

离体大鼠心脏简易恒温恒压灌流法

中国医学科学院 心血管病研究所 基础研究室
阜外医院

冠心病是中、老年人的常见病、多发病,严重地危害着劳动人民的健康。近几年来广大医务工作者,在毛主席革命卫生路线指引下,在中西医结合防治工作上取得了较大的进展。

遵照伟大领袖和导师毛主席关于“中国医学是一个伟大的宝库,应当努力发掘,加以提高”的教导,为观察中草药对心脏的直接作用和缺氧对心脏的影响等,我们参照有关离体心脏的灌流技术^[1],自力更生,土洋结合,建立了一套离体大鼠心脏的简易灌流法。方法所需装置设备简易,操作方便,条件恒定,可同时观察心脏的收缩幅度、冠状动脉流量及其内含物的化学测定等。适用于生理、生化、病理及药理学等方面的研究。

灌 流 装 置

装置如图 1。(1)贮气囊:为一橡皮球胆或塑料袋,内装有实验要求的混合气,在灌流过程中混合气随着灌流液的排出而逐渐进入贮液瓶,以保持灌流液内气体分压的恒定。(2)贮液瓶:为输液用的滴瓶,存有灌流液,瓶口用带有进气管的塞子密闭。进气管插至瓶底,上端与贮气囊相连,其下端至主动脉插管间的垂直距离即为灌流压。只要贮液瓶内灌流液的液面不低于进气管的下口,则灌流压恒定不变。(3)恒温加热管:可用螺旋形的冷凝管,长度约 40—50 厘米,上端与贮液瓶相连,下端与三通旋塞接头相连。作用是使灌流液达到需要的温度。(4)三通旋塞接头:作迅速变换灌流液之用。其上部为三通旋塞管,下口按玻璃注射器的标准接头制作,以便与主动脉插管密切连接,接口上部做一直径为 1.5 厘米的球形膨大部,该部

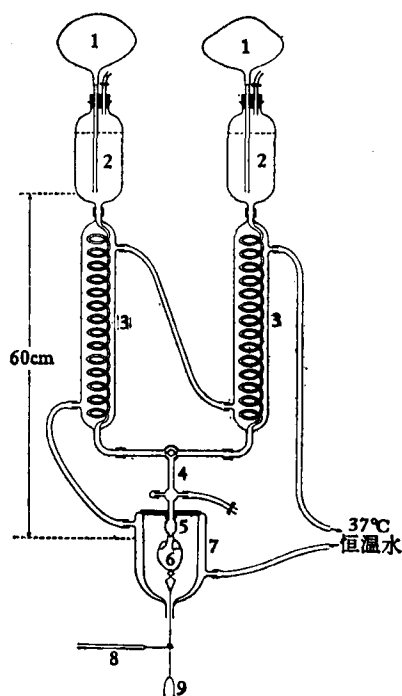


图 1 离体心脏灌流装置(示意图)

1.贮气囊; 2.贮液瓶; 3.恒温加热管; 4.三通旋塞接头;
5.主动脉插管; 6.心脏; 7.保温杯; 8.电阻应变心脏收缩幅度换能器; 9.金属块

有气陷作用,以免灌流液中的气泡进入冠状动脉,造成栓塞。球形膨大部的两侧口可供排除液体或加入药物等使用。(5)主动脉插管:系用 16 号或更粗一些的不锈钢注射针改制。方法为将针干距针座 3 毫米处锯断,再在距断端 1 和 2 毫米处分别锉一环纹,以便牢固结扎固定主动脉。针干不可留得太长,以免插管时损伤主动脉瓣,造成关闭不全。(6)保温杯:为一特制的夹层玻璃杯,其内径为 3.5 厘米,高度为 6 厘米,兼有保持心脏环境的恒温 and 收集冠状血管流出液的作用。恒温加热管和保温杯的夹层

内通以恒温器供给的 37℃ 循环水,以保持其恒温。

灌 流 溶 液

以 Krebs-Henseleit 液 (NaCl , 118mM; KCl , 4.75mM; CaCl_2 , 1.27mM; KH_2PO_4 , 1.19mM; MgCl_2 , 1.19mM; NaHCO_3 , 24.8mM) 为灌流液。根据不同的实验要求,可再加入 5 或 8mM 的葡萄糖等。

溶液经玻砂漏斗过滤后使用,灌流前将其倒入贮液瓶中,经进气管通入 5% CO_2 和 95% O_2 的混合气(富氧灌流液),或 5% CO_2 和 95% N_2 的混合气(乏氧灌流液)。一般通气约 10 分钟左右(气体流量为 1.5 升/分),灌流液的 pH 为 7.4。经气体分析仪的实际测定, pH 7.4 的富氧灌流液,其 PO_2 为 550—650 毫米汞柱, PCO_2 为 30—40 毫米汞柱;乏氧灌流液的 PO_2 和 PCO_2 均为 30—40 毫米汞柱。

手 术 操 作

将体重 250—300 克的大鼠,经腹腔注射 45 毫克/千克剂量的 0.6% 戊巴比妥钠麻醉后,仰卧位固定,分离出股静脉,并注入肝素 2 毫克。一分钟后沿肋缘下横向剪开腹前壁,再依次纵向剪开两胸侧壁和横膈前缘等,将胸壁翻至头侧。分离出心脏后,以左手拇指和食指轻轻提起心脏,暴露出各大血管,并用弯头组织剪迅速将其剪断。主动脉以距其起始部 4—5 毫米处(第一支头臂动脉发出处)横断最为适当。取下之心脏立即投入贮有预冷灌流液的培养皿内。在液面下找出主动脉断端,用眼科镊夹住断端,再将接在注射器上的主动脉插管插入主动脉内。用 2/0 号医用缝线结扎固定在主动脉插管上(图 2),立即注入预置在注射器内的灌流液,冲洗出残留在冠状血管内的血液,速将主动脉插管和心脏移置到灌流装置的三通旋塞接头的下端,打开三通旋塞接头上的活塞开关,待主动脉插管座内充满灌流液后,再将其密接在三通旋塞接头上。数秒钟后心脏即可开始跳动。插管和移置过程必需防止空气进入冠状动脉而造成栓

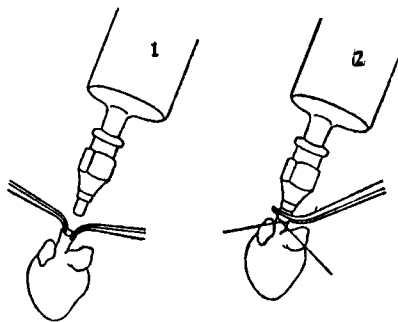


图 2 离体心脏主动脉插管方法

1. 主动脉断端用眼科镊夹住,准备插管; 2. 用眼科镊把主动脉固定在插管上,再用 2/0 号医用缝线结扎

塞。待心跳规则后,再在肺动脉起始部与右室圆锥部之间剪一小口,以利冠状血管回流液的排出。修剪去心脏周围附着组织,并按图 1 所示,接上心脏收缩幅度记录装置^[2]后,即可进行记录。

讨 论

离体心脏灌流术自 Langendorff 创建以来已有 80 余年的历史,根据不同的实验要求,经不断的改进,这一技术已日趋完善。按冠状血管回流液的处置不同,可区分为循环式和非循环式灌流,前者回流液经滤过后再作灌流用;而后者则不再回收作灌流用。按心脏的负荷不同,可区分为“工作心脏”和“无工作心脏”,前者灌流液从左房经左室搏入主动脉后再灌流冠状血管,左心有工作负荷;而后者灌流液直接由主动脉逆流进入冠状血管,左心基本无较大负荷。我们的简易灌流法,从主动脉进行灌流,冠状血管流出液只供记录冠状动脉流量及其内含物的化学测定用,而不再作灌流用,故属非循环式无工作心脏。如冠状动脉流量以 8 毫升/分计算,每小时灌流液的消耗量约为 500 毫升。

本装置经实际使用表明性能较稳定。离体心脏的富氧液灌流,心脏收缩的幅度在一小时内无明显下降,灌流三小时后的心脏收缩幅度的自然下降率约为 20%。灌流后的心脏经组织学检查,除有组织水肿外,未见其他心肌变性征象(图 3)。利用本装置的离体灌流心脏对药物或缺氧等均有反应(图 4,5)。

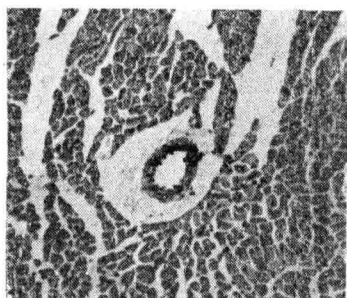


图3 经灌流后,心脏除组织水肿外,未见心肌变性
H.E. $\times 130$

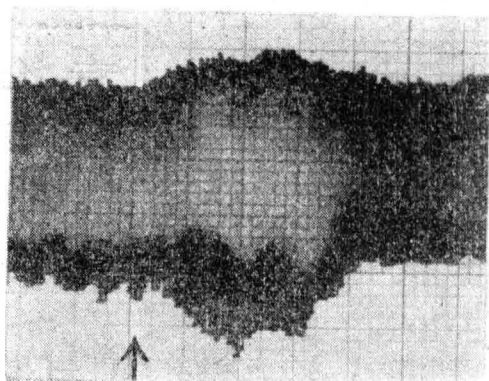


图4 注入0.5毫克肾上腺素后心脏收缩幅度的变化



图5 乏氧灌流时心脏收缩幅度减小

灌流过程中只要贮液瓶密闭良好,灌流液的pH值、氧及二氧化碳的分压经气体分析仪测定,均无明显降低。灌流液以新鲜配制为好,使用前须经过滤,以避免尘埃等物进入冠状动脉内引起栓塞。

离体心脏灌流的成败除灌流液的质量外,操作亦极为重要。心脏离体前必须作完善的抗凝处理以防止血栓形成;整个插管过程必须在液面下进行,切忌空气进入冠状动脉造成栓塞。据我们的观察,右心室圆锥部与肺动脉起始部间的切开亦属十分必要,否则冠状血管流出液排出不畅,右室逐渐膨胀,必然导致心脏收缩幅

度的减小。此外,主动脉最好横向切断,断端太短则插管时易损伤主动脉瓣;断端斜切或过长(超过头臂动脉分出处)均易造成结扎不严,致使灌流液外流。

心脏的离体、插管及移置等操作均须准确、迅速、轻巧。如这一系列操作能在2—3分钟内完成,灌流的成功率极大。

参 考 资 料

- [1] Ross, B. D.: Perfusion Techniques in Biochemistry, Clarendon Press, Oxford, 1972.
- [2] 中国医学科学院阜外医院基础研究室: 电阻应变心脏收缩幅度换能器, 见本刊下期。

[本文于1976年11月23日收到]

科 技 消 息

用超声波研究人体组织

利用超声透镜来代替X光透视,它的好处是利用对人体无害的低能量超声波,不需要反差材料,对人体无害。

原理是超声波射入身体后能检测到返回的声波,然后对声波信息进行处理,再从电视屏上显示出图象。已经可以看到正在跳动的动脉,动脉内的脂肪沉着或凝块等引起疾病的物质,能很快的被检查出来。