

李湘民,姚政彬,朱浙祥,等.两种方法制备心搏骤停兔模型的比较[J].中国比较医学杂志,2019,29(9):87-91,113.
Li XM, Yao ZB, Zhu ZX, et al. Comparison of cardiac arrest induced by electrical stimulation or intravenous potassium chloride in rabbits [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(9): 87-91,113.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.09.013

两种方法制备心搏骤停兔模型的比较

李湘民¹,姚政彬¹,朱浙祥²,余长寿¹,栗 枫¹,黄国庆^{1*}

(1.中南大学湘雅医院急诊科,长沙 410008; 2.湖南省人民医院急诊科,长沙 410005)

【摘要】 目的 比较氯化钾致颤与经食道-胸壁电致颤两种心搏骤停(cardiac arrest,CA)兔模型在心肺复苏(cardiopulmonary resuscitation,CPR)过程中生理指标的特点。**方法** 按随机数字表法将新西兰大白兔分为氯化钾致颤组(10%氯化钾0.3 mL/kg脉冲式静脉注射诱发心搏骤停)和电致颤组(经食道-胸壁用35 mA交流电诱发心搏骤停),每组10只。心搏骤停5 min后进行心肺复苏。比较两组诱发心搏骤停时间、心肺复苏时间、自主循环恢复(restoration of spontaneous circulation,ROSC)情况、自主循环恢复后1 h动脉血气和血乳酸(Lac)水平,以及复苏后72 h存活情况。**结果** 20只动物均成功诱发心搏骤停。与电致颤组比较,氯化钾致颤组诱导心搏骤停时间[(9.90±2.47) s与(27.40±6.48) s比较]和心肺复苏时间[(61.61±26.51) s与(132.00±18.55) s比较]均明显缩短($P<0.01$)。氯化钾致颤组和电致颤组均有9只动物自主循环恢复,72 h分别存活8只、5只。与电致颤组比较,氯化钾致颤组自主循环恢复后1 h动脉血气pH值[(7.38±0.06)与(7.29±0.11)相比]和HCO₃⁻浓度[(21.86±3.65) mmol/L与(18.32±2.61) mmol/L相比]均明显升高($P<0.05$),Lac水平[(1.77±0.77) mmol/L与(5.39±3.40) mmol/L相比]明显降低($P<0.01$),氧分压(PO₂)、二氧化碳分压(PCO₂)、K⁺浓度差异均无统计学意义。**结论** 与经食道-胸壁交流电刺激方法相比,氯化钾脉冲式注射可更便捷诱发兔心搏骤停,且复苏后机体内环境更为稳定,存活率更高。

【关键词】 心搏骤停;心肺复苏;自主循环恢复;电刺激;氯化钾;动物模型
【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 09-0087-05

Comparison of cardiac arrest induced by electrical stimulation or intravenous potassium chloride in rabbits

LI Xiangmin¹, YAO Zhengbin¹, ZHU Zhexiang², SHE Changshou¹, SU Feng¹, HUANG Guoqing^{1*}
(1. Department of Emergency Medicine, Xiangya Hospital Central South University, Changsha 410008, China.
2. Department of Emergency Medicine, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005)

【Abstract】 Objective To compare the changes in physiological parameters after cardiac arrest (CA) caused by intravenous potassium chloride or transesophageal-chest wall electrical stimulation in rabbits. **Methods** According to a random number table, 20 New Zealand white rabbits were divided into two different induction groups: a potassium chloride group with CA induced by bullet-type intravenous injection of 10% potassium chloride (0.3 mL/kg), and an electrical stimulation group with CA induced by transesophageal-chest wall electrical stimulation with 35 mA alternating current. Five minutes after CA, conventional cardiopulmonary resuscitation (CPR) was initiated. Time spent inducing CA, time spent on CPR, rate of restoration of spontaneous circulation (ROSC), blood gas and blood lactic acid levels 1 h after ROSC, and

【基金项目】 国家自然科学基金青年科学基金(81401024)。
【作者简介】 李湘民(1968—),男,医学博士,教授,硕士生导师,研究方向:心肺脑复苏。E-mail: lxm8229@126.com
【通信作者】 黄国庆(1979—),男,医学博士,主治医师。E-mail: hgq97@126.com

72-h survival rate after resuscitation were compared. **Results** CA was successfully induced in all 20 rabbits. Compared with the electrical stimulation group, time spent inducing CA (9.90 ± 2.47 vs. 27.40 ± 6.48 s, $P < 0.01$) and time spent on CPR (61.61 ± 26.51 vs. 132.00 ± 18.55 s, $P < 0.01$) were significantly shorter in the potassium chloride group. Nine rabbits exhibited ROSC in each group. Seventy-two hours after ROSC, eight rabbits in the potassium chloride group survived, while five rabbits survived in the electrical stimulation group. Compared with the electrical stimulation group, pH (7.38 ± 0.06 vs. 7.29 ± 0.11 , $P < 0.05$) and HCO_3^- (21.86 ± 3.65 vs. 18.32 ± 2.61 mmol/L, $P < 0.05$) levels of the potassium chloride group were significantly increased, while the level of lactic acid (1.77 ± 0.77 vs. 5.39 ± 3.40 mmol/L, $P < 0.01$) was significantly reduced. Partial pressure of oxygen, partial pressure of carbon dioxide, and K^+ were not significantly different. **Conclusions** Compared with transesophageal-chest wall electrical stimulation, potassium chloride may be more convenient to induce CA in rabbits, as physiological parameters after ROSC are more stable and the long-term survival rate is higher.

【Keywords】 cardiac arrest (CA); cardiopulmonary resuscitation (CPR); restoration of spontaneous circulation (ROSC); electrical stimulation; potassium chloride; animal model

心肺脑复苏是急诊医学领域的研究重点与难点,我国每年约有 54.4 万人发生心搏骤停(CA)^[1],虽然在美国心脏协会(AHA)指南推广下急救人员多数能够按照流程进行标准化复苏,但每位患者的具体发病情况、复苏时间均不尽相同,70%的院前非创伤性 CA 发生在家中,且 50%没有第一目击者^[2],这导致临床心肺复苏(CPR)研究开展困难。故建立标准化的动物模型来研究心肺脑复苏过程中机体的病理生理变化显得尤为重要。迄今为止,已模拟不同的致病因素建立了心脏电刺激、窒息、大血管夹闭、药物注射等多种诱导 CA 的动物模型^[3-5]。窒息方式最为便捷,但诱导时间长达数分钟,个体变异范围大。基于临床上 CA 多与突发恶性心律失常有关,且 CA 预后与发病后无干预时间紧密相关,每分钟的延误均可明显降低存活率,故采用可在短时间内迅速诱发心室纤颤(室颤)的动物模型更符合临床研究要求,其中最具有代表性的是电致颤和药物诱导室颤法。注射氯化钾作为最便捷的药物诱导 CA 方式,既往相关研究多是联合肌松药或窒息诱发 CA^[6],遗憾的是文献中未明确告知氯化钾用量,且诱导 CA 时间达 2 min 以上,并不能达到快速致颤的目的。本研究摸索了静注氯化钾致颤的剂量方法后与经食道-胸壁电致颤^[7]造模方式进行比较,为心肺脑复苏后续研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

清洁级雄性新西兰大白兔 20 只,10~12 周龄,体重 2.1~2.4 kg,购于长沙市天勤生物技术有限公司[SCXK(湘)2014-0010],饲养于中南大学湘雅医学院动物部[SYXK(湘)2015-0017]。

1.2 主要试剂与仪器

戊巴比妥钠(Sigma 公司);氯化钾(中国大冢制药有限公司);肾上腺素(鄂远大医药)。君宇高精度电子秤(JY08 型,广州市君宇家用电子衡器有限公司);探针式温度计(倍尔康 DT-001 型数字温度计,广州番禺金鑫宝电子有限公司生产);22G、24G 密闭式静脉留置针(BD Intima II™,苏州碧迪医疗器械有限公司生产);多导监护仪(成都泰盟 BL-420s);2.5#气管导管(江苏康乐医疗器械有限公司);i-STAT300 血气分析仪(美国雅培);小动物呼吸机(成都泰盟 HX-100E)。

1.3 实验方法

1.3.1 术前准备

参照本课题组前期报道的兔 CA 模型操作步骤^[7],体重使用高精度电子秤精确称量,使用探针式温度计测量直肠温度,24G 密闭式静脉留置针穿刺右侧耳缘静脉,戊巴比妥钠 30 mg/kg 由耳缘静脉注入麻醉^[8],并用 22G 密闭式静脉留置针留置股动脉,接多导监护仪行心电图、有创动脉压监测,经口气管插管。

1.3.2 动物分组及造模处理

按随机数字表法将动物分为电致颤组和氯化钾致颤组,每组 10 只。氯化钾致颤组用 10%氯化钾 0.3 mL/kg 脉冲式静注诱发 CA。电致颤组经食道-胸壁用 35 mA 交流电诱发 CA,达标后仍持续电刺激 60 s;若持续电刺激 60 s 仍达不到 CA 标准则停止电刺激,判断为诱导失败,待自行复律循环稳定 30 min 后再次实验。CA 达标标准为有创动脉压降至 25 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)以下并动脉搏动波形消失,CA 时间以给予干预因素后至 CA 达标开始计算。两组均在 CA 达标后无干预观察 5 min,观察期间恢复室上

性自主心律且收缩压大于 25 mmHg 者计为诱导 CA 失败。诱导 CA 5 min 后,参照 Utstein 模式进行 CPR,胸外按压频率为 200 次/min,按压深度为胸廓前后径的 1/3,按压、放松为 1:1。使用小动物呼吸机予以间歇正压通气,参数设定:频率 35 次/min,潮气量 10 mL/kg,吸入氧浓度(FiO₂) 1.00,复苏即刻静脉注射肾上腺素 20 μg/kg,必要时间隔 2 min 重复应用,如心电图监护呈室颤波形则予以 20 J 单向波除颤并继续按压,必要时 2 min 后重复除颤。自主循环恢复(ROSC)且平均动脉压(MAP)≥ 60 mmHg 并维持 10 min 以上,判定为复苏成功。经上述流程抢救 10 min 未能 ROSC 者为复苏失败。ROSC 的动物复苏后连续进行心电和血流动力学监测 1 h,在 ROSC 后 30 min 撤除呼吸机,1 h 后拔除气管插管及有创动脉置管,缝合伤口下台,独笼饲养,观察复苏后存活时间,终点为 72 h。所有中途死亡及存活至观察终点的动物常规进行解剖尸检,观察是否有与建立模型操作相关的损伤。

本实验经医院伦理委员会批准,伦理审批号:201403077。动物处置方法符合动物伦理学 3R 原则的标准。

1.3.3 检测指标及方法

记录动物制模诱发 CA 时间、CPR 时间、实施除颤比例、ROSC 比例及 72 h 存活情况。复苏 1 h 后取动脉血用血气分析仪行血气分析检测,记录 pH 值、氧分压(PO₂)、二氧化碳分压(PCO₂)、HCO₃⁻、K⁺、乳酸(Lac)水平。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 17.0 软件进行数据分析,先用

Kolmogorov-Smirnov 检验对数据进行正态性分析,满足正态分布的计量数据以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用成组 *t* 检验;计数资料比较采用 χ^2 检验;*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组兔术前一般情况

两组动物基础体重、体温、呼吸频率(RR)、心率(HR)、平均动脉压(MAP)比较差异均无统计学意义(*P*>0.05)(表 1),说明两组基线资料均衡,有可比性。

2.2 建立兔 CA 模型结果

本实验中 20 只兔均成功诱发 CA。电致颤组在开始 CPR 前有 6 只心电图呈室颤,4 只为无脉性电活动(pulseless electrical activity,PEA);氯化钾组有 3 只为室颤,1 只为无脉性室速,3 只呈 PEA,3 只呈直线。氯化钾致颤组诱导 CA 时间、CPR 时间较电致颤组均明显缩短(*P*<0.01),但复苏过程中除颤成功、ROSC、72 h 存活的动物数差异均无统计学意义(*P*>0.05)。复苏成功后两组兔 HR、MAP 均在 1 h 内恢复平稳,无需血管活性药物维持,对比无明显差异。见表 2,图 1、图 2。

2.3 两组兔自主循环恢复后血气及生化指标比较

两组均有 9 只兔自主循环恢复,氯化钾致颤组自主循环恢复后 1 h pH 值、HCO₃⁻均明显高于电致颤组,Lac 明显低于电致颤组(*P*<0.05),PO₂ 较电致颤组更高,PCO₂、K⁺更低,但差异均无统计学意义(*P*>0.05)(表 3)。

表 1 不同方法制备心搏骤停模型兔术前一般情况比较($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 1 Comparison of general physiological parameters between the two cardiac arrest groups

组别 Groups	体重(kg) Body weight	体温(℃) Temperature	呼吸频率(次/min) Respiratory rate (times/min)	心率(次/min) Heart rate (beats/min)	平均动脉压(mmHg) Mean arterial pressure
电致颤组 Electrical stimulation group	2.19±0.12	38.48±0.72	48.90±11.51	260.30±16.73	81.66±8.45
氯化钾致颤组 Potassium chloride group	2.27±0.18	38.19±0.40	43.20±9.83	255.40±15.07	83.06±6.75

表 2 不同方法制备心搏骤停模型兔复苏参数比较
Table 2 Comparison of resuscitation parameters between the two cardiac arrest groups

组别 Groups	兔总数 Total number of rabbits	诱发 CA 时间(s) Time of CA induction	CPR 时间(s) Duration of CPR	除颤例数 Defibrillation cases	自主循环恢复例数 Cases of restoration of spontaneous circulation	72 h 存活例数 Surviving cases after 72 h
电致颤组 Electrical stimulation group	10	27.40±6.48	132.00±18.55	6	9	5
氯化钾致颤组 Potassium chloride group	10	9.90±2.47**	61.61±26.51**	4	9	8

注:与电致颤组比较,***P*<0.01。
Note. Compared with the electrical stimulation group, ***P*<0.01.

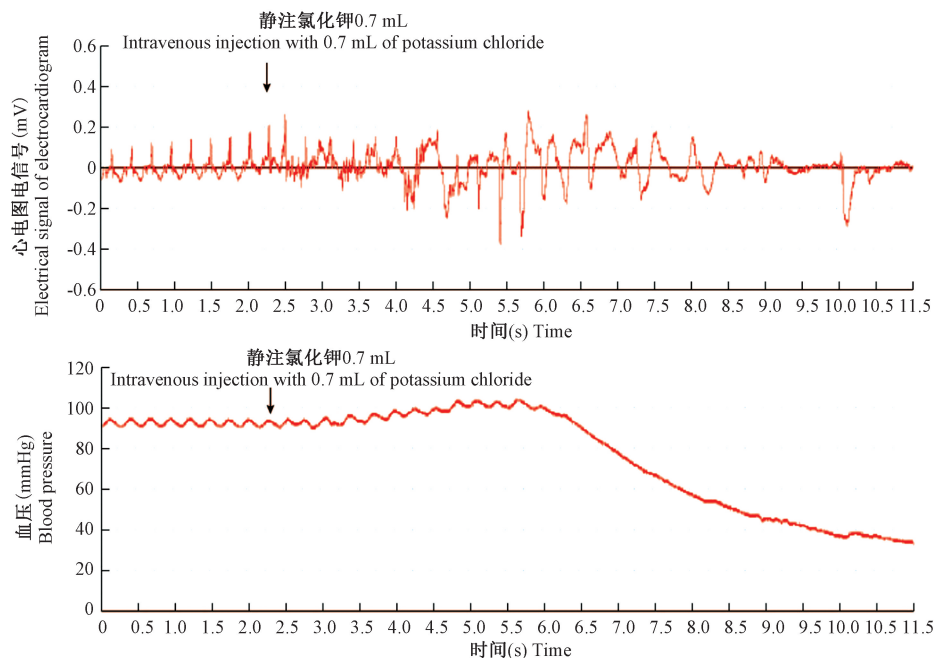


图 1 10%氯化钾静脉注射诱发心搏骤停时心电图和血压的波形变化

Figure 1 Electrocardiographic wave and arterial pulse wave after cardiac arrest induced by intravenous injection with 10% potassium chloride

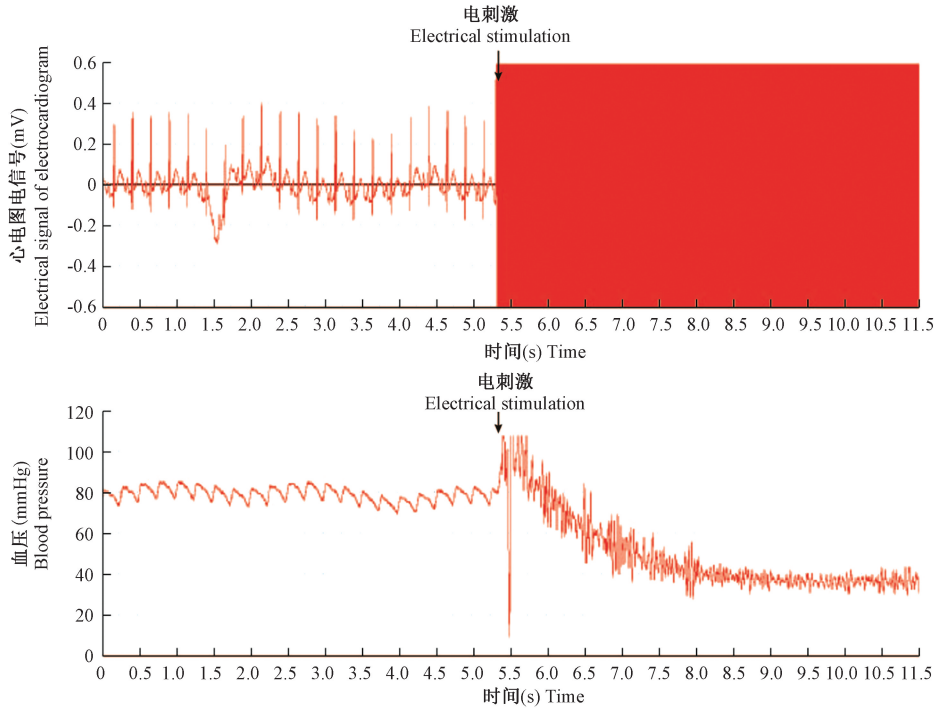


图 2 电刺激诱发心搏骤停时心电图和血压波形的变化

Figure 2 Electrocardiographic wave and arterial pulse wave after cardiac arrest induced by electrical stimulation

表 3 不同方法制备心搏骤停模型兔自主循环恢复后 1 h 动脉血气及生化指标比较($\bar{x} \pm s, n=9$)

Table 3 Comparison of arterial blood gas and biochemical indicators between the two cardiac arrest groups 1 h after restoration of spontaneous circulation

组别 Groups	pH	PO ₂ (mmHg)	PCO ₂ (mmHg)	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	K ⁺ (mmol/L)	Lac(mmol/L)
电致颤组 Electrical stimulation group	7. 29±0. 11	75. 78±12. 36	46. 74±15. 37	18. 32±2. 61	4. 04±0. 51	5. 39±3. 40
氯化钾致颤组 Potassium chloride group	7. 38±0. 06*	82. 16±13. 74	37. 32±5. 11	21. 86±3. 65*	3. 76±0. 28	1. 77±0. 77**

注:与电致颤组比较, **P*<0. 05, ***P*<0. 01。
Note. Compared with the electrical stimulation group, **P*<0. 05, ***P*<0. 01.

2.4 建模相关并发症

电刺激组在进行电刺激时均会出现短时间明显全身抽搐,在达到 CA 标准后抽搐即自行缓解,胸壁表面针灸针接触点有局部轻微灼伤。CA 组及氯化钾组中各有 2 例尸体解剖发现有双侧肺叶挫伤,均为经历较长时间复苏,考虑与胸外按压时间久后按压部位移位,胸廓弹性下降有关。所有动物心脏表面均未见明显损伤,无心包积血。

3 讨论

临床上,非创伤性心搏骤停(CA)多由于冠心病导致,甚至为冠心病的首发表现,其中 75%~80% 的 CA 患者首先记录到的心律失常是室颤^[9],因此在心肺脑复苏基础研究领域,使用各种方式诱发实验动物室颤可较好地模拟临床上 CA 的病理生理过程。电致颤是最为经典的诱发室颤方式,无论是精细的右心导管电极刺激心内膜或是开胸电刺激心外膜^[10]、以及本研究采用的经食道-胸壁电刺激^[7],均可快速有效地实现致颤。本课题组前期研究已证实,经食道-胸壁电刺激致颤操作方便,致颤效率高,同时有较高的复苏成功率^[7]。但在实验过程中我们也发现,电刺激致颤模型存在一定的弊端:小动物基础心率快,无论大鼠或兔平均心率均在 200 次/min 以上,具有很强的抗心律失常能力,高频电刺激虽可快速诱发室颤,但在停止电刺激后,可迅速恢复窦性节律,导致制模失败,故电刺激需要持续一段时间以防止自动复律。本研究中持续电刺激 60 s 致颤,电流引起的躯干肌肉持续收缩会导致较为严重的酸中毒,血气分析结果证实,在自主循环恢复(ROSC)后 1 h,电刺激组 pH 值更低,且 PCO₂ 也高于氯化钾致颤组,可能与电刺激导致支气管平滑肌痉挛引起通气障碍有关;电致颤制模产生的微循环灌注障碍更为明显,表现在血 Lac 更高,这些因素都导致了制模动物在复苏后有较差预后。

本研究使用脉冲式直接注射 10% 氯化钾原液 0.3 mL/kg,可在 10 s 内快速诱发 CA,其中以无脉性室性心动过速(室速)为主,部分为无脉性电活动。与经食道-胸壁电致颤相比,氯化钾致颤诱发 CA 时间更短,可控性更强,且复苏成功率亦较高,ROSC 所需时间明显短于电致颤组,这使得 CA-ROSC 时间变异度更小,更具有可比性。氯化钾致颤组兔复苏成功后无一因为高钾血症再次发生恶性心律失常。令人惊讶的是,ROSC 后 1 h 血 K⁺正

常,甚至低于电致颤组,血 Lac 水平基本正常,复苏后 72 h 存活率优于电致颤组。左艳芳等^[11]也对比过氯化钾致颤和食道电刺激致颤对小鼠 CA 模型的影响,证实氯化钾组有更高存活率。杨叶桂等^[12]通过在复苏时静注 2.5% 氯化钾 0.8 mL/kg 来提高室颤大鼠血 K⁺浓度,证实高钾有助于提高室颤振幅,促使室颤自动复律,进而增加复苏成功率。本课题组前期小样本预实验结果显示,氯化钾的注射速度对于能否诱发 CA 非常重要,超过 5 s 的缓慢注射多数仅引起室性心律失常,但很快即恢复正常;能否发生致命性心律失常取决于瞬时通过心脏的血 K⁺浓度,脉冲式注射在 1 s 左右完成,可造成来不及稀释的高浓度血 K⁺进入冠状动脉循环而干扰心肌电活动诱发 CA,这种局部血管内的高钾血症在复苏过程中随着全身循环的血液稀释迅速使体循环血 K⁺降至正常水平^[13]。我们前期小样本预实验显示,当 10% 氯化钾达到 0.5 mL/kg 时复苏成功率明显降低,而 0.2 mL/kg 诱导 CA 成功率则明显下降,故采用 0.3 mL/kg 的剂量。氯化钾作为心跳停搏液的主要成分,已明确其具有心肌保护作用^[14]。对于心肺脑复苏研究而言,因为动物模型无法根本上模拟心脏的慢性病变过程,而各种制模手段所产生的心肌直接损伤会对复苏后循环稳定产生巨大影响,复苏后低心排及由此产生的酸中毒等不利因素是导致模型动物复苏后短期死亡的主要原因。在以脑复苏为主要目的的研究中我们更侧重观察全脑缺血/再灌注(I/R)损伤,故氯化钾的致颤作用及心肌保护作用就显得尤为有价值。CA 导致脑损伤的差异重点在全脑 I/R 时间,CA 时间的精确界定有助于模型的标准化和可重复性,静注氯化钾不仅让 CA 制模过程变得更为便捷、精准,复苏也更为便利,可以更好匹配制模过程中导致的全脑 I/R 损伤,以利于后续研究。

参考文献:

- [1] 王立祥,孟庆义,余涛. 2016 中国心肺复苏专家共识[J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28(12): 1059-1079.
- [2] Kleinman ME, Brennan EE, Goldberger ZD, et al. Part 5: Adult Basic Life Support and Cardiopulmonary Resuscitation Quality: 2015 American Heart Association Guidelines Update for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care [J]. Circulation, 2015, 132(18 Suppl 2): S414-S435.
- [3] 唐烽,安庆宝,付守芝,等. 大鼠机械式胸外按压心肺复苏模型的建立[J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(6): 632-638, 658.