究中，腰骶段脊髓的选择性麻醉在通常情况下也是能满足大部分实验要求，例如，观察动物夹尾反射的制动机制研究等。尽管存在上述局限，但是本模型操作简单也不需要特殊设备，实验动物易得，仍具有一定实用价值。

综上所述，利用乳化七氟烷独特药代动力学特点，在保留脑和脊髓正常血液循环结构基础上，本实验用新西兰大白兔成功复制了一种新的小动物选择性脊髓麻醉模型。

#### 参 考 文 献:

- [1] ANTOGNINI J F, CARSTENS E, TABO E, et al. Effect of differential delivery of isoflurane to head and torso on lumbar dorsal horn activity[J]. *Anesthesiology*, 1998, 88(4): 1055-1061.
- [2] ANTOGNINI J F, KIEN N D. A method for preferential delivery of volatile anesthetics to the in situ goat brain[J]. *Anesthesiology*, 1994, 80(5): 1148-1154.
- [3] 张鹏, 杨平亮, 孙欣欣. 乳化七氟烷选择性麻醉新西兰大白兔脑、脊髓模型的建立[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2016, (5): 781-785.
- [4] ZHANG P, YANG P, YE L, et al. Spinal cord is the primary site of action for skeletal muscle relaxation by sevoflurane[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2017, 42(22): e1275-1281.
- [5] ATHERLEY R, WEATHERFORD V, ANTOGNINI J F, et al. A model for differential volatile anesthetic delivery to the upper and lower torso of the rabbit[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2004, 50(2): 145-152.
- [6] YANG J, LI Z, GONG C Y, et al. A model for the preferential delivery of isoflurane to the spinal cord of the goat[J]. *Vet J*, 2011, 187(2): 239-244.
- [7] YANG J, CHAI Y F, GONG C Y, et al. Further proof that the spinal cord, and not the brain, mediates the immobility produced by inhaled anesthetics[J]. *Anesthesiology*, 2009, 110(3): 591-595.
- [8] 杨静, 龚春雨, 柴云飞, 等. 选择性脊髓给予乳化异氟醚模型建

- 立及异氟醚制动机制探讨[J]. 四川大学学报(医学版), 2008, 39(2): 4.
- [9] MAZENSKY D, RADONAK J, DANKO J, et al. Anatomical study of blood supply to the spinal cord in the rabbit[J]. Spinal Cord, 2011, 49(4): 525-528.
- [10] 杨平亮, 张鹏, 朱涛, 等. 新西兰大白兔脊髓血供的解剖学研究[J]. 四川大学学报(医学版), 2016(3): 425-427.
- [11] WHITE D. Uses of MAC[J]. Br J Anaesth, 2003, 91(2): 167-169.
- [12] 宋启民, 费昶, 杨卫忠. 兔腰动脉对脊髓的供血特点及价值[J]. 中华显微外科杂志, 2012, 35(6): 482-484.
- [13] SOARES J H, BROSNAN R J, FUKUSHIMA F B, et al. Solubility of haloether anesthetics in human and animal blood[J]. Anesthesiology, 2012, 117(1): 48-55.
- [14] YU R G, ZHOU J X, LIU J. Prediction of volatile anaesthetic solubility in blood and priming fluids for extracorporeal circulation[J]. Br J Anaesth, 2001, 86(3): 338-344.

(张西倩 编辑)