



[12] 发明专利申请公开说明书

[21]申请号 94192801.2

[51]Int.Cl⁶

[43]公开日 1996 年 7 月 24 日

A61M 1/00

[22]申请日 94.6.3

[30]优先权

[32]93.6.4 [33]US[31]08 / 071,533

[32]93.10.7 [33]US[31]08 / 133,527

[86]国际申请 PCT / US94 / 06279 94.6.3

[87]国际公布 WO94 / 28950 英 94.12.22

[85]进入国家阶段日期 96.1.16

[71]申请人 生物时间公司

地址 美国加利福尼亚州

[72]发明人 P·E·西加尔 H·施特恩堡

H·D·怀兹

J·M·西加尔

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 刘元金 姜建成

权利要求书 4 页 说明书 43 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 类血浆溶液

[57]摘要

公开了包含下列成分的水溶液：一种多糖肿胀剂，一种生理上兼容的缓冲剂，一种简单己糖，溶解的钙、钠和镁氯化物盐，和一种溶解的有机钠盐。这些溶液是血液的有效代用品，可以用来保存哺乳动物供体生物的生物完整性，如输注了此种溶液的实验对象的低温保存器官和组织的优异解剖学完整性所示。这些溶液可用于使部分放血或基本上完全放血的实验对象保持在正常温度和大大低于哺乳动物通常保持的温度，而且可用于与低压环境相结合，使这样的部分放血或完全放血的实验对象保活而无需将血液输回该实验对象。

权利要求书

1. 一种水基血液代用品溶液，其中所述溶液包括一种肿胀剂，且不包括大于 5 mM K^+ ，也不包括常用生物缓冲剂。

2. 权利要求 1 的溶液进一步包含 Na^+ 和一种有机羧酸、其盐或酯。

3. 一种适合于作为血液代用品使用的溶液，包含：

0 ~ 5 mM K^+ ；

浓度为生理浓度或亚生理浓度的 Na^+ 、 Mg^{++} 、 Ca^{++} 、 Cl^- ；

一种大分子肿胀剂；

一种有机羧酸、其盐或酯；和

一种糖，

其先决条件是所述溶液不包括大于 5 mM K^+ ，且其进一步先决条件是所述溶液不包括常用生物缓冲剂。

4. 权利要求 3 的溶液，其中 K^+ 以 2 ~ 3 mM 的浓度范围存在。

5. 权利要求 3 的溶液，其中 Na^+ 以 130 ~ 150 mM 的浓度范围存在。

6. 权利要求 3 的溶液，其中 Mg^{++} 以 0.20 ~ 0.45 mM 的浓度范围存在。

7. 权利要求 3 的溶液，其中 Ca^{++} 以 2.0 ~ 2.5 mM 的浓度范围存在。

8. 权利要求 3 的溶液，其中所述糖是一种简单己糖，选自由葡萄糖、果糖或半乳糖或其混合物组成的一组。

9. 权利要求 3 的溶液，其中所述有机酸、其盐或酯由化学式

RCOOX 代表,

式中 R 是一个烷基、链烯基或芳基, 有一条含有 1 ~ 30 个碳的支链或直链, 这些碳可以有取代的; 和

X 是一个氢或钠或其它可以在这个氧位上连接的生物上可兼容离子取代基, 或一个含有 1 ~ 4 个碳的短直链或支链烷基。

10. 权利要求 9 的溶液, 其中所述有机羧酸选自由乳酸盐、乙酸盐、丙酮酸盐或柠檬酸盐组成的一组。

11. 权利要求 3 的溶液进一步包含 NaHCO_3 。

12. 在低温条件下使部分放血或基本上完全放血的实验对象保活的方法, 包括用一种包含大分子肿胀剂、 Ca^{++} 且不含有常用生物缓冲剂的溶液置换血。

13. 权利要求 12 的方法进一步包含葡萄糖。

14. 在低温条件下使部分放血或基本上完全放血的实验对象保活的方法, 包括用一种溶液置换血, 该溶液的组成为 0 ~ 5 mM K^+ , 浓度为生理水平或亚生理水平的 Na^+ 、 Mg^{++} 、 Ca^{++} 、 Cl^- , 一种大分子肿胀剂, 一种有机羧酸、其盐或酯, 一种糖, 和 NaHCO_3 , 其先决条件是所述溶液不包括大于 5 mM K^+ , 且其进一步先决条件是所述溶液不包括常用生物缓冲剂。

15. 权利要求 12 的方法, 其中所述溶液不含有 K^+ 。

16. 实验对象或所述实验对象的细胞、组织或器官的生物完整性的保持方法, 包括给所述实验对象或所述实验对象的细胞、组织或器官输注一种溶液, 该溶液包含 0 ~ 5 mM K^+ , 浓度为生理水平或亚生理水平的 Na^+ 、 Mg^{++} 、 Ca^{++} 、 Cl^- , 一种大分子肿胀剂, 一种有机羧酸或其盐或酯, 和一种糖, 其先决条件是所述溶液不包括大于

5 mM K^+ ，且其进一步先决条件是所述溶液不包括常用生物缓冲剂。

1 7. 权利要求 1 4 的方法，其中所述溶液在无细胞体系中基本上没有能力缓冲 7 ~ 8 范围的 pH。

1 8. 权利要求 1 4 的方法，其中所述溶液不包含从由 HEPES、MOPS、TES、EPPS、THAM 或 TRIS 组成的一组中选择的缓冲剂。

1 9. 提供一种热灭菌的血液代用品的方法，包括：

把一种溶液放进一种可热灭菌的容器中，该溶液的组成为 0 ~ 5 mM K^+ ，浓度为生理水平或亚生理水平的 Na^+ 、 Mg^{++} 、 Ca^{++} 、 Cl^- ，一种大分子肿胀剂，一种有机羧酸、其盐或酯，和一种糖；和

在压力下使所述溶液的温度上升一段足以杀灭该溶液中的全部或基本上全部细菌并使全部或基本上全部病毒失活的时间。

2 0. 权利要求 1 7 的方法，其中所述溶液的所述温度是在压力下上升至 120°C，保持 1 5 分钟。

2 1. 权利要求 1 7 的方法，其中所述溶液放在一台高压灭菌器中。

2 2. 权利要求 1 7 的方法，其中所述溶液是作为一种血液代用品或血浆增容剂输注到实验对象体内的。

2 3. 权利要求 1 7 的方法，其先决条件是所述溶液不包括大于 5 mM K^+ ，且其进一步先决条件是所述溶液不包括常用生物缓冲剂。

2 4. 给因其需要而做好循环输注准备的实验对象进行输注的方法，包括如下步骤：

使该实验对象的温度降低到正常以下的温度；

使一种溶液在实验对象体内循环，该溶液包含 0 ~ 5 mM K^+ ，浓度为生理水平或亚生理水平的 Na^+ 、 Mg^{++} 、 Ca^{++} 、 Cl^- ，一种大分子肿胀剂，一种有机羧酸或其盐，一种糖，和 $NaHCO_3$ ；和

随后使血液返回该实验对象体内。

2 5 . 权利要求 2 2 的方法，其先决条件是所述溶液不包括大于 5 mM K^+ ，且其进一步先决条件是所述溶液不包括常用生物缓冲剂。

2 6 . 权利要求 2 2 的方法，包括在使该实验对象的温度降低到正常以下的温度之后把该实验对象放在一种高压氧气氛下的附加步骤，和进一步包括使该实验对象能在一种高压氧气氛中再生正常血液水平的步骤。

说明书

类血浆溶液

发明领域

本发明一般地涉及水溶液领域，例如，用来灌注需要灌注的活实验对象并可充当血浆的有效代用品的类血浆溶液。本发明也涉及保存哺乳动物类供体生物器官的生物学完整性的方法（如灌注了本发明溶液的低溫保存实验对象器官与组织的优异生物学完整性所示），还涉及使部分放血或基本上完全放血的实验对象保持在比哺乳动物通常保持的溫度低得多的溫度的方法。

发明背景

已知有两种临床应用的器官保存方法：（1）先灌注约5分钟，随后冷藏（2℃），和（2）用含有白蛋白或血浆的溶液继续灌注。

用于先灌注随后冷藏的溶液多数基于Collins 等人（1969）（Lancet 2：1219）和Sacks 等人（1973）（Lancet 1：1024）的溶液。Ross 等人（1976，Transplantation 21，498）比较了用各种溶液冲洗和贮藏72小时之后的狗肾保存。发现只有用高渗柠檬酸盐（HC）溶液（部分地包含80mM K⁺，55mM 草酸根，400 mOsmol/kg，pH 7.1）保存的肾才能在72小时后存活。Collins 和Sacks 溶液部分地含有115-126mM K⁺，290-430 mOsmol/kg，pH 7.0-7.3。Wall 等人（1977）（Transplantation 23：210）报告了用一种部分

地含有250mg 右旋糖和 15 mEq 磷酸钾的溶液低温保存人体肝脏长达约4小时。Bishop & Ross (1978) (Transplantation 25: 235) 报告说, 肾功能在Ross 等人(1976) (同上) 的HC 溶液中保存得最好, 而在其它可得溶液中则不能。Fischer 等人(1985) (Transplantation 39: 122) 发现一种用于低温局部缺血贮藏的新保存溶液(部分地含有110mM Na^+ 、115mM K^+ 、400 mOsmol/kg、溶剂D₂O、110mM HEPES) 在临床使用时优于其它溶液, 包括Collins、Sacks 和HC 溶液。

在用于连续器官灌注的溶液方面, Belzer 等人(1985) (Transplantation 39: 118) 报告了一种当对肾脏灌注48小时并贮藏24小时能保存肾功能的新开发溶液(部分地包含80mM 葡萄糖酸钠、22mEq/l K^+ 、128mEq/l Na^+ 、4.9mM 腺苷、10mM HEPES、3.0mM 谷胱甘肽、3.75%白蛋白, pH 7.45)。Kallerhoff 等人(1985) (Transplantation 39: 485) 考察了温度对用两种不同溶液连续灌注的器官pH 的影响(Euro-Collins: 10 mM Na^+ , 115mM K^+ , 198mM 葡萄糖, 406 mOsmol/l, pH 7.2, 20°C; HTK: 15mM Na^+ , 10mM K^+ , 2.0mM 色氨酸, 180mM 组胺酸, 30mM 甘露醇, 310 mOsmol/l, pH 7.3, 8°C)。在5°C~35°C之间的温育温度, HTK 溶液与Euro-Collins 溶液相比, 总是使pH 保持在更高的数值。

Klebanoff & Phillips (1969) (Cryobiology 6: 121) 描述了用缓冲的Ringer's 乳酸盐在7.1~16°C灌注的狗的低温无血灌注。Segall 等人(美国专利No. 4, 923, 442) 描述了一种能使实验对象及其器官保持在20°C以下温度的血浆代用品, 有四种不同溶液——一种基本溶液、一种心麻痹诱发溶液、一种心麻痹保持溶液和一种恢复溶液。基本溶液含有生理浓度的电解质, 大分子肿胀剂, 在生理pH

有效的常用生物缓冲剂，糖，和 4 ~ 5 mEq 的 K^+ 。心麻痹诱发溶液的 K^+ 浓度为 25 ~ 45mEq；心麻痹保持溶液的 K^+ 浓度为 15 ~ 45mEq；恢复溶液的 K^+ 浓度为 6 ~ 10mEq。Segall 等人（美国专利 No. 5, 130, 230）进一步描述了这个四溶液体系，其中恢复溶液含 0 ~ 10 mEq K^+ 。

发明概要

本发明涉及一种适合于使部分放血或基本上完全放血的实验对象在常温或比哺乳动物通常保持的温度低得多的温度、一般低于 37 ~ 38 °C 且高于 -2 °C 保活的单一溶液的使用方法，该溶液包含亚生理水平和 / 或生理水平的 K^+ 和 Mg^{++} ；生理 Na^+ 、 Ca^{++} 、 Cl^- ；大分子肿胀剂；有机羧酸或其盐；和糖。

本发明的溶液可在正常体温作为血浆增容剂使用。本发明的溶液也可用来使灌注实验对象和 / 或其器官在暴露于显著低温条件期间和之后保持生命或生物学完整性。本发明溶液也可以用来使温度适中的实验对象在氧浓度增加到高达 100% O_2 的加压环境中保持足以使该实验对象的血液成分能充分恢复的时间。

按照本发明的溶液可用来灌注哺乳动物实验对象并使之冷却到比该实验对象的正常温度低得多的温度。该溶液可以用来使该实验对象在显著低温下保持长的时间，通常超过 1 小时，此后该实验对象可恢复原样而无明显的持久不良效应。

本发明溶液的一个重要特性是，不需要多种溶液就能将其有效地施用于一种实验对象，达到哺乳动物实验对象的血液替代或低温保持之目的。本发明的溶液可以在血浆增容或血液替代的所有阶段使用。

本发明溶液的另一个重要特性是在所有给药步骤均有亚生理量的

K⁺ 这一特色。这个要求降低了高钾血诱发心力旺盛而导致灵长目和人体输血的风险。

本发明溶液的另一个重要特性是不存在常用的生物缓冲剂。本发明溶液中常用生物缓冲剂的不存在，赋予了使这种溶液能定期加热消毒而不会发生溶液成分降解的重要医疗优点。

本发明的溶液要求存在一种有机羧酸、其盐或短链酯。这种有机羧酸、其盐或酯是本发明溶液当用于哺乳动物中能保持生物学上适用的pH 范围的动态缓冲体系的一种成分。

本发明的溶液要求存在一种足以保持生理渗透压的大分子肿胀剂。本发明溶液中使用的大分子肿胀剂可以是蛋白或淀粉。

本发明溶液的一个优点是，它可以用于哺乳动物实验对象血液替代的所有阶段，从该实验对象血液的最初洗出直至全部或基本上全部循环血液的充分替代。

本发明的一个特色是它可以用来保持无血哺乳动物，也可用来保持用血液重新灌注期间的哺乳动物。

较好实施方案的详细描述

必须注意的是，这里和所附的权利要求书中使用的单数形式“一种”、“一个”和“这种”包括复数参照物，除非上下文另有明确的专指。因此，例如，“一种配方”的提法包括不同配方的混合物，“这种处理方法”的提法包括对技术熟练人员已知的等效步骤和方法的称谓，等等。

除非另有定义，否则这里使用的所有技术和科学术语的含义均与本发明所属技术领域的普通技术人员通常理解的相同。尽管类似或等效于这里所述的任何方法和材料都可以用于本发明的实施或试验，但

现在描述的是较好的方法和材料。这里提到的所有出版物均列为本文的参考文献，以说明和公开引用该文献所涉及的具体信息。

灵长目的红血细胞含有高浓度的钾离子 (K^+)。当灵长目血液贮存时 (从血库得到的血液实际上都是这种情况)，甚至红血细胞的低水平溶解一般也导致高浓度钾离子。这是由于钾离子从溶解的灵长目红血细胞内部释放到这些细胞周围的血浆中。因此，当输血时血液将是高钾血的。如果把血液输给有足够循环血液的患者，由于高浓度钾离子被稀释，提高的钾水平会被扩散。然而，如果灵长目血液转输到美国专利4,924,442中所述类型、含有高浓度钾的维持溶液中，则问题就更严重。这种转输血液中的钾离子浓度将不会被稀释到安全水平。结果，心力不足可能发生，而且确实经常发生。高钾血也与烧伤、事故、外科、化疗及其它身体创伤造成的组织损坏有关。先有技术指出，器官低温保存要求存在高浓度钾离子才能维持组织完整性。

按照本发明的溶液含有亚生理量的钾。因此，这种溶液能稀释贮存的转输血液中的钾离子浓度。结果，可以更容易地控制高浓度钾离子和由此引起的潜在心律失常和心力不足。含有亚生理量钾的溶液也可用于实验对象的血液替换和低温保持。所谓“亚生理量钾”系指 $0 \sim 5 \text{ mEq/l } K^+ (0 \sim 5 \text{ mM})$ ，较好是 $2 \sim 3 \text{ mEq/l } K^+ (2 \sim 3 \text{ mM})$ 。

本发明的溶液包含一种当放在水溶液中时可用来灌注需要灌注的实验对象的材料混合物。虽然这些材料可以作为一种在加热灭菌之前向其中加水的干混合物提供，但这种溶液较好以无菌水溶液的形式提供。

本发明的溶液可以作为一种单一溶液用于取出和更换实验对象血液或冷却实验对象的步骤的所有阶段。这样的阶段包括正常体温的血

液稀释或血浆增容，低体温的血液更换和交换，显著低体温的血液替代，和实验对象升温。“低体温”定义为比 $37 - 38^{\circ}\text{C}$ 正常体温低 $4 \sim 5^{\circ}\text{C}$ 。换言之，低温状况可认为始于约 $32 - 35^{\circ}\text{C}$ 的体温。

“显著低体温”定义为恰好低于凝固点（ -2°C ）至约 10°C 的体温。因此，这里使用的“低体温”（hypothermic body temperature）或“低温”（hypothermia）这一术语包含约 $-2 \sim 3^{\circ}\text{C}$ 至约 $32 \sim 35^{\circ}\text{C}$ 的体温。

本发明的溶液不包括常用生物缓冲剂。所谓“常用缓冲剂”系指一种在离体溶液中使pH 保持在一个特定范围的化合物。所谓“常用生物缓冲剂”系指一种在无细胞体系中使pH 保持在 $7 \sim 8$ 的生物学范围的化合物。常用生物缓冲剂的实例包括N-2-羟基乙基哌嗪-N'-2-羟基丙磺酸（HEPES），3-（N-吗啉代）丙磺酸（MOPS），2-（[2-羟基-1,1-二（羟甲基）乙基]氨基）乙磺酸（TES），3- [N-三（羟甲基）甲胺基]-2-羟基乙基]-1-哌嗪丙磺酸（EPPS），三（羟甲基）氨基甲烷（THAM），和三（羟甲基）甲胺基甲烷（TRIS）。常用生物缓冲剂独立于正常生物过程而发挥作用，例如，常用缓冲剂在活体中不被代谢，而且在无细胞体系中最强。

本发明的溶液使用正常生物成分来保持活体生物pH，即一个称为“动态缓冲体系”的概念。这个动态缓冲体系概念基于本发明者的如下发现：在活体中能被代谢、在生物范围内无固有缓冲能力的化合物，如乳酸盐、与其它溶液成分相互作用而在动物体内保持生物学上适当的pH，甚至在低体温和基本上无血状况下也能如此。本发明的动态缓冲体系部分地依赖于氧合作用和二氧化碳（ CO_2 ）脱除；而且允许有但不一定要有附加碳酸氢盐（ NaHCO_3 ）。本发明的动态缓冲剂没有

或基本上没有能力充当生物系统以外的缓冲剂，即一种动态缓冲剂能在活体生物范围内但不能在无细胞环境中保持pH。本发明动态缓冲剂的一种成分包括一种羧酸、其盐或酯。所谓羧酸、其盐或酯系指其一般结构式为 RCOOX 的化合物，式中R是烷基、链烯基或芳基，支链或直链的，含有1~30个碳，这些碳上可以有取代基，且较好是构成乳酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐、丙酮酸盐或其它生物代谢物的碳链的碳链之一；X是氢或钠或其它能在氧位置上连接的生物学上可兼容离子取代基，或者是含有1~4个碳的短直链或支链烷基，如 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 。

如表1中所示，一种典型的常用缓冲溶液（25mM TRIS）的初始pH约7.7，添加多达0.12ml 1.25M HCl溶液时保持7.2以上的pH。反之，HLB溶液（初始pH 7.7）的pH当添加约0.01ml 1.25M HCl溶液时下降到7.2以下。

当使用本发明溶液作为低温血液代用品时，向热灭菌溶液（HL溶液）中添加医药级无菌 NaHCO_3 。这种含有 NaHCO_3 的溶液称为HLB溶液。HLB溶液在无细胞体系中相对于常用生物缓冲剂而言的缓冲能力见表1。在有氧合作的活体条件下，在1.6~36.1℃这一范围的温度，HLB溶液显然能使pH保持在7.3以上（表2和3）。

当本发明的溶液在正常体温作为血浆增容剂使用时，无需添加 NaHCO_3 就能使活体pH保持在生物学范围。

本发明溶液中常用生物缓冲剂的不存在，赋予了使该溶液能定期热灭菌的重要医疗优点。一般地说，医用溶液较好是在用于患者之前定期进行热灭菌。这里使用的“定期热灭菌”或“热灭菌”这一术语系指涉及在压力下在15分钟内把一种溶液加热到120℃的过程，即使热和压力条件保持一段足够的时间，以杀死所有或基本上所有细菌

并使溶液中的所有或基本上所有病毒失活。这种步骤通常是在高压釜中进行的，因而也称为“高压灭菌法”。热灭菌的目的是要杀灭溶液中可能存在的传染剂。传染剂已知可耐受高达100℃的温度。技术上一一般认为，在压力下，使一种溶液加热到120℃保持约15分钟就足以保证无菌。

本发明者知道的所有移植物或血液代用品溶液都不能耐受定期热灭菌。已知的是，对pH 7.0 以上的溶液进行热灭菌会导致其它溶液成分的大量降解。

反之，本发明的溶液被设计得可进行热灭菌，且其它溶液成分如糖的降解微不足道。HL溶液在使用前进行热灭菌。当希望添加 NaHCO_3 以形成HLB 溶液时， NaHCO_3 是作为一种商业上可得的无菌1 M溶液添加到无菌HL 溶液中的。一般来说，每升HL 溶液添加5 ml 1 M NaHCO_3 溶液形成1 L HLB 溶液。然而，可以添加更多的 NaHCO_3 。

本发明的HLB 溶液或其缓冲有机酸和盐，也可以用来支持培养的离体组织和细胞。这种溶液的动态缓冲体系能使培养的组织 and 细胞保持在适当的生物pH。我们已经证明，向培养的细胞中添加乳酸盐和碳酸氢盐足以支持正常的细胞生长和形态。

本发明的溶液包括一种有机羧酸或其盐。“有机羧酸或其盐”这一术语包括能被哺乳动物代谢的任何一种羧酸或羧酸衍生物。适合用于本发明溶液的羧酸和羧酸盐实例包括乳酸盐和乳酸钠，柠檬酸盐和柠檬酸钠，葡萄糖酸盐和葡萄糖酸钠，丙酮酸盐和丙酮酸钠，琥珀酸盐和琥珀酸钠，以及乙酸盐和乙酸钠。在以下说明HLB 溶液使用的实例中，采用乳酸钠。当进行活体代谢时，乳酸盐有助于保持碳酸氢盐水平，因而起到本发明溶液动态缓冲体系中一种能保持活体生物pH 的成分的作用。

为了进一步描述本发明，按照本发明的混合物将作为一种水溶液来讨论。从本发明的以下描述，可望将使具有本门技术一般技能的人员能提供干混合物形式的混合物，并能对氯化钠和有机钠盐的数量进行必要的调整，以容纳可以作为按照本发明的干混合物的稀释剂使用的正常盐水溶液中发现的氯化钠数量。

有机钠盐的数量是以这样一种方式计算的：要考虑实验对象血液中的钠离子浓度，以及向其中添加干成分的任何一种溶液的氯化钠浓度。添加的数量要使得从该有机钠盐得到钠离子浓度足以使该溶液中的钠离子浓度达到生理上正常的血浆的钠离子浓度。因此，当考虑到从有机钠盐和氯化钠得到的钠离子的数量或浓度时，该溶液中的钠离子浓度大约就是生理上正常的血浆中发现的钠离子浓度。

这种溶液也包括一定浓度的钙、钠和镁离子，它们处于血浆中所述离子的正常生理浓度范围之内。一般地说，这些离子所希望的浓度是从溶解的钙、钠、镁氯化物盐得到的，而且钠的情况下，是从也在溶液中的溶解有机钠盐得到的。

钠离子浓度较好是在70mM~约160mM 的范围内，更好的是在约130~150mM 的范围内。

钙离子浓度在约0.5mM~4.0mM 的范围内，更好的是在约2.0mM~2.5mM 的范围内。

镁离子浓度在0~10mM 的范围内，更好的是在约0.3mM~0.45mM 的范围内。重要的是，在按照本发明的溶液中不包括过量的镁离子，因为高浓度镁离子会对心脏收缩活动的强度产生不良影响。在本发明的较好实施方案中，该溶液含有亚生理量的 Mg^{++} 。

氯离子浓度在70mM~160mM 的范围内，较好在110~125mM Cl^{-} 的范围内。

该溶液也包括一定量的简单己糖如葡萄糖、果糖和半乳糖，其中较好的是葡萄糖。在本发明的较好实施方案中，使用的是己糖，而且可以使用糖的混合物。一般来说，糖的浓度是在 2 mM~10mM 的范围内，葡萄糖的浓度较好是 5 mM。往往理想的是提高己糖的浓度，以期降低实验对象组织中的体液滞留量。因此，如有必要可将己糖的范围扩大到高达约50mM，以防止或限制受处理的实验对象发生水肿。

肿胀剂由这样的分子组成：其尺寸足以防止它们因穿过毛细管床窗口进入躯体组织间质空间进行循环而损失。作为一组，肿胀剂的实例是血浆增容剂。

人体血清白蛋白是一种用来增大血浆体积的血浆蛋白。也已知有多糖类，一般表征为可用来作为血浆增容剂的葡聚糖聚合物。一般来说，较好的是，多糖是非抗原性的。

Hetastarch (McGaw, Inc.) 是一种从几乎完全由支链淀粉组成、在 α (1 - 4) 连接的葡萄糖单元中引进了羟乙基醚基团的蜡状淀粉衍生的人造胶体。6 % (重量) Hetastarch 溶液的胶体性质接近于人体血清白蛋白的胶体性质。其它多糖衍生物也可以适合用作按照本发明的溶液中的肿胀剂，其中包括羟甲基 α (1 - 4) 或 (1 - 6) 聚合物。环糊精类是适用的肿胀剂。

可以使用 D - 葡萄糖聚合物。例如，葡聚糖，即 α (1 - 6) 键连接为主的 D - 葡萄糖，可以作为本发明溶液中的肿胀剂使用。较好是分子量范围为 30,000~50,000 道尔顿 (D) 的葡聚糖等多糖。最好的是分子量约 40,000 D 的葡聚糖 40。

高分子量多糖，例如分子量约 70,000 D 的葡聚糖 70，一般不太可取，因为它们增大了胶体溶液的粘度，因而损害了高流动速度。然而，对于一些用途来说，高分子量葡聚糖溶液之所以更可取，就在于

它们能更有效地防止组织溶胀，因为它们从毛细管漏出的速度较低。因此，这样的高分子量葡聚糖溶液尤其适用于在高压氧张力下治疗脑局部缺血，也可用于有效控制脑水肿。在这样的情况下，可能理想的是使用较高分子量多糖，例如分子量范围50,000~70,000D的葡聚糖。

当在按照本发明的溶液中使用葡聚糖40时，使用大约8%（重量）葡聚糖40，或每升水约80克（80g/l）。按照本发明的血液代用品的摩尔浓度范围为约290~330mM，较好的是摩尔浓度为约300mM。最好的是最终摩尔浓度为约298mM。

这种多糖浓度（加上钠、钙、镁的氯化物盐，有机钠盐的有机离子，和以上讨论的己糖）足以达到接近于正常人体血清的胶体渗透压，即约28mmHg。

这种溶液可以在正常体温下与氧或高压氧配合，或者有或无高压氧，作为一种循环溶液用于手术期间的实验对象。这种溶液也可以在实验对象的体温下降得显著低于实验对象的正常温度的手术期间，作为一种循环溶液用于实验对象。当温血动物实验对象暴露于外科手术期间和低温尸体器官供给过程中的低温条件时，一般来说理想的是把实验对象的血液换成本发明的冷循环溶液，或用本发明的溶液循环一段时间，旨在灌注和保持该实验对象及其器官在手术期间原样不变。

本发明的溶液可以经静脉内或经动脉内施用于放置在氧浓度增大到高达100%氧的加压气氛下的温度适中的实验对象，或施用于正在进行手术的这样一种实验对象，手术期间该对象的体温下降得显著低于该对象的正常温度，且无论是否使用高压氧。当本发明溶液施用于该实验对象并通过该实验对象循环时，心麻剂等各种药剂既可以对该实验对象的循环系统直接给药、对该实验对象的心肌直接给药，也可以添加到本发明的循环溶液中。添加这些成分是为了达到所希望的生

理效应，例如保持有规律的心脏收缩活动，停止心脏纤维性颤动，或完全抑制心肌的收缩活动。

心麻剂是使心肌收缩停止的材料，包括麻醉剂如利多卡因、普鲁卡因和奴佛卡因，以及一价阳离子如钾离子，其浓度要足以达到心肌收缩抑制。足以达到这种效果的钾离子浓度是一般超过 1.5 mM。

实验对象（在用按照本发明的溶液保持该实验对象的亚正常温度或低温保持期之后）的复苏期间，该实验对象可以重新灌注按照本发明的溶液与该实验对象保留下来或从献血者获得的血液的混合物。随着该实验对象的体温回升，要灌注全血，直至该实验对象达到可接受的血细胞比容，一般要超过约 30% 的血细胞比容。当达到一种可接受的血细胞比容时，要中断输注，并在使用普通手术步骤缝合外科伤口之后使该实验对象复苏。

一般地说，按照本发明的溶液，（当实验对象处于正常体温时）是利用静脉内管线给药的，而对于冷却的实验对象则使用泵送循环装置如离心泵、滚柱式泵、蠕动泵或其它已知且可得泵给药。这种循环装置是通过用外科办法插入适当静脉和动脉的插管与实验对象连接的。当该溶液对冷却实验对象给药时，一般是通过动脉插管给药，并通过静脉插管从实验对象体内取出和抛弃或贮存。

这种溶液可用于各种各样的外科嵌入和手术。它可用于纤弱的神经外科，在这种情况下，清楚的外科区域至关重要，减少中枢神经系统活动可能是理想的，而且可以通过对核心温度和/或脑温度已大大降低的患者进行这种手术来实现。

这种溶液可用来使（已失去大量血液，例如已失去其血液的 20%~98% 的）实验对象在氧浓度提高到大气氧分压以上至高达 100% 氧的加压环境中保持正常体温。该实验对象保持在高氧浓度下，直至该

实验对象能合成足够的血液成分而在大气压力和氧浓度下支持生命。按照本发明的溶液可以用来使实验对象在受到创伤性致命伤之后保持在低于正常体温的温度和较低的代谢速度，直至可以进行适当的支持性或矫正性外科手术。此外，这种溶液可以用来保持具有罕见血型或组织类型的患者，直至能发现适当的匹配供体和能得到代用血液单元或其它器官。

令人惊讶的是，已经发现有可能用按照本发明的溶液代替哺乳动物实验对象的基本上全部循环血液，并使该实验对象保活而无需向该实验对象重新输血。当实验对象的血细胞比容下降到 10 % 以下时，便认为替代了该哺乳动物实验对象的基本上全部循环血液。如果向该实验对象提供 O_2 ，则血细胞比容可以低于 10 %，而如果是在高压 O_2 仓内，则血细胞比容可以大大低于 10 %。按照本发明的溶液当然可以用来保持血细胞比容超过 10 % 的实验对象。

替代哺乳动物实验对象的基本上全部循环血液的手术步骤，可以让哺乳动物实验对象的体温保持在其基本正常温度来进行。此外，进行这种步骤时可以使该实验对象冷却，并使该哺乳动物实验对象的体温下降到其正常温度以下。冷却可以通过用冰浴、冰-盐浆或冷却毯使该实验对象降温来进行。该实验对象还可以通过在给该实验对象输血之前使按照本发明的溶液降温来冷却。

在按照本发明更换哺乳动物实验对象的基本上全部循环血液的步骤中，较好的是使该实验对象降温和用以下方法输液：用动脉导管把该溶液输入该实验对象的循环系统中，而用静脉导管取出该实验对象体内的血液和灌注液。以这种方式取出实验对象的基本上全部循环血液，是通过测定静脉导管排出液的血细胞比容来确定的。当该实验对象的基本上全部循环血液都取出时，就停止输液。

此外，更换实验对象的基本上全部血液的步骤也可以借助于高压 O_2 来进行。把该实验对象放在一个用 20% 以上浓度的氧、较好用 100% 氧加压的高压仓内。高压仓的压力在这一步骤的大部分时间内保持在比大气压高 0.5 磅/平方英寸至大约 2 倍大气压的压力范围内。在一种实施方案中，这一步骤是把实验对象放在高压仓内进行的，用 100% 氧使高压仓压力达到比常压高约 0.07~约 2 大气压 (0.5~30 磅/平方英寸 [psi])。如有必要，在伤口缝合期间，可使高压仓的压力降低到大气压。随后使该实验对象保持在高氧浓度的高压仓压力。将该压力逐渐降低到一个较低的压力，但仍属于高压。较好的是，使该压力在低于 10 psi 至约 5 psi 保持数小时至若干天。随后，再次使该压力逐渐降低到 1 psi 以下，较好降低到约 0.5 psi，并在这个压力再保持长达 1 天或更长的一段时间。

这种溶液也可以用来保持脑死亡刚发生后的器官供体对象的生理完整性。可以使该对象降温，取出该对象的血液，代之以一种保持在 37°C 以下的循环溶液，或同时循环按照本发明的冷溶液。通过使用这种溶液，可以保持活器官的局部缺血。通过使按照本发明的冷溶液经过处在低温的供体对象循环系统循环，且该对象放置或不放置在高压氧仓内，能使活器官保持较长的时间，从而使一个供体能有效用于潜在移植受体的器官数目达到最大值。

在本发明的另一个方面，已经发现通过使用某些加合物尤其丙二醇和高浓度葡萄糖来增强该溶液，也许有可能使供体器官尤其供体心脏的温度降低到水的冰点 (0°C) 以下，并使之以一种有用的状态即一种能保持协调心脏收缩的状态从冷冻中复原。此外，通过使用按照本发明的、有这类加合物的溶液，还有可能使完好无损的哺乳动物供体对象的温度降低到水的冰点 (0°C) 以下，并使之以一种能保持协

调心脏收缩的状态从冷冻中复原。相信也能使其它器官系统保持高度的生物完整性，即一种能保持生命的生理状态。

加入该溶液的加合物包括低分子量脂族多醇。较好是二醇，例如乙二醇、丙二醇和丁二醇。这些二醇中，特别好的是丙二醇。可能适合作为器官和器官供体对象 0°C 以下低温保存的加合物的其它多醇是低分子量聚乙二醇。本发明的这一方面较好的是，这种加合物添加到该溶液中的最终浓度范围为约 $0.2\text{M} \sim 1\text{M}$ 。具体地说，关于丙二醇，较好的范围是 $0.2\text{M} \sim 0.6\text{M}$ 。约 0.4M 丙二醇的浓度是最好的。较好的是 1, 2 - 丙二醇作为按照本发明用于低温器官和供体保存的溶液的加合物，尽管可以使用 1, 3 - 丙二醇。

可用于器官和器官供体对象 0°C 以下保存的溶液中的葡萄糖浓度范围是约 $0.6\text{M} \sim$ 约 1.4M 。较好的浓度是约 1M 葡萄糖。

可用于器官和器官供体组织低温和 0°C 以下保存的溶液中的另一种加合物是氧化三甲胺 (TMAO)。可以添加到以上刚描述的溶液中的 TMAO 的最终浓度范围为 $0.2\text{M} \sim 7\text{M}$ 。这种含有 TMAO 的溶液当输注到供体对象中时导致改善该对象的组织的生物完整性，其证据是这些组织优异的解剖保存。

以下实例旨在说明本发明及其使用，本发明者无意用它们来限制本发明。

实例

提出以下实例是为了向那些有本门技术一般技能的人员提供关于如何进行本发明的合成的完整公开与描述，无意限制本发明者视为其发明的范围。已经尽了努力来确保所使用数值（如数量、温度等）的精确度，但一些实验误差和偏差应予以考虑。除非另有所指，否则份

即为按重量计的份，分子量为重均分子量，温度用摄氏度表示，压力是大气压或接近于大气压。

实例 1 溶液制备

制备 1 0 L 溶液 A。向一适当容器中添加 80g/l (或 10L 800g) 无热原葡聚糖 4 0 (Pharmachem 或 Pharmacia)。添加去离子水，使体积达到 6 ~ 9 升。通过摇荡使该葡聚糖 4 0 完全溶解。可以按任何顺序添加下列成分，要使每一种成分在添加下一种成分之前完全溶解。可以从化学品供应商店得到下列试剂；在本实例中，所列的试剂是从 Sigma 公司得到的：NaCl (5.2g/l)，CaCl₂ (0.29g/l)，MgCl₂ (0.40g/l)，葡萄糖 (0.9g/l)，Tris (3.03g/l)，和葡糖酸钠 (6.54g/l)。

其次，通过滴加 0.25M HCl，同时摇荡和用 pH 计监测，在室温使该溶液达到 pH 7.80。然后进一步添加去离子水，使该溶液达到其所希望的最终体积 (即 1 0 L)。

最后，通过一个 0.24 μ 过滤器 (Gelman, Whatman, 或理想地可以使用 Pall 过滤器单元)，将该溶液泵送到无菌容器或袋中。这种瓶装并加盖的溶液贮存在冰上，直至使用。

然后，这种溶液可以在适合于制备无菌 IV 溶液的容器中，在适当条件下冻干之后，制备成无菌干粉。

制备溶液 HL。为了制备 5 0 L 溶液 L (BioTime Hextend™-乳酸盐)，把 3.0kg 高分子量 Hetastarch (HES) 添加到 2 5 L 水中。添加足够的 NaCl，使最终 NaCl 浓度达到 6.72g/l。搅拌该溶液，直至 HES 和 NaCl 全部溶解。如有必要，可将该溶液加热到 5 0 °C。使总体积达到 4 5 L，添加下列成分，并搅拌直至完全溶解：CaCl₂ ·

2 H₂ O 18.5 g ; MgCl₂ · 6 H₂ O 4.5 g ; KCl 11.0 g ; 葡萄糖45.0g ; 和4.03ml 60% (重量) 乳酸钠溶液。使该溶液达到 5 0 L 的体积。过滤该溶液, 以除去不溶解的物质, 并放进可高压灭菌的容器中, 在一台高压灭菌器中, 在 1 5 分钟内加热到120℃的温度。

溶液HLB。向每升热灭菌的HL 溶液中添加 5 ml 1M 医药级NaHCO₃ 无菌溶液, 形成HLB 溶液(BioTime Hextend™- 乳酸盐- 碳酸氢盐)。

溶液L。溶液L的制备如以上对HL 溶液所述, 但不添加 Hetastarch (HES)。

实例 2 大田鼠在冰冷换血 1 小时后复苏

1 只大约 1 月龄的41 g 雌性大田鼠 (Mesocricetus auratus) 肌内注射0.04ml Vetalar, 即一种100mg/ml 的氯胺酮麻醉剂溶液。把该动物埋在碎冰中降温, 直至其直肠温度是 1 0 °C。把该动物从碎冰中取出, 腹侧朝上放置在一张特制的手术台上, 其摆放位置要使得能在外科手术期间通过一台立体显微镜观察到该动物的特定部位。将其四肢牢牢固定, 给该动物配备心电图引线和直肠遥测温度计探针。

在右腹股沟区做一个切口, 用充满溶液A的特制微套管先插入右股骨静脉, 然后插入右股骨动脉。插套管之后, 通过静脉套管给该动物注射0.02ml 肝素 (1000U/ml) 在溶液A中的溶液, 然后加盖。

在右股骨动脉插管之后, 把该套管连接到与安装在外科手术台上的活塞相连的无菌塑料管的路厄注射器类端段。该活塞与另一个管套连接, 后者又连接到一个通过滚柱式泵头部的更宽、更厚、更顺从的管段。这个更宽的管段的末端包含一根用于从贮液槽中汲取液体的管子。这根在本文中称为“吸管” (pick-up) 的用于从贮液槽中汲取液体的管子配备有一个 1 8 号皮下注射针头的路厄注射器末端。这根

“吸管”覆盖了用小橡胶“O”型环固定的血液过滤材料。该“吸管”插入一个溶液A的贮液槽中，该溶液包含在一根埋在碎冰中的离心管中。向该溶液（15ml）中添加0.06ml 1 M KCl，得到一种约4 mM KCl的摩尔浓度。这根管线用活塞封闭，以防止血液倒流进动脉套管中。

该大田鼠周围堆上碎冰，降温至4℃。然后向该活塞中注入0.2ml 1 M KCl，打开活塞，使注入的溶液能流进与动脉套管连接的管线中，并从这里流进该动物的股骨动脉中。该大田鼠的心动停止。让该动物进一步冷却，并通过动脉套管输注8 ml 溶液A 4 mM KCl。从静脉套管收集含有该大田鼠大部分血液的排出液。在血细胞比容降低到5以下之后，使滚柱式泵关闭6 7分钟。

然后，通过动脉套管给大田鼠输注8 ml 无KCl的溶液A，然后输注8 ml 用心脏穿刺法从其它大田鼠取出的、加了肝素的血液。从静脉套管收集等量的排出液。在血细胞比容超过40%之后，停止全血输注，取出套管。

该大田鼠用一盏台灯升温，直至它对刺激有反应。取下套管，把结扎的血管打开，缝合切口。进一步使体温继续回升。该动物完全复苏，实验后继续活数周。

实例3 零度以下贮藏之后的心脏保存

一只断食（过夜）的40 g 雌性大田鼠肌内注射0.02ml 氯胺酮麻醉剂（100mg/ml）。将该大田鼠埋入碎冰中，直至它的体温降低到+4 4℃。然后，把它放在一张手术台上，装上心电图引线和直肠温度探针。用外科手术法使颈动脉和颈静脉暴露出来，同时使该动物的体温保持在10~14℃之间，把套管插入动脉和静脉中。把动脉套管接到与一台蠕动泵连接的管子上。这段管子充满溶液A，此外还含

有 20 mM KCl。静脉套管封口，直至用碎冰和设定在 -1.0°C 的控温手术台使该动物的体温降至 5°C 。

该动物当体温降低到 10°C 以下时自己停止呼吸。启动 100% O_2 呼吸作用。在 5°C 时去掉静脉套管封口，以约 $0.3\text{ml}/\text{分}$ 的流量率向动脉中泵入 3.5ml 溶液 A。然后，灌注 4.5ml 由下列组成的低温保护溶液：溶液 A，外加 4 mM KCl、1.0M 葡萄糖、4% 丙二醇（即 1.8 g 葡萄糖 + 0.4 g 丙二醇 / 10ml 溶液）。输液期间，收集静脉排出液。输液期间使该动物的温度逐渐降低到 0°C 。输液开始后使呼吸中断 5 分钟。此时，已取出该实验对象血液体积的 30% 以上。心脏继续跳动，直至它最终停止。在输注上一段所述的低温保护溶液之后，把该动物放在一种 0°C 以下的 NaCl 浓浆状（0.6M）溶液中，将其放在冷冻机中过夜。

该冷冻机温度保持在平均 -5°C 。在该动物放进冷冻机中之后 15 分钟，它的直肠温度从 0°C 下降到 -1.0°C 。12 小时后，该动物的直肠温度是 -2.5°C 。然后，在一台 Quasar 商用厨房微波炉中，使用 7 秒脉冲并设定在升温档上，使该动物升温至约 2.5°C 的温度。脉冲发生间隔 1 分钟。需要 18 次脉冲才能使该动物解冻。

再次把该动物放在外科手术台上，装上心电图引线和直肠遥测温度计探针。以大约 $0.2\text{ml}/\text{分}$ 的流量率，向颈动脉中输注 3.5ml 溶液 A。使该动物的体温保持在 5°C 以下。然后给该大鼠输注全血，逐渐升温。

在输注 2 ml 血液且该动物的温度爬升至 13°C 之后，检测到有节律的心电图信号。随着继续输注和升温，信号幅度增大，其频率也增加。在输注 5.5ml 血液且该动物的温度达到 25°C 之后，打开该动物的胸腔，观察到其心脏不断跳动。

实例 4 高压仓内血液的合成溶液代用品

一只事先断食过夜的40 g 大田鼠肌肉内注射0.03ml 氯胺酮 (100mg /ml)。把该大田鼠放在碎冰中，直至它的体温下降到 1.5°C 以下。把该大田鼠从碎冰中取出，腹侧朝上放在一个控温手术台上，定位在一台立体显微镜下以便进行微型外科手术。使该大田鼠的温度保持在 $1.2 \sim 1.5^{\circ}\text{C}$ 。

在右腹股沟区做一个切口，使右股骨静脉和动脉暴露出来。给股骨静脉插上套管，注入0.1ml 肝素 (1000U /ml)，将该套管封口以防止出血。

然后给右股骨动脉插上套管，并将此套管直接连接到充满溶液 A 的导管上。该导管穿过一台蠕动泵的头部。灌注少量 (约0.3ml) 该溶液，以保持该动脉套管缺血。静脉套管和动脉套管都用外科缝线固定到该动物上。

将动脉套管封口，把该动物移到高压氧 (HBO) 仓内的手术台上。把温度探针插进直肠中。

该动脉套管连接到一根导管上，该导管穿过一台蠕动泵连接到一个贮液槽中。该导管和贮液槽充满含有 4 mM KCl 的溶液 A。

去掉静脉套管上的封口，关闭高压氧仓，加压。启动该蠕动泵，给该动物输液，置换其大部分血液。让这种血液作为静脉排出液从该动物体内排出。最终仓压是比常压高1.5atm，保持恒定。该动物的输液流量率是大约0.3ml /分。利用使该大田鼠定位在高压氧仓内的控温手术台，使该大田鼠保持在 $1.4 \sim 1.6^{\circ}\text{C}$ 之间。

在输液期间的这一段时间内，始终保持心脏活动和呼吸。在向该大田鼠输注 1.5 ml 额外含有 4 mM KCl 的溶液 A 来置换血液之后，使高压氧仓逐渐减压。

然后打开高压氧仓，采集血细胞比容样品。血细胞比容是 5 %。将静脉套管和动脉套管封口，关闭高压氧仓，并增压至常压以上 1.5atm。

该动物在取出其血液之后 4 小时内，在高压氧仓内继续自行呼吸。在此时间之后，使高压氧仓逐渐减压。与此同时，使该动物冷却至 12℃。打开高压氧仓，把该动物移到另一张手术台上。把冰放在该动物身上，以 0.2ml / 分的流量率给该动物输注全血，并让溶液作为静脉排出液排出。

在输注 1 ml 血液之后，去掉冰。该大鼠的体温在 4℃。然后使该动物逐渐升温，同时通过连续输血使血细胞比容上升。

在 1 ml 血液返回体内之后启动人工呼吸。该动物的心脏从未停止过节律性跳动。在 21℃，该动物稳定地自行呼吸。停止人工呼吸，继续升温和输血，直至该动物的温度达到 25℃。血细胞比容实测为 40 %。停止输血，取下套管，结扎血管，缝合外科切口。

手术后一小时，该动物变得非常活跃和机敏。实验后四小时，该动物开始饮食。上述手术完成后 24 小时，就姿态和行为而言，它显得完全正常，而且在实验之后继续活数周。

实例 5 大鼠的冰冷血液替代

一只大约 1 月龄的 46 g 大鼠肌肉内注射 0.02ml Vetalar (一种 100mg / ml 氯胺酮溶液)。该动物用碎冰包围，直至其直肠温度为约 12℃。然后，把该动物从碎冰中取出，腹侧朝上放在一张专为使该动物保持冷却而设计的手术台上，置于一台立体显微镜之下。固定其四肢，给该动物装上心电图引线和直肠遥测温度计探针。

在右腹股沟区做一个切口，把一根套管插入右股骨静脉，通过该

套管给该动物注入0.02ml 肝素溶液 (250U / ml)，然后将该套管封口。然后，给右股骨动脉插入套管。该套管连接到一个有路厄注射器尖端的塑料管段上，该导管通过一台蠕动式滚柱泵连接到一个盛放含0.05M 葡萄糖的溶液A的贮液槽。该导管的末端插一个18 G皮下注射针头，在针头中心部位用一个橡胶“O”型环固定一种网状血液滤料。启动泵，使贮液槽中的流体通过导管泵送到该动物的股骨动脉中。当该动物的温度下降到9℃以下时，开始用100%氧换气（每分钟吸20次）。让该动物进一步冷却到直肠温度为4℃，将0.1ml 0.2M KCl 注入插进股骨静脉的24 G血管导管（angiocath）中。这种注射使心脏停搏，心电图信号消失。启动泵，使溶液A以大约0.2ml / 分输注到动脉中，同时收集静脉排出液。在输液期间，该动物的温度下降到1℃左右。在给该动物输注4 ml 溶液之后，将泵关闭，把该动物埋在碎冰中，使循环停止2小时。然后给该动物输注约7 ml 全血（从其它大田鼠血液供体采集），同时用一盏台灯使该动物逐渐升温。输血期间收集静脉排出液。静脉排出液的收集体积与泵入动脉的体积相同。在10℃，在该动物保持心脏停搏3小时11分钟之后，当监测心电图信号时首次观察到心脏跳动。然后，开始用100%氧给该动物换气（每分钟吸6次）。随着该动物进一步升温 and 心脏搏动变得更强、更快，使换气速度增加到约每分钟吸15次。当该动物的温度达到28℃以上时，该动物开始自行呼吸并能做出反应。停止输血（血细胞比容读数为44%），取下套管，缝合外科切口。这只大田鼠在实验后又显然正常健康地活了很多周。

实例6 冰冷大田鼠心脏搏动的恢复

一只断食（过夜）的45 g 雌性大田鼠肌肉内注射0.03ml 氯胺酮麻

醉剂 (100mg/ml)。该大鼠埋入碎冰中, 直至其体温降低到大约 14℃。然后把该动物放在一张外科手术台上, 装上心电图引线和直肠温度探针。利用立体显微镜, 用外科手术法使颈动脉和颈静脉暴露出来。使该动物的体温保持在 10~14℃之间。把套管插入颈动脉和颈静脉中。把动脉套管连接到一根导管上, 该导管通过一台蠕动泵连接到一个含有低温保护溶液的贮液槽, 该溶液由额外含有11mM KCl、1.0M 葡萄糖和 4% 丙二醇的溶液 A 组成。静脉套管初始时封口, 直至该动物的体温利用碎冰和设定在 -1.0℃附近的调温手术台降低到 5℃。

随着保温下降到 10℃以下, 该动物停止自行呼吸。此时, 用 100% 氧以大约每分钟吸 15 次的速度给该动物换气。当该动物的温度下降到 5℃时, 去掉静脉封口, 启动泵, 使流量率为约 0.20ml/分。21 分钟后该动物的心脏停止搏动, 输液开始后 5 分钟停止通气。输液期间, 血液作为静脉排出液收集。给该动物灌注大约 4ml 低温保护溶液 A。然后, 该动物用温度为 -2.0℃的盐-冰浆状物包围起来。把盛放该浆状物和动物的容器放进一个设定在 -5.0℃的控温浴内。清晨 (动物放进该冷却浴中之后 18 小时) 该动物的直肠温度逐渐降低到 -3.4℃。将该容器从冷却浴中取出。浆状物冻成固体。用冰冷水使之融化。当去掉“浆状物”时, 该动物给人以冷冻的感觉。然后把该动物放进一台厨房用微波炉中。把微波炉设定在 7 秒升温挡上。在 20 分钟的时间内, 使该动物暴露于大约 20 个 7 秒加热周期。这使该动物解冻, 并使其直肠温度上升至约 2℃。

再次把该动物放在手术台上, 向该动物的颈动脉中输注溶液 A。这种低温保护溶液以静脉排出物形式收集。以 0.15ml/分的流量率向该动物输注约 3ml 溶液 A。然后以相同的流量率输注从大鼠血液

供体采集的血液。在向该大鼠的动脉中输注 2 ml 血液之后，用一盏台灯使该大鼠缓缓升温。随着继续输血和升温，该动物的温度上升到 15℃ 以上，记录到强的节律性心电图信号。当做外科胸廓切开术时，可以观察到实际的心搏。

实例 7 在高压氧仓中作为血液代用品的合成溶液

一只（断食过夜的）43 g 雌性大鼠肌肉内注射 0.02 ml 氯胺酮（100 mg/ml）。把该大鼠放在碎冰中，直至其体温下降到约 14℃。然后把该大鼠腹侧朝上放在一张控温手术台上，定位于一台立体显微镜下，以便进行显微外科手术。使该大鼠的温度保持在 12 ~ 15℃ 之间。在右腹股沟区做一个切口之后，使右股骨静脉和动脉暴露出来。给该股骨静脉插入套管，注入 0.1 ml 肝素（250 U/ml），将套管末端封闭以防止出血。然后，给右股骨动脉插入套管，把该套管连接到导管上，该导管通过一台蠕动泵连接到一个充满溶液 A 的贮液槽中。灌注少量（即 0.2 ml）该溶液，以保持动脉管线中没有血液。把静脉套管和动脉套管固定在动物身上。将动脉套管封口，把该动物转移到高压氧仓的调温台上。使该动物的直肠实测温度保持在 13 ~ 18℃ 之间。使该大鼠保持在这一温度范围的目的是要保持该动物的低活动，同时确保该动物能自行呼吸并能对刺激做出反射性反应。

把动脉套管连接到导管上，该导管在高压氧仓外面通过一台蠕动泵连接到一个（在高压氧仓里面）含有溶液 A 和 2.5 mM KCl 的贮液槽中。去掉静脉套管的封口，启动泵，使流量率为约 0.2 ml/分。随着该溶液输注到该动物体内，收集静脉排出物（血液）。将高压氧仓迅速关闭，并逐渐加压至 20 ~ 24 psi（100% 氧）。在加压下输液大约 1 小时后，用大约 1 小时的时间使高压氧仓逐渐减压。停止输液。

共约 1.3 ml 溶液输注到该动物体内。在为测定血细胞比容而采集静脉排出物样品之后，给这些套管封口。再次把该动物放在外科手术台上，拔出套管，缝合伤口。在此期间该动物显示出某种非常微小的反射性活动，尽管该动物有少许血液和呼吸室内空气。迅速将该动物放进高压氧仓内的一个盒中，使高压氧仓逐渐加压至大约 20 psi。在仓内放置食物和水供该大鼠饮食。用一盏加热灯使高压氧仓和动物升温。（用 1 小时时间）使仓内的压力逐渐降低至 5 psi。在一小时内该动物的活动增加，此后便变得十分活跃。将该动物在 5 psi 的仓内保持约 16 小时。然后使压力逐渐降低至 0.5 psi（100% 氧），并在该压力保持 24 小时。然后将该动物从仓中取出，放进一个正常的笼中。实验后很多周，该动物继续显示出完全正常。

实例 8 使用有氯化钾增强的溶液 A 代替灵长类动物的血液

在本实例中，一只獾狒种（Papio anubis）的 8 kg 幼年雄性狒狒肌肉内注射 60 mg 氯胺酮。将一根 22 G × 1¼ 英寸导管插入右头侧静脉中，静脉内注射 3 ml 2.5% 喷妥散（pentothal）。然后给该动物装配一根气管内导管，放置在一张外科手术台上，并通入 Flether 在 100% O₂ 中的一种 0.7~2.5% 混合物，以能观察到该动物的活动为准。双眼涂上用于保护的 lacrylube。

换气器设定在 18 次呼吸/分钟（bpm），其冲程体积是 240 ml，吸气/呼气比是 3:7%。气道压力保持在大约 10 mmHg，通过在一台阴极射线管（CRT）或长条记录纸记录仪上考察气道压力踪迹，校验每次呼吸输送的体积。用计算机在线监测气道压力。

给该动物剃毛，开始进行静脉内生理乳酸盐滴注。流量率为 1~3 ml/分，以能观察到该动物动脉血压的速率为准。进行土霉素给药。

体外回路由一台血液氧合器、血液贮槽和泵组成，构建该回路时在尽可能靠近该动物的地方增加一个次级在线热交换器。它进一步配备一个外部冰水槽。这个冰水槽有一台泵，以便给该氧合器的内装热交换器和次级热交换器供应循环冰水。与血液或血液代用品接触的管道全部是无菌的。氧合器液槽和回路灌装 2 升溶液 A。

KCl (4 ml 2.0M) 添加到氧合器液槽和旁通回路的 2 L 溶液 A 中，得到 KCl 浓度为 4 mM。一根用于监测动脉压力的 5 F NIH 导管插入左臂动脉中。此导管上接一个三通阀（以便能在整个手术步骤期间每 10 - 60 分钟采集一次动脉血样）。测定每个样品中的血液气体、pH、K⁺ 和血细胞比容，在一些情况下也要测定电解质和酶。将此导管连到一个压力换能器上。该换能器与一台计算机连接，以监测中枢动脉压力（CAP）。其它温度和压力参数也用同一台计算机进行在线测定。

把一根 6 F NIH 导管插入左臂静脉的末梢分支中，使得能用计算机监测中枢静脉压力（CVP）。执行胸廓切开术，把一根 6 F 冠状导管插入左心房，以监测左心房压力。

把一根 10 F 动脉套管插左股骨动脉中，并把一根 16 F 静脉套管插入左股骨静脉中。静脉内引进甲泼尼松龙（80mg）。插入一根食管导管，给药 3 ml Maalox。该食管导管装上一个热敏电阻探针，用于记录深食管温度。

由于广泛的外科手术步骤，要让狒狒麻醉约 5 小时。在装上心电图引线之后，把该动物放进一个网状悬带，坠入一个保温冰盒中。然后把它埋入碎冰中。在碎冰中降温 1 小时 6 分钟后，体温下降到 23℃。以 6 ml/hr 的速度开始硝普盐（25mg 硝普化钠在 500ml 5% 右旋糖水溶液中的溶液）输注。17 分钟后温度已下降至 21℃，此时对该

动物实施分流术。

与此同时，以静脉排出物形式，从该獬取出200ml 全血。松开那些使猴子的循环系统与旁通回路隔离的夹子，使2L 添加了2 ml 2 M KCl（最终浓度为2 mM KCl）的溶液A能替代该动物的血液。此后，通过15ml 2 M KCl 的静脉内给药，使其心脏停搏。

使血液—血液代用品混合物作为静脉排出物不断排出，直至4 L 溶液A（其中添加了22ml 2 M KCl）置换了循环溶液。低温血液替代50分钟后，该灵长类动物的温度已下降至3℃。经由该动物的流动显然是良好的，肺动脉楔压随股骨动脉输液而升高的趋势微不足道。这种增大流量的原因，以及相当快的温度下降步伐，可能与硝普盐的使用有关，而且也可能与降温期间麻醉剂用量相当节省有关，这导致该动物在被降温时仍然较为活跃。

在血液替代之后，使该动物循环停顿1小时40分钟。在停顿期结束时，把2L 冰冷溶液A加进该回路中，替换作为静脉排出物排出的2L。记录到的最低体温是2.8℃。然后开始重新升温。升温13分钟后，该动物的体温达到10℃，向该回路中添加800ml 血液—血液代用品的1：3混合物、然后添加450ml 1：1混合物、最后添加约1L 全血，以置换溶液A。

在血液引进该动物后，立即检测血细胞比容。在此后的1小时22分钟内，静脉内引进40ml NaHCO_3 。开始进行机械换气，并以30ml/hr 的速度实施多巴胺滴注（200mg 的250ml 溶液）。也向静脉内注射 CaCl_2 （50mg）。大约1小时后体温上升至接近于正常，此时使该动物脱离旁通，并实施全血滴注。该动物的血液气体和血压均稳定在正常范围内。

一小时后，取下套管。由于在胸廓切开术之后该动物已被插入导

管，因而决定不做该动物长期后外科管理的尝试，因为有在治疗潜在胸腔感染的同时限制野性狒狒活动的行为问题。当在又过一小时后停止换气时，该动物显示出濒临死亡的痛苦挣扎，逐渐进入心脏停搏状态。由于这只猴子的血压和血液气体已经稳定，因而显而易见，该动物在 10°C 以下（深食管温度）血液替代 2 小时 30 分钟后有生存潜力。

实例 9 无增强的溶液 A 用于灵长类动物血液替代

在本实例中，一只獼狒种（Papio anubis）的 8 kg 幼年雄性狒狒被降温并在 10°C 以下血液替代 1 小时 22 分钟。在降温和换血之前，将一根 4 F 60cm Swan-Ganz 箭头楔形导管通过右股骨静脉插入肺动脉。这使得无需做胸廓切开术就能测量肺动脉楔压。

使该动物保持麻醉状态，当温度下降到 28°C 时使用硝普盐，这改善了经由旁通（分流）回路的流动。尽管整个手术步骤进展顺序，但在升温期间引进柠檬酸盐化血液之后静脉内注射 50 mg 氯化钙造成了大血块形成和实验终止。此时心血管系统中没有肝素。

步骤。给狒狒肌肉内注射 70mg 氯胺酮。将一根 $22\text{G} \times 1\frac{1}{4}$ 英寸导管插入左头侧静脉，并向静脉内注射 3 ml 2.5% 喷妥撒。然后给这只无尾猿装上气管内导管，移到 X-射线室。把它放在一张 X-射线台上，用异氟烷（Flether）在 100% O_2 中的 1% 混合物换气，并把一根 4 F 60cm 箭头楔形导管通过右股骨静脉植入肺动脉中。

换气器设定在 20bpm，其冲程体积为 200ml，吸气/呼气比是 37%。气道压力保持在大约 10 mmHg，通过在一台阴极射线管（CRT）或长条记录纸记录仪上考察气道压力踪迹，校验每次呼吸输送的体积。气道压力用计算机进行在线监测。

给该动物剃毛，开始进行静脉内 $1 \sim 3 \text{ ml} / \text{分}$ 生理乳酸盐滴注，滴注速度以能观察到该动物的动脉血压为准。

体外循环回路如上一个实例中所述。氧合器液槽和回路灌注 2 L 溶液 A。

将一根 20 G 体液比重计导管插入右股骨静脉中，使得能进行计算机化的中枢静脉压力 (CVP) 监测。管线上装配一个三通阀，使得能采样。右臂动脉插入一根 20 G 体液比重计导管，用于监测动脉压力。此导管上连接一个三通阀 (使得能在整个手术步骤期间每 $10 \sim 60$ 分钟采集一次动脉血样)。测定每个样品中的血液气体、 pH 、 K^+ 和血细胞比容，在一些情况下也测定电解质和酶。该导管连接到一台压力换能器上。该换能器与一台计算机连接，以监测中枢动脉压力 (CAP)。其它温度和压力参数也用同一台计算机在线测定。

把一根 14 F 静脉套管插入左股骨静脉，一根 10 F 动脉套管插入左股骨动脉。在植入静脉套管后，向静脉内注射 2.6 ml 肝素。插入一根食管导管，给药 3 ml Maalox。该食管导管配备一个热敏电阻探针，用于记录深食管温度。静脉内引进甲泼尼松龙 (80 mg)。双眼涂上用于保护的 lacrylube。当该动物达到轻度麻醉时，静脉内注入 1 ml 喷妥撒。

安装心电图引线，把该动物放进一个网状悬带，坠入一个保温冰盒中。然后把它埋入碎冰中。在碎冰中降温 29 分钟后，体温下降至 28°C 。使该动物保持轻度麻醉，当体温下降到 30°C 以下时撤去 Flether。开始硝普盐 (硝普化钠 - 25 mg 在 500 ml 5% 右旋糖水溶液中的溶液) 输注，初始速度为 $20 \text{ ml} / \text{hr}$ ，然后提高到 $40 \text{ ml} / \text{hr}$ 。在随后的 20 分钟内，随着血压和体温的下降，硝普盐滴注时续时断。当 27 分钟后对该动物进行分流且体温已下降到 23°C 时，最终停止输

注。此时，松开那些使这只无尾猿的循环系统与旁通回路隔离的夹子，让 2 L 溶液 A 能替代该动物的血液，使全血和稀释血作为静脉排出物排出，存放起来供复苏用。此后，用静脉内给药 10ml 2 M KCl 使其心脏停搏。

血液—血液代用品混合物作为静脉排出物不断排出，直至 4 L 溶液 A 替代了循环溶液。低温血液替代 39 分钟之后，该灵长类动物的温度下降到 4℃ 以下。经由该动物的流动是快速的。容易测定的肺循环系统压力表明该循环是良好的，而且楔压导管安置状况良好。

在 10℃ 以下血液替代 50 分钟以后，记录到的最低体温是 2.9℃。然后开始重新升温，升温 28 分钟后，该动物的体温达到 10℃，向该回路中添加 750ml 全血，以替代溶液 A。

在给该动物重新输血之后 8 分钟检测血细胞比容。在随后 30 分钟内，在该动物升温的同时，静脉内引进 10ml NaHCO_3 ，也在静脉内引进 CaCl_2 (50mg) 以及 80mg 甲泼尼龙。在添加 CaCl_2 的少数几分钟内，出现了大血块形成。可以认为，用柠檬酸盐抗凝的血液之所以结块是由于添加 CaCl_2 的结果。然后停止实验。

在这个实验中，血液代用品通过该动物和旁通回路的流量率显然是高的，而左动脉压力仍保持可接受的低压。可认为对此结果有贡献的因素是使用硝普盐，以及在降温过程期间保持轻度麻醉状态。在血液重新引进该动物体内之前将向其中添加 1~2 ml 肝素。相信给这种重新引进的血液加肝素将消除那种造成此次实验意外终止的大血块形成。

实例 10 用溶液 HLB 进行狗的冰冷血液替代

对一只 25~30 kg 的狗进行部分心肺分流。用表里冷却法使

狗的体温降低到冰点附近（ $1 \sim 3^{\circ}\text{C}$ ）。用实例 1 中所述的溶液HLB低温血液代用品更换该狗的血液。保留血液，用于体温回升期间输注。使该动物的体温降低到冰点附近（ 4°C 以下），然后重新升温。用血液替换该血液代用品同时升温，使该动物复苏。

准备。借助于右桡骨静脉给该狗插入导管，静脉内注射喷妥撒，然后装上气管内导管，用异荧烷（或Flether）在100% O_2 中的混合物换气。以能观察到该狗动脉血压的速度（约 40 ml/hr ，静脉内）开始生理乳酸盐滴注。把该狗放在一条用重复循环冰水冷却的冷却毯上。给右颈动脉插上导管，使得能进行血压（CAP）监测，并在管线上加一个三通阀，使得能在整个手术步骤期间每 $10 \sim 60$ 分钟采集一次动脉血样。插入一根用于收集尿液的foley 导管，并在整个手术步骤期间测定尿液体积。通过右颈静脉或右股骨静脉植入一根双腔 7 F Swan Ganz 楔形导管，使之通过右心室插入肺动脉。利用远端管口测定肺楔压（PAW），用近端管口测定中枢静脉压力（CVP）。（如有必要，可用一根插入臂静脉之一的导管测定CVP）。把左股动脉和静脉隔离开，准备插入套管。给该动物注入肝素（约5,000U）。把一根Biomedicus 静脉返回式套管（15 - 19 F）插入股静脉中，一根Biomedicus 动脉套管（12 - 15 F）插入股动脉中。每 45 分钟测定一次活化（血液）凝块时间（ACT）（直至血液替代），调节肝素，使得它能保持400 秒以上。把一套热电偶附着在一根食管导管中间部位附近，将此装置插入，使得该导管能进入胃部。第二套热电偶插入直肠。安装心电图引线。用静脉内注射法加80mg Solu-Delta-Cortef（Upjohn，兽医用泼尼松龙琥珀酸钠）。双眼涂上土霉素（或Lacrylube），并通过食管导管加入DiGel（或Maalox，20ml）。

测量。测定每个血样中的血液气体、pH 和血细胞比容，在一些

情况下也测定电解质、酶及其它化学性质。监测食管和直肠温度以及动脉流入和静脉返回血液温度。监测CAP、PAW、CVP、心电图和气道压力。温度应当用数字显示，并作为时间的函数储存在一个计算机化的数据采集系统中。压力和心电图应显示为实时波形或数值式数据，并存入计算机中。

分流回路组成部分。该回路包括一台Biomedicus 离心式血泵和流量计，一台有内装热交换器的Terumo 中空纤维膜氧合器，有过滤器的Shiley 硬壳静脉贮液槽，和放置在离该动物尽可能近、有整体泡阱的次级热交换器（Electromedics）。排液管段位于靠近静脉液槽入口附近，末端接一个校验阀。这使得能进行快速和高效率的血液／血液代用品交换。有一个动－静脉分路段，使得不依靠旁通时也能循环。

这个静脉液槽可以通过“快速启闭”口从1 L 分液漏斗注入液体，也可以通过心脏切开术切口之一从双输液袋注入液体。从氧合器到动脉套管的动脉管线和动静脉（A－V）分路由1/4" 管构成；静脉返回管、排液管和泵头管线由3/8" 管构成。在那些可能发生严重弯曲的管段，使用厚壁管或用“螺旋包扎”法把管子系紧。

患者回路是双重包裹的，整个回路（没有工厂消毒的液槽、次级热交换器和氧合器）分六个基本部分（泵头、流量计部分、中心分流回路、漏斗、输液管线和气体过滤器管线）用环氧乙烷气体灭菌。

分流回路支撑。使用从两个10加仑保温液槽之一泵来的冰水冷却氧合器和次级热交换器。另一个液槽供应冷却毯。外科手术开始时，让冰水通过冷却毯循环。在分流开始时，让室温水通过回路热交换器循环。

通过向液槽中加冰使温度缓慢降低，加冰量要足以保持食管温度

和血液流温度之间 $7 - 10^{\circ}\text{C}$ 的温差。在血液替代（即达到血细胞比容小于约 4%）之后，开始全冰水流动。

在体温回升时，从液槽中去掉冰，启动加热器。升温液流的温度通过加热器恒温器的手动调节，限制到最高比静脉返回温度高 10°C 。

氧合器供给无菌、过滤的 100% O_2 。

血液替代。该回路注入 2 L 溶液 L（实例 1），并通过动静脉分路重复循环，以确保温度—气体平衡。把套管连接到分流回路的动脉管线和静脉管线上，仍将这些管线夹紧。把冷却毯裹在患者身上，对其进行体表降温，直至达到深食管温度为 35°C 。

去掉夹子，开始用室温（约 25°C ）的溶液 L 稀释血液流进行分流。冷却开始时，停止气体麻醉，并给这只狗施用 2.5% 喷妥撒。

使血液流逐渐冷却，直至该动物的食管温度为 20°C ，此时夹紧液槽入口处的静脉返回管线并从排液管段排液，同时灌注溶液 L，使血液排出。在这种交换期间，向静脉液槽中再添加 2 L 溶液 L，当溶液 L 的水平下降到 250ml 时，分批添加大约 6 L HLB，直至血液全部排出（血细胞比容（HCT）低于 2%，用肉眼观察）。大约 4 L 血液／血液代用品混合物收集在无菌瓶中，保留以备重新输注。非常稀的血液混合物（约 5 1/2 L）抛弃。

在已交换 4 L 之后（即添加 2 L 溶液 L 和 2 L 溶液 HLB 之后），通过次极热交换器上的阀门注射 20 毫当量（meq）KCl，使心脏停搏。在此交换期间，调节入流量，使得 PAW 保持在 5 mmHg 以下，流出速率等于流入速率，即尽可能接近于等速率换血（isovolemia）。在交换结束时，最终液槽水平将是大约 500ml，PAW 低于 5 mmHg，CVP 低于 5 mmHg。调节流量，使得能保持等速率换血（恒定的液槽水平和上述压力水平，即 $\text{PAW} < 5 \text{ mmHg}$ ， $\text{CVP} < 5 \text{ mmHg}$ ）。

当血液几乎全部排出（HCT 低于 4%，用肉眼观察）时，可以使冷却液流降低到冰水温度（给液槽加冰），使这只狗迅速冷却到其最低温度。如果在冷输注期间的任何时刻观察到HCT 上升，可以通过用以上所述方法与 2～4 L 溶液HLB 交换，使血液混合物排出。

在整个手术步骤期间，采集动脉血样并监测血液气体、pH、HCT，在一些情况下还监测电解质及其它血液化学性质。

在换血冷却约 1～2 小时后，该狗的温度将是大约 1～4℃，开始重新升温。通过去掉供液槽中的冰和用加热器使其内容物升温进而使毯子升温，使这只狗的体温回升。当食管温度达到15℃时，用 4 L 有 25 g 甘露醇的溶液 L 与溶液HLB 交换，随后与 4 L 所收集的血液混合物交换。排出物将被抛弃。

该动物将被缓缓升温，血液流温差小于10℃，且从未超过40℃。心脏自发开始起搏。当该动物的温度（食管温度和直肠温度）达到约 35℃时，生态参数达到稳定，而且它能自我支持，可以撤去体外循环回路。

实例 1 1 使冰冷血液替代的狗复苏

一只26.8kg 雄性狗用戊巴比妥钠麻醉，插入喉管。将其移至手术室，换气，并插入静脉导管、Foley 导管、动脉导管和Swan-Ganz 导管，在静脉内注入肝素后，在其右股动脉和静脉上插入套管。插入食管导管，并注入抗酸剂。在食管和直肠内安置温度传感器。静脉内注射甲泼尼松龙。

把该动物裹在一条冷却毯中，开始进行体表冷却。把该动物的套管连接到一个分流回路，该回路包括一个涡流血泵、一个有内装热交换器的氧合器，一个次级在线热交换器，和一个能快速供给血液和血

液代用品的漏斗。从该狗取出全血（225ml），保存以备重新升温。血液体积迅速被HLB 溶液置换。把含有1.05L HLB 溶液的分流回路向该动物打开，开始进行体内冷却。

交换了33L 血液代用品。到接近于冰点的时候，血细胞比容远低于1%。该动物的深食管温度在4小时5分钟内达到10℃以下，记录到的最低温度为0.7℃（表2）。

在低温期之后，使该动物升温。当体温上升到10℃以上时，使前面收集的静脉排出物和全血以及供体血液返回该回路中；血细胞比容随温度上升而上升。供给利多卡因和碳酸氢盐，使心脏去纤颤（defibrillated），开始换气。当血压和体温达到正常时，使该动物脱离分流回路，注射精蛋白和呋喃苯胺酸。体温回升后几小时，该动物神智清醒并能做出反应。手术后该动物依然存活，而且状况良好。

实例 1 2 使冰冷血液替代的狒狒复苏

一只獒狒种（Papio anubis）的24kg 雄性狒狒先用肌肉注射氯胺酮和乙酰丙嗪，然后用静脉内注射喷妥撒，进行麻醉。然后用巴夫龙（pancuronium bromide）使之不动。给它插入喉管，换气，并插入静脉导管、Foley 导管和动脉导管。把该动物裹在一条冷却毯中，开始体表冷却。在静脉内注入肝素后，给该狒狒的右股骨动脉和双侧股骨静脉插入套管。在食管、直肠和脑部安置温度传感器。给该动物配备心电图（EKG）；体感唤醒潜力（SSEPs）和脑电图（EEG）的测量仪器。静脉内注射氟美松。

把该动物的套管连接到一个分流回路上，该回路包括一台涡流血泵、一台有内装热交换器的氧合器，和一个能迅速供给血液和血液代用品的漏斗。从该狒狒中取出全血（300ml），存放起来以备体温回

升之用。该体积迅速被300ml 生理盐水溶液置换。把含有 2 L Plasmalyte (可市购的电解质溶液) 的分流回路向该动物开放, 开始体内冷却。

在深食管温度降低到 1.3°C 以下之后, 向该回路中添加另外 2 L 含12.5g 甘露醇的Plasmalyte, 置换血液和以前注入该回路中的 Plasmalyte 的混合物。把这种稀释的血液保存起来, 以备体温回升时使用。此后立即添加10L HLB 溶液, 置换这种Plasmalyte。当达到冰点时, 血细胞比容远低于 1 %。当该动物达到大脑温度为 3.4°C 和深食管温度为 2.8°C 时, 使血泵停止, 并使该动物在循环停止 (停顿) 的条件保持 4 5 分钟。在此时期后, 使循环恢复。

在这段低温期之后, 向分流回路中添加4.2L HLB 溶液, 使该动物升温。当体温达到 1.5°C 时, 向该回路中添加 2 L Plasmalyte 以置换HLB 溶液。向该回路中的Plasmalyte 添加甘露醇 (6.25g/l)。此外, 让前面收集的静脉排出物和全血, 以及供体血细胞和鲜冻血浆, 返回到该回路中; 该动物的血细胞比容随体温上升而上升。向该回路中添加另外12.5g 甘露醇。当食管温度和直肠温度接近于正常时, 心脏在升温期间发生纤颤并开始起搏。开始换气。当血压和体温接近于正常时, 给该动物静脉内注射精蛋白, 使之脱离分流系统, 去掉其套管和导管, 并缝合其切口。

该动物的深食管温度在 1.5°C 以下 3 小时, 在 1.0°C 以下 2 小时 1 7 分钟, 记录到的最低温度为 2.8°C (表 3)。次日清晨, 该动物能在笼内坐直, 拣食数枚香蕉, 也能饮苹果汁。它仍能健康存活, 直至一周多以后为了进行组织学评估而宰杀。

表 2 . 冰冷血液替代的狗的复苏

时间	溶液	TE °C	TR°C	HAP mmHg	HR bpm	PAW mmHg	CVP mmHg	流量 L/min	pH	PCO ₂	PO ₂	Na	K	Hct
11:57 am			36.1											
12:21 pm	225 ml HLB 进入和 225 ml 血液排出		35.2	129	133	12	3							
12:39 pm	012:19pm													
12:40 pm		32.6	34.8	134	141	12	3							
12:52 pm									7.52	25.1	403	144	2.7	34
									7.41	34.7	581	151	3.1	37
1:35 pm	0 1:36 pm启动分流 回路 w/1.05 L HLB	32.2	32.9	141	132	12	5	1.7						
1:40 pm		29.9	31.5	115	128	10	3	1.7						
1:43 pm		26.7	29.7	105	122	8	3	1.8						
1:46 pm									7.36	37.1	719	143	2.6	24
1:50 pm	5 L HLB	21.9	24.8	66	77	7	2	0.9						0
1:58 pm	4 L HLB	18.5	20.1	19				1.1						
2:00 pm	4 L HLB	14.9	18.8	28				1.0	7.48	9.2	812	155	2.5	0
2:02 pm									7.50	8.8	999+	165	3.6	0
2:04 pm		10.4	16.9	37				1.5						
2:05 pm		9.9	16.2	37										
2:08 pm	4 L HLB	8.6	15.3	37				1.5						
2:14 pm									7.50	11.6	999+	159	4.2	
2:16 pm	2 L HLB	5.7	12.3	27				1.5						
2:20 pm									7.50	13.7	999+	151	5.1	
2:22 pm		3.7	10.4	36				1.4						

时间	溶液	TE °C	TR°C	HAP mmHg	HR bpm	PAW mmHg	CVP mmHg	流量 L/min	pH	PCO ₂	PO ₂	Na	K	Hct
2:25 pm		3.3	9.8	35				1.6						
2:27 pm		2.9	9.1	36		1		1.4						
2:33 pm		2.1	7.4	37				1.4						
2:44 pm	2 L HLB								7.54	11.6	999+	150	4.6	
2:47 pm		1.4	4.8	36		3	1	1.3						
2:50 pm		1.2	4.3	37		3	1	1.3						
2:52 pm		1.2	4.2	37		3	1	1.3						
2:59 pm	2 L HLB	1.1	3.4	21				0.6						
3:55 pm		0.9	2.3	22				0.4						
4:00 pm									7.63	9.6	999+	150	5.4	
4:22 pm	3 L HLB	1.1	2.1	20				0.3						
5:00 pm	2 L HLB	0.8	1.6	18				0.4						
5:30 pm	3 L HLB	0.8												
5:50 pm									7.48	11.0	999+	150	5.7	
5:56 pm		1.8	1.8	19				0.4						
6:04 pm		4.7	2.8	27				1.0						0
6:06 pm	2 L HLB	6.6	3.3	27				1.1						20
6:08 pm	2 L 半血	9.7	4.1	30				1.1						
6:09 pm		9.9	4.2											
6:11 pm		10.7	5.3	31	18	7		1.0						
6:12 pm									7.30	28.0	902	151	4.6	26
6:15 pm		13.8	6.7	30	24	13	2	1.1						
6:25 pm		20.2	10.7	38		6	1	1.4	7.28	27.2	716	154	5.0	27
6:34 pm	1 L 血液													
6:39 pm									7.34	38.9	670	158	3.2	26
6:42 pm		29.2	18.1	60	143	15	2	1.7						

时间	溶液	TE °C	TR°C	MAP mmHg	HR bpm	PAW mmHg	CVP mmHg	流量 L/min	pH	PCO ₂	PO ₂	Na	K	Hct
6:48 pm									7.37	28.9	587	154	2.9	27
6:57 pm		32.8	32.2	132	161	8	0	1.6						
7:00 pm									7.33	27.3	496	150	2.7	

Te: 食管温度; Tr: 直肠温度; MAP: 平均动脉压力;
HR: 心率; PAW: 肺动脉楔压; CVP: 中心静脉压力

表 3 冰冷血液替代的猕猴的复苏

时间	TE °C	TR°C	TB°C	MAP mmHg	HR bpm	ICP mmHg	流量 L/min	pH	PCO ₂	PO ₂	HLB	Plas-malyte + 甘露醇	血液 (开始分流)	Hct
1:23 pm												1.6 L + 12.5 g 甘露醇	(开始分流)	~18
1:27 pm	31.3	32.8	33.2	60	83	9	2.2							
1:30 pm	28.5	31.1	32.5	60	67	9	2.1							
1:32 pm	23.4	29.0	30.9	50	45	8	2.2							
1:35 pm	19.3	26.6	28.0	50	27	9	2.1							
1:37 pm	18.0	25.5	26.5	50	24	11	2.2							
1:38 pm	17.6	24.7	25.6	50	23	9	2.0							
1:40 pm	16.8	23.7	24.3	50	25	8	2.0							
1:44 pm	18.1	22.8	23.1	50	22	10	2.0							
1:46 pm	18.0	22.2	22.3	50		8	2.1					0.3 L		
1:50 pm												0.1 L		0
1:55 pm	12.2	19.3	18.2	50		4					7 L			
2:02 pm	11.7	18.0	16.1	50		15	1.2	7.40	27	530	2 L			
2:05 pm	12.7	17.5	15.1	40		9	1.0				3 L			
2:10 pm	11.3	16.9	14.1	40		9	1.3							
2:14 pm	10.5	16.2	13.3	50		11	1.3	7.34	17.1	578.6				
2:21 pm	9.6	15.0	11.9	50		11	1.3							
2:25 pm	8.8	14.3	11.0	50		10	1.3							
2:30 pm	7.9	13.4	9.9	50		10	1.3	7.37	21.2	782				
2:40 pm	6.4	11.7	8.0	50		9	1.3							
2:49 pm	5.3	10.4	6.7	55		10	1.2							
2:54 pm	5.4	9.8	6.3	50		7	1.2							

时间	TE °C	TR°C	TB°C	MAP mmHg	HR bpm	ICP mmHg	流量 L/min	pH	PCO ₂	PO ₂	HLB	Plas- malyte	血液	Hct
3:18 pm	3.9	8.6	4.6	50		7	1.0							
3:29 pm	3.2	7.8	3.8	50		8	1.0							
3:32 pm	3.0	7.6	3.6	55		8	1.0							
3:35 pm	2.9	7.4	3.5	50		7	1.0							
3:37 pm	2.8	7.3	3.4			3								
4:22 pm	3.7	10.1	4.8			1								
4:24 pm	4.3	10.2	4.9	45		6	1.7							
4:27 pm	6.5	10.4	6.4	55		8	1.0				2.2 L			
4:32 pm	8.3	10.5	7.7	60		8	1.1				3 L			
4:34 pm	9.0	10.6	8.5	65		10	1.0							
4:36 pm	9.4	10.8	9.0	65		7	1.0							
4:38 pm	9.9	10.9	9.4	60		6	1.0							
4:39 pm	10.0	10.9	9.6	60		7	1.0							
4:45 pm	11.4	11.4	11.2	75		10	1.0							
4:47 pm	11.9	11.6	11.9	80		9	1.0							
4:51 pm	13.2	12.2	13.5	85		7	0.9							
4:53 pm	14.1	12.6	14.6	85	缓慢	7	0.8	7.37	14	762				
4:55 pm	14.6	15.2	15.9	90	缓慢	6					2 L		0.3 L 1/10 血液	0
4:59 pm													2 L 1/4 血液/ 0.3 L 血浆	
5:01 pm														
5:05 pm	18.0	15.3	18.1	55				7.33	22	224				2

时间	TE °C	TR°C	Tb°C	MAP mmHg	HR bpm	ICP mmHg	流量 L/min	pH	PCO ₂	PO ₂	HLB	Plas-malyte°	血液	Hct
5:16 pm													+ 12.5 g 甘露醇	
5:20 pm	24.6	20.0	24.5	44	纤颤	12	2.1						0.3 L 血浆	
5:24 pm														
5:25 pm	25.0	20.9	25.2	44	纤颤	13	2.0	7.30	25.3	593			0.4 L 血液 +12.5 g 甘露醇	12
5:36 pm														
5:37 pm	26.7	22.4	28.7	45	纤颤	12	2.0						0.3 L 血液	
5:43 pm														
5:55 pm	32.0	24.8	32.8	45	纤颤	10	2.2							
5:57 pm	32.2	25.3	32.9	45	纤颤	8	2.2							
6:10 pm	35.3	28.8	36.6	55	搏动	11								
6:13 pm	36.3	30.3	36.8		?									17
6:23 pm	37.3	33.7	36.2	60	?	7	1.3	7.34	28.2	435				20
6:34 pm								7.39	31.9	322			0.3 L 血浆	
6:36 pm														

Te: 食管温度; Tr: 直肠温度; Tb: 大脑温度; MAP: 平均动脉压力; HR: 心搏速度; ICP: 颅内压力

以上所述和在以下提出权利要求的本发明具体说明了可用于许多手术步骤的新型溶液。具有本门技术普通技能的人员可以根据本说明书和权利要求的陈述，对本发明做某些增补或改变，而不背离本发明所公开的实质。