

不同氧体积分数气体对体外模拟体内生理环境寄养断肢系统血氧分压的影响☆

王江宁, 尹叶锋, 高磊, 王德成, 左有为, 苏才培

Effect of different oxygen concentrations on blood oxygen pressure in the system of *in vitro* physiological environment foster limbs

Wang Jiang-ning, Yin Ye-feng, Gao Lei, Wang De-cheng, Zuo You-wei, Su Cai-pei

Abstract

BACKGROUND: Limb replantation success rate with limb preservation method is directly related to conduct *in vitro* simulated physiological environment foster limbs, which can extend saved time of the limbs.

OBJECTIVE: To investigate the effects of different oxygen concentrations on blood oxygen pressure in the system of *in vitro* physiological environment foster limbs.

METHODS: Totally nine New Zealand sheep with a total of 36 limbs underwent *in vitro* limb perfusion experiments with blood and were randomly divided into six groups according to different concentrations of oxygen gas (100%, 60%, 50%, 40%, 20%, 10%) into the membrane lung.

RESULTS AND CONCLUSION: Comparison of blood oxygen pressure in each group, the arterial oxygen values in experimental group 6 was in the normal range (80-100 mm Hg), and with the oxygen concentration decreases, arterial oxygen pressure values decreases. It is indicated that *in vitro* simulation of physiological environment in the foster care system, different concentrations of oxygen gas into the membrane lung may have an impact on the arterial partial pressure of oxygen; through reducing the oxygen concentration, the arterial oxygen pressure can be close to the normal range.

Wang JN, Yin YF, Gao L, Wang DC, Zuo YW, Su CP. Effect of different oxygen concentrations on blood oxygen pressure in the system of *in vitro* physiological environment foster limbs. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(5): 855-858. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

Luhe Teaching Hospital, Capital Medical University, Beijing 101100, China

Wang Jiang-ning☆, Doctor, Chief physician, Luhe Teaching Hospital, Capital Medical University, Beijing 101100, China dlwangjn@vip.sina.com

Received: 2011-07-23 Accepted: 2011-08-29

摘要

背景: 断肢再植成功率与断肢的保存方法有直接关系, 开展体外模拟体内生理环境寄养断肢的研究, 可以延长肢体保存时间。

目的: 探讨不同氧体积分数对体外模拟体内生理环境寄养断肢系统血氧分压的影响。

方法: 健康的新西兰绵羊 9 头, 共计 36 只肢体, 行体外断肢同型血液循环灌注实验。36 只肢体按照进入膜肺的气体氧体积分数的不同随机数字表均分成氧体积分数 100%, 60%, 50%, 40%, 20%, 10% 组进行观察。

结果与结论: 各组血氧分压数据相比较, 氧体积分数 10% 的动脉血氧分压数值在正常值范围(10.64~13.33 kPa), 而且动脉血氧分压的数值随氧体积分数的减小而减小。提示在体外模拟体内生理环境寄养断肢系统中, 不同氧体积分数的气体进入膜肺可以对动脉血氧分压产生影响, 减小氧体积分数可以使动脉血氧分压接近于正常范围。

关键词: 断肢; 氧体积分数; 体外寄养; 模拟人体生理环境; 血氧分压

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.05.023

王江宁, 尹叶锋, 高磊, 王德成, 左有为, 苏才培. 不同氧体积分数气体对体外模拟体内生理环境寄养断肢系统血氧分压的影响[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(5): 855-858. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

断肢再植成功率与断肢的保存方法有直接关系, 常用方法有低温冷藏法、低温灌注法、高压氧法^[1-10], 及本文作者发明的暂时性异位寄养再回植法, 本文作者已经成功完成大量断肢的异位寄养再回植^[11-13]。

本文作者目前正在开展体外模拟体内生理环境寄养断肢的研究, 体外模拟体内生理环境对人体断肢进行血液灌注, 可以延长肢体保存时间, 这样就可以节约很多时间去纠正患者的其他并发症如严重的出血性休克、严重的多器官损伤, 待全身情况好转后, 再行回植手术。此方法还可有效清除断肢未灌注前由于缺血、

挤压产生的毒素, 将减少断肢再植后中毒性休克以及急性肾功能衰竭的发生, 从而显著降低断肢再植后的死亡率。

在研究初期体外模拟体内生理环境寄养断肢系统调整血氧分压的问题一直是难题。缺氧的断肢在进行体外模拟生理环境寄养系统灌注时, 过高的氧分压可导致氧自由基大量生成^[14], 增加缺氧一再氧合损伤及对随后的外科缺血一再灌注损伤的易受损性增加^[15]。调整体外模拟体内生理环境寄养断肢系统接近于正常值的氧分压(10.64~13.33 kPa)可以减少断肢细胞氧自由基的产生, 减少细胞链式脂质过氧化反应, 并在一定程度上减少肌酸激酶、乳酸脱氢酶及肌钙蛋白的释放^[16], 从而有利于断肢肌肉的保护。因此在体外模拟体内生理环境

首都医科大学潞河教学医院, 北京市 101100

王江宁☆, 男, 1958 年生, 江苏省南京市人, 汉族, 2007 年大连理工大学毕业, 博士, 主任医师, 主要从事修复重建显微外科方面的研究。dlwangjn@vip.sina.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2012)05-00855-04

收稿日期: 2011-07-23
修回日期: 2011-08-29
(20110623012/D · G)

寄养断肢系统中, 对相同气压下不同氧体积分数的气体进入膜肺所产生的不同血氧分压的研究显得尤为重要。

1 材料和方法

设计: 动物实验观察。

时间及地点: 2011-03-08在首都医科大学潞河教学医院第三生理实验室完成。

材料: 选取健康体质量25~30 kg的新西兰绵羊9头, 雌性, 由首都医科大学动物房提供, 实验动物许可证号: SCXK京2010-0006。共计36只肢体, 分别在实验室自行设计的体外模拟体内生理环境寄养断肢系统中, 行体外断肢同型血液循环灌注实验。实验过程中对动物处置符合2006年科学技术部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》。

方法:

实验分组: 根据进入体外模拟体内生理环境寄养断肢系统膜肺的气体比例不同, 将36只肢体随机数字表法均分为6组, 纯氧(氧体积分数100%), 60%, 50%, 40%, 20%, 10%。

麻醉方法: 氯胺酮20 mg/kg肌注, 从耳缘静脉持续滴注丙泊酚维持麻醉。

肢体离断方法: 于羊腹股沟处逐层切开, 解剖出股动、静脉, 止血, 结扎股动、静脉的侧枝循环, 结扎近心端股动、静脉和股神经, 并于此平面迅速截断后肢, 将远心端进行血管内插管并固定。而后用肝素生理盐水持续点滴灌注远端动脉, 以寻找其他动静脉和潜在出血点, 并做结扎。检查无潜在出血点后, 对断端离断的肌肉做“8”字缝合, 残端缝合后给予乳酸林格液调节平衡、抗生素抗感染、肝素抗凝处理后继续饲养。

体外模拟生理环境寄养系统: 见图1。



Figure 1 Foster care system *in vitro* simulated physiological environment
图1 体外模拟生理环境寄养系统

系统包括: ①体外循环动力泵(离心泵): 为体外循环液提供动力, 保证持续的体外灌注, 降低红细胞的破坏数量。②膜肺: 起到部分心肺替代作用, 维持人体脏器组织氧合作用, 见图2。③体外血液抗凝机ACT: 自动检测注射肝素剂量, 防止循环血液凝固。④血透装置:

过滤血液中代谢废物, 净化血液。⑤心电监护仪: 测量动脉灌注液压力。⑥无菌层流操作台: 为离断肢体及实验操作员提供无菌环境, 防止感染。⑦变温水箱: 调控灌注液及血液温度, 以达到实验设定温度。该系统可以提供肢体体外寄养所需的循环保证。



Figure 2 Membrane oxygenation device
图2 膜肺装置

体外循环的建立: 将体外模拟生理环境寄养断肢系统中动静脉端分别与断肢游离的动静脉连接, 开始预冲液循环, 待预冲液循环完毕后将血液加入体外模拟生理环境系统的膜肺装置中, 让血液进行循环, 体外模拟生理环境寄养断肢系统的转机装置转速调制170 mL/min, 保持温度25 °C。对比断足的动静脉颜色, 对比分明(动脉颜色鲜红, 静脉颜色暗红)表明氧交换良好, 见图3。



Figure 3 Foster care sheep limbs *in vitro*
图3 体外寄养的羊断肢

主要监测指标: 各组实验的气体流量均控制在20 mL/min, 灌注20 min后采体外模拟生理环境寄养断肢系统中的动脉血进行血气分析, 记录动脉血氧分压数值。

统计学分析: 与血气氧分压正常数值的比较用SPSS 13.0统计软件进行独立样本 t 检验, 6组动脉氧分压数值用 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 认为差异有显著性意义。

2 结果

6组血氧分压数据相比较, 氧体积分数10%时的血氧分压数值在正常(10.64~13.33 kPa), 而且血氧分压的数值随氧体积分数的减小而减小, 见表1, 图4。

表 1 不同氧体积分数气体下测得的血氧分压值
Table 1 Blood oxygen partial pressure value under different oxygen concentrations ($\bar{x}\pm s$)

Oxygen volume fraction	Blood oxygen partial pressure (kPa)
100%	91.33±2.95
60%	65.99±2.54
50%	48.12±2.45
40%	32.92±1.50
20%	23.24±0.86
10%	12.34±0.65

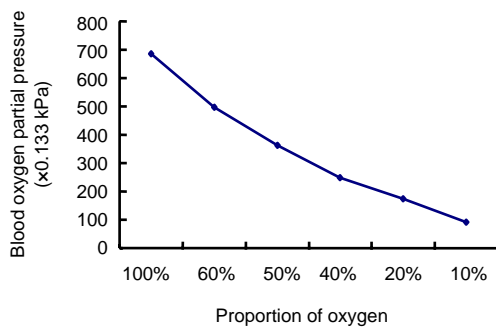


Figure 4 Relationship between the proportion of oxygen and blood oxygen partial pressure
图 4 氧气体积分数与血氧分压关系

6组数据分别与血气氧分压正常数值的比较用SPSS 13.0统计软件进行独立样本 t 检验,第6组与血气氧分压正常数值间差异无显著性意义($P > 0.05$),其他5组数据分别与血气氧分压正常数值间差异均有显著性意义($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 血氧分压 血氧分压指物理溶解于血浆内的氧分子所产生的张力^[17]。动脉血氧分压(arterial partial pressure of oxygen, PaO₂)正常值约为13.33 kPa。PaO₂取决于吸入气氧分压、外呼吸功能状况和静脉血流入动脉的多少,本实验较少受后两则的影响。而吸入气的氧分压(PiO₂)与氧体积分数(FiO₂)关系的公式:PiO₂=(PB-6.27)×FiO₂,PB为吸入气体压力,6.27为水蒸气,单位为kPa,FiO₂为21%。可见吸入氧分压取决于PB与FiO₂。如潜水员在水下50 m处作业,PB为608 kPa,吸入大气氧(FiO₂为21%),PiO₂可高达126 kPa,而出现氧中毒;相反,宇航员在1/3大气压高空中工作,吸入纯氧(FiO₂为1),PiO₂也只有27.5 kPa,不会出现氧中毒。因此,动脉血氧分压主要受吸入气体压力和吸入气体氧体积分数影响。

3.2 氧流量与血氧分压关系 通过课题组近期研究证实体外模拟生理环境寄养系统可以寄养断肢成活。灌注

断肢是应用纯氧氧合,血氧分压一直维持在较高的水平(92.57 kPa)左右,最初以为通过调整氧流量可以改变血氧分压^[18],但是调整氧流量后,无论将氧流量调至0.2, 0.5, 1, 2, 5 mL/min,均未将氧分压调至正常,而且这些数值均在92.57 kPa左右,差异无显著性意义($P > 0.05$)。

3.3 氧中毒 当吸入氧的氧分压过高时,提高了肺泡气和动脉血的氧分压,使血液与组织细胞之间的氧分压增大,氧的弥散加速,组织细胞因获得过多的氧,产生氧自由基对细胞的毒性作用^[19-20]。高压氧还能直接刺激血管平滑肌造成血管收缩,使毛细血管通透性增加,组织水肿,这种病理反应随着暴露于高分压氧的压力的增加和时间的延长而加重^[21]。

由于缺氧的断肢在进行体外模拟生理环境寄养断肢系统灌注时,当血液再通时大量分子氧的到来非但不能增加有氧代谢,反而为自由基的生成提供基质。氧自由基的化学性质极为活泼,产生过多的氧自由基引起链式脂质过氧化反应^[22]。

氧自由基是一种强力的酶抑制剂^[21-22],在高氧分压下,可使酶的巯基氧化失去活性,如琥珀酸脱氢酶、丙酮酸氧化酶系统、谷氨酸脱氢酶等。活性氧并损伤细胞膜(包括磷脂膜、蛋白质、核酸等)与细胞器膜(如线粒体)的正常结构和功能,阻碍氧化磷酸化,使三羧酸循环受阻,细胞内呼吸功能遭受破坏。

加上缺氧肌肉抗氧化酶活性降低,对自由基清除的能力下降,造成心肌细胞内氧自由基的爆发产生,从而引发一系列的自由基损伤,如线粒体失功、酶释放、肌肉收缩性降低等,此种损伤称为缺氧再氧合损伤。

经过本研究得出结论,在外模拟生理环境寄养断肢系统中,不同氧体积分数的气体进入膜肺可以对动脉血氧分压产生影响,减小氧体积分数可以使动脉血氧分压接近于正常范围。调整体外模拟生理环境寄养断肢系统接近于正常值的氧分压(10.64~13.33 kPa)可以减少氧自由基的产生^[23-26],并在一定程度上减少肌酸激酶、乳酸脱氢酶及肌钙蛋白的释放,从而有利于断肢肌肉的保护。

致谢:感谢本院手术室、麻醉科在实验过程中给予的大力支持。

4 参考文献

- [1] St Peter SD, Imber CJ, Friend PJ. Liver and kidney preservation by perfusion. *Lancet*. 2002;359(9306):604-613.
- [2] Mowlavi A, Neumeister MW, Wilhelm BJ, et al. Local hypothermia during early reperfusion protects skeletal muscle from ischemia-reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg*. 2003;111(1):242-250.
- [3] Wilson YT, Lepore DA, Riccio M, et al. Mild hypothermia protects against ischaemia-reperfusion injury in rabbit skeletal muscle. *Br J Plast Surg*. 1997;50(5):343-348.
- [4] 李继峰,顾玉东,俞彰,等.超氧化物歧化酶灌注对大鼠离体血管平滑肌超微结构影响[J].*复旦学报(医学版)*.2004,31(1):66-68.
- [5] Wagh M, Pantazi G, Romeo R, et al. Cold storage of rat skeletal muscle free flaps and pre-ischemic perfusion with modified UW solution. *Microsurgery*. 2000;20(7):343-349.

- [6] Tsuchida T, Kato T, Yamaga M, et al. Effect of perfusion during ischemia on skeletal muscle. *J Surg Res.* 2001;101(2):238-241.
- [7] Yeh LS, Gregory CR, Theriault BR, et al. A functional model for whole limb transplantation in the rat. *Plast Reconstr Surg.* 2000;105(5):1704-1711.
- [8] Zimmel NJ, Amis LR, Sheppard FR, et al. A temporal analysis of the effects of pressurized oxygen (HBO) on the pH of amputated muscle tissue. *Ann Plast Surg.* 1998;40(6):624-629.
- [9] Novitski E. The enigma of radiation effects in *Drosophila*. *Science.* 1976;194(4272):1387-1390.
- [10] Zhang Z, Jiang ZY, Wang AM, et al. Chuangshang Waike Zazhi. 2000;2(2):78-80. 张智,蒋祖言,王爱民,等.高压氧保存对离断肢体骨骼肌的影响[J].创伤外科杂志,2000,2(2):78-80.
- [11] Wang JN, Wang SY, Wang ZJ, et al. Temporary ectopic implantation for salvage of amputated lower extremities: case reports. *Microsurgery.* 2005;25(5):385-389.
- [12] Wang JN, Tong ZH, Zhang TH, et al. Salvage of amputated upper extremities with temporary ectopic implantation followed by replantation at a second stage. *J Reconstr Microsurg.* 2006;22(1):15-20.
- [13] Wang JN, Tong ZH, Zhang TH, et al. Zhongguo Xiufu Chongjian Waike Zazhi. 2003;17(1):46-49. 王江宁,童致虹,张铁慧,等.暂时性异位断足寄养再回植术[J].中国修复重建外科杂志,2003,17(1):46-49.
- [14] Ihnken K. Myocardial protection in hypoxic immature hearts. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2000;48(1):46-54.
- [15] Chen P, Zhang JF. Zhonghua Xiongxin Xueguan Waike Zazhi. 2005;21(3):157-159. 陈萍,张镜芳.体外循环控制氧分压与紫绀型心脏病的心肌保护[J].中华胸心血管外科杂志,2005,21(3):157-159.
- [16] Chen P, Zhang JF, Zhang XH, et al. Zhonghua Shiyian Waike Zazhi. 2004,21(4):469-471. 陈萍,张镜芳,章晓华,等.体外循环中控制氧分压对缺氧型心脏病心肌保护的影响[J].中华实验外科杂志,2004,21(4):469-471.
- [17] Wu LL. Beijing: The Publishing House of People's Health. 2004:76-77. 吴立玲.缺氧.病理生理学[M].北京:人民卫生出版社,2004:76-77.
- [18] Gong W, Liu JX. Nanfang Yike Daxue Xuebao. 2009;29(7):1673-4254. 龚伟,刘建新.不同氧流量再灌注对在体兔心肌缺血再灌注损伤的影响[J].南方医科大学学报,2009,29(7):1673-4254.
- [19] Liu JH, Shen JM, Li L, et al. Zhongguo Xiandai Yixue Zazhi. 2005;15(15):1005-8982. 刘建华,沈金美,李李,等.体外循环期间不同氧分压对瓣膜置换患者围手术期炎症细胞因子及心肌损伤的影响[J].中国现代医学杂志,2005,15(15):1005-8982.
- [20] Chen P, Huang JS, Guo YJ, et al. Zhongguo Tiwai Xunhuang Zazhi. 2009;7(2):1672-1403. 陈萍,黄劲松,郭阳娇,等.体外循环中梯度控制氧分压对紫绀型先天性心脏病心肌保护的影响[J].中国体外循环杂志,2009,7(2):1672-1403.
- [21] Wu GY, Liao ZL, Li N, et al. Chongqing Yixue. 2009;38(8):907-909. 吴桂英,廖忠莉,李宁,等.氧中毒发生及其防治研究进展[J].重庆医学,2009,38(8):907-909.
- [22] Li N, Huang H. Beijing: Peking Union Medical College Press. 2007:299-301. 李宁,黄怀.高压氧临床治疗学[M].北京:中国协和医科大学出版社,2007:299-301.
- [23] Wang SF, Wang WB. Shanghai Yixue. 2005;8(5):201-203. 王世锋,王文波.巨噬细胞炎症蛋白-2在肺型氧中毒炎症发生中的作用研究[J].上海医学,2005,8(5):201-203.
- [24] Li CL, Cai HW, Zhong T, et al. Zhongguo Yixue Gongcheng. 2007;15(2):181-183. 李春玲,蔡宏伟,钟涛,等.不同浓度氧通气对瓣膜置换术患者心功能影响的临床研究[J].中国医学工程,2007,15(2):181-183.
- [25] Li CL, Sun B, Cai HW, et al. Yixue Lichuang Yixue. 2007;24(2):224-226. 李春玲,孙蓓,蔡宏伟,等.控制通气氧浓度对体外循环后肺功能的影响[J].医学临床研究,2007,24(2):224-226.
- [26] Zhao YH, Wang XR, Zheng YJ, et al. Shiyong Yixue Zazhi. 2004;20(5):489-491. 赵延华,王祥瑞,郑拥军,等.氧浓度对体外循环后肺损伤影响的实验研究[J].实用医学杂志,2004,20(5):489-491.

来自本文课题的更多信息--

作者贡献: 第一作者进行实验设计,第二到第六作者进行实施,第二作者进行实验评估,资料收集为第一、二、三作者,第一作者成文、审校并对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理批准: 实验过程中对动物处置符合2006年科学技术部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》。

本文创新性: 在体外模拟生理环境寄养断肢系统中,不同氧体积分数的气体进入膜肺可以对动脉血氧分压产生影响,减小氧体积分数可以使动脉血氧分压接近于正常范围。调整体外模拟生理环境寄养断肢系统接近于正常值的氧分压(10.64~13.33 kPa)可以减少氧自由基的产生,并在一定程度上减少肌酸激酶、乳酸脱氢酶及肌钙蛋白的释放,从而有利于断肢肌肉的保护。

Mesh 词表词汇实用例句: 胚胎培养技术-- Embryo Culture Techniques

Using the mouse whole embryo culture technique, the teratogenesis induced by cyclophosphamide (5, 10, 15, 20 mg/kg, ip) and its mechanism were investigated in mice on day 8 of gestation. 本文应用小鼠全胚胎培养技术,通过妊娠 d8 分别腹腔内注射 5, 10, 15 和 20 mg·kg⁻¹ 环磷酰胺,研究了该药对器官原基形成期胚胎的致畸作用,并对其致畸机理作了初步探索。 This study used teratogenic model *in vitro* which

explored the effects of zinc antagonism on developmental toxicity of alcohol in whole embryo culture technique.

本文应用已建立的体外酒精致畸模型,以全胚胎培养技术探讨了锌对酒精发育毒性的拮抗作用。

英文主题词	Embryo Culture Techniques
英文注释	The technique of maintaining or growing mammalian EMBRYOS <i>in vitro</i> . This method offers an opportunity to observe embryonic development (GROWTH AND EMBRYONIC DEVELOPMENT), METABOLISM, and susceptibility to TERATOGENS.
中文主题词	胚胎培养技术
中文注释	体外维持和培养哺乳动物胚胎的技术。该方法为观察胚胎发育(生长和胚胎发育)、代谢和致畸剂易感性提供可能。