

基于遥测技术对巴马小型猪部分生理指标的观测

陈亮^{1,2}, 潘永明², 朱科燕², 陈方明², 徐孝平², 陈民利²

(1. 浙江大学动物科学学院, 杭州 310000; 2. 浙江中医药大学动物实验研究中心, 比较医学研究中心, 杭州 310053)

【摘要】 目的 应用遥测技术观察巴马小型猪在清醒自由状态下心电、血压、呼吸、活动等指标昼夜波动变化。方法 取雌性6月龄巴马小型猪6只,行浅表股动脉VAP血管通路植入手术,恢复7d后,用EMAK遥测系统进行24h连续清醒自由状态下心电、血压、呼吸、活动指标监测,并用EMAK分析软件对上述指标进行分析。结果 6月龄巴马小型猪心电、血压、呼吸、活动都有昼夜节律变化,白昼心率显著高于黑夜心率($P < 0.01$),且白昼PR间期、QRS间期与QT间期均显著低于黑夜($P < 0.05$, $P < 0.01$),白昼平均心率为76.22次/分,黑夜平均心率为67.03次/分,白昼平均PR间期、QRS间期和QT间期分别为109.97 ms、42.72 ms、380.37 ms,黑夜平均PR间期、QRS间期和QT间期为112.32 ms、44.01 ms、389.24 ms。巴马小型猪白昼收缩压、舒张压、平均压都显著高于夜间($P < 0.01$),白昼平均收缩压、舒张压、平均压分别为129.57 mmHg、96.75 mmHg、111.73 mmHg,夜间平均收缩压、舒张压、平均压分别为122.81 mmHg、92.65 mmHg、106.19 mmHg,且黑夜收缩压、舒张压、平均压下降率分别为19.89%、19.05%、19.35%。另外,巴马小型猪在白昼的活动情况与呼吸频率都要显著高于夜间($P < 0.01$)。结论 利用遥测技术可以对清醒自由状态下巴马小型猪心电、血压、呼吸、活动等进行连续监测,能真实的反应小型猪在24h内上述生理指标的变化规律,为巴马小型猪在药理毒理研究中的应用提供参考。

【关键词】 遥测技术;巴马小型猪;心电;血压

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014)07-0030-07

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.007.006

Measurement of physiological parameters in Bama minipigs by telemetry technology

CHEN Liang^{1,2}, PAN Yong-ming², ZHU Ke-yan², CHEN Fang-ming², XU Xiao-ping², CHEN Min-li²

(1. Zhejiang University College of Animal Science, Hangzhou 310000, China; 2. Zhejiang Chinese Medical University Laboratory, Animal Research Center/Comparative Medical Research Center, Hangzhou 310053, China)

【Abstract】 Objective To measure the circadian rhythm of consecutive monitoring electrocardiogram (ECG), blood pressure, respiration, activities in Bama minipigs by telemetry technology. **Methods** Six 6-month-old Bama minipigs were implanted with VAP port in Superficial femoral artery, after recovery 7 days, 24 hours ECG, blood pressure, activity and respiratory parameters were recorded and analyzed in the EMAK noninvasive telemetry system. **Results** The ECG, blood pressure, respiration and activities in Bama minipigs showed circadian rhythm changes, Bama minipigs daytime heart rate was significantly higher than the nighttime heart rate ($P < 0.01$), and daytime PR interval, QRS interval and QT interval was significantly lower than the nighttime ($P < 0.05$, $P < 0.01$), daytime mean heart rate was 76.22 beats/min, nighttime mean heart rate was 67.03 night beats/min; daytime mean PR interval, QRS interval and

【基金项目】 浙江省科技厅实验动物科技计划项目(2012C37078)。

【作者简介】 陈亮(1982-),男,助理研究员,研究方向为实验动物与比较医学。E-mail: chl810@foxmail.com。

【通讯作者】 陈民利(1963-),女,教授,研究方向为实验动物与比较医学。E-mail: minlichen01@yahoo.com。

QT interval were 109.97 ms, 42.72 ms and 380.37 ms, nighttime mean PR interval, QRS interval and QT interval were 112.32ms, 44.01ms and 389.24ms. Bama minipigs daytime systolic blood pressure, diastolic blood pressure and mean blood pressure were significantly higher than the nighttime ($P < 0.01$), daytime mean systolic blood pressure, diastolic blood pressure and mean blood pressure were 129.57 mmHg, 96.75 mmHg and 111.73 mmHg, nighttime mean systolic blood pressure, diastolic blood pressure, mean blood pressure were 122.81 mmHg, 92.65 mmHg and 106.19 mmHg, and the nighttime reduction rate of systolic blood pressure, diastolic blood pressure and mean blood pressure were 19.89%, 19.05% and 19.35%. In addition, Bama minipigs daytime activity and respiratory rate were significantly higher than the nighttime ($P < 0.01$). **Conclusion** It's Feasible to measure the circadian rhythm of electrocardiogram(ECG), blood pressure, activity and respiratory parameters in Bama minipigs by telemetry technology, and can truly shows those physiological parameters of the Bama minipigs within 24h, to provide a reference for pharmacology and toxicology research by using Bama minipigs.

【Key words】 Telemetry technology; Bama minipig; Electrocardiogram; Blood pressure

猪和人在解剖学、生理学、疾病发生机制等方面极其相似,尤其是在心血管方面与人类相似^[1],而巴马小型猪是我国特有的以广西巴马香猪为原始种群,经多世代近交选育出的适于实验用的小型猪品系,已广泛应用于皮肤烧伤、心血管疾病、脏器移植等人类疾病模型的建立以及药物开发的研究。目前对于巴马小型猪的基础生理指标方面研究已有血液生化^[2]、束缚状态下心电指标^[3]、麻醉状态下创伤性血压^[4]等,但是在许多毒理药理实验中均要求对动物的生理指标进行较长时间不间断的监测,若要进行长时程研究,由于受到实验条件的制约,则需要对动物进行麻醉、束缚、导线连接等一些操作,这些操作会引起血压、心率和体温等生理参数的变化,降低实验数据的可靠性^[5]。因此,本文采用大动物无创生理信号遥测技术,既避免了麻醉、固定等操作,又克服长时间观察的难题,同时还更加有利于改善和提高动物福利^[6];通过观察巴马小型猪清醒自由状态下的 24 h 心电、血压、呼吸、活动等指标,为将来巴马小型猪在药理毒理试验中的应用提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

普通级六月龄巴马小型猪 6 只,雄性,体质量为 16~18 kg,由上海市南汇区老港镇华新特种养殖场提【SCXK(沪)2012-0013】,饲养于浙江中医药大学动物实验研究中心普通级实验室【SYXK(浙)2013-0184】,环境温度为 $22 \pm 1^\circ\text{C}$,相对湿度为 45%~65%。饲喂全价营养饲料和自由饮水,12h/12h 明暗交替,所有小型猪按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀,并在适应性恢复 8 周后开始正式试验。

1.2 主要仪器及试剂

EMKA 大动物无创生理信号遥测系统,法国 EMKA 公司;VAP 血管通路,产品编号 SLAAC-7S,批号 102412S,美国 Norfolk 医药。

1.3 遥测方法建立

将 6 只巴马小型猪禁食 12 h 后,肌注 0.1 mL/kg 速眠新 II 注射液麻醉后,仰卧位固定,右侧大腿内侧部位进行剃毛消毒,定位后切口,分离浅表股动脉,将分离后的浅表股动脉远心端用手术线结扎,近心端用无损血管夹夹闭,然后在血管中间上部采用穿刺引导针刺入,植入 7F 的 VAP 血管通路 7~10 cm,直至股动脉总支,缝合和结扎固定血管。最后在小型猪颈背部行一 2 cm 切口,将 VAP 血管通路导管引导至背部切口位置,并固定 Port。植入后,用生理盐水冲洗 VAP 血管通路 2 遍,每次 2 mL,并在管内注射含有 100 IU/mL 的肝素钠及 80000 IU/mL 青霉素生理盐水溶液 1~2 mL,注意肝素仅封闭管路不注入体内,最后缝合各切口部皮肤;术后完毕,注射鹿醒宁后放回笼内正常饲养,期间每天注射青霉素溶液 80 万 IU,连续 5 d。

术后 2 周后,将小型猪的胸腹部毛剃除,分别在左、右两侧第 6 肋间与胸骨的连接处和第 1 对乳头下缘的皮肤表面粘上心电电极膜,并接上心电电极,然后穿上内衣,并将呼吸带固定在胸部内衣上,然后,通过 VAP 血管通路,将 EMKA 血压换能器连接猪背部皮下的 Port;随后给小型猪穿上外衣,将心电电极、呼吸电极、血压换能器与 EMKA PACK 连接,放置于外套的 PACK 袋中,连接完毕后,放回笼内。所有信号记录于 EMKA Iox 软件中,其中心电导联的采样频率为 500 Hz/s,活动采样频率为 100 Hz/s,呼吸采样频率为 200 Hz/s,血压采样频率为 200 Hz/s,连续监测 24 h。白天时间为 8:00~20:

00, 黑夜时间为 20:00 ~ 8:00。

1.4 数据采集和分析

连续观察分析 24 h 巴马小型猪的 II 导心电图、活动、呼吸情况、血压, 并用 ECG-Auto 分析软件进行各指标分析, 同时比较巴马小型猪昼夜生理指标的变化。

1.5 观察指标

巴马小型猪心电指标: 心率(HR)、PR 间期、QRS 间期、QT 间期; 血压指标: 收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、平均压(MBP); 活动指标: 呼吸频率; 下降率(reduction rate): (全天最高值 - 全天最低值) / 全天最高值。

1.6 统计学处理

数据以平均值 ± 标准误(mean ± SEM)表示, 用 SPSS 19.0 软件统计, 进行 T 检验, 以 $P < 0.05$ 为显著差异。

2 结果

2.1 巴马小型猪 24 h 心电分析

由表 1 与图 1A、图 1B、图 1C 可知, 巴马小型猪白昼平均心率为 76.22 次/min, 黑夜平均心率为 67.03 次/分, 白昼平均 PR 间期为 109.97 ms, 黑夜平均 PR 间期为 112.32 ms, 白昼平均 QRS 间期为 42.72 ms, 黑夜平均 QRS 间期为 44.01 ms, 白昼心率显著高于黑夜心率($P < 0.01$), 白昼 PR 间期与白昼 QRS 间期显著低于黑夜($P < 0.05$, $P < 0.01$)。白昼心率最高点以及白昼 PR 间期最低点、白昼 QRS 间期最低点均位于上午 8:00 ~ 9:00、下午 14:30 ~ 15:30, 期间为饲养人员活动以及喂食阶段, 白昼心率最低点位于 13:00 左右, 夜晚心率持续下

降, 直至早上 6:00 左右降至最低点, 夜晚心率下降率为 35.82%。巴马小型猪 PR 间期在进入夜间后逐渐上升, 直至早上 7:00 左右升至最高点, 白昼 PR 间期下降率为 15.92%。巴马小型猪 QRS 间期在进入夜间后亦逐渐上升, 直至早上 4:00 ~ 6:00 左右升至高点, 白昼 QRS 间期下降率为 8.86%。由表 1 与图 1D 可知, 巴马小型猪白昼平均 QT 间期为 380.37 ms, 夜间平均 QT 间期为 389.24 ms, 白昼 QT 间期显著低于黑夜 QT 间期($P < 0.01$)。白昼 QT 间期最低点位于下午 14:00, 期间为饲养人员活动以及喂食阶段, 以及 17:00 至 19:00 之间, 进入夜晚后巴马小型猪 QT 间期逐渐延长, 直至早上 7:30 ~ 8:00 上升至最高点, 白昼 QT 间期下降率为 10.66%。

2.2 巴马小型猪 24 h 动态血压分析

由表 2 与图 2 可知, 巴马小型猪白昼收缩压、舒张压、平均压都显著高于夜间($P < 0.01$)。

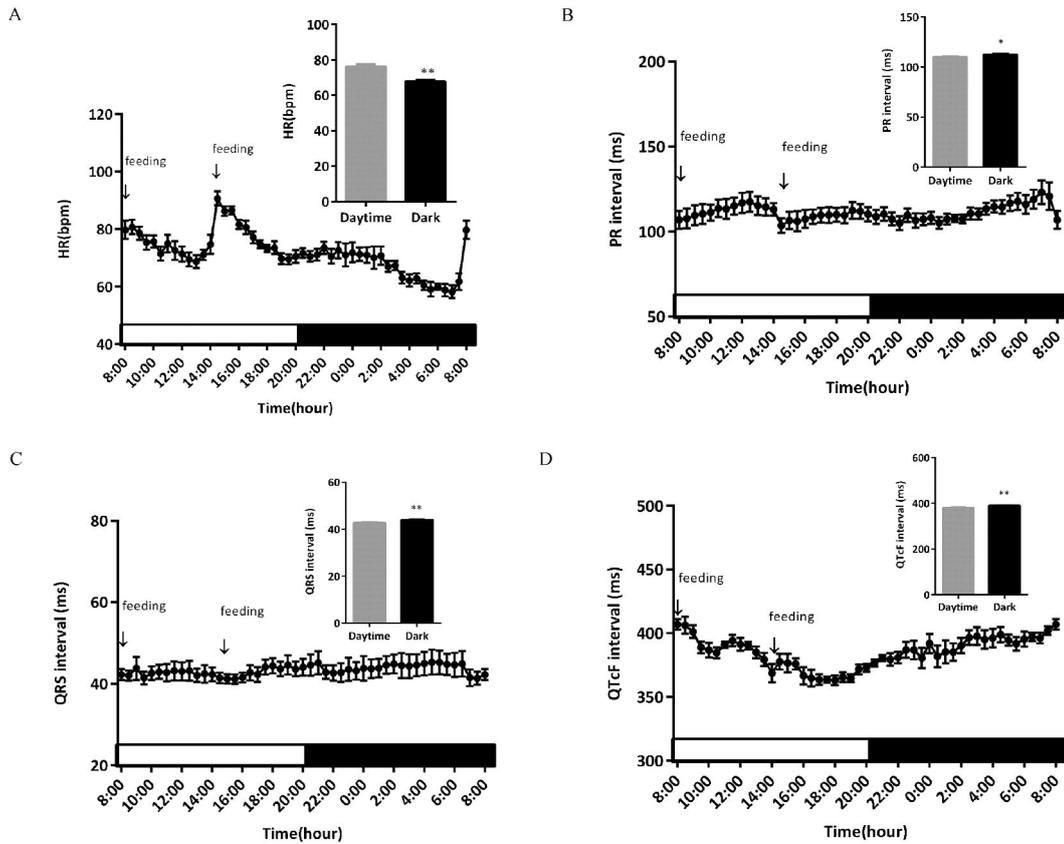
白昼平均收缩压为 129.57 mmHg, 夜间平均收缩压为 122.81 mmHg, 白昼收缩压峰值出现在下午 14:30 左右, 峰值为 143.78 mmHg, 夜间收缩压谷底期出现在上午 6:30 左右, 谷值为 115.18 mmHg, 夜间收缩压下降率为 19.89%。白昼平均舒张压为 96.75 mmHg, 夜间平均舒张压为 92.65 mmHg, 白昼舒张压峰值出现在下午 14:30 左右, 峰值为 109.51 mmHg, 夜间舒张压谷底期出现在上午 6:00 左右, 谷值为 88.65, 夜间舒张压下降率为 19.05%。白昼平均压为 111.73 mmHg, 夜间平均压为 106.19 mmHg, 白昼平均压峰值出现在下午 14:30 左右, 峰值为 124.89 mmHg, 夜间平均压谷底期出现在上午 7:00 左右, 谷值为 100.73 mmHg, 夜间平均压下降率为 19.35%。

表 1 巴马小型猪 24 h、白昼、黑夜心电指标比较(n=6)
Tab. 1 Comparison of 24 h, daytime and dark ECG in Bama minipigs(n=6)

参数 Parameter	单位 Units	全天 Whole day	白昼 Daytime 8:00 - 20:00	黑夜 Dark 20:00 - 8:00	下降率 Reduction rate
心率 Heart rate	次/分钟 time/min	71.62 ± 1.04	76.22 ± 1.21	67.03 ± 1.07**	35.82%
PR 间期 PR Interval	毫秒 ms	111.15 ± 0.56	109.97 ± 0.58	112.32 ± 0.92*	15.92%
QRS 间期 QRS Interval	毫秒 ms	43.36 ± 0.18	42.72 ± 0.20	44.01 ± 0.23**	8.86%
QT 间期 QT Interval	毫秒 ms	384.81 ± 1.75	380.37 ± 2.85	389.24 ± 1.64**	10.66%

注: 白昼与黑夜比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: The daytime stage compared with the dark stage, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.



注:白昼与黑夜比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 1 巴马小型猪 24 h 心电图指标变化及白昼黑夜比较

Note: The daytime stage compared with the dark stage, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Fig. 1 The changes and comparison of 24 h, daytime and dark ECG. in Bama minipigs

表 2 巴马小型猪 24 h、白昼、黑夜血压比较(n=6)

Tab. 2 Comparison of 24 h, daytime and dark blood pressure in Bama minipigs(n=6)

参数 Parameter	单位 Units	全天 Whole day	白昼 Daytime 8:00 - 20:00	黑夜 Dark 20:00 - 8:00	下降率 Reduction rate
收缩压 SBP	mmHg	126.05 ± 0.89	129.57 ± 1.34	122.81 ± 0.75 **	19.89%
舒张压 DBP	mmHg	94.68 ± 0.72	96.69 ± 1.20	92.67 ± 0.59 **	19.05%
平均压 MBP	mmHg	108.87 ± 0.79	111.73 ± 1.23	106.19 ± 0.64 **	19.35%

注:白昼与黑夜比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: The daytime stage compared with the dark stage, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

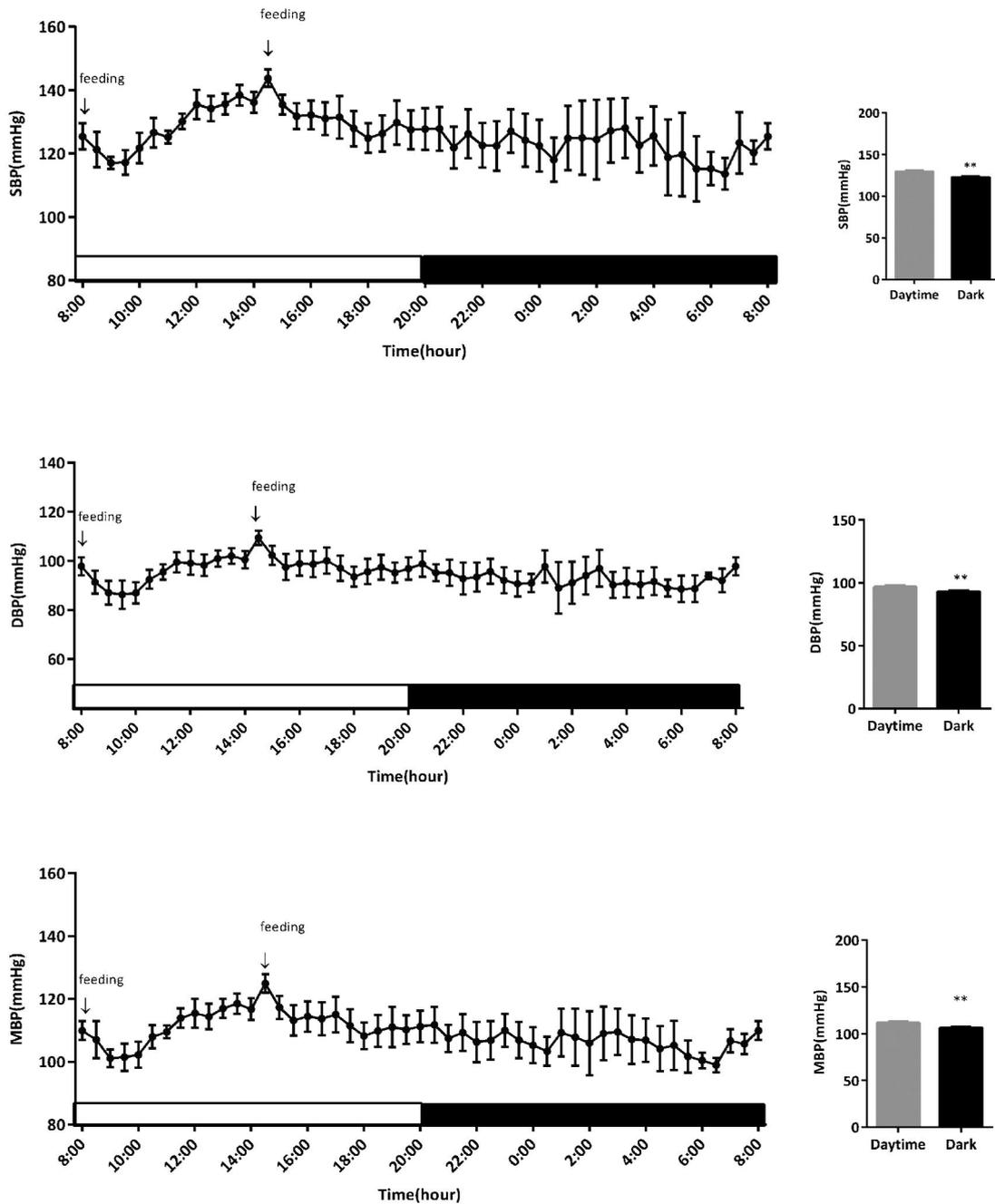
2.3 巴马小型猪 24 h 呼吸活动情况分析

由图 3 可知,巴马小型猪在白昼的活动情况与呼吸频率都要显著高于夜间($P < 0.01$)。巴马小型猪在上午 8:00 ~ 9:00,下午 2:00 ~ 3:00 活动情况最为频繁,呼吸频率也最快。进入夜间后,活动减少,呼吸频率也逐渐降至最低。

3 讨论

遥测技术在国内目前应用正处于起步阶段,但在国外早已应用相当广泛,2009 年 Cools F 等^[7]已利用遥测技术,对 Beagle 犬长期进行 24 h 心电图

观察,对 Beagle 犬的心率失常发生率进行监测,目前国外较前沿的遥测技术,还能长期同时精确监控动脉血流量,血压和心电图等^[8],遥测技术目前动物实验中减少动物应激的最有效手段之一。通过遥测技术,Stubhan M^[9]等还将植入子植入哥根廷小型猪,获得哥根廷小型猪清醒自由状态下的动脉血压以及心室内压等心血管数据,本文方法学上与上述实验有一定共同点,只是心室内压由于对植入导管要求较高,本试验尚未进行尝试,需待今后继续研究。本课题组前期已利用无创遥测技术来观察运输应激对 Beagle 犬部分生理指标的影响,发现



注:白昼与黑夜比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

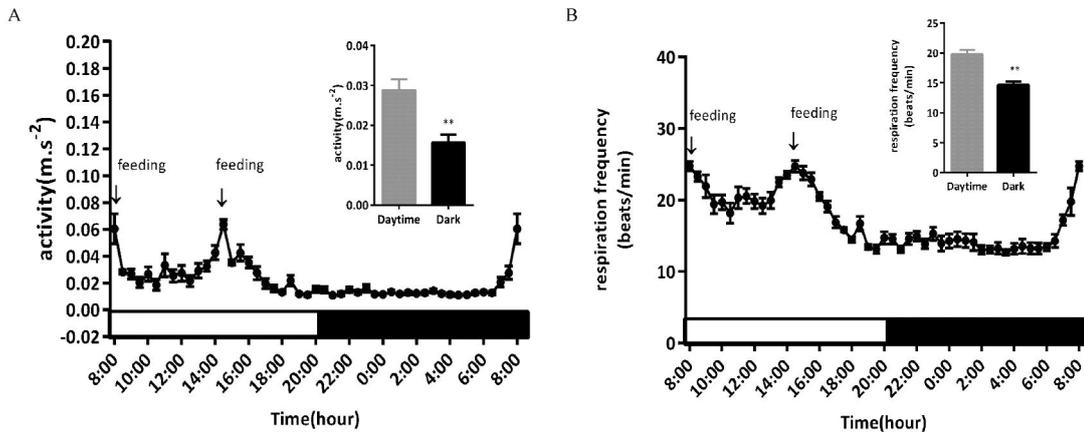
图2 巴马小型猪 24h 血压变化及昼夜比较

Note: The daytime stage compared with the dark stage, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Fig. 2 The changes and comparison of 24h, daytime and dark blood pressure in Bama minipigs

Beagle 犬心率、RR 间期、QT 间期、活动、皮肤温度、呼吸均具有明显的昼夜节律变化^[6]。本试验拟通过心电、血压、呼吸、活动等指标的 24 h 监测数据,评估巴马小型猪在清醒自由状态下上述生理指标的昼夜变化,以及人员活动对这些指标的影响。

本文通过遥测技术,对巴马小型猪进行 24 h 心电图观察,成年 6 月龄巴马小型猪白昼平均心率在 76.22 次/分,黑夜平均心率为 67.03 次/分,白昼心率显著高于黑夜心率($P < 0.01$);从呼吸和活动情况来看,与心率变化情况一致,说明巴马小型猪心



注:白昼与黑夜比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图3 巴马小型猪 24 h 活动与呼吸频率变化及昼夜比较

Note: The daytime stage compared with the dark stage, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Fig. 3 The changes and comparison of 24 h, daytime and dark activity and respiration frequency in Bama minipigs

率、呼吸、活动具有明显在昼夜节律变化,且白天为活动频繁期,夜晚为休息期。9:00~13:00、18:00~24:00 为稳定休息期,1:00~6:00 为深度睡眠期,期间心率、呼吸频率降至最低,活动几乎停止。通过对 PR 间期、QRS 间期观察,发现巴马小型猪白昼 PR 间期、QRS 间期显著低于黑夜 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);白昼 PR 间期、QRS 间期最低点位于上午 8:00~9:00 以及下午 14:30~15:30,PR 间期、QRS 间期整理变化幅度不大,只是饲养人员活动以及喂食阶段有少量的下降,说明实验人员活动以及喂食对 PR 间期、QRS 间期影响较小,夜晚 PR 间期上升,直至早上 7:00 左右升至最高点,巴马小型猪夜晚 QRS 间期上升,直至早上 4:00~6:00 左右升至高点,深睡眠阶段 PR 间期与 QRS 间期都有一定程度延长,但苏醒阶段 PR 间期要早于 QRS 间期的恢复;人员活动对于 QT 间期变化趋势影响亦不明显,QT 间期上午 8:00 时最长,而后逐渐缩短,至下午 17:00~19:00 左右降至最短,在进入夜晚后 QT 间期开始延长,直至上午八点最高点,说明巴马小型猪在白昼清醒活动状态下,QT 间期是逐渐缩短的,而夜晚逐渐由活动较少进入休息甚至睡眠的情况下,QT 间期逐渐延长。相比较于吊床束缚状态下^[3]测定的巴马小型猪心率 124.57 次/min,PR 间期、QRS 间期与 QT 间期分别为 80 ms、40 ms、290 ms,本试验通过遥测方法所测得心电数据除 QRS 间期与束缚状态下所测相近,其余均有一定差距,心率更慢,PR 间期与 QT 间期更长,而这些差距我们认为是束缚所带来的应激所引起的,遥测技术能更好的避免应激,还原

数据真实性,保障动物福利。

实验结果还表明,巴马小型猪白昼收缩压、舒张压、平均压都显著高于夜间 ($P < 0.01$),均有显著的昼夜节律变化。白昼收缩压、舒张压、平均压峰值都出现在下午 14:30 左右,夜间收缩压、舒张压、平均压谷底期都出现在上午 6:00~7:00 左右,巴马小型猪的血压变化和心率变化的趋势基本相同。此外值得关注的是血压最高点 14:30 以及血压最低点 6:00~7:00,通过这两个时间点的研究,为实验人员实验观察和给药时间的确定提供了参考依据。另外前文提到 Stubhan M^[8] 等通过遥测方法测得哥根廷小型猪收缩压、舒张压、平均压分别为 123、88、105,与本试验测得巴马小型猪收缩压、舒张压、平均压分别为 126.05、94.62、108.87 相比,巴马小型猪正常血压略高于哥根廷小型猪。

本文利用遥测技术观察到的巴马小型猪心率、血压、呼吸、活动等指标均有明显的昼夜节律变化,心率、血压、呼吸频率、活动频率等指标白昼阶段均高于夜晚阶段,与小型猪正常的生理周期特性所吻合。利用遥测技术可以对清醒自由状态下巴马小型猪心电、血压、呼吸、活动等进行连续监测,能真实的反应小型猪在 24 h 内上述生理指标的变化规律,为巴马小型猪在药理毒理研究中的应用提供参考。同时为开发我国特有资源,推进巴马小型猪实验化,并且有助于提高药物安全评价效率,丰富试验体系,降低试验成本。

参考文献:

[1] Larsen MO, Rolin B. Use of the Göttingen minipig as a model of

- diabetes, with special focus on type 1 diabetes research [J]. *ILAR Journal*, 2004, 45(3): 303-313.
- [2] 王爱德, 郭亚芬, 李柏, 等. 巴马小型猪血液生理指标 [J]. *上海实验动物科学*, 2001, 21(2): 75-78.
- [3] 黄丽洁, 贾琳, 荀鹏, 等. 三个品系小型猪正常心电图的比较 [J]. *中国比较医学杂志*, 2008, 18(3): 23-26.
- [4] 张水军, 史冀华, 崔雪艳, 等. 颅内加压法巴马小型猪脑死亡模型建立过程中血压和心率的变化 [J]. *中华实验外科杂志*, 2005, 22(4): 107-109.
- [5] Henderson LE, Copeland TD, Sowder RC, *et al.* Primary structure of the low molecular weight nucleic acid-binding proteins of murine leukemia viruses [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1981, 256(16): 8400-8406.
- [6] 潘永明, 陈亮, 何欢, 等. 无创遥测技术观察运输应激对 Beagle 犬部分生理指标的影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2011, 21(4): 56-61.
- [7] Cools F, Gallacher D. Normal prevalence of cardiac arrhythmias in 24 h ECG recordings of chronically telemetered, healthy, freely moving beagle dogs [J]. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 2009, 60(2): 235-236.
- [8] Zhang ZD, Choy S J, Pitsillides K, *et al.* Application of implantable telemetry in swine heart failure models [J]. *The FASEB Journal*, 2012, 2012(26).
- [9] Stubhan M, Markert M, Mayer K, *et al.* Evaluation of cardiovascular and ECG parameters in the normal, freely moving Göttingen Minipig [J]. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 2008, 57(3): 202-211.

[修回日期] 2014-05-06