



不同麻醉方法在幼龄贵州小型猪构建颅骨缺损模型及 修复术中麻醉效果的比较

曹春艳, 胡正云, 陈 博

(中国医学科学院北京协和医学院整形外科医院, 北京 100144)

【摘要】 目的 比较3种麻醉方法在幼龄小型猪构建颅骨缺损模型及修复实验中的麻醉效果, 从而探索简便、安全、有效的最佳麻醉方案。**方法** 幼龄贵州小型猪30头, 雌雄各半, 随机分为3组, 每组10头, A组采用咪达唑仑与氯胺酮组混合液肌内注射; B组采用肌内注射陆眠宁II注射液麻醉; C组咪达唑仑联合氯胺酮与陆眠宁II复合肌内注射麻醉。比较3组的麻醉显效时间、首次麻醉维持时间、第1次追加药物麻醉维持时间、第2次追加药物麻醉维持时间、苏醒时间、术中麻药追加次数、麻药累积量、术后动物不良反应及死亡率。**结果** B组显效时间长于A、C两组($P < 0.05$); C组首次麻醉维持时间、第1次追加药物麻醉维持时间、第2次追加药物麻醉维持时间的时长明显大于A、B两组($P < 0.05$); A、C组苏醒期明显短于B组($P < 0.05$); C组的追加麻药的次数、用药总剂量、术后不良反应率及死亡率明显低于A、B组($P < 0.05$)。**结论** 咪达唑仑联合氯胺酮与陆眠宁II复合麻醉是一种操作简单、麻醉深度可控、安全性高的适于手术时间较长的幼龄小型猪外科实验的麻醉方法。

【关键词】 咪达唑仑; 氯胺酮; 陆眠宁II; 幼龄猪; 麻醉

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 04-0041-05
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.04.007

Comparison of three anesthetic procedures during the establishment of and recovery effect on adolescent Guizhou minipig models of skull defect

CAO Chun-yan, HU Zheng-yun, CHEN Bo

(Plastic Surgery Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100144, China)

【Abstract】 Objective We compared the effect of three anesthetic procedures on the establishment of and recovery effect on the young minipig models of skull defect, and explore an optimal anesthetic procedure for long-lasting surgical experiment in minipigs. **Methods** Thirty 3-month old Guizhou minipigs (male: female = 1:1) were randomly divided into three groups, 10 in each group. The group A was given with midazolam and ketamine i. p., the group B received lumianing II i. p., and the group C received midazolam combined with ketamine and lumianing II i. p. The induction time of anesthesia, the first anesthesia maintenance time, the first anesthesia maintenance period after additional use of anesthetics, the second time anesthesia maintenance period after additional use of anesthetics, the recovery period, the number of times of additional intraoperative use of anesthetics, cumulative amount of anesthetics used, and the adverse reaction and mortality rates of the animals after anesthesia were observed and analyzed. **Results** The anesthesia induction

【基金项目】 国家自然科学基金(编号:31300807)。

【作者简介】 曹春艳(1965-), 女, 研究方向: 医学实验动物学。E-mail: caochunyanaa@163.com。

【通讯作者】 陈博(1986-), 男, 研究方向: 整形外科。E-mail: chenboys@hotmail.com。

time in the group B was significantly longer than that in the groups A and C ($P < 0.05$ for both). The anesthesia maintenance time and the anesthesia maintenance after first and second additional use of anesthetics in the groups A were significantly longer than those of the groups A and B ($P < 0.05$ for both). The recovery periods in groups A and C were shorter than that of the group B ($P < 0.05$ for both). The number of times of additional intraoperative use of anesthetics, the total dose of anesthetics, the adverse reaction and mortality rates in the group C were significantly lower than those of the groups A and B ($P < 0.05$ for both). **Conclusions** The combination of midazolam with ketamine and lumianning II is a simple, easy to control the anesthesia depth, and a safe method to anesthetize young minipigs in long-lasting surgical experiment.

【Key words】 Midazolam; Ketamine; Lumianning II; Adolescent minipigs; Anesthesia

在整形外科与神经外科临床工作中,对于如何修复儿童颅骨缺损的问题一直是困扰外科医师的难题之一,所以建立与临床较为接近的实验动物模型就显得尤为重要。由于小型猪因其解剖生理特征、代谢、疾病的发生和机理等方面与人基本相似,越来越被广泛应用于实验科学研究^[1]。因而幼龄贵州小型猪就作为构建颅骨缺损模型及修复的首选实验对象。然而完成复杂的手术过程,需要有良好的麻醉方法,它不仅是保证手术成功的前提,也是保证实验数据准确性的关键因素之一。目前,大多文献介绍小型猪的麻醉方法均以成年小型猪较多,而幼龄小型猪的麻醉方法鲜有报道。作者在本实验的过程中借鉴成年小型猪的麻醉经验,对以往的麻醉方法进行改进,总结,摸索出更适于幼龄小型猪的麻醉方法,现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

贵州小型猪 30 头,3 月龄,体质量 11 ~ 13 kg,雌雄各半,单笼饲养,由北京市琉璃河科兴实验动物养殖中心提供[SCXK(京)2012-0005]。动物实验在整形外科医院研究中心动物室完成[SYXK(京)2015-0009]。

1.2 药物选择

盐酸氯胺酮(福建古田药业有限公司,批号:1507293, 2 mL:0.1 g);陆眠宁 II 注射液(吉林省华牧动物保健品有限公司,批号:兽药字(2009)070011582,生产批号:140610, 2.0 mL/支);咪达唑仑(江苏恩华药业股份有限公司,国药准字 H19990027,生产批号:20130807, 1 mL:5 mg)。

1.3 麻醉方法

将 30 头幼龄小型猪单笼饲养,术前观察 1 周,健康状态无异常,随机分为 3 组,每组 10 头,各组月龄及体质量无统计学意义。术前 12 h 禁食,麻醉前

称重,阿托品按 0.05 mg/kg 的剂量术前 30 min 肌内注射给药。手术历时(210 ± 5) min。A 组(氯胺酮与咪达唑仑组),B 组(陆眠宁 II 组),C 组(氯胺酮/咪达唑仑与陆眠宁 II 复合麻醉组)。A 组:采用咪达唑仑与氯胺酮混合液肌内注射,氯胺酮首次给药剂量为 12 mg/kg,咪达唑仑给药剂量为 0.35 mg/kg,待动物达到麻醉状态后,将小型猪俯卧位固定于手术台上,用静脉留置针在小型猪的外侧隐静脉前支或后支静脉穿刺并固定,建立静脉通道,给予 0.1% 氯胺酮持续静脉滴注维持麻醉,当动物出现痛感时需立即静脉注射氯胺酮 0.1 mg,直到动物痛感消失。B 组:首次按 0.15 mL/kg 体质量的剂量肌内注射陆眠宁 II 注射液,如 20 min 后未达到麻醉状态时,追加 0.05 mL/kg 体质量的药量,待有效麻醉消失后,麻醉维持药量为首次剂量的一半。C 组:首先将咪达唑仑与氯胺酮混合液肌内注射,诱导剂量同 A 组。待动物对外界刺激反应迟钝时,按 0.1 mL/kg 体质量的剂量肌内注射陆眠宁 II 注射液,有效麻醉消失后,按 5 mg/kg 的氯胺酮与 0.05 mL/kg 陆眠宁 II 混合液肌内注射维持麻醉。

1.4 观察指标

1.4.1 麻醉显效时间:观察小型猪自肌内注射麻醉药至出现麻醉状态的时间。当肌注麻醉药后几分钟就出现睫毛反射和肌张力下降、精神倦怠、步履蹒跚、随后卧倒,痛觉消失。

1.4.2 麻醉首次维持时间:动物首次进入麻醉状态直到术中动物对切割牵拉出现轻微痛感时间。在此期间动物呼吸平稳,肌肉松弛,手术切割牵拉无反应,痛觉消失。

1.4.3 追加药物后维持时间:首次麻醉维持期内,当动物对切割牵拉出现轻微痛感或躁动时,追加麻醉药的时间到下一次追加麻醉药的时间。

1.4.4 麻醉苏醒时间:动物从开始苏醒到站立行走的时间。表现为呼吸加快,睫毛和角膜反射恢复,

挣扎站立直至平稳行走。

1.4.5 麻醉效果 (1)记录整个手术过程中麻药追加次数,氯胺酮及陆眠宁 II 各自总用量。(2)记录术后动物的不良反应,包括呕吐、躁动、腹胀、不食等状况;同时记录术中、术后及术后 1 个月内动物死亡例数(排除手术原因)。

1.5 统计学方法

所有数据采用 SPSS17 统计软件进行分析,数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 麻醉时间

(1)麻醉诱导期:观察三种麻醉方法的麻醉起效时间, B 组动物进入麻醉状态的时间要明显慢于 A、C 两组,与 A、C 两组相比具有统计学差异 ($P < 0.05$),而 A、C 两组相比,差异不具有统计学意义;(2)麻醉维持时间: C 组首次麻醉维持时间(第 1 次维持时间)的时长明显大于 A、B 两组,具有显著的差异性 ($P < 0.05$)。同样 C 组第 1 次追加麻醉药物麻醉维持时间(第 2 次维持时间)及第二次追加药物麻醉维持时间(第 3 次维持时间)的时长同样明显长于 A、B 两组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);(3)麻醉苏醒期:数据显示, B 组苏醒期时长明显长于 A、C 两组,具有显著地统计学意义 ($P <$

0.05),而 A、C 两组相比,差异无统计学意义 ($P > 0.05$,表 1)。

2.2 麻醉效果

A、B、C 3 组的麻醉效果比较而言 C 组的麻醉效果最好。数据显示, C 组的麻药追加次数明显少于 A、B 两组, C 组 $<$ B 组 $<$ A 组,组间比较有显著差异性 ($P < 0.05$); C 组在氯胺酮和陆眠宁 II 的用药总量上都明显少于 A、B 两组,与 A、B 两组比较差异显著,具有统计学意义 ($P < 0.05$);术后 B 组的不良反率高于 A、C 两组,但与 A 组比较无统计学意义 ($P > 0.05$),与 C 组比较差异显著 ($P < 0.05$);另外, C 组和 A 组在麻醉期间、术后及术后 1 月内未出现动物死亡情况,而 B 组动物术后死亡 2 头,术后 3 天内死亡 1 头, C 组与 A、B 两组相比差异显著,具有统计学意义 ($P < 0.05$,表 2)。

3 讨论

小型猪由于体型小、遗传稳定、实验耐受性强,又因其解剖结构和生理特征与人基本相似等优点,广泛应用于高血脂、烧伤整形、骨科、口腔外科等实验研究,同时猪也是皮肤和整形外科手术的标准模型^[1,2]。因此本实验选用幼龄贵州小型猪作为实验对象,相对于鼠、兔等小型动物更易耐受较大的外科手术创伤,能够最大程度上模拟人体的成骨过程,为进一步临床实验打下良好基础。

表 1 不同麻醉方法的麻醉时间比较

Tab.1 Comparison of anesthesia period induced by different procedures

组别 Groups	显效时间 (min) The induction period	第 1 次维持时间 (min) The first narcotic time	第 2 次维持时间 (min) The second maintenance time	第 3 次维持时间 (min) The third maintenance time	苏醒期 (min) The recovery period
A	5.21 ± 0.51 [▲]	34.60 ± 4.35 [*]	29.60 ± 3.91 [*]	26.60 ± 2.49 [*]	62.56 ± 7.18 [▲]
B	12.62 ± 6.43	41.05 ± 4.41 [*]	32.42 ± 2.53 [*]	33.89 ± 4.51 [*]	83.10 ± 8.70
C	5.17 ± 0.64	91.1 ± 6.60	62.03 ± 3.83	60.11 ± 5.37	61.00 ± 7.89 [▲]

注: * 与 C 组比较, $P < 0.05$; ▲ 与 B 组比较, $P < 0.05$ 。

Note. * Compared with the group C, $P < 0.05$; ▲ Compared with the group B, $P < 0.05$.

表 2 不同麻醉方法的麻醉效果比较

Tab.2 Comparison of anesthetic effects among groups

组别 Groups	术中动物追加麻药次数 (n) Number of superaddition	氯胺酮总剂量 (mL) Total dose of ketamine	陆眠宁 II 总剂量 (mL) Total dose of lumianning II	术后不良反应 n (%) Adverse reaction	动物死亡率 n (%) Mortality rate
A	6.90 ± 0.65 [*]	13.35 ± 0.58 [*]	-	4(40) [*]	0(0) [▲]
B	6.20 ± 0.63 [*]	-	7.83 ± 0.71 [*]	5(50) [*]	3(30) [*]
C	2.40 ± 0.52	4.66 ± 0.64	2.29 ± 0.31	1(10)	0(0)

注: * 与 C 组比较, $P < 0.05$; ▲ 与 B 组比较, $P < 0.05$ 。

Note. * Compared with the group C, $P < 0.05$; ▲ Compared with the group B, $P < 0.05$.

幼龄小型猪虽然体型小,但其麻醉剂量往往大于成年动物剂量,符合大体型动物麻醉剂量的规律,体重越大单位体重用量可以低于常规剂量,体重越小单位体重用量可高于常规剂量,因此麻醉剂量不好掌握。不仅如此,幼龄小型猪的解剖特点和主要脏器功能发育不全,往往全麻后易出现呼吸和循环系统的并发症,也是术后死亡的主要原因^[3,4]。由此可见,幼龄小型猪麻醉难度大于成年猪,所以建立一种安全可靠的麻醉方法是提高手术成功率及获得精准实验数据的有力保障。而麻醉效果如何与麻醉药的选择及用量有着直接的关系,因此选择合适的麻醉剂及用量非常重要。氯胺酮在动物实验中为常用麻醉剂,但单一的麻醉往往效果不佳,常须多种药物复合麻醉^[5-6]。笔者在预实验过程中发现,单独使用氯胺酮对幼龄猪进行麻醉,麻醉作用不明显,动物躁动次数多,氯胺酮用量大,维持时间短,麻醉效果差,与赵厚德^[7]等报道相同。而氯胺酮伍用咪达唑仑复合麻醉,麻醉效果确实,同单独使用氯胺酮相比其用量减少,镇痛镇静的作用加强,氯胺酮的作用时间延长,这与华海音^[8]等报道相一致。但是,复合麻醉维持时间虽然比单独用氯胺酮时间长,一般为 30 min 左右,对于手术时间较长的实验而言,需要多次静脉追加药物才能满足实验时间的需求。由于追加药物的次数多,氯胺酮的药物累积量相应增加,因而就会导致药物副作用的发生率明显升高,其结果不仅影响手术的实施,而且动物死亡的风险也随之加大。

陆眠宁 II 注射液为盐酸塞拉嗪等药物经优选配比组成的新型复方制剂(不含可做毒品吸食的氯胺酮成分),是一种 α_2 肾上腺素受体激动剂,通过激活 α_2 肾上腺素能受体来起麻醉作用,具有良好的镇痛、镇静及中枢性肌松作用,是大动物麻醉中常用的麻醉剂。然而单独应用陆眠宁 II 对动物进行麻醉时,如果剂量掌握不当,就会出现抑制呼吸和心血管功能的现象,由此导致动物死亡的发生。我们在幼龄小型猪的构建颅骨缺损模型及修复术过程中发现,单独应用陆眠宁 II 麻醉时麻醉深度往往不好掌握,尤其是首次麻醉剂量。因幼龄动物用药剂量大于成年动物用药剂量,如果剂量不到位,会出现麻醉不全,体动次数较多,导致不断追加麻药现象,不仅给实验带来诸多不便,也会造成麻药蓄积,由此造成呼吸系统和心血管系统的抑制作用,而且还会加大肝脏的负担,对胃肠道也有一定影

响,有的动物术后 1~3 天都表现出昏昏沉沉,不爱进食状况,同吴曙光等^[4]报道相符。因此不仅给术后的管理增加难度,也给术后的后续实验的进行带来困难。除此以外,由于麻药的蓄积,有的动物出现苏醒延迟,甚至死亡,其原因可能由于用量大对呼吸系统和心血管系统有着抑制作用,从而加大了主要脏器功能发育不全的幼龄小型猪死亡的风险。因此降低麻醉用药量对于手术时间较长的幼龄小型猪实验而言尤为重要。

随着社会的进步,动物福利越来越受到人们的重视,尤其是针对实验动物使用,提出了“3R”原则,即减少(reduction)、替代(replacement)和优化(refinement)。因此,为了达到对实验动物的科学保护和对动物实验的有力保障,我们应借鉴人医临床上对人进行麻醉的基本要求和麻醉方法,对实验动物进行复合麻醉^[9]。咪达唑仑又名咪唑安定,是当前临床应用的唯一的水溶性苯二氮革类药物,是一种麻醉辅助药,具有镇静、抗焦虑、抗惊厥、肌肉松弛和顺行性遗忘等作用。此药本身无镇痛作用,但在手术中应用可提高痛阈,增加其他全麻药的镇痛作用^[10-11],由此广泛应用于临床麻醉。氯胺酮具有良好的镇痛及一定的镇静作用,是小儿外科手术最常用的麻醉药物之一。其缺点是可引起血压升高、心率加快、肌张力增高,还可引起术后出现恶心、呕吐、躁动等不良反应的症状。然而,作者通过实验发现,当咪达唑仑联合应用氯胺酮进行复合麻醉时,咪达唑仑可延长氯胺酮的麻醉时间,减少氯胺酮的用药剂量,加强氯胺酮的中枢抑制作用,减轻精神症状,降低血压,同时还不增强氯胺酮的呼吸抑制作用,但缺点是维持时间短,与有关报道吻合^[8,12]。由于麻醉维持时间短,在临床上常常用于全麻诱导。基于此,在 C 组实验中,应用氯胺酮与咪达唑仑混合液肌注进行麻醉诱导,待动物对外界刺激反应迟钝时,按 0.1 mL/kg 体质量的剂量肌内注射陆眠宁 II 注射液,以期延长麻醉时间,减少麻醉药物的剂量及不良反应,增强麻醉效果。实验结果显示,由于加入陆眠宁 II 注射液,可明显延长首次麻醉维持时间、追加药物后的麻醉维持时间,与其他两组相比具有显著统计学意义($P < 0.05$);由于麻药追加次数及氯胺酮和陆眠宁 II 的用药总量上都少于 A、B 两组,与 A、B 两组比较差异显著,具有统计学意义($P < 0.05$);因用药累积量明显减少,由此避免了由于药物的蓄积而导致对呼吸、心

血管的抑制作用,从而降低了动物的死亡率。同时动物的自主呼吸、心跳保持良好,术中麻醉维持平稳,麻醉深度可控,术中及术后动物躁动、恶心、腹胀、呕吐、不食等药物的不良反应率大大降低,因而利于动物术后恢复和术后管理。其原因可能是咪唑安定和安定均属于苯二氮草类(Benzodiazepines BZ)药物,BZ受体是一个由 γ -氨基丁酸(GABA)识别位点、BZ识别位点和氯离子通道三部分组成的复合体。BZ药物与BZ识别位点均有较高亲和力,通过变构调节作用,增强GABA与GABA受体的结合,从而进一步使陆眠宁II中 α_2 -受体激动剂的镇痛作用加强^[13,14]。实践证明,由于3种药物的相互作用,不仅降低了麻醉用药量和药物的不良反应,而且延长了麻醉维持时间,加强了镇痛、镇静作用,从而增强了麻醉效果。

综上所述,咪达唑仑、氯胺酮和陆眠宁II三者复合全身麻醉是一种操作简单、麻醉时间较长、麻醉维持平稳、麻醉深度可控、安全性高的适于手术时间较长的幼龄贵州小型猪外科实验的麻醉方法,值得在动物麻醉领域推广。

参考文献:

- [1] Tanaka H, Kobayashi E. Education and research using experimental pigs in a medical school [J]. *Artif Organs*, 2006, 9: 136-143.
- [2] 陈华. 小型猪在医学研究领域的应用进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2008, 16(5): 366-367.
- [3] 宋兵, 祁亮, 任旭东, 等. 小型猪心内直视手术两种麻醉方法的对比研究 [J]. *西安交通大学学报*, 2010, 31(3): 362-365.
- [4] 吴曙光, 钱宁. 速眠新在实验动物麻醉中的应用 [J]. *贵阳中医学院学报*, 2007, 29(1): 58-60.
- [5] 李尧清, 杨小玲, 秦建琼, 等. 氯胺酮在实验动物麻醉中的应用分析 [J]. *上海实验动物科学*, 2001, 21(3): 169-170.
- [6] Gernot M, Kaiser MD, Matthias M. General handling and anesthesia for experimental surgery in pigs [J]. *Surg Res*, 2006, 130(1): 73-79.
- [7] 赵厚德, 陶均, 郝智慧, 麻醉对动物实验的影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2004, 14(6): 386-387.
- [8] 华海音, 杨广, 刘克玄, 等. 咪唑安定复合氯胺酮用于小儿基础麻醉的临床研究 [J]. *临床麻醉学杂志*, 2001, 17(3): 127-129.
- [9] 杨培梁, 王元占, 朱玉峰, 等. 全身复合麻醉在动物实验中的应用研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2005, 15(4): 198-199.
- [10] 郇惠芳. 咪达唑仑用于颌面外科盲探插管麻醉的效果评价 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2009, 8(9): 93-94.
- [11] 顾国华, 董永胜, 陆金彪, 等. 咪达唑仑麻醉学浅析 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2013, 13(17): 194-195.
- [12] 戴雄伟, 沈志忠, 范圣登. 咪唑安定对氯胺酮麻醉诱导的影响 [J]. *临床麻醉学杂志*, 2003, 19(8): 484-487.
- [13] Fraevr DD, Duffg S, Angelides KJ, et al. GABAA/benzodiazepine receptors in acutely isolated hippocampal astrocytes [J]. *J Neurosci*, 1995, 15: 2720-2732.
- [14] Baker MR, Baker SN. The effect of diazepam on motor cortical oscillations and corticomuscular coherence Studied in man [J]. *J Physiol*, 2003, 546(3): 931-942.

[修回日期]2016-10-12