

## 动脉压力感受性反射对盲肠结扎穿孔致脓毒症大鼠生存率的影响

史克勇<sup>1</sup>, 马秀娟<sup>1</sup>, 曹颖林<sup>1</sup>, 张 伟<sup>2</sup>, 沈甫明<sup>2\*</sup>

(1. 沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016; 2. 第二军医大学药学院药理学教研室, 上海 200433)

**[摘要]** **目的:** 观察动脉压力感受性反射(ABR)对盲肠结扎穿孔(CLP)致脓毒症大鼠生存率的影响。**方法:** 利用破坏反射弧的方法, 将雄性大鼠依据反射功能高低分为两组: 假手术大鼠( $n=22$ )和去窦弓神经(SAD)大鼠( $n=22$ )。用 CLP 致大鼠脓毒症模型, 采用计算机化清醒大鼠血压连续监测技术, 于 CLP 后动态监测大鼠的血压及心动间期, 并观察大鼠 12 h 内的存活情况。**结果:** 大鼠 CLP 后收缩压和舒张压随时间逐渐下降, 而心动间期则先变短再急剧变长直至动物死亡。12 h 后假手术大鼠的生存率为 86%, 而 SAD 大鼠的生存率为 59%, 两组大鼠 Kaplan-Meier 生存曲线存在显著差异( $P<0.05$ )。**结论:** ABR 在 CLP 致大鼠脓毒症中起重要作用。

**[关键词]** 盲肠结扎穿孔; 脓毒症; 压力感受器反射; 去窦弓神经; 生存率分析

**[中图分类号]** R 339.17 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)07-0705-04

### Effect of arterial baroreflex on survival rate of rats with cecal ligation and puncture-induced sepsis

SHI Ke-yong<sup>1</sup>, MA Xiu-juan<sup>1</sup>, CAO Ying-lin<sup>1</sup>, ZHANG Wei<sup>2</sup>, SHEN Fu-ming<sup>2\*</sup> (1. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To investigate the effect of arterial baroreflex (ABR) on survival rate of rats with cecal ligation and puncture (CLP)-induced sepsis. **Methods:** Male Sprague-Dawley rats were divided into 2 groups: sham-operated rats ( $n=22$ ) and sinoaortic denervated (SAD) rats ( $n=22$ ). Four weeks after SAD rats were subjected to CLP-induced sepsis, the blood pressure and heart period (HP) were monitored for 12 hours in conscious state and the survival of rats was observed. **Results:** Both the diastolic and systolic blood pressure gradually decreased after CLP; the HP shortened first and then drastically prolonged until the death of rats. At 12 h after CLP the survival rate of SAD rats was lower than that of the sham-operated rats (59% vs 86%). Significant differences were found between the Kaplan-Meier survival curves of the rats in 2 groups ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** ABR plays an important role in CLP-induced lethal sepsis model.

**[KEY WORDS]** cecal ligation and puncture; sepsis; baroreflex; sinoaortic denervation; survival analysis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(7): 705-708]

严重创伤并发脓毒症, 可启动、促进或加速多器官功能障碍综合征(MODS)的发生, 是临床各科常见的危重病症和战伤主要的死亡原因。由于它病死率高, 发病机制尚未完全阐明, 一直倍受医学界的关注。动脉压力感受性反射(arterial baroreflex, ABR)是调节心血管活动最重要的机制之一。以手术的方法将 ABR 的反射弧切断, 比如将主动脉弓和颈动脉窦的传入神经去除, 称之为去窦弓神经(sinoaortic denervation, SAD), SAD 后大鼠 ABR 功能显著下降<sup>[1-2]</sup>。鉴于 ABR 的主要功能是维持血压的稳定, 我们假设在盲肠结扎穿孔(cecal ligation and puncture, CLP)致脓毒症大鼠死亡的过程中 ABR 可能影响 CLP 后大鼠的生存率。本实验验证了这一假设, 并动态记录了大鼠 CLP 后血压及心动间期(HP)的变化曲线。

### 1 材料和方法

1.1 实验动物 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 雄性,

体质量 200~250 g, 购自上海 SIPPR/BK 实验动物有限公司。随机分为行 SAD 组( $n=22$ )和假手术组( $n=22$ )。

1.2 SAD 大鼠的制备和检验<sup>[3]</sup> 大鼠用盐酸氯胺酮 50 mg/kg 加地西洋 5 mg/kg 腹腔注射麻醉, 同时腹腔注射硫酸阿托品 0.5 mg/kg 以抑制呼吸道腺体过多分泌。麻醉后大鼠仰卧位固定, 颈部正中切开, 分离出双侧主动脉神经及喉上神经并切断。暴露颈动脉窦区去除该区的神经支配, 并用神经毒试剂 10% 苯酚乙醇溶液涂擦该部。最后缝合颈部切口, 后肢肌内注射青霉素钠 6 万单位, 完成整个 SAD 手术。假手术不作神经分离和切除, 其余步骤

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30330650)。Supported by National Natural Science Foundation of China(30330650)。

**[作者简介]** 史克勇, 博士生, E-mail: skyou123@sina.com

\* Corresponding author. E-mail: fumingshen@126.com

与 SAD 手术相同。术后常规饲养 4 周。

SAD 大鼠用于实验前先进行检验。SAD 大鼠麻醉后行股静脉插管和经股动脉的低位腹主动脉插管,24 h 后在清醒自由活动状态下观察去氧肾上腺素(上海禾丰制药有限公司提供)引起的血压、心率改变,以判断 SAD 是否完全。具体方法为:去氧肾上腺素 3~5 μg/kg, iv, 如果血压升高 ≥50 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa), 而心率减慢 <20 次/min, 则认为 SAD 完全。SAD 完全者进行下一步研究。假手术大鼠进行上述同样检验时,心率减慢在 60~100 次/min。

1.3 清醒自由活动大鼠的血压及心动间期监测 大鼠去神经或实施假手术后,在一侧腹股沟处切开,分离股动脉和静脉,用肝素化的聚乙烯导管分别进行动脉插管和静脉插管,动脉插管深达腹主动脉。插管另一端用引针经背部皮下至顶部穿出,用“马鞍”固定,手术后大鼠置于隔音实验室内单独饲养。恢复 24 h 后置于有机玻璃圆筒内,动脉导管经转动装置和灌注三通管与压力换能器连接,同时灌注三通管与恒速推注泵连接,以 1 ml/h 的速度推注 20 IU/ml 肝素化等渗葡萄糖溶液。每搏血压信号经压力换能器转换为电信号,由分析系统(上海奥尔科特生物科技有限公司 MPA-2000 生物信号分析系统)经计算机实时记录并处理每搏收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)和 HP。

1.4 脓毒症大鼠模型制备 大鼠 SAD 4 周后,检验合格的 SAD 大鼠及假手术大鼠行股静脉和股动脉插管,24 h 后参照 Chaudry 和 Wichterman 等<sup>[4-5]</sup>报道的方法行 CLP 致脓毒症手术。大鼠用地西洋 12.5 mg/kg 腹腔注射麻醉后固定、铺无菌洞巾。沿腹正中线作 1.5 cm 切口,结扎盲肠根部(避免结扎回肠及盲肠系膜血管),用 16 号针头穿刺盲肠 2 次,并轻轻挤压盲肠,直至有少量粪渣流出,然后将盲肠放回腹腔,逐层缝合腹壁切口。术后将大鼠的动脉管接于压力换能器上,记录大鼠 12 h 内的血压和心动间期的动态变化。

1.5 数据处理 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。采用 Kaplan-Meier 法绘制两组的生存曲线,并用时序检验(log-rank test)进行显著性检验;同时时间点两组间血压比较采用 *t* 检验。以  $P < 0.05$  为显著性标准。

## 2 结果

2.1 大鼠脓毒症各期典型的血压和心动间期变化曲线 假手术大鼠典型的 SBP、DBP 和 HP 变化曲

线如图 1 所示。从图中可见,SBP 的变化曲线和 DBP 的变化曲线基本相似,呈逐渐下降的趋势。而 HP 则先变短再急剧变长直至动物死亡,即 CLP 后大鼠心率先加快后减慢直至死亡。

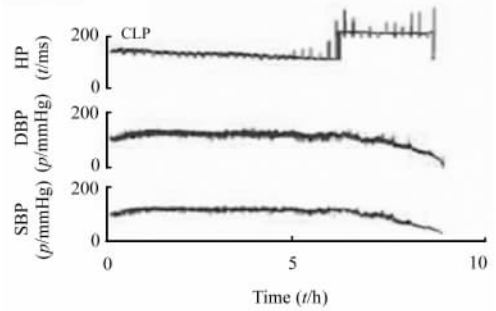


图 1 假手术大鼠 CLP 后典型的血压及 HP 变化曲线

Fig 1 Changes of blood pressure and heart period in sham-operated rats after CLP challenge

HP: Heart period; DBP: Diastolic blood pressure; SBP: Systolic blood pressure; 1 mmHg=0.133 kPa

2.2 SAD 大鼠及假手术大鼠 Kaplan-Meier 生存曲线 CLP 后记录 12 h 内大鼠生存情况,并计算各个时间点的生存率。结果见图 2。

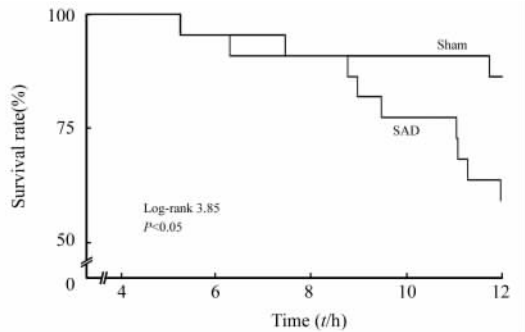


图 2 SAD 大鼠和假手术大鼠 Kaplan-Meier 生存曲线

Fig 2 Kaplan-Meier survival curves of sham-operated and SAD rats after CLP challenge

由图 2 可见,CLP 后两组大鼠的生存率随时间延长而逐渐下降,12 h 后假手术大鼠的生存率为 86%,而 SAD 大鼠的生存率仅为 59%,两条 Kaplan-Meier 生存曲线存在显著性差异( $P < 0.05$ )。

2.3 CLP 后两组大鼠血压的动态变化 记录 CLP 后 12 h 内平均动脉压(mean blood pressure, MBP)的动态变化,12 h 内每 1 h 统计 1 次 MBP,绘制大鼠 MBP 的动态变化曲线(图 3)。结果表明,CLP 后 SAD 组同时间点血压下降程度高于假手术对照组,但同时时间点两组间血压经 *t* 检验并无显著性差异( $P > 0.05$ )。

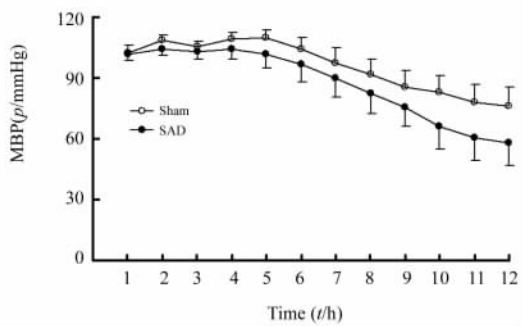


图3 SAD大鼠和假手术大鼠CLP后MAP的动态变化

Fig 3 Dynamic changes of mean blood pressure in sham-operated and SAD rats after CLP challenge

SAD: Sinoaortic denervation group; MBP: Mean blood pressure; 1 mmHg=0.133 kPa;  $n=22, \bar{x} \pm s$

### 3 讨论

ABR的主要功能是维持血压的稳定,文献报道,高血压患者和动物以及其他心血管疾病时ABR功能均不同程度的受到损害<sup>[6-7]</sup>。在一项对急性心肌梗死患者首次发作后2年的跟踪调查发现,ABR功能与患者的心血管疾病死亡率呈显著的负相关,即ABR功能低下的患者死亡率显著升高<sup>[8-10]</sup>。本研究的主要目的是直接评价ABR功能,这一心血管系统血压调节最重要的机制在CLP诱导的脓毒症中的作用。

破坏ABR反射弧的方法有3种,即可以在3个不同的环节对反射弧进行破坏:(1)受体和传入神经;(2)中枢水平,即经损毁孤束核;(3)传出神经水平,即阻断交感和副交感神经系统。上述的3种方法中从选择性和可操作性来衡量,第一种方法是人们所经常采用的,即去除动物颈动脉窦和主动脉弓的神经传入。去除大鼠颈动脉窦和主动脉弓的神经传入可直接和选择性的破坏ABR功能<sup>[1]</sup>,本实验中SAD模型制备的成功率约为70%。去颈动脉窦和主动脉弓神经动物模型最初由Krieger等<sup>[11]</sup>创建并作为研究神经源性高血压的动物模型,他及其后的研究者都将SAD视为神经源性高血压模型<sup>[12]</sup>。直至Norman等<sup>[13]</sup>于1981年报道利用24h连续动态血压监测技术,发现SAD大鼠24h平均血压并未升高,只是血压不稳定性加大。

实验中动物模型表现出与临床脓毒症类似的表现,如寒颤、全身软弱、四肢湿冷、动作迟缓和低血压等。本研究首次详细描绘了清醒状态下大鼠致死性脓毒症各期典型的血压和HP的动态变化曲线;CLP后12h,SAD大鼠的生存率低于假手术对照组,更为重要的是,两组动物的Kaplan-Meier生存曲线存在显著性差异;经实时监测技术,绘得CLP

后平均动脉压的动态变化曲线,发现SAD组CLP后同时间点血压下降程度高于假手术对照组。结果表明,ABR在CLP致大鼠脓毒症中起重要作用。

近年有研究表明,无论是患者还是受试的小鼠,中毒性休克发生后的死亡率随年龄而升高<sup>[14-15]</sup>。令我们感兴趣的是,众多的研究证实随年龄的增长人和大鼠的ABR功能均会发生下降<sup>[16-17]</sup>。虽然本实验的研究结果并不能肯定ABR决定大鼠CLP致脓毒症后的病死率,本实验结果至少提示ABR在脓毒症中具有重要意义。

### [参考文献]

- [1] Shan Z Z, Dai S M, Su D F. Arterial baroreflex deficit induced organ damage in sinoaortic denervated rats [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2001, 38: 427-437.
- [2] Su D F, Miao C Y. Blood pressure variability and organ damage [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2001, 28: 709-715.
- [3] Shen F M, Su D F. The effect of adenosine on blood pressure variability in sinoaortic denervated rat is mediated by adenosine A<sub>2A</sub>-receptor [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2000, 36: 681-686.
- [4] Chaudry I H, Wichterman K A, Baue A E. Effect of sepsis on tissue adenine nucleotide levels [J]. *Surgery*, 1979, 85: 205-211.
- [5] Wichterman K A, Baue A E, Chaudry I H. Sepsis and septic shock: a review of laboratory models and a proposal [J]. *J Surg Res*, 1980, 29: 189-201.
- [6] Sleight P. The importance of autonomic nervous system in health and disease [J]. *Aust NZ J Med*, 1997, 27: 467-473.
- [7] Bristow J D, Honour A J, Pickering G W, et al. Diminished baroreflex sensitivity in high blood pressure [J]. *Circulation*, 1969, 39: 48-54.
- [8] La Rovere M T, Specchia G, Mortara A, et al. Baroreflex sensitivity, clinical correlates and cardiovascular mortality among patients with a first myocardial infarction: a prospective study [J]. *Circulation*, 1988, 78: 816-824.
- [9] La Rovere M T, Bigger J T, Marcus F I, et al. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction [J]. *Lancet*, 1998, 351: 478-484.
- [10] La Rovere M T, Pinna G D, Hohnloser S H, et al. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in the identification of patients at risk for life-threatening arrhythmias [J]. *Circulation*, 2001, 103: 2072-2077.
- [11] Krieger E M. Neurogenic hypertension in rats [J]. *Circ Res*, 1964, 15: 511-521.
- [12] Orfila C, Damase-Michel C, Lepert J C, et al. Renal morphological changes after sinoaortic denervation in dogs [J]. *Hypertension*, 1993, 21: 758-766.
- [13] Norman R A, Coleman T G, Dent A C. Continuous monitoring of arterial pressure indicates sinoaortic denervated rats are not hypertensive [J]. *Hypertension*, 1981, 3: 119-125.
- [14] Angus D C, Linde-Zwirble W T, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care [J]. *Crit Care Med*, 2001, 29: 1303-1310.
- [15] Turnbull I R, Wizorek J J, Osborne D, et al. Effects of age on

- mortality and antibiotic efficacy in cecal ligation and puncture [J]. Shock, 2003, 19: 310-313.
- [16] Gribbin B, Pickering T G, Sleight P, et al. Effect of age and high blood pressure on baroreflex sensitivity in man [J]. Circ Res, 1971, 29: 424-431.
- [17] Stauss H M, Morgan D A, Anderson K E, et al. Modulation of baroreflex sensitivity and spectral power of blood pressure by heat stress and aging [J]. Am J Physiol, 1997, 272: H776-H784.
- [收稿日期] 2007-03-09 [修回日期] 2007-04-03  
[本文编辑] 尹 茶