

经膈肌穿刺法快速准确评估大鼠肺动脉高压

赵子辉^{1,2,3*}, 王旭阳^{2,3,4*}, 张鹏⁵, 方宁宁⁵, 石端博⁶, 杨帆^{2,3}, 杨晓玫⁵, 吴剑波^{2,3}

(1. 山东第二医科大学麻醉学院, 山东 潍坊 261053; 2. 山东第一医科大学第一附属医院麻醉科, 山东 济南 250014;
3. 山东省麻醉与呼吸重症研究所, 山东 济南 250014; 4. 山东大学齐鲁医学院, 山东 济南 250012;
5. 山东大学齐鲁医院麻醉科, 山东 济南 250012; 6. 山东大学齐鲁医院病理科, 山东 济南 250012)

摘要:目的 构建一种操作简单快捷、测量准确的大鼠右心室压力测定方法。方法 采用随机方法将30只8~10周龄的雄性SD大鼠分为3组:经胸右心室穿刺测压组(trans-thoracic right ventricular puncture manometry group, TTM组, $n=10$),经膈肌穿刺测压组(trans-diaphragmatic puncture manometry group, TDM组, $n=10$)和野百合碱诱导肺动脉高压采用经膈肌穿刺测压组(monocrotaline-induced pulmonary hypertension with trans-diaphragmatic manometry group, MCT-TDM组, $n=10$)。MCT-TDM组经胸腹侧皮下注射野百合碱(60 mg/kg),TTM组和TDM组注射等体积的无菌生理盐水。模型建立4周后,使用经膈肌穿刺法测定TDM组和MCT-TDM组大鼠的右心室收缩压(right ventricular systolic pressure, RVSP),随后立即开胸验证穿刺点的准确性;使用经胸右心室穿刺法测定TTM组大鼠RVSP。比较两种测压方法操作时间、测压成功率、RVSP等指标。取大鼠心肺组织,分离左、右心室,并计算右心室肥厚指数(right ventricular hypertrophy index, RVHI)。最后,对左肺组织进行苏木精-伊红(hematoxylin eosin, HE)染色,评价肺部小血管病变程度。结果 TTM组从麻醉开始到成功测出右心室压力的时间为(6.83±1.36)min, TDM组为(8.13±1.25)min, MCT-TDM组为(8.32±1.23)min。TTM组测压成功率为70%, TDM组测压成功率为100%, MCT-TDM组成功率为90%。TDM组和TTM组测得的RVSP、RVHI差异无统计学意义($P>0.05$)。MCT-TDM组的RVSP及RVHI均显著高于TDM组($P<0.001$)。MCT-TDM组大鼠肺小动脉管壁相较于TDM组明显增厚,管腔狭窄。结论 采用膈肌穿刺法测量肺动脉高压大鼠的右心室压力,这种方法无需开胸,避免了昂贵设备的使用,能准确、快速、简便地测量右心室血流动力学,具有较高的推广价值。

关键词:经膈肌穿刺法;肺动脉高压;右心室压力;右心室收缩压;大鼠

中图分类号:R543.2;R332

文献标志码:A

Rapid and accurate assessment of pulmonary hypertension in rats via diaphragmatic puncture method

ZHAO Zihui^{1,2,3*}, WANG Xuyang^{2,3,4*}, ZHANG Peng⁵, FANG Ningning⁵, SHI Duanbo⁶,
YANG Fan^{2,3}, YANG Xiaomei⁵, WU Jianbo^{2,3}

(1. School of Anesthesiology, Shandong Second Medical University, Weifang 261053, Shandong, China;

2. Department of Anesthesiology and Perioperative Medicine, The First Affiliated Hospital of Shandong First Medical University, Jinan 250014, Shandong, China; 3. Shandong Institute of Anesthesia and Respiratory Critical Care Medicine, Jinan 250014, Shandong, China; 4. School of Medicine, Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Jinan 250012, Shandong, China;

5. Department of Anesthesiology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, Shandong, China;

6. Department of Pathology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, Shandong, China)

Abstract: Objective To establish a simple, rapid and accurate method to measure the right ventricular pressure in rats.

Methods A total of 30 male SD rats aged 8-10 weeks were randomly divided into 3 groups: the trans-thoracic right

收稿日期:2023-11-06

基金项目:山东省自然科学基金(ZR2020MH012, 2021M691944);山东省医学会舒适医用麻醉优化专项资金(YXH2021ZX015, YXH2020ZX007);中国博士后科学基金(2021M691944)

通信作者:吴剑波。E-mail: jianbowu@sdu.edu.cn

杨晓玫。E-mail: yangxiaomeisdu@foxmail.com

* 共同第一作者

ventricular puncture manometry group (TTM group, $n = 10$), trans-diaphragmatic puncture manometry group (TDM group, $n = 10$), and the monocrotaline-induced pulmonary hypertension with trans-diaphragmatic manometry group (MCT-TDM group, $n = 10$). The MCT-TDM group underwent subcutaneous injection of monocrotaline through the thoracoabdominal side (60 mg/kg), while the TTM and TDM groups were injected with an equivalent volume of sterile saline. Four weeks after model establishment, the right ventricular systolic pressure (RVSP) of the TDM and MCT-TDM groups was measured using the trans-diaphragmatic puncture method, followed by thoracotomy to verify the accuracy of the puncture site; RVSP of the TTM group was measured using the trans-thoracic right ventricular puncture method. The operation time, success rate, and RVSP were compared between the two manometry methods. The hearts and lung tissues of the rats were extracted, left and right ventricles were separated, and the right ventricular hypertrophy index (RVHI) was calculated. Lastly, the left lung tissue was stained with hematoxylin and eosin (HE) to evaluate the extent of pulmonary microvascular lesions. **Results** The time taken from anesthesia to successful measurement of RVSP was (6.83±1.36) minutes for the TTM group, (8.13±1.25) minutes for the TDM group, and (8.32±1.23) minutes for the MCT-TDM group. The success rate were 70% for the TTM group, 100% for the TDM group, and 90% for the MCT-TDM group. There were no significant differences in RVSP and RVHI between the TDM and TTM groups ($P > 0.05$). The RVSP and RVHI in the MCT-TDM group were significantly higher than those in the TDM group ($P < 0.001$). In the MCT-TDM group, the pulmonary arterioles showed notable thickening of the vessel walls and narrowing of the lumens. **Conclusion** Measuring the right ventricular pressure with diaphragmatic puncture technique negates the need for thoracotomy and circumvents the use of costly equipment. It enables precise, swift, and straightforward assessment of the right ventricular hemodynamics, holding considerable value for widespread application.

Key words: Diaphragmatic puncture method; Pulmonary hypertension; Right ventricular pressure; Right ventricular systolic pressure; Rats

肺动脉高压 (pulmonary hypertension, PH) 以不同程度的肺动脉血管重构为特征, 导致平均肺动脉压和肺血管阻力升高, 右心室后负荷增加和肥厚, 最终导致右心室衰竭^[1-2]。PH 疾病的诊断金标准为在海平面、静息状态下, 利用右心导管测量患者平均肺动脉压 (mean pulmonary artery pressure, mPAP) 大于或等于 20 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa)^[3-4]。PH 的发生发展, 往往伴随着血管周围炎症、血栓形成、内皮细胞功能紊乱、血管硬化、血管堵塞和肺动脉压力升高等血流动力学病理变化, 右心室因负荷增加而发生代偿性肥厚以维持心输出量, 最终会导致右心衰竭 (right ventricular failure, RVF) 而死亡^[5-6]。研究表明, 成人 PH 合并 RVF 的患者的急性死亡率高达 41%^[7-9], 由此可见, 深入研究 PH 的病理机制尤为关键。PH 动物模型对于疾病的分子机制研究有重大意义, 在啮齿类动物 PH 模型^[10]中, MCT 大鼠模型能较好地模拟肺动脉平滑肌细胞增生、内皮细胞损伤和炎症等 PH 的一些基本特点^[11]。

目前大鼠常用的测压方法有: 右心室导管法、经胸右心室穿刺测压法、超声引导下经胸穿刺测压法等。在啮齿类动物无心肺瓣膜疾病的情况下, 测得的右心室收缩压 (RVSP) 可以被认为是肺动脉收缩压的一个近似值。右心导管法测量或者超声引导下

经胸穿刺测压法, 成本高, 操作困难, 成功率低。经胸右心室穿刺法可能因大鼠个体差异导致穿刺点难以精准定位, 从而影响实验成功率。

本研究旨在详细阐述一种无需开胸, 穿刺点准确且对循环影响小的经膈肌穿刺法, 可快速、便捷、高效地测量 MCT 大鼠模型的右心室压力, 从而精准描述大鼠右心室血流动力学特性。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级 8 周龄雄性 Sprague Dawley 大鼠 30 只, 体质量 200 ~ 250 g, 购自济南朋悦实验动物繁育有限公司, 饲养于济南市协同创新医学研究院, 鼠房的环境温度约为 22 ~ 27 °C, 相对湿度 40% ~ 60%, 光照条件采用光照: 黑暗 = 12 h : 12 h。本研究获得山东大学医学伦理实验动物委员会批准 (编号 ECAES-DUSM 2012029), 在实验过程中, 供给大鼠充足的水和食物, 给予人道主义关怀, 无病原体, 并遵从动物实验伦理学要求 3R 原则。

1.1.2 主要试剂与仪器

野百合碱 (monocrotaline, MCT) (Sigma 公司, 美国)、苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色

试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)、BL-420N生物信号采集与分析系统、BL-420N生物信号采集与分析系统软件、电子天平[JA12002,上海越平科学仪器(苏州)制造有限公司]、冷光源、一次性压力传感器、0.55 mm×18 mm 一次性静脉输液器针头(山东新华安得医疗用品有限公司)、胶带、大鼠手术板、血管钳、不锈钢眼科镊以及不锈钢眼科剪、1%戊巴比妥钠溶液(40~60 mg/kg)、肝素及100 mL与500 mL生理盐水等。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及PH大鼠模型制备

30只雄性SD大鼠适应性喂养1周后随机分3组:经胸右心室穿刺测压组(trans-thoracic right ventricular puncture manometry group, TTM组, $n=10$)、经膈肌穿刺测压组(trans-diaphragmatic puncture manometry group, TDM组, $n=10$)与野百合碱诱导肺动脉高压采用经膈肌穿刺测压组(monocrotaline-induced pulmonary hypertension with trans-diaphragmatic manometry group, MCT-TDM组, $n=10$)。MCT-TDM组大鼠胸腹侧单次皮下注射MCT(60 mg/kg)制备PH模型, MCT用乙醇和生理盐水(2:3)配制成1%的水溶液^[12], 而TTM组和TDM组大鼠胸腹侧皮下注射等体积0.9%氯化钠溶液, 3组给予足够的水与食物, 其他条件都相同。

1.2.2 经膈肌穿刺法测量大鼠右心室压力

①大鼠的称重、麻醉、固定以及备皮: 称重后根据大鼠体质量, 大鼠腹腔麻醉注射戊巴比妥钠(40 mg/kg), 待大鼠静止不动, 呼吸均匀, 肌张力消失且对疼痛刺激无反应时, 将大鼠仰卧位固定至大鼠手术板上(图1A), 轻微拉出大鼠舌头以预防窒息; ②大鼠胸腹部切开并打开腹腔: 手术前, 常规用75%医用乙醇对手术部位进行消毒(图1B)。用理发器或大鼠脱毛膏去除大鼠胸腹部的毛发(图1C)。消毒后, 从剑突下方小范围切开皮肤, 并沿横膈向外扩展切口, 钝性分离皮肤以暴露手术区(图1D, E)。在过程中应注意避免损伤到皮下血管, 严格止血。开腹时需小心不破坏胸膜或膈肌, 避免引起气胸; ③穿刺点的确认: 开腹后, 提起剑突, 压迫肝脏, 观察膈肌中央部位心脏搏动区, 即右心室所在, 作为穿刺测压点(图1F); ④穿刺与测压: 固定剑突, 以保证穿刺点视野清晰。使用一次性静脉输液针(内径0.55 mm)在搏动区穿入12~15 mm即可测得右

心室压力(图1G)。针头成功进入右心室可感到阻力突破, 有小段暗红色血液回流到输液针导管前端, 且随着心脏搏动可见管中血液有节律的跳动, 过程中保证输液针的稳定(图1H)。在BL-420N生物信号采集与分析系统软件界面可见右心室压力曲线, 待曲线稳定后记录波形, 撤出针头, 完成测压; ⑤开胸以确定穿刺点的位置: 测压完成后剪破膈肌, 沿着胸骨中线剪开胸骨打开心包。观察右心室游离壁暗红穿刺点, 挤压可见渗血, 证明通过膈肌穿刺成功进入右心室(图1I), 得到反映右心室压力变化的波形图; ⑥记录并分析实验数据: BL-420N生物信号采集与分析系统记录整个过程中压力的变化。选择一段平稳的波形, 收集数据, 分析该段波形的右心收缩压。

1.2.3 经胸右心室穿刺法测量大鼠右心室压力

按照文献[13]报道的操作方法, 将麻醉后的大鼠仰卧定位并消毒。准备一次性静脉输液针(0.55 mm×18 mm), 针管预填充1:100肝素钠生理盐水并连接至压力传感器。手术者左手示指定位至大鼠心尖搏动最明显处, 针尖指向心尖标记点以60度角方向, 刺入深度约1 cm, 观察到随心跳动有血液回流至输液针管端, 此时在BL-420N生物信号采集与分析系统上显示的波形提示已成功进入右心室。随即收集相关数据, 分析所得右心室收缩压波形。

1.2.4 样本的获取及数据处理

①测定右心室肥厚指数: 将大鼠心脏分离, 剪去右心耳以及其他组织, 游离左、右心室, 电子天平称量右心室(RV)、左心室+室间隔(LV+S)的质量, 计算Fulton指数 $[RV/(LV+S)]$ 以作为右心室肥厚指标; ②大鼠肺组织样本处理: 分离左、右肺, 用0.9%氯化钠溶液冲洗, 左肺固定于4%多聚甲醛溶液(PFA)中, 右肺-80℃冻存。固定左肺上叶, 石蜡包埋切片并进行苏木精-伊红(HE)染色, 光镜下(200×)观察肺动脉形态, 采用Image Pro Plus 6.0软件进行分析。测量WT(wall thickness, 血管壁厚度)、ED(external diameter, 血管外径)、LA(lumen area, 管腔面积)以及TA(total area, 血管总面积), 分别计算肺小动脉WA%(wall area, 管壁面积占血管总面积的百分比)和肺小动脉WT%(管壁厚度占管径的百分比), 具体公式为 $WT = 2 \times WT/ED \times 100\%$, $WA\% = (TA - LA)/TA \times 100\%$ 。计算结果作为大鼠的肺血管形态计量学指标。

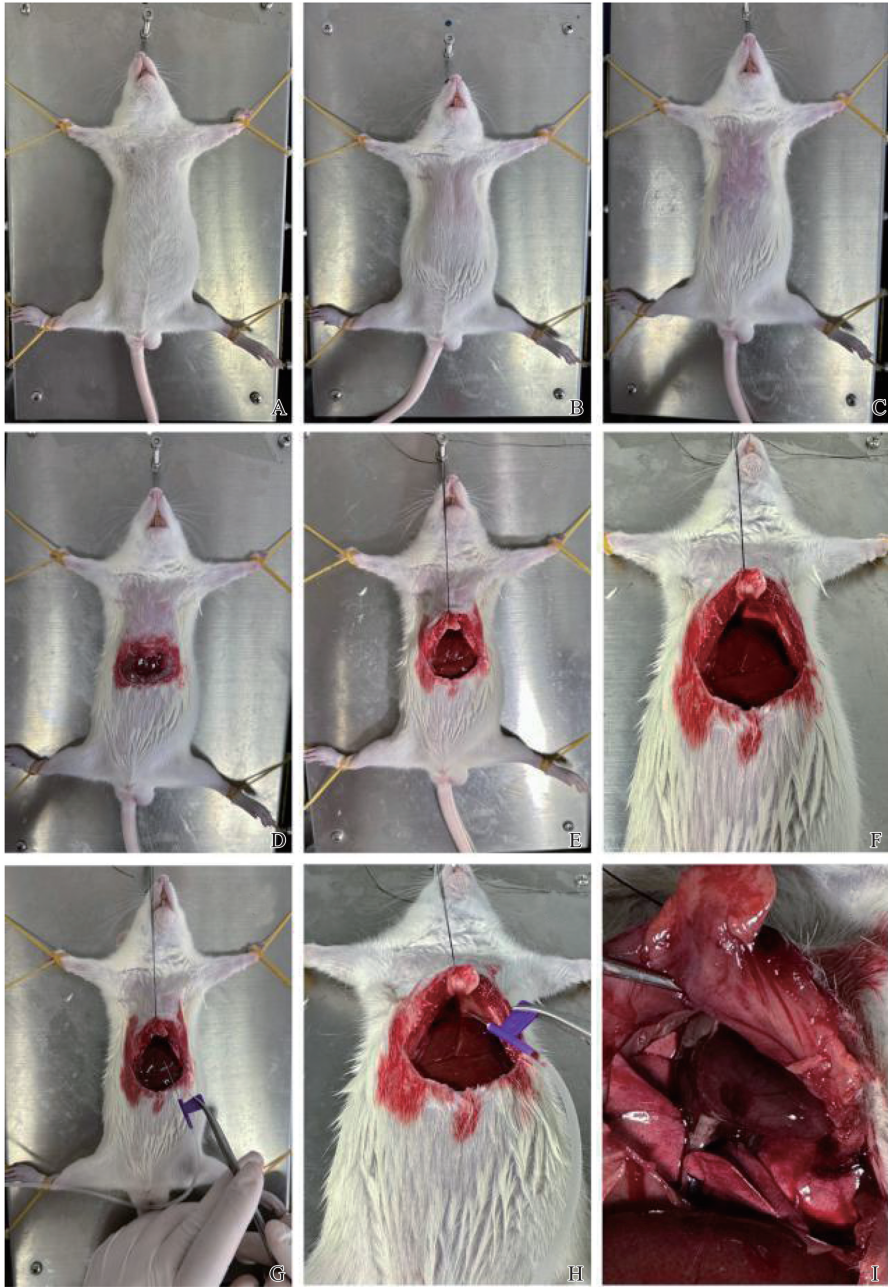


图1 经膈肌穿刺法操作步骤图

A: 麻醉后固定; B: 乙醇消毒; C: 清除表面毛发; D: 剪开剑突下皮肤; E: 延肋骨下缘延长切口; F: 暴露膈肌; G: 确认穿刺点; H: 经膈肌穿刺; I: 开胸暴露心脏, 核对穿刺点位置。

Figure 1 Diagram of the transdiaphragmatic puncture technique procedure

A: Fixation post-anesthesia; B: Alcohol disinfection; C: Removal of surface hair; D: Incision below the xiphoid process; E: Extending the incision along the lower edge of the rib; F: Exposing the diaphragm; G: Verification of puncture site; H: Puncturing through the diaphragm; I: Thoracotomy to expose the heart, verifying the puncture point location.

1.3 统计学处理

采用 SPSS 25.0 软件, 统计图使用 GraphPad Prism 9 进行绘制。计量资料采用 Shapiro-Wilk 法进行正态分布检验, 测定数据符合正态分布的以 $\bar{x} \pm s$ 来表示, 两组间数据比较采用独立样本 t 检验; 如果数据不符合正态分布, 使用 Kruskal-Wallis 检验。计数资料以频数和百分比 (%) 表示, 组间差异采用

Fisher 确切概率法检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义 (双尾)。

2 结果

2.1 两种测压方法的比较

使用经胸右心室穿刺法对 TTM 组大鼠进行测

压得到右心室压力曲线(图 2A),使用经膈肌穿刺法对 TDM 组大鼠进行测压得到右心室压力曲线(图 2B)。HE 染色结果显示,TTM 组和 TDM 组大鼠肺动脉肌化程度、管腔狭窄程度轻,无明显差别(图 3A)。通过 WA%和 WT%评价两组大鼠的肺血管重构程度(图 3B,C),两组未发生肺血管重构。TTM 组和 TDM 组大鼠的成功率分别为 70%和

100%,差异无统计学意义($P=0.21$)。比较两组从麻醉开始到测量出右心室压力的时间,差异无统计学意义($t=-2.04, P=0.059$)。结果见表 1。两种方法测得的右心室收缩压进行比较,差异无统计学意义($t=-0.89, P=0.385$)。两组大鼠的右心室肥厚指数相比较,差异无统计学意义($t=0.90, P=0.388$)。结果见表 1,图 4A,B。

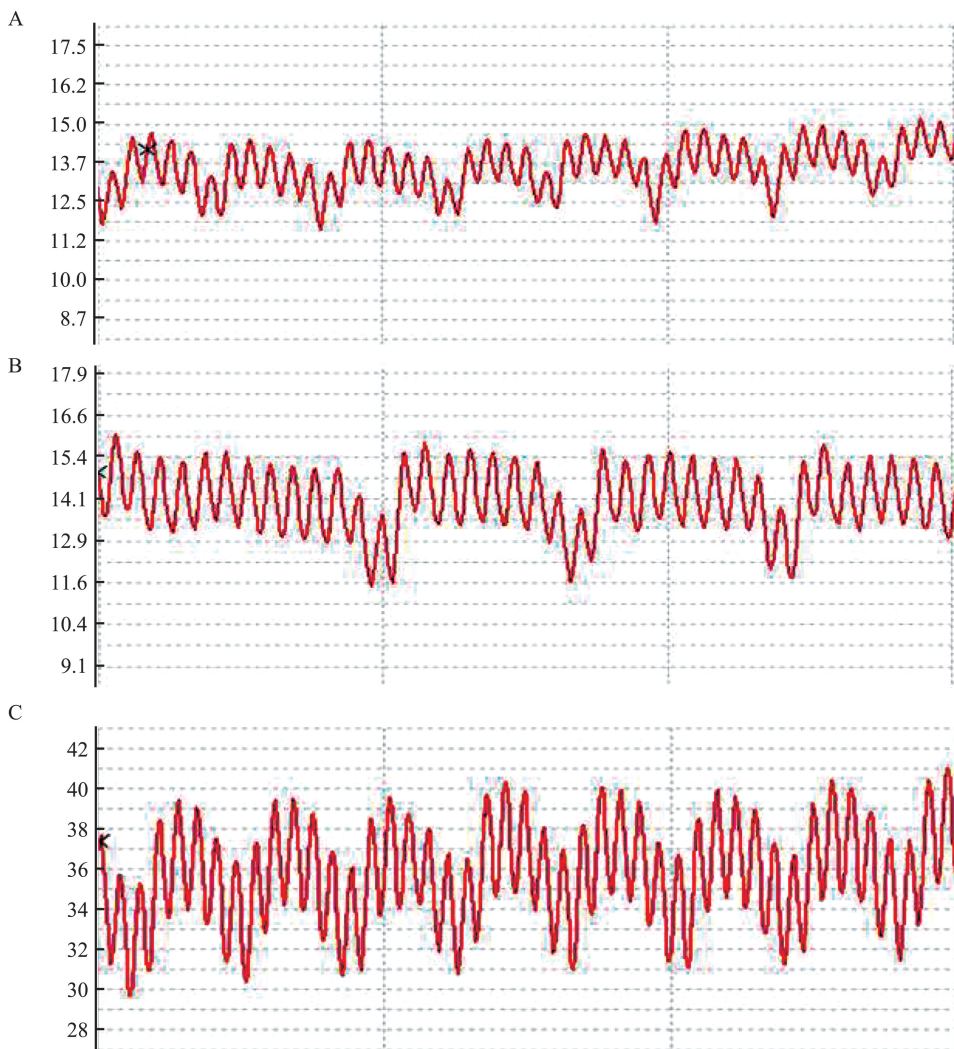
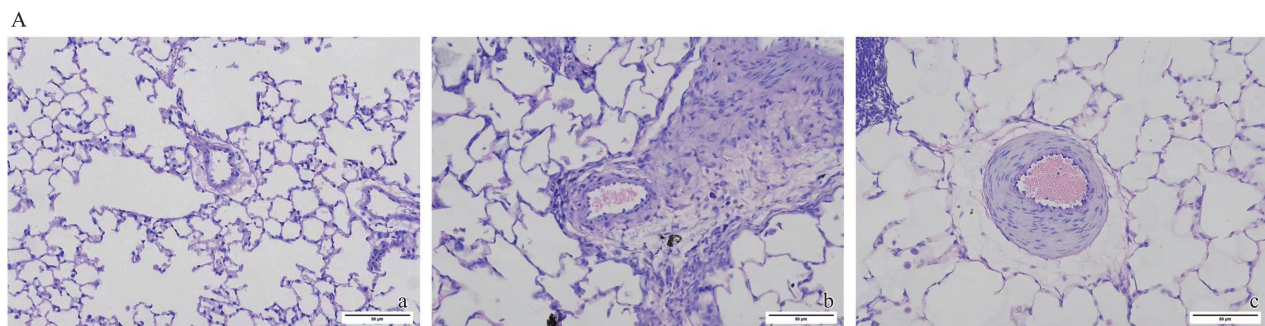


图 2 大鼠的右心室压力曲线
A: TTM 组; B: TDM 组; C: MCT-TDM 组。

Figure 2 Right ventricular pressure curves in rats
A: TTM Group; B: TDM Group; C: MCT-TDM Group.



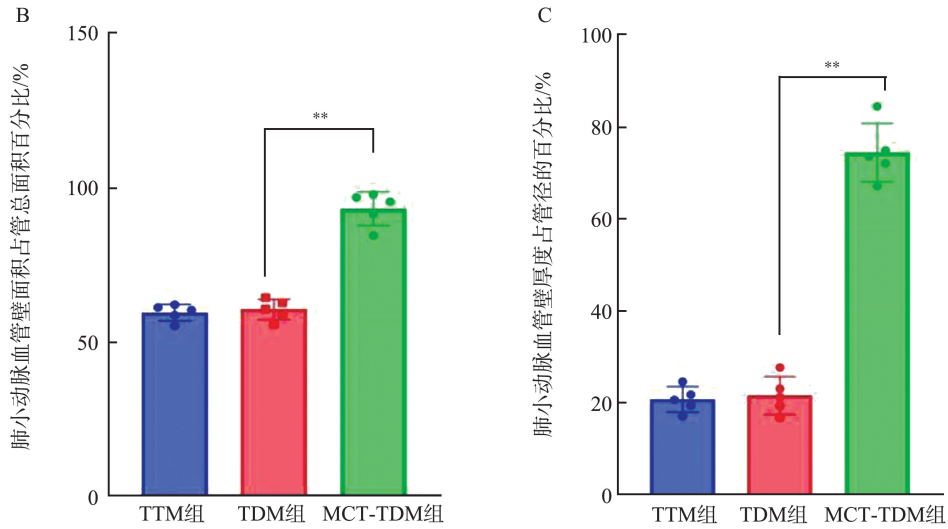


图3 大鼠肺动脉重构的变化 (** $P<0.001$)

A: 肺组织 HE 染色评价大鼠肺动脉的结构变化($\times 200$)。a: TTM 组; b: TDM 组; c: MCT-TDM 组; B: TTM 组、TDM 组和 MCT-TDM 组肺小动脉 WA% 的统计结果; C: TTM 组、TDM 组和 MCT-TDM 组肺小动脉 WT% 的统计结果。

Figure 3 Alterations in rat pulmonary artery remodeling (** $P<0.001$)

A: Evaluation of structural alterations in the pulmonary arteries of rats through HE staining of lung tissue ($\times 200$). a: TTM group; b: TDM group; c: MCT-TDM group. Magnification; B: Statistical results of the WA% in small pulmonary arteries for the TTM, TDM and MCT-TDM groups; C: Statistical results of the WT% in small pulmonary arteries for the TTM, TDM and MCT-TDM groups.

表1 3组大鼠的右心室收缩压、右心室肥厚指数、操作时间、测压成功率
Table 1 RVSP, RVHI, operation time and success rate in the three groups of rats

组别	右心室收缩压 /mmHg	右心室肥厚指数 ($\times 100\%$)	操作时间 /min	测压成功数/ [频数(%)]
TTM 组	14.38 \pm 1.24	24.71 \pm 2.14	6.83 \pm 1.36	7(70)
TDM 组	14.98 \pm 1.42	23.20 \pm 4.11	8.13 \pm 1.25	10(100)
MCT-TDM 组	38.82 \pm 2.50**	52.25 \pm 7.29**	8.32 \pm 1.23	9(90)

** $P<0.001$ vs TDM 组。

2.2 造模 4 周后大鼠的一般情况以及肺动脉病理改变

与 TDM 组大鼠相比, MCT-TDM 组大鼠表现出毛发稀少, 体型偏瘦, 部分可见趾端及口唇呈现紫色, 呼吸加快, 活动量减少, 喜蜷缩, 开腹后胸壁肌肉呈紫色或红色。HE 染色结果显示, MCT-TDM 组的大鼠肺动脉发生重塑, 肺动脉肌化程度重, 出现明显内膜增厚, 管腔明显狭窄, 平滑肌增殖显著; TDM 组大鼠肺动脉肌化程度轻, 内膜无明显增厚, 管腔未见明显狭窄(图 3A)。通过 WA% 和 WT% 进一步评价肺血管重构程度(图 3B, C)。结果显示, MCT-TDM 组大鼠肺组织呈现出肺动脉高压的病理改变, 肺动脉发生血管重构。

2.3 经膈肌穿刺法测量大鼠肺动脉高压模型

使用经膈肌穿刺法对 MCT-TDM 组和 TDM 组

进行测压, MCT-TDM 组成功率为 90%, TDM 组成功率为 100%, 差异无统计学意义($P>0.999$)。经膈肌穿刺法测量大鼠右心室压力的总成功率为 95%。两组成功测量右心室压力所需时间见表 1, 两组测压时间相比较, 差异无统计学意义($t=0.33, P=0.747$)。

2.4 大鼠肺动脉高压模型的右心室压力和右心室肥厚指数

使用经膈肌穿刺法对 MCT-TDM 组大鼠进行测压得到右心室压力曲线(图 2C), 压力波形稳定后呈规律的锯齿状, 随着呼吸节律有轻微波动。MCT-TDM 组大鼠的 RVSP 明显高于 TDM 组, 差异有统计学意义($t=25.96, P<0.001$), MCT-TDM 组大鼠的右心室肥厚指数明显高于 TDM 组, 差异有统计学意义($t=10.98, P<0.001$), 结果见表 1, 图 4。

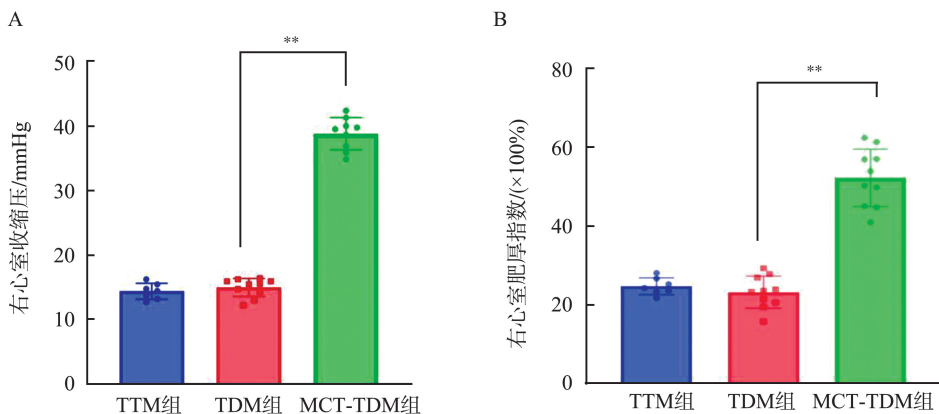


图4 TTM组、TDM组和MCT-TDM组大鼠右心室收缩压和肥厚指数的比较(** $P<0.001$)

A: 右心室收缩压的比较; B: 右心室肥厚指数的比较。

Figure 4 Comparison of RVSP and RVHI among the three groups(** $P<0.001$)

A: Comparison of RVSP; B: Comparison of RVH.

3 讨论

PH是一系列以肺血管重塑与收缩为特点的进展性疾病,常导致肺循环阻力升高、右心室负荷加重,最终可引发右心室衰竭甚至患者死亡^[14-15]。动物模型被广泛应用于了解和研究肺动脉高压,开发新的治疗方法^[16-18]。

本研究使用MCT诱导PH的大鼠模型^[10]。这种PH模型的特征变化包括肺血管的重塑,肺动脉压逐渐升高,最终导致右心室肥厚,并发展为右心衰竭^[19-20]。测量右心室压力是评估大鼠血流动力学的一种重要手段,有研究发现,右室流出道无狭窄及肺动脉瓣无病变时,肺动脉收缩压近似于右心室收缩压,通过测量右室收缩压可间接反映肺动脉收缩压^[21-23]。本研究结果显示,MCT-TDM组大鼠的RVSP与RVHI显著高于TDM组。病理学检查也显示,MCT-TDM组大鼠的肺小动脉壁较TDM组显著增厚,与其他国内外研究的发现一致^[24-25]。目前测量大鼠右心室压力的常用方法有超声引导的经胸穿刺法^[26]、右心室导管法^[27-28]、经胸右心室穿刺测压法^[13]等,大部分方法成本昂贵,操作复杂。本研究详细阐述了一种经膈肌穿刺测量大鼠肺动脉高压模型右心室压力,评估肺动脉压力的新方法。

本研究采用的经膈肌穿刺法测量大鼠右心室压力,所得数据准确,与使用较为广泛的经胸右心室穿刺测压法^[13]相比,差异没有统计学意义,结果可信度高,能够准确反映右心室压力的变化。本研究对正常大鼠分别进行两种测压方法的比较,证明了两种方法的一致性,但在对MCT诱导的肺动脉高压大鼠模型研究时,研究结果发现经胸右心室穿刺法在某些

情况下会导致心脏回缩,从而影响后续实施经膈肌穿刺法的准确性。因此,考虑到操作的成功率和大鼠模型的可用性,本研究选择经膈肌穿刺法来测定肺动脉高压大鼠模型的右心室压力。本研究方法操作简便,技术门槛不高,整个过程仅需7~9 min。

同时,本研究采用传统的经胸右心室穿刺法测量右心室压力时发现:该方法的难点在于穿刺位置的精确判断与定位。鉴于大鼠心脏体积相对较小,且不断动态跳动,确定穿刺点需要专业知识和精准操作。若穿刺位置出现微小误差,可能导致测量的心室压力不精确或针头误入其他心腔。此外,穿刺时的准确定位也是关键,这不仅需要对大鼠的解剖结构有充分的了解,还要求操作者具备娴熟的手术技能和经验。在确保动物安全的前提下,操作者需要精准地将穿刺针插入心室,这一过程受动物生理状态(如心率、血压)和外部因素(如操作者操作稳定性)的影响。本研究中采用经胸右心室穿刺法的测量成功率为70%(TTM组10只大鼠其中3只测压失败),失败原因主要为穿刺定位不准确。多次失败的穿刺尝试可能导致大鼠心脏位置变动,影响测压过程。相比之下,经膈肌穿刺法由于暴露视野清晰,易于确认穿刺位置,避免了因不准确定位而造成的穿刺失败。

实施本研究提出的经膈肌穿刺法测量大鼠右心室压力时,需注意以下关键操作要点:①在暴露膈肌过程中,避免对肋间肌和膈肌造成损害,防止血气胸的发生;②通过膈肌观察心脏时,剑突固定于大鼠头侧立柱,确保心脏视野的清晰,准确判断右心室的位置;③在穿刺操作时,确保正确的进针角度和深度。进针时,使针头稍倾向大鼠头侧和左侧约25度,深度约13 mm。穿刺后立即出现右心室规律波形,选

取 RVSP 曲线的稳定部分记录实验数据;④确保整个测压系统运转正常,排空管内气泡,防止影响压力传导。操作结束后,应及时推注注射器内的肝素生理盐水,避免针头内血液凝固。

本方法与右心室导管法相比,传统右心导管法^[28]和改良右心室导管法^[27]中使用的导管压力传感器及其配套设备是昂贵且易损的部件,颈静脉存在一定的解剖变异,穿刺困难,此种方法获得的压力会出现随测量时间的变化而变动特性。相对于超声引导的经胸穿刺测压法^[26],该技术的掌握和应用需求较高,操作者不仅需具备一定的小动物心脏彩超经验,还需要熟练掌握穿刺技术。对于初学者,需要投入一定的时间训练熟悉和掌握此技术。如操作不当可能会导致心脏和血管受损,甚至可能引发严重的心脏穿孔和出血并发症。研究报道,此项技术在模型组和对照组中的成功率分别为 88.5% 和 86.7%,存在一定程度的失败率^[26]。

本研究结果显示,经膈肌穿刺法在测定大鼠心脏压力时的总成功率为 95%(TDM 组 10 只大鼠均测压成功,MCT-TDM 组 10 只大鼠其中 1 只测压失败),操作简便,成本低廉,测压数据结果准确,有望成为中小型实验室的理想选择。但该方法存在潜在血气胸风险,研究中 1 只 MCT 模型大鼠在测压时出现了血气胸现象,这要求操作者提高技术熟练度以降低风险。此外,本研究指出,避免损伤膈肌并准确穿刺是该方法的主要技术难点。操作不熟练者在暴露膈肌和穿刺时容易导致膈肌损伤,迅速引起血气胸。穿刺点的精确定位至关重要,应选在膈肌中央心脏搏动区靠近胸骨侧,以免误入左心室。

综上所述,本研究提供了一种快速、简单且准确的测量肺动脉高压大鼠模型右心室压力的方法,经膈肌穿刺法有望广泛应用于肺动脉高压的基础研究。

参考文献:

[1] Olsson KM, Corte TJ, Kamp JC, et al. Pulmonary hypertension associated with lung disease: new insights into pathomechanisms, diagnosis, and management [J]. *Lancet Respir Med*, 2023, 11(9): 820-835.

[2] Johnson S, Sommer N, Cox-Flaherty K, et al. Pulmonary hypertension: a contemporary review [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2023, 208(5): 528-548.

[3] Humbert M, Kovacs G, Hoeper MM, et al. 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2022, 43(38): 3618-3731.

[4] Humbert M, Kovacs G, Hoeper MM, et al. 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2023, 61(1): 2200879. doi: 10.1183/13993003.00879-2022.

[5] Jani V, Aslam MI, Fenwick AJ, et al. Right ventricular sarcomere contractile depression and the role of thick filament activation in human heart failure with pulmonary hypertension [J]. *Circulation*, 2023, 147(25): 1919-1932.

[6] Bauersachs J, Olsson KM. Targeting pulmonary hypertension in patients with heart failure and preserved ejection fraction: rather static than DYNAMIC development? [J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(36): 3414-3416.

[7] Ambroz D, Jansa P, Kuchar J, et al. Predictors of survival in patients with pulmonary hypertension and acute right heart failure [J]. *Bratisl Lek Listy*, 2020, 121(3): 230-235.

[8] Chang KY, Duval S, Badesch DB, et al. Mortality in pulmonary arterial hypertension in the modern era: early insights from the pulmonary hypertension association registry [J]. *J Am Heart Assoc*, 2022, 11(9): e024969. doi: 10.1161/JAHA.121.024969.

[9] Maron BA, Brittain EL, Hess E, et al. Pulmonary vascular resistance and clinical outcomes in patients with pulmonary hypertension: a retrospective cohort study [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8(9): 873-884.

[10] Boucherat O, Agrawal V, Lawrie A, et al. The latest in animal models of pulmonary hypertension and right ventricular failure [J]. *Circ Res*, 2022, 130(9): 1466-1486.

[11] Bueno-Beti C, Sassi Y, Hajjar RJ, et al. Pulmonary artery hypertension model in rats by monocrotaline administration [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1816: 233-241. doi:10.1007/9781-4939-8597-5-18.

[12] 张栾, 陈欧, 栾云, 等. Gemigliptin 对野百合碱诱导的肺动脉高压大鼠治疗作用及炎症因子的影响 [J]. *山东大学学报(医学版)*, 2017, 55(5): 19-22.
ZHANG Luan, CHEN Ou, LUAN Yun, et al. Effects of gemigliptin on the therapeutic effect and inflammatory factors of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats [J]. *Journal of Shandong University (Health Sciences)*, 2017, 55(5): 19-22+30.

[13] 彭小飞, 劳金泉, 刘冬立, 等. 右心室经胸穿刺测压法在肺动脉高压大鼠模型中的应用 [J]. *中南医学科学杂志*, 2018, 46(2): 197-200.
PENG Xiaofei, LAO Jinqun, LIU Dongli, et al. Application of right ventricle pressure by right ventricle punctured through ghest in pulmonary hypertension rats model [J]. *Medical Science Journal of Central South China*, 2018, 46(2): 197-200.

[14] Nickel NP, Yuan K, Dorfmueller P, et al. Beyond the lungs: systemic manifestations of pulmonary arterial hy-

- pertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, 201(2): 148-157.
- [15] Mamazhakypov A, Hein L, Lothar A. Mineralocorticoid receptors in pulmonary hypertension and right heart failure: From molecular biology to therapeutic targeting[J]. *Pharmacol Ther*, 2022, 231: 107987. doi: 10.1016/j.pharmthera.2021.107987.
- [16] Zhou X, Jiang Y, Wang Y, et al. Endothelial FIS1 DeSUMOylation protects against hypoxic pulmonary hypertension[J]. *Circ Res*, 2023, 133(6): 508-531.
- [17] Sangam S, Sun X, Schwantes-An TH, et al. SOX17 deficiency mediates pulmonary hypertension; at the crossroads of sex, metabolism, and genetics[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2023, 207(8): 1055-1069.
- [18] Cunningham CM, Li M, Ruffenach G, et al. Y-Chromosome Gene, Uty, protects against pulmonary hypertension by reducing proinflammatory chemokines [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2022, 206(2): 186-196.
- [19] Balistrieri A, Makino A, Yuan JX. Pathophysiology and pathogenic mechanisms of pulmonary hypertension: role of membrane receptors, ion channels, and Ca(2+) signaling[J]. *Physiol Rev*, 2023, 103(3): 1827-1897.
- [20] Lin Q, Kumar S, Kariyawasam U, et al. Human resistin induces cardiac dysfunction in pulmonary hypertension [J]. *J Am Heart Assoc*, 2023, 12(6): e027621. doi: 10.1161/JAHA.122.027621.
- [21] Kwan ED, Vélez-Rendón D, Zhang X, et al. Distinct time courses and mechanics of right ventricular hypertrophy and diastolic stiffening in a male rat model of pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2021, 321(4): H702-H715.
- [22] Otto CM, Bartkowiak J, Hahn RT. Right atrial pressure, not Doppler jet velocity, is the problem in estimating pulmonary pressure when tricuspid regurgitation is severe [J]. *Heart*, 2023. doi: 10.1136/heartjnl-2023-323230.
- [23] Thibault HB, Kurtz B, Raher MJ, et al. Noninvasive assessment of murine pulmonary arterial pressure: validation and application to models of pulmonary hypertension [J]. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2010, 3(2): 157-163.
- [24] Al-Qazazi R, Lima PDA, Prisco SZ, et al. Macrophage-NLRP3 activation promotes right ventricle failure in pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2022, 206(5): 608-624.
- [25] Wu Z, Zhu L, Nie X, et al. USP15 promotes pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension in a YAP1/TAZ-dependent manner [J]. *Exp Mol Med*, 2023, 55(1): 183-195.
- [26] Zhang X, Li J, Zeng D, et al. A novel method for measuring pulmonary artery pressure by high-frequency ultrasound-guided transthoracic puncture in rats [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 995728. doi: 10.3389/fcvm.2022.995728.
- [27] 董政委, 樊官伟. 改良右心导管法测量大鼠肺动脉压力综述[J]. *实验动物与比较医学*, 2020, 40(4): 354-359. DONG Zhengwei, FAN Guanwei. A review of modified right heart catheterization for measuring pulmonary artery pressure in rats[J]. *Laboratory Animal and Comparative Medicine*, 2020, 40(4): 354-359.
- [28] Krishnan A, Markham R, Savage M, et al. Right heart catheterisation: how to do it [J]. *Heart Lung Circ*, 2019, 28(4): e71-e78.

(编辑:刘霞)