

[文章编号] 1000- 4718(2006)04- 0830- 03

心脏骤停动物模型的动物和实验方法选择*

涂建锋, 蒋国平, 江观玉

(浙江大学医学院附属第二医院急诊中心, 浙江 杭州 310009)

[摘要] 目的: 在现代心肺复苏研究中心心脏骤停模型的动物和实验方法选择十分重要。目前模型建立的方法众多, 标准不一, 模型复制率较低, 给实验研究带来困难。Utstein 指南的提出有助于心肺复苏(CPCR) 研究报告的标准化, 其研究结果便于相互比较。本文根据相关文献和我们的实验经验, 综述现有常见几种心肺复苏动物模型的动物和实验方法的选择特点。

[关键词] 心脏停搏; 模型; 动物; 方法

[KEY WORDS] Heart arrest; Models, animal; Methods

[中图分类号] R363 **[文献标识码]** A

现代心肺复苏研究有赖于类似于人类心脏骤停设计的动物模型的使用, 这些模型的建立大多采用电刺激、窒息缺氧、外力挤压或注射氯化钾等方法造成心脏骤停动物模型, 常被用来研究心肺复苏过程中机体的病理生理变化, 探索新的治疗方法和完善现有心肺复苏标准干涉方法, 比如药物的剂量、胸外按压技术、除颤能量、脑复苏等^[1-4]。由于不同的动物种类心脑血管的解剖结构差异, 新陈代谢、生理功能不同, 对药物和影响因素的反应不同, 可能导致某一动物实验的研究结果不一定能在另一动物实验中再现。因此, 动物类型选择是否适当、动物实验前的状态、实验监测参数、条件等直接关系到动物模型制作能否成功、能否达到所选课题的目的要求等重要问题。本文根据我们的实验经验和有关文献, 重点总结现有常见几种心肺复苏动物模型的动物和实验方法的选择特点。

材 料 和 方 法

1 动物类型的选择

不同的动物种类新陈代谢、生理功能不同, 对麻醉、药物、缺血、低氧的反应也不同, 产生同样的生理效应可能需要不同的药物剂量。不同动物具有不同的心血管系统的解剖结构, 包括心肌血供、侧支循环、胸部的顺应性, 这些往往影响到动物产生心脏骤停的时间和动物对胸外按压的反应性。因此在制作心脏骤停动物模型前应先选择一种合适的动物。在设置实验组和对照组时应注意动物的年龄、性别、体重、健康状况、体温等的可比性。目前用来做心脏骤停动物模型的大致有大的哺乳类动物猪、犬, 小的啮齿类动物 Sprague-Dawley 大鼠和小鼠等。各种动物有各自的优缺点^[1-6]。

1.1 大鼠 在筛选和论证实验时需用大量动物, 采用大鼠有一定的好处, 所得结果可用于设计与临床相关的大动物如猪、狗等的实验。同时大鼠在建立神经模型和用来评价神经

检测结果的一体化行为技术的研究方面被证明是非常有用的。目前已建立起一系列可靠的鼠心脏骤停模型^[2]。由于近亲繁殖与远亲繁殖大鼠的种类不同, 解剖结构方面有所变异, 如 Wistar 大鼠的软脑膜小动脉较短, 在研究脑微循环时可能产生脑灌注压力较高的问题; 另外, 在使用电击诱发心室颤动时大鼠可能出现自动除颤的问题^[3]。因此应该统一研究中所用大鼠的类型和来源, 并作明确说明。

1.2 小鼠 小鼠用于心脏骤停动物模型近几年刚刚开始。Bottiger 等^[4]最早使用小鼠来研究脑复苏。2002 年 Lei 等^[5]建立小鼠心肺复苏动物模型, 提供了一个与结果有良好相关性的标准化动物模型。此实验观察冠脉灌注压(CPP)、平均动脉压(MAP)和呼气末二氧化碳分压(PETCO₂)对心脏循环功能和 CPR 成功率的影响, 发现小鼠模型同大鼠模型一样具有良好的 CPR 成功率和动物模型的稳定性和可重复性。在此实验中还发现小鼠模型能支持对心脏骤停时肾上腺素受体对心脏和外周血管作用的持续性研究。但此实验尚未进一步行基因工程小鼠研究。

1.3 犬 犬被用来作为一般哺乳动物模型已经有一百多年的历史了, 因此有大量来自这个方面的数据。犬的心血管功能与人的很相似, 因此是一种可靠的备选模型。但是犬的心脏有较多的侧支循环存在和心肌血流不同于人类, 因此在制作动物模型时应考虑到这一差异。另外不同繁殖犬的胸腔、心脏和脑的大小及形状会有差异, 可能会影响结果和预后, 因此应对实验结果进行有关这方面的分析^[6]。

1.4 猪 猪的研究资料比犬少得多, 主要是近几年使用新技术而获得。人与猪在代谢和心血管功能及冠脉结构方面极为相似, 但须注意的是猪的左奇静脉血流直接进入冠状窦, 而不像人类进入腔静脉^[2]。若体重和年龄相似, 不管如何饲养, 猪胸腔、心脏和大脑的大小及形状比较一致。一般认为成人研究用体重 20- 25 kg 的猪作为模型, 小儿研究用体

[收稿日期] 2004- 09- 15 [修回日期] 2004- 12- 07

* [基金项目] 国家留学生科研基金资助项目[No. 2001(275)]

E-mail: jiangpmdphd@163.com

重 4–5 kg 的猪作为模型是最适合的。Dorph 等^[7]和邢建洲等^[8]用体重 15–16 kg、出生后 6–8 周的约克猪体外循环模型进行脑保护作用研究,认为深低温停循环模型研究脑保护优于上腔静脉逆行脑灌注模型。

1.5 猫 猫被用来做心脏骤停动物模型不多,1981 年 Todd 等^[9]用猫建立室颤模型用于研究脑缺血。研究中发现该模型在心脏骤停后一系列如血压、血气等参数的变化较稳定,同时它足以评估神经损伤的程度,用于研究脑缺血的病理生理学改变和评价心脏骤停后各种不同的治疗方法。

1.6 兔 应用家兔进行心肺脑复苏的实验研究近年有增多趋势。Xu 等^[10]和 Takashi 等^[11]应用电刺激法和上腔静脉、主动脉夹闭法制作兔心脑骤停模型具有价格低廉、方法简便等优点。

2 术前动物准备

根据 Utstein–Style 指南^[2]要求,涉及以下几个方面需要实验前妥善完成,才能保证实验的顺利进行和实验结果的可靠性。

2.1 动物术前状态 因为实验前状态如有无未纠正的酸中毒、脱水、高低热及麻醉和镇痛的差异等都会对结果有重要影响,而且对自主循环恢复时间和长期存活率影响更大,因此必须保持实验组和对照组之间术前状态的一致性和可比性。

2.2 麻醉 用于 CPR 模型麻醉或镇痛药很多,如氯胺酮、氟烷、戊巴比妥钠等。由于它们大多会对血流动力学产生影响,且不同动物对缺血和麻醉有不同的神经和心血管反应,应注意麻醉药剂量与体重比率、吸入和呼出气浓度等。在诱发心脏骤停前一刻应停止麻醉以减少对心血管或大脑功能的影响。维持一定的麻醉深度为手术所必需,而且降低了动物的应激反应,避免儿茶酚胺增多所致的大脑代谢增强而影响结果,因此手术时如血压增高或心率增快可能是由于疼痛刺激,应增加麻醉药剂量;若窒息模型中用了神经肌肉阻滞剂,动物敏感性降低。

2.3 各项参数监测 包括心率、心输出量、血压、平均动脉压(MAP)、冠脉灌注压(CPP)、呼气末 CO₂ 分压(PETCO₂)、动静脉血气、电解质、深部体温等。成功的监测为判断心脏骤停模型的建成和复苏成功所必需,也是实验顺利进行的保证。

2.4 通气 由于影响组织氧合、酸碱平衡及心输出量,通气在心脏骤停期间也是一个重要参数。由于在心肺复苏时肺顺应性降低,若使用压力控制呼吸机,每分钟通气量也随着降低,最好选用时间循环容量控制呼吸机以避免这些误差。吸入氧浓度、气流控制方式及通气模式是基本参数,心脏骤停前、心脏骤停期间和心肺复苏期间需要不同的参数要求,要注意调整。

3 实验方法的选择与评价

由于心脏骤停动物模型的复制方法较多,各自有其优缺点,应根据实验目的、实验室条件、实验经费,同时结合 Utstein–Style 指南^[2]要求等综合分析适宜的动物模型方法。不同的模型代表了心跳呼吸骤停的不同发生机制,如电刺激诱发模型代表室颤导致的心跳骤停,而腔静脉、主动脉夹闭的模型则代表电机械分离造成的心跳骤停,因此在选择各种不同

方法前首先应选择与所要研究有相似发病机制的动物模型。

右心起搏导管交流致颤法是常用的经典模型制作方法,技术成熟,为广大学者所接受。判断心跳骤停发生的时刻直观,临床大部分心跳骤停是由室颤引起,因此用它来制作模型具有相似的病理生理学机制,有助于动物研究与临床人体的结合。但它的技术较复杂,设备昂贵,模型成功率较低,据统计约 70% 左右。

胸外交流电休克法,其复苏大多采用高流量心肺转流术(CPB),从我们的实验来看,该方法技术较复杂,而且容易引起局部皮肤的烧焦、骨骼肌强直痉挛及高能量电流对心肌等的损伤,对实验结果可能产生一定影响;同时由于各个动物的胸壁厚度不同,选择电击的电流强度也不同,参数控制较困难。

直视下电击心外膜法与其它方法相比较设备相对简单,成本较低,电流仅通过心脏对全身影响小,致心跳骤停较迅速,心脏耗能及损伤小,复跳简便,模型也较稳定,模型制作成功率高,复苏后心率血压能很快恢复至心脏骤停前水平,便于后续研究。但该方法为有创方法,需开胸暴露心脏或大血管,操作较复杂,其产生心脏骤停与临床常见的心脏骤停原因有一定差异。

由于窒息引起的心脏骤停最常见于儿童(比如溺水或呕吐物窒息),因此窒息法适用于模拟此类儿童疾病方面的实验研究,同时也适用于研究中毒、创伤后的心脏骤停和因缺氧引起的心搏骤停。气管夹闭窒息法具有设备简单成本低,操作容易,不开胸对肺功能影响小,更接近临床实际,停止夹管给予呼吸机支持及胸外心脏按压加复苏药物多能复跳,模型制作成功率高,复苏后心率、血压很快恢复至心脏骤停前水平,模型稳定等优点。

Utstein–Style^[2]指导方针中指出,由于诱导产生心跳骤停的起始时间对于实验是个重要的信息,时间不同会明显影响到监测指标的差异,因此在实验报告中需要用图表描述导致心跳骤停的时间、非干涉时间、心肺复苏时间、自主循环恢复(ROSC)时间(return of spontaneous circulation)等。电击致室颤法判断心跳骤停时间相对较明确,而窒息法和放血法导致心跳骤停是个逐渐的过程而非即刻形成,判断较为困难,因此在用此两方法的动物实验报告中须明确指出各评估指标的界值,如血压小于 25 mmHg,心率、心律或心电图的图形,这样能让其他研究者重复此实验。另外,在描述电击法时应该详细描述电压、电流(电流的振幅和持续时间)、导致心脏骤停的电击次数等等,这样有助于动物模型的标准化和可重复性。

重物挤压法毋需外科操作,非常简单,术后大鼠存活时间较长,其缺血状态与外伤性胸部挤压心脏骤停缺血相似,故可以用于这方面的研究,如大脑缺血伴有肺挫伤,尤适用于于此。

Xu 等^[10]使用的心房内注射氯化钾法采用的为闭胸式体外循环复苏法(CTCPB),可用于犬等较大的动物,其技术要求高,需有适宜的体外循环装置,但与标准胸外心脏按压和开胸心脏按压复苏法比较,CTCPB 可精确掌握自循环骤停到机体获得有效组织复灌的时间,更有利于观察干预的效果。

另外,各种不同方法制作的模型可能对实验指标的结果产生影响。但李正斌等^[12]分别使用电击诱发室颤和主动脉、腔静脉钳夹法制作模型,观察血浆内皮素-1、降钙素基因相关肽及电解质的变化,未发现两种不同方法对所监测的实验结果产生影响,不过对其它指标有无影响尚未见报道。

虽然制作方法众多,但目前尚缺乏比较各心脏骤停动物模型制作方法的客观指标,不能比较各模型的复苏效果和成功率^[1,2]。但由 von Planta 等^[13]提出的监测平均动脉压(MAP)、冠脉灌注压(CPP)和呼气末二氧化碳分压(PETCO₂)是评估复苏动物的心脏循环功能和预测复苏成功率较好指标。但目前大部分研究重点把监测指标放在那些参数上,比如恢复自主循环时间(ROSC)、短期生存率。然而长期生存率和复苏后脑功能状况则是心肺脑复苏研究中最重要结果测量指标,因为这些结果与人最具相关性。一些评估神经学结果的方法如 Glasgow-Pittsburgh 昏迷评分、神经缺陷评分、整体和区域性的组织病理学损伤评分、脑电图等已逐渐被用在研究中。然而如何去理解和描述这些测量技术的相对局限性和认识这些测量本身是否改变了动物的生理学特征在以后的心肺脑复苏研究中显得尤为重要。

4 小结

心肺复苏的动物模型种类很多,各有各的优缺点与其适用的实验研究。自从 Utstein-Style 指南颁布以来,心肺复苏动物模型实验研究及文献报道已逐步规范与统一。将来继续通过 Utstein-Style 指南对各心脏骤停动物模型实验研究的总体引导,统一化、标准化各种动物模型的制作方法与各评估参数,反复验证各方法的可行性和可重复性,实验研究者们就可以选择到一种与各自研究的疾病有最为相似的病理生理学改变和血流动力学变化,与临床病例有良好相关性的最佳动物模型。随着实验研究的增多,经验不断积累,对此类研究将更加完善。

[参 考 文 献]

- [1] Guidelines 2000 for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care. Part 6: Advanced cardiovascular life support[J]. *Circulation*, 2003, 102(8 Suppl): 186- 166.
- [2] Idris AH, Chair, Becker LB, et al. Utstein- Style Guidelines for uniform reporting of laboratory CPR research[J]. *Circulation*, 1996, 94(9): 2324- 2336.
- [3] Li MM, Payne RS, Tseng MT, et al. Correlates of delayed neuronal damaged and neuroprotection in a rat model of cardiac arrest- induced cerebral ischemia[J]. *Brain Res*, 1999, 826(1): 44- 52.
- [4] Bottiger BW, Krummkl JJ, Gass P, et al. The cerebral no-reflow phenomenon after cardiac arrest in rats- influence of low- flow reperfusion[J]. *Resuscitation*, 1997, 34(1): 79- 87.
- [5] Lei S, Weil MH, Tang WCh, et al. Cardiopulmonary resuscitation in the mouse[J]. *J Appl Physiol*, 2002, 93(4): 1222 - 1226.
- [6] Paiva EF, Perondi MBM, Kern KB, et al. Effect of amiodarone on haemodynamics during cardiopulmonary resuscitation in a canine model of resistant ventricular fibrillation[J]. *Resuscitation*, 2003, 58(2): 203- 208.
- [7] Dorph E, Wik L, Stomme TA, et al. Oxygen delivery and return of spontaneous circulation with ventilation: compression ratio 2: 30 versus chest compressions only CPR in pigs[J]. *Resuscitation*, 2004, 60(3): 309- 318.
- [8] 邢建洲, 杨辰垣, 于 君, 等. 猪体外循环模型用于脑保护研究[J]. *医学研究生学报*, 2002, 15(4): 312- 315.
- [9] Todd MM, Dunlop BJ, Shapiro HM, et al. Ventricular fibrillation in the cat: a model for global cerebral ischemia[J]. *Stroke*, 1981, 12(6): 808- 815.
- [10] Xu X, Zhou Y, Ma Q, et al. Establishing a resuscitation model in rabbits with closed- thoracic cardiopulmonary bypass[J]. *Resuscitation*, 1994, 27(1): 61- 66.
- [11] Kamohara T, Weil MH, Tang WCh, et al. A comparison of myocardial function after primary cardiac and primary asphyxial cardiac arrest[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 164(7): 1221- 1224.
- [12] 李正斌, 王学廷, 孙宗立, 等. 两种方法致兔心脏骤停后复苏对实验结果的影响[J]. *中国急救医学*, 2002, 22(3): 131- 132.
- [13] von Planta I, Weil MH, von Planta M, et al. Cardiopulmonary resuscitation in the rat[J]. *J Appl Physiol*, 1988, 65(6): 2641- 2647.