

· 研究报告 ·

经心内膜致颤建立兔心室纤颤心肺复苏模型的方法及质控要点

刁孟元 管军 林兆奋 张浙 肖盐

通过交流电经心内膜诱导心室纤颤(室颤)建立心肺复苏(CPR)动物模型用于心脏停搏时间测量精确,对全身干扰小,更符合临床实际,因此是目前最常采用的动物实验致颤方式^[1-2]。在动物选择方面,美国 Weil 危重病医学研究所创立并发展了大鼠的经心内膜交流电诱导室颤模型,但他们通常选用体质量在 450 ~ 550 g 的大鼠,而且常另备大鼠作为供血者,以避免抽血后造成低血容量或稀释性贫血^[3]。在我国,对多数研究者而言,难以经济地得到这样体质量的大鼠,另取大鼠作为供血者也费力费钱。犬、猪等大动物存在价格昂贵、操作不方便等缺陷,家兔兼具了大、小动物的优点而成为近期常用的研究 CPR 的动物^[4-8]。根据 Weil 危重病医学研究所和本课题组前期实验过程中的经验及教训,我们总结出了经心内膜致颤建立兔室颤和 CPR 模型的方法及质控要点,重点在于排除可能影响 CPR 成功率和 CPR 研究质量的因素,为国内广大 CPR 研究者提供有益的借鉴。

1 模型建立过程

1.1 仪器设备的检查与维护:每次实验开始前,要检查实验仪器设备的运转情况,确保在复苏过程中不会因仪器设备的问题而中断操作。对于监护设备,特别是压力监测设备,要注意定期校准,一般每周 1 次。

1.2 外科准备时间的控制及动物准备:完成经心内膜致颤及 CPR 兔模型的建立一般需要 3 人,应分工明确,手术者操作熟练,严格控制模型的外科准备时间(从麻醉开始至所有置管完毕的时间,本课题组前期完成实验准备的时间基本为 60 ~ 70 min^[9])。健康成年雄性新西兰家兔,动物毛发清洁光亮,说明动物健康状况良好,体质量在 2 kg 左右,实验前 1 d 的晚上禁食、不禁水。

1.3 麻醉方式:经兔耳缘静脉注入戊巴比妥钠麻醉大鼠,首剂量 30 mg/kg,此后按照 0.5 mL/h 剂量维持。麻醉时注意轻柔操作,尽量减轻对动物的刺激,同时应注意严格控制麻醉药物的用量,每次追加均应进行详细记录。

1.4 气管插管接呼吸机:麻醉成功后(麻醉以动物不出现疼痛反射为标准),迅速将动物仰卧固定。为使手术区域充分暴露及便于复苏期间除颤,需使用宠物剃毛器剔除颈部、前胸及腹股沟区域的毛发,通常可以达到很好的剃毛效果。电击

除颤部位(胸部)的兔毛要彻底剃干净,否则影响除颤效果。经过多次摸索,我们发现采用直视和触摸颈部气管进行经口气管插管的方法成功率高,对家兔刺激小。在家兔颈部正中切一个 2 cm 的纵向切口,钝性分离出气管。采用 3 号气管导管,以 1.5 mm² 的电线制作气管导管芯,石蜡油润滑导管前端,保持家兔口、咽及喉在一条直线上,左手用纱布将家兔舌头轻轻拉出,右手以执笔状将导管沿舌根部插入声门口位置,此时用力上挑导管,可在下颌部皮下处触摸到导管前端,按此走向继续向前方送入导管,如导管前段到达声门位置,此时动物会发生呛咳,在呼气时迅速送入导管(送入深度大约为导管前端距门齿 11 cm 左右),立即拔出导丝。可在导管口放置棉球观察其是否随动物呼吸摆动,有条件者可以通过监测呼气末二氧化碳分压(P_{ET}CO₂)来确定导管是否在气管内。确定导管位置后接呼吸机辅助呼吸。之后可以测量基本生理指标,如心率、自主呼吸频率和肛温。如有明显异常,可放弃此动物。

1.5 压力导管的放置

1.5.1 游离左颈静脉,PE-50 聚乙烯导管置入右心房,测量右房压。

1.5.2 游离左颈动脉,用 PE-50 聚乙烯导管插入到达左心室内,可用于测量反映左心室收缩功能的左室内压上升最大速率(+dp/dt max)、反映左心室舒张功能的左室内压下降最大速率(-dp/dt max)和左心室收缩压(LVSP)。

1.5.3 游离左股动脉,根据体表测量长度将 PE-50 聚乙烯导管插入到达胸主动脉,测量胸主动脉压及抽取动脉血气。胸主动脉舒张压与右房压之差即为冠状动脉灌注压,是反映 CPR 质量最重要的生理指标。

1.5.4 游离左股静脉,用 PE-50 聚乙烯导管插入到达下腔静脉,用于给药。

以上所有导管插管前管内均充满 5 kU/L 的肝素生理盐水,插管成功后均用小剂量肝素生理盐水冲管。连接多导生理记录仪,可以用于连续记录肢体 II 导联心电图、胸主动脉压力、± dp/dt max、LVSP。

1.6 诱颤导丝的放置及位置确认:通过右颈静脉插入诱颤导丝,在颈内及颈外静脉交汇处开始向近心端分离右颈静脉,先将鞘管(我们用输液延长管自制,长度约 10 cm,其内正好可以通过导丝)前段放置到上腔静脉汇入右心房处,然后放入导丝。经右侧颈静脉放置鞘管到达上腔静脉右心房入口处,经该鞘管内插入前段弯曲的指引钢丝(正极)到达右心室内膜,同时于心尖部皮下插入负极针头,两者形成的交流电

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.10.015

基金项目:上海市公共卫生重点学科建设项目(08GWZX1103)

作者单位:310002 浙江,南京军区杭州疗养院海勤疗养区(刁孟元);200003 上海长征医院急救科(管军、林兆奋、张浙);215004 浙江,苏州大学附属第二医院急诊医学科(肖盐)

通信作者:管军,Email: drguanjuan@hotmail.com

回路可电刺激诱导室颤发生。下面两点有助于判断诱导导线是否置入心内膜:① 导线尖端到达心内膜时可见导线随心脏搏动而规律波动。② 心电图 QRS 主波方向突然变成与原来相反方向;或者出现室性期前收缩、室性心动过速等心律失常,并伴有相应的血压波形变化(图 1)。一般情况下,我们通过心电图的典型波形确认导线位置;如果有条件,也可采用超声方法确认导线的位置。

1.7 诱发室颤前的质量控制: 外科准备完成并稳定 15 min 后,记录基线心电图、平均胸主动脉压、心率、 $\pm dp/dt \max$ 、LVSP、呼吸频率、 $P_{ET}CO_2$ 和动脉血气等参数。家兔常规生理参数见表 1。诱导室颤前应保证血压、心率、氧饱和度、动脉血气、体温等重要生理指标在正常或可接受的范围内;常规给予 5 min 的通气支持;实验动物应基本清醒,有轻微躁动或者对轻微刺激有生理反应。

表 1 经心内膜致颤建立心室纤颤 CPR 模型
家兔常规生理参数

生理指标	均数	95%可信区间
平均胸主动脉压(mmHg)	91.71	87.84 ~ 95.75
心率(次/min)	256.96	246.88 ~ 267.21
+dp/dt max(mmHg/s)	5 850.63	5 179.24 ~ 6 476.95
-dp/dt max(mmHg/s)	-4 564.58	-4 993.91 ~ -4 098.46
LVSP(mmHg)	115.25	110.75 ~ 120.12
RR(次/min)	39.00	36.13 ~ 42.29
$P_{ET}CO_2$ (mmHg)	29.42	27.79 ~ 31.04
pH 值	7.44	7.42 ~ 7.46
PCO_2 (mmHg)	27.13	25.04 ~ 28.92
PO_2 (mmHg)	94.71	91.42 ~ 98.46

注: CPR 为心肺复苏, $\pm dp/dt \max$ 为左室内压上升或下降最大速率, LVSP 为左室收缩压, RR 为呼吸频率, $P_{ET}CO_2$ 为呼气末二氧化碳分压, PCO_2 为血二氧化碳分压, PO_2 为血氧分压; 1 mmHg=0.133 kPa

1.8 诱导室颤阶段: 以交流电(4 mA)经过触及右心室内膜的指引钢丝和体表负极针头形成交流回路持续致颤 2 min, 之后动物一般能维持室颤状态, 如果恢复自主心律, 应立即再次诱导。如出现 2 次或以上的自动恢复自主心律情况, 应放弃该动物。致颤开始的同时停止呼吸支持。

心搏骤停判断标准: ① 电刺激后动脉血压迅速下降至 25 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)以下; 如果血压没有迅速下降, 多数是因为电极导线位置不佳或接触不良, 应立即终止致颤, 及时调整位置, 并重新开始。② 动脉搏动压消失, 动脉

搏动波形近似一条直线。③ 停止电刺激后初始的心电图波形必须是室颤。

1.9 CPR: 心搏骤停时间(no flow time)以电刺激后血压降至 25 mmHg 以下且动脉搏动波形消失时开始计算。达到 4 min 或预定的心搏骤停时间后, 开始频率为 200 次/min 的人工胸外按压和 45 次/min 的同步机械通气, 潮气量为 6 mL/kg, 吸入氧浓度(FiO_2)为 1.00。按压位置为动物剑突上两横指处, 按压深度为胸廓前后径的 1/3。我们目前主要实施人工按压, 按压时要注意保证按压频率及深度的稳定一致, 按压频率可按照声音节拍器设定的频率进行, 按压深度为胸廓前后径的 1/3, 可设置标尺予以控制。注意固定胸廓, 防止按压位置漂移。按压 4 min 或预定时间后给予 25 J 能量的首次除颤, 电极放置在两侧的侧胸部, 波形为双向波。除颤后继续按压, 观察心电图和血压表现, 如恢复自主循环则停止按压, 否则继续按压 2 min 后再次观察, 如为室颤则除颤, 未能恢复自主循环则继续按压。按压 2 min 后给予肾上腺素 20 μ g/kg 静脉推注以提高冠状动脉灌注压。自主循环恢复(ROSC)的标准: 恢复窦性或室上性心律, 平均动脉压(MAP) ≥ 60 mmHg 并且维持 10 min 以上。经上述程序抢救 10 min 自主循环未能恢复者为初始 CPR 失败。

1.10 复苏后观察: ROSC 后实验动物的循环呼吸支持及护理依研究目的而定。通常在复苏后 1 h 内动物的心电活动不稳定, 血压偏低, 自主呼吸能力弱, 需要继续呼吸机辅助呼吸, 小动物容易出现低体温。需要研究血流动力学者通常维持 4~6 h 的监测。如无特殊要求, FiO_2 在 1 h 内逐渐降至 0.21。实验结束后拔除所有导管将动物放回笼中(一般观察 4 h 左右), 在实验完成后对所有动物常规解剖了解手术或复苏过程中有否机械性损伤。

所有实验参数的设计和记录均参照 CPR 实验研究的 Utstein 模式^[10]。

2 注意事项

2.1 要注意关注动物的季节性多发病, 如春季的消化道疾病, 夏季的中暑, 秋季的呼吸及消化道疾病, 以及冬季的呼吸系统疾病。

2.2 在手术操作过程中, 如动物失血过多, 此只动物应放弃。家兔的血液含量为其体质量的 1/20, 按照一般家兔体质量为 2 kg 计算, 家兔的血液总量为 100 mL, 按照失血量达到 20% 为轻度休克的诊断标准, 如家兔失血量超过 20 mL, 此只家兔即剔除。

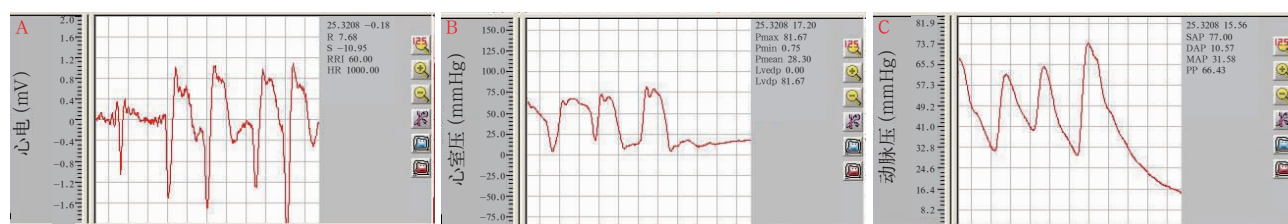


图 1 经心内膜致颤建立心室纤颤心肺复苏模型过程中, 当诱导导线到达兔右心室内膜时 A 图心电图表现为室性期前收缩, B 图心电图表现为心室压迅速下降, C 图心电图表现为动脉压迅速下降; 1 mmHg=0.133 kPa

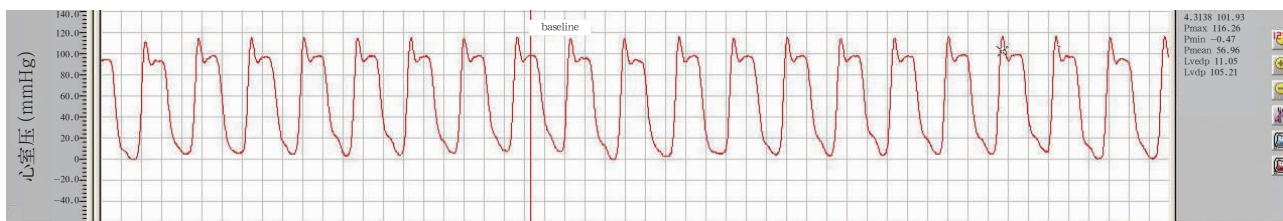


图2 经心内膜致颤建立兔心室纤颤心肺复苏模型过程中,当左颈动脉导管进入兔左心室时的心室压波形主要表现为连续、规律的类似正弦波样的图形,压力数值显示最小压力为0,最大压力接近动脉收缩压;1 mmHg=0.133 kPa

2.3 插管过程中应注意:①麻醉后应迅速建立人工气道,减少缺氧性损伤甚至死亡。②牵拉舌头应轻柔,避免引起强烈迷走神经反射导致心脏停搏。③气管插管动作应轻柔,避免损伤气道。当气管导管到达会厌时有时会有阻力,此时切记不可暴力,可稍微将导管退出0.5 cm左右,调整导管方向并用力下压甲状软骨,一般可顺利插入。④确认导管位置后,可用丝线将导管固定于动物嘴部皮肤上,防止复苏操作时不慎拔出导管。⑤需要进行长时间存活研究者,可在此阶段给予抗菌药物。

2.4 放置左颈动脉导管时,在导管进入左心室前会有阻力,稍微加力,会有突破感,表明导管已经进入左心室,可通过心电图监护的波形确认(图2)。

2.5 放置鞘管前在鞘管后端开口处连接1个三通管,防治鞘管插入静脉后由于压力作用致使鞘管后端出血。在鞘管放置约3~4 cm的距离(右锁骨下静脉汇入处)时,常常会遇到阻力,此时也要注意不要盲目暴力,调整鞘管的方向后即可放进;在鞘管位置固定后,注意调整鞘管的弧度,使鞘管的弧形朝外,以便于后面导丝的顺利进入。在导丝放置前,注意调整导丝前端的弧度,便于导丝前端离开鞘管后可以顺利进入右心室。致颤过程中注意固定导丝位置,防止导丝滑出造成致颤中断。在完成致颤3.5 min左右,拔出诱颤导丝及鞘管,结扎血管,防止在随后的按压过程中造成心脏损伤。

2.6 CPR过程中,应严格控制补液(补液量控制在20 mL以内),防止右房压增高影响冠状动脉灌注压^[11]。

2.7 动物回笼后应注意保暖,因为复苏后动物的体温调节能力下降,容易受环境温度的影响。常规给予抗菌药物和止痛药。可以通过皮下或腹腔给予盐水补液。注意观察动物呼吸状况,必要时可予以吸痰处理。

3 总结

目前我国CPR的整体研究水平与国外研究机构相比还存在很大的差距,这种差距很大程度体现在动物模型的制备上。国内研究人员较少注重对模型制备方面的关注,模型的制备存在很大的随意性,这就造成了研究结果可重复性较差,缺乏对于临床的指导意义。我们的研究人员应该不断改进和完善CPR动物模型上下功夫,使其尽可能反映临床的实际情况,并使相关的研究在标准的实验条件下进行,并具有很高的重复性,只有这样才能从根本上提高我国CPR的研究水平。

究水平。

志 谢 感谢美国Weil危重病医学研究所已故的孙士杰教授对我们掌握CPR动物模型制备方法的悉心指教

参考文献

- [1] 刘亚华,张杰,代正,等.山莨菪碱对心搏骤停猪氧化应激致心肌线粒体损伤的保护作用[J].中华危重病急救医学,2013,25(5):290-293.
- [2] Chun-Lin H, Jie W, Xiao-Xing L, et al. Effects of therapeutic hypothermia on coagulopathy and microcirculation after cardiopulmonary resuscitation in rabbits [J]. Am J Emerg Med, 2011,29(9):1103-1110.
- [3] Song F, Sun S, Ristagno G, et al. Delayed high-quality CPR does not improve outcomes [J]. Resuscitation, 2011,82 Suppl 2: S52-55.
- [4] 郭晓东,王贵生,高建华,等.尿激酶对家兔心肺复苏后脑灌注的实验研究[J].中华危重病急救医学,2013,25(11):677-680.
- [5] 王白永,孙仁华,屈百鸣,等.肝素对家兔心肺复苏后炎症因子的影响研究[J].中国全科医学,2013,16(33):3935-3938.
- [6] 刘忠民,李南,于贺,等.参麦注射液对家兔心脏骤停后综合征影响的实验研究[J].中华危重病急救医学,2013,25(11):664-668.
- [7] Chenoune M, Lidouren F, Adam C, et al. Ultrafast and whole-body cooling with total liquid ventilation induces favorable neurological and cardiac outcomes after cardiac arrest in rabbits [J]. Circulation, 2011,124(8):901-911,1-7.
- [8] Hu CL, Wei HY, Liu ZY, et al. Investigation of the relationship between ventricular fibrillation duration and cardiac/neurological damage in a rabbit model of electrically induced arrhythmia [J]. J Trauma, 2010,69(6):1442-1447.
- [9] 马宇洁,杨兴易,林兆奋,等.心搏骤停后脑复苏研究的动物模型[J].中华急诊医学杂志,2007,16(9):957-960.
- [10] Idris AH, Becker LB, Ornato JP, et al. Utstein-style guidelines for uniform reporting of laboratory CPR research. A statement for healthcare professionals from a task force of the American Heart Association, the American College of Emergency Physicians, the American College of Cardiology, the European Resuscitation Council, the Heart and Stroke Foundation of Canada, the Institute of Critical Care Medicine, the Safar Center for Resuscitation Research, and the Society for Academic Emergency Medicine. Writing Group [J]. Circulation, 1996,94(9):2324-2336.
- [11] Riter HG, Brooks LA, Pretorius AM, et al. Intra-arrest hypothermia: both cold liquid ventilation with perfluorocarbons and cold intravenous saline rapidly achieve hypothermia, but only cold liquid ventilation improves resumption of spontaneous circulation [J]. Resuscitation, 2009,80(5):561-566.

(收稿日期:2014-01-07)

(本文编辑:李银平)