

大鼠心肺复苏后脑损伤模型的建立

杨卫东, 陈前芬

[摘要] **目的:**建立大鼠心肺复苏后脑损伤模型。**方法:**Wistar 大鼠 30 只从颈外静脉内快速注入 2% KCl, 导致呼吸、心跳骤停; 6 min 后采用胸腹插入式按摩复苏; 60 min 后处死动物, 取全脑用 10% 甲醛固定, 取脑组织做病理学检查。在整个实验过程中动态观察大鼠脑电图、心电图、瞳孔和血压的变化。**结果:**所有动物在快速注入 KCl 后 30 s 内呼吸、心跳停止。复苏 10 min 左右心电图均能基本恢复; 脑电图在心脏停跳后变平, 复苏后 60 min 内未见恢复; 动脉血压在心跳骤停后迅速下降至 0 mmHg, 复苏后 10 min 左右上升到 80 ~ 90 mmHg。病理学检查提示: 心跳骤停 6 min 后, 心、肺、脑均可见缺血缺氧性损伤, 复苏 60 min 后心、肺损伤未见加重, 但脑损伤加重。**结论:**大鼠心肺复苏动物模型具有经济、实用, 损伤创面较小, 易于复苏等特征, 在心肺复苏后脑损伤的研究中具有一定的使用价值。

[关键词] 心肺复苏; 脑损伤; 动物模型; 大鼠, 近交系

[中国图书资料分类法分类号] R 654. 1; R 651. 15 **[文献标识码]** A

Modified rat model of cerebral injury after cardiopulmonary resuscitation

YANG Wei-dong, CHEN Qian-fen

(Department of Pathophysiology, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a modified rat model of cerebral injury after cardiopulmonary resuscitation (CPR). **Methods:** The Wistar rats were injected with 2% KCl quickly to induce breathing and cardiac arrest; then chest-abdomen snap-on cheirapris anabiosis was used 6 min later; after 60 min, the animals were killed; the brain was retained with 10% formalin and pathematology examination was carried out. The kinetic changes of the electroencephalogram, electrocardiogram, pupil and blood pressure were observed during the whole experiment. **Results:** The breathing and heart beating of all the animals were arrested 30 seconds after quick injection of 2% KCl. After about 10 min anabiosis, the dextrocardiogram recovered, the electroencephalogram became flatten after the heart stopped beating, and it didn't recover 60 min after anabiosis. The arterial blood pressure descended quickly to 0 mmHg after the cardiac arrest and ascended to about 80 ~ 90 mmHg 10 min after anabiosis. Pathematology examination showed that the heart, lung and brain presented ischemic and anoxic damage 6 min after cardiac arrest, the heart and lung damage did not have obviously improvement and the brain damage was aggravated 60 min after anabiosis. **Conclusions:** Establishing modified rat model of cerebral injury after cardiopulmonary resuscitation is economic and practical, with the advantages of small wound and easy anabiosis. It is of great value for the study of cerebral injury after CPR.

[Key words] cardiopulmonary resuscitation; brain injuries; animal model; rats, inbred strains

心肺复苏一直是急救医学中的一个主要课题, 并认为心肺复苏后的脑复苏是关键。在这方面, 人们做了大量工作, 取得了一些令人鼓舞的进展, 但并不十分满意, 关键是没有一个理想的、稳定的心肺复苏动物模型。目前, 对心肺复苏的动物模型也有大量的报道^[1-3], 但大多使用的是大动物, 如狗、猪等, 虽然这些动物有许多方面接近于人类, 但常常因经济消费大、手术复杂、创面大等问题存在, 给实验带来一定的难度。为此本研究选用 Wistar 大鼠建立心肺复苏后脑损伤模型, 探索出一种更好、更稳定, 易

于复苏又经济的动物模型, 为心肺复苏后脑损伤的研究提供可靠的动物研究手段。

1 材料与方 法

1.1 动物、仪器和药品 Wistar 大鼠, 雄性, 30 只, 体重(325 ± 25) g, 由本院实验动物中心提供。动物人工呼吸机(DH-140B), 浙江医科大学仪器实验厂产品; SLC-3 型三道生理记录仪, 开封科教仪器厂产品; 20% 乌拉坦; 1% 肝素; 2% KCl。

1.2 方 法

1.2.1 模型制备 取 Wistar 大鼠, 20% 乌拉坦按 5 ml/kg, 腹腔注射麻醉, 沿颅顶中线切开皮肤, 暴露颅骨, 于颅骨左侧冠状缝和矢状缝, 各旁开 1 mm 处钻洞, 穿透颅骨达硬脑膜外, 安装不锈钢电极, 与脑电图负极连接, 将参比电极插入同侧耳后皮下, 记录脑电图。动物仰卧固定于手术台上, 做颈部正中切

[收稿日期] 2008-01-08

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学研究资助项目(99J10145); 蚌埠医学院教学研究资助项目

[作者单位] 蚌埠医学院 病理生理学教研室, 安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 杨卫东(1968-), 女, 实验师。

[通讯作者] 陈前芬, 研究生导师, 副教授 E-mail: cqfmr@sina.com

口,分离气管,并做气管插管。分离右侧颈外静脉,并做插管,使用心电图标准Ⅱ导联记录心电图。用冰2%KCl按0.22 ml/100 g,从颈外静脉内快速注入,使心跳骤停,心电图在30 s内基本变平,随后呼吸停止,同时轻压胸部3 min。心脏停跳6 min后,进行呼吸机机械通气(通气量2 ml/100 g,频率70次/分),胸腹插入式心脏按摩进行抢救。

1.2.2 分组 随机将Wistar大鼠分为3组,对照组(C组)($n=10$);按上述方法手术后不进行任何处理,手术后连续观察70 min。心跳骤停组(CPA组)($n=10$);按上述方法手术后,心脏停跳6 min,不复苏。心跳骤停复苏组(CPR组)($n=10$);按上述方法手术后,心脏停跳6 min后,复苏60 min。上述3组动物分别在预定的时间后处死,断颈,取全脑置于10%甲醛溶液中浸泡后,HE染色,做病理组织学检查,在整个实验过程中动态观察脑电图、心电图、瞳孔变化。

1.2.3 观察指标 (1)心脏停搏标准:心电图示心电静止、室颤;心尖区心脏搏动消失;瞳孔颜色变白、血压进行性下降为0 mmHg。(2)CPR成功标准:心电图出现正常的QRS波群(注药前的心电图表现);可触摸到明显的心脏搏动;瞳孔颜色变红、血压逐渐上升。(3)病理组织学检查。

2 结果

2.1 脑电图变化 术后C组脑电图连续观察70 min内无任何变化,CPA组和CPR组脑电图在心脏停跳后30 s内变平,复苏60 min内仍是一条线。

2.2 心电图变化 术后C组心电图连续观察70 min内波形无任何改变;CPA组,注入2% KCl后30 s内心电图由渐慢到停止,有时偶有1~2次电位产生,呼吸、心跳骤停6 min,一直无心电图;CPR组动物在30 s内及呼吸、心跳骤停6 min的心电图变化同CPA组,复苏后心电图大部分均可在10 min左右恢复正常,有少数动物可出现期前收缩。

2.3 血压的变化 C组动物血压在连续观察70 min内基本维持80~90 mmHg;CPA组的血压在注入KCl后呈进行性下降,数秒内降至0 mmHg;CPR组动物的血压在注入KCl后血压进行性下降至0 mmHg,6 min后开始复苏,随心电图的恢复,大多数动物血压逐渐上升至70~80 mmHg,45 min后开始下降,其中30%的动物在60 min时血压为20~30 mmHg。

2.4 瞳孔颜色变化 C组动物在连续观察70 min内瞳孔颜色均为红色;CPA组在呼吸、心跳骤停后瞳孔颜色由红色转变为白色,持续6 min内一直为白色;CPR组在呼吸、心跳骤停后瞳孔颜色由红色转变为白色,持续6 min内一直为白色,复苏后5 min瞳孔颜色由白色转变为红色。

2.5 病理组织学检查 CPA组:呼吸、心跳骤停6 min后,心脏可见显著充血,肌纤维颗粒变性;大脑皮层可见锥体细胞固缩,细胞水肿、充血明显;海马区可见颗粒细胞水肿明显、充血明显。CPR组:CPR 60 min后,心脏损害未见明显的损伤;大脑皮层可见锥体细胞固缩,充血、水肿加重;海马区可见颗粒细胞轻度变性,但充血、水肿加重(见图1~6)。

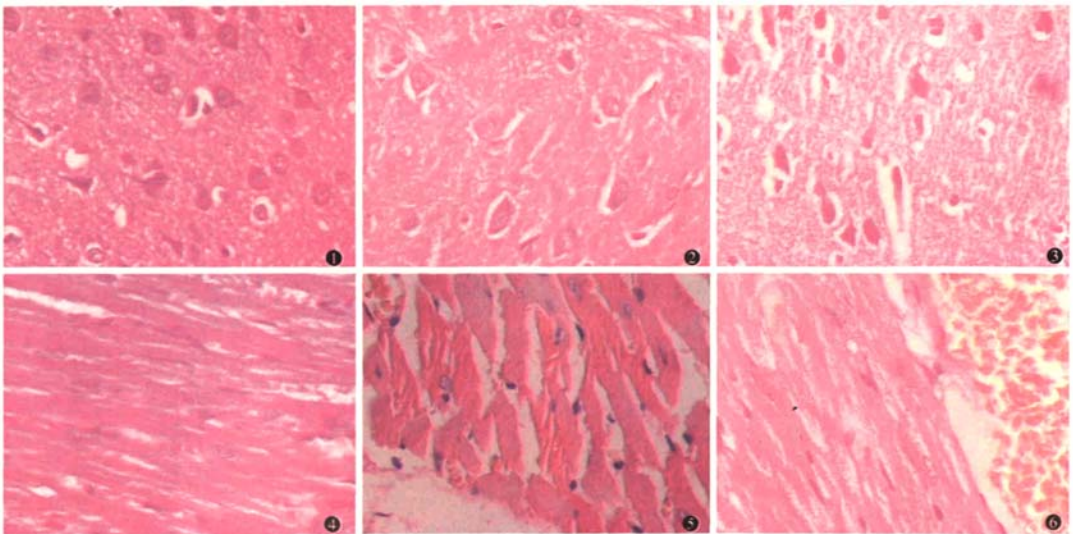


图1 对照组脑皮层细胞排列正常,未见明显改变 图2 CPA组脑皮层见锥体细胞固缩,细胞水肿、充血明显,海马区可见颗粒细胞水肿、充血明显 图3 CPR组脑皮层可见锥体细胞固缩,充血、水肿加重,海马区可见颗粒细胞轻度变性,但充血、水肿加重 图4 对照组心肌细胞排列正常,未见明显改变 图5 CPA组心肌可见细胞显著充血,肌纤维颗粒变性 图6 CPR组心肌未见损伤加重(图1~6 HE染色×400)

3 讨论

有学者对心肺复苏后脑复苏的临床研究做了大量工作,因缺少严格的对照实验和可信的动物模型,故对一些用于脑复苏的特殊治疗效果尚有争议。而开发某种药物在心肺复苏中的作用也需要稳定可信的动物模型。因此,研究一种既经济又稳定可信的动物模型,是心肺复苏研究中所亟须解决的重要课题之一。目前,国内外各实验室所采用的心脏停跳动物模型的方法很多,如室颤、窒息、阻断升主动脉^[3,4]等方法,且大多数采用大动物,如狗、猪等,虽然这些动物有它们的优点,但费用较高,而且大多数模型的制备均是在开胸的情况下进行大血管插管、再夹闭、再从大血管内注入 KCl 溶液的方法,手术创伤大,给复苏后治疗带来一定困难。本研究的动物模型选用大白鼠,价格低廉,手术简单,不需开胸,只作颈外静脉分离,并作血管插管,损伤较轻,有利于动物复苏。本研究大多数动物均在注入 KCl 30 s 以内心电图基本上变为一条直线,脑电消失,瞳孔变白,其结果与上述报道大动物实验结果相同。心肺复苏后 10 min 以内心电图基本恢复,很少有室颤发生,只有极少数动物可出现心律失常。病理学检查表明,心脏停跳 6 min 后大脑皮层锥体细胞固缩,细胞充血、水肿明显,海马可见颗粒细胞充血、水肿明显。心肺复苏后 60 min,大脑皮层变化加重,海马区颗粒细胞充血、水肿明显加重,表明呼吸心跳骤停,导致大脑皮层海马缺血;复苏后而发生脑再灌注

损伤,是心肺复苏后不可避免的因素。这种病理学变化与我们以往所做的脑缺血/再灌注损伤的实验研究结果相似^[5]。目前认为这种损伤变化与细胞内 Ca^{2+} 浓度增高、氧自由基及兴奋性氨基酸、能量代谢障碍、酸中毒等多种因素的综合作用有关,可使脑细胞坏死,细胞内酶释放。本实验模型动物来源丰富,方法简单易行,仅做颈部手术,损伤面小,易于复苏,复苏成功率可达 80%。该模型在心肺复苏后脑损伤较为准确、可靠,是较为成功的一种心肺复苏后脑损伤的动物模型,对心肺复苏后脑损伤的研究有一定的使用价值,但仍存在某些问题,如虽然大多数动物的血压变化在短时间内能达到 70 ~ 80 mmHg,但仍有 30% 动物的血压可降到 20 ~ 30 mmHg,这种变化可能与我们在抢救中没有用任何药物治疗有关。这方面有待于进一步研究探讨。

[参 考 文 献]

- [1] 尚游,姚尚龙,袁世炎. 心肺复苏的动物模型[J]. 国外医学·麻醉学与复苏分册, 2004, 25(3): 135-137.
- [2] 黄唯佳,李章平,陈寿权. 心肺复苏动物模型[J]. 中华急诊医学杂志, 2002, 11(6): 419-420.
- [3] 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.
- [4] 黎练达,张英俭,何明丰,等. 气管夹闭窒息法致家兔心脏骤停模型的建立[J]. 岭南急诊医学杂志, 2003, 8(1): 11.
- [5] 田鹤邗,陈前芬,谢群. 三血管阻断与重开放造成的大鼠全脑缺血再灌注损伤的实验研究[J]. 蚌埠医学院学报, 1993, 18(2): 113-116.

《蚌埠医学院学报》征订启事

《蚌埠医学院学报》创刊于 1976 年 3 月,由安徽省教育厅主管,蚌埠医学院主办,国内外公开发行的综合性医学学术期刊。主要刊登实验医学论文和应用医学论文。设有述评、基础医学、大学生科技园地、临床医学、检验医学、影像医学、药理学、预防医学、祖国医学、精神卫生、护理学、技术与方法、综述、短篇报道等栏目。

本学报是中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊。中国科技论文与引文数据库、中国期刊全文数据库、中国核心期刊(遴选)数据库、中国生物医学光盘数据库(CBMdisc)、中文生物医学期刊文献数据库(CMCC)、中文科技资料目录-医药卫生、中国生物学文献数据库、《中国生物学文摘》和中国医学文摘(十余种)等收录本学报。并已进入美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(PK)等国际著名检索系统。全文入编《中国学术期刊(光盘版)》、“中国知网”、“万方数据-数字化期刊群”等。先后获全国高校优秀科技期刊(B类)二等奖、安徽省高校优秀学报二等奖、安徽省优秀科技期刊三等奖。

本学报现为月刊,每月 15 日出版,国际标准 A4 开本,96 页,铜版纸印刷。标准刊号:ISSN 1000-2200;CN 34-1067/R;CODEN:BYIXEM。邮发代号:26-37,每册定价 8.00 元,全年 96.00 元。欢迎广大读者及时向当地邮局订阅,也可直接向本刊编辑部订阅,免收邮费。

邮购地址:安徽省蚌埠市东海大道 2600 号 邮政编码:233030

电话:(0552)3175456 E-mail:bang@chinajournal.net.cn;byxb@163.com

《蚌埠医学院学报》编辑部