

• 论 著 •

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.07.001

网络首发 [https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.R.20191226.1447.014.html\(2019-12-26\)](https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.R.20191226.1447.014.html(2019-12-26))

高钙离体蟾蜍心室颤动模型的建立研究^{*}

周 锦,戴淑芳,穆靖洲,张冬梅,刘克敏,傅 雷[△]
(大连医科大学基础医学院,辽宁大连 116044)

[摘要] **目的** 建立一种简单、有效、稳定的离体蟾蜍心室颤动模型。**方法** 30 只蟾蜍分为任氏液组、高钙组和高钙+Ad 组,每组 10 只。采用斯氏法制备离体蛙心灌流标本。任氏液组离体蟾蜍心脏只灌流任氏液;高钙组和高钙+Ad 组初始心室外容积固定为 1.0 mL,向任氏液组离体蟾蜍蛙心加入 10% CaCl₂ 20 μL 即高钙组,高钙组离体蟾蜍蛙心出现心室颤动时,立刻加入 0.1% 盐酸肾上腺素 20 μL 即高钙+Ad 组。应用 BL-420F 生物机能实验系统记录离体蟾蜍蛙心心肌收缩曲线和心电图。**结果** 高钙组与任氏液组比较心肌收缩力明显减小($P<0.01$),心肌收缩力曲线的基线明显上移,离体蟾蜍高钙时心电图检测可见高尖 T 波和正弦波,高钙组与任氏液组心率无明显变化($P>0.05$)。高钙+Ad 组与高钙组比较心肌收缩力基本恢复($P<0.01$),心肌收缩力曲线的基线逐渐下移,心率无明显变化($P>0.05$),心电图逐渐恢复至接近正常。**结论** 高钙离体蟾蜍心室颤动模型成功建立,方法可靠稳定。

[关键词] 心室颤动;模型;心肌收缩力;高钙
[中图法分类号] R541 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)07-1033-03

Model construction of ventricular fibrillation of isolated
toad heart in high calcium solution^{*}

ZHOU Jin,DAI Shufang,MU Jingzhou,ZHANG Dongmei,LIU Kemin,FU Lei[△]
(School of Basic Medical,Dalian Medical University,Dalian,Liaoning 116044,China)

[Abstract] **Objective** To construct a simple,effective and stable model of ventricular fibrillation of isolated toad heart. **Methods** A total of 30 toads were randomly divided into the Ringer's solution group,the high-calcium group and the high-calcium+Ad group,with 10 for each. The perfusion specimens of isolated toad heart were fully prepared by Si's method. The toad heart in the Ringer's solution group was infused with Ringer's solution only. The volume of the high-calcium group and the high-calcium+Ad group was 1.0 mL outside the ventricle. The Ringer's solution group was infused with 10% CaCl₂ 20 μL as the high-calcium group. When existing ventricular fibrillation,the high-calcium group was infused with 0.1% Epinephrine 20 μL as the high-calcium+Ad group. BL-420F biological and functional experimental system was applied to recorded the myocardial contraction curve and electrocardiogram. **Results** Myocardial contractility was significantly lower in the high-calcium group compared to the Ringer's solution group ($P<0.01$). The baseline of myocardial contraction curve significantly moved up in the high-calcium group with detection of high-point T wave and sine wave by electrocardiogram. There was no significant change in heart rate between the high-calcium group and the Ringer's solution group ($P>0.05$). Myocardial contractility of the high-calcium+Ad group basically restored,compared with that of the high-calcium group ($P<0.01$),the baseline of myocardial contraction curve moved down and the heart rate did not change significantly ($P>0.05$),then the electrocardiogram gradually returned to normal. **Conclusion** Model of ventricular fibrillation of isolated toad heart is constructed successfully,and the method is stable and credible.

[Key words] ventricular fibrillation;model;myocardialcontractility;high calcium

心脏是人和脊椎动物机体中的重要器官,主要功 能是泵血,将血液运行至机体各部分。中国每年大约

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(81200155)。 作者简介:周锦(1994—),本科,主要从事循环生理研究。 [△] 通信作者,E-mail: shiren382@qq.com。

有 30 万人猝死,其中 95%归因于严重的恶性心律失常^[1-2]。心室颤动(室颤)是严重的异位心律,心室丧失有效的整体收缩功能,但被心脏不动部位心肌快而不协调的颤动所代替。室颤是导致心源性猝死的严重心律失常,也常常是临终前的心律改变^[3-4]。在临床上,盐酸肾上腺素(adrenalin hydrochloride, Ad)是在实施心肺复苏过程中普遍使用的药物^[5-6]。目前,在国内外尚未见应用高钙离体蟾蜍蛙心建立室颤模型的相关报道,本实验采用向离体蟾蜍蛙心加入 10% CaCl₂ 20 μL 方法模拟室颤,并用 Ad 进行治疗,观察给予药物治疗前和治疗后心肌收缩力、心率及心电图的变化,旨在为临床室颤的治疗及研究提供一种成功率高、操作简便且成本相对较低的模型制备方法。

1 材料与方法

1.1 动物

中华蟾蜍 30 只,雌雄不拘,体质量 80~100 g,由大连医科大学实验动物中心提供。分为任氏液组、高钙组和高钙+Ad 组,每组 10 只。

1.2 试剂与仪器

任氏液(1 000 mL 蒸馏水中 NaCl 6.50 g、KCl 0.14 g、CaCl₂ 0.12 g、NaHCO₃ 0.20 g、NH₂PO₄ 0.01 g),10% CaCl₂ 溶液,1 mL:1 mg Ad(宁波第二激素厂,批号 150107),BF-420F 生物机能实验系统和张力换能器(成都泰盟公司)。

1.3 方法

1.3.1 模型制备

取 1 只蟾蜍,按照文献[7-8]方法制备离体心脏标本。

1.3.2 给药方法

任氏液组离体蟾蜍蛙心只灌流任氏液。高钙组和高钙+Ad 组初始心室外固定容积为 1.0 mL,任氏液组离体蟾蜍蛙心加入 10% CaCl₂ 20 μL 即高钙组;高钙组离体蟾蜍蛙心出现室颤时,立刻加入 0.1% Ad 20 μL 即高钙+Ad 组,治疗数次。

1.3.3 检测指标

用试管夹固定玻璃蛙心插管的上端于铁支架台上,连接蛙心夹上的丝线和张力换能器的簧片,以及换能器的输出线和计算机的输入接口。待离体蟾蜍

蛙心插管稳定约 1 h,应用 BL-420F 生物机能实验系统记录蟾蜍心肌收缩曲线、心率及心电图,将张力换能器于蟾蜍心脏之间连线的张力调节至 3~4 g,放大器灵敏度、滤波和时间常数等参数保持固定^[9]。

1.4 统计学处理

采用 SPSS19.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组离体蟾蜍蛙心心肌收缩力和心率比较

任氏液组模型成功率为 100%。高钙组模型成功率为 90%,其中 1 只离体蟾蜍蛙心加入 10% CaCl₂ 20 μL 后,正常心律立刻转为骤停且治疗无效,其余 9 只均有明显室颤表现。高钙+Ad 组模型成功率为 80%,其中 1 只离体蟾蜍蛙心在高钙中建立失败,1 只在加入治疗溶液后心肌收缩力小幅度下降,在治疗的第 5 分钟心跳停止,其余 8 只均有明显的治疗效果。各组心肌收缩力比较差异有统计学意义(*P* < 0.01),心率无明显变化(*P* > 0.05),见表 1、图 1。

表 1 各组离体蟾蜍蛙心心肌收缩力和心率情况			
组别	心肌收缩力(g)	心率(次/分)	实际成功率
任氏液组	3.48±0.12	37.8±0.12	100%
高钙组	0.75±0.24	39.5±0.20	90%
高钙+Ad 组	3.53±0.10	38.6±0.17	80%

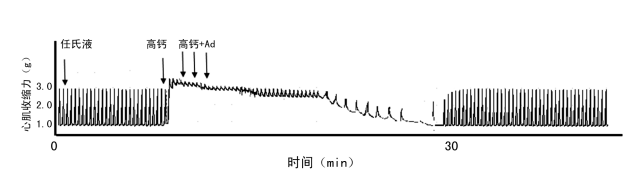
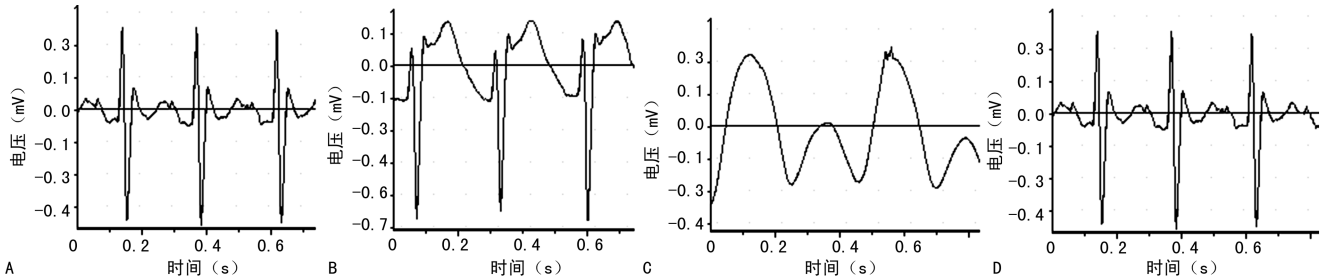


图 1 各组离体蟾蜍蛙心心肌收缩力变化图

2.2 各组离体蟾蜍心电图变化

任氏液组即正常离体蟾蜍蛙心灌流情况下,心电图正常;高钙组前期离体蟾蜍蛙心可见基线明显上移,高尖 T 波显著,为室颤前兆;高钙组后期离体蟾蜍蛙心可见 QRS-T 波群完全消失,出现大小各异间距不匀齐的正弦波,为典型的室颤表现;高钙+Ad 组离体蟾蜍蛙心可见心电图恢复正常,见图 2。



A:任氏液组;B:高钙组前期;C:高钙组后期;D:高钙+Ad 组。

图 2 各组离体蟾蜍蛙心心电图变化

3 讨 论

心肌属于横纹肌,有由粗、细肌丝构成的和心肌细胞长轴平行的肌原纤维。心肌收缩对细胞外 Ca^{2+} 有着明显依赖性。当细胞内的 Ca^{2+} 浓度增高, Ca^{2+} 和肌钙蛋白结合,触发粗肌丝的横桥和细肌丝结合并发生摆动,使心肌细胞收缩。向离体蟾蜍蛙心加入 CaCl_2 , Ca^{2+} 通过肌膜和横管膜上的 L 型钙通道流入细胞内,触发肌质网终池释放大量的 Ca^{2+} ,使细胞内 Ca^{2+} 增高引起心肌收缩。高钙情况下,对心肌细胞 Na^+ 内流具有竞争性抑制作用,称为膜屏障作用。高钙膜屏障作用增强,心肌细胞兴奋性和传导性降低, Ca^{2+} 内流速度加快,以致动作电位平台期缩短,复极速度加快,出现房室传导阻滞。在实验阶段,为成功模拟室颤模型,以不同浓度的 CaCl_2 加入离体蟾蜍蛙心进行梯度比较。综合比较后,认为 10% CaCl_2 为诱导离体蟾蜍室颤的最佳浓度。在任氏液组加入 10% CaCl_2 20 μL ,可见基线上移,T 波高尖,进而可见 QRS-T 波群完全消失,出现大小各异间距不均匀的正弦波,为典型的室颤表现。

肾上腺素能受体(adrenergic receptor,AR)包括 α_1 (A,B,D)、 α_2 (A,B,C)、 β (β_1 , β_2 , β_3),都属于 G 蛋白偶联受体超家族的成员^[10-11]。AR 可与儿茶酚胺类激素如肾上腺素、去甲肾上腺素、异丙肾上腺素结合, β -ARs (90%) 和 α_1 -ARs (10%) 为心脏最主要的 AR^[12]。研究发现, β -ARs 激活后使心脏心率加快,自律性增高,传导加快及收缩增强, α_1 -ARs 激活后可促使心肌细胞适应性肥大、减少心肌细胞凋亡、增加心肌收缩性、诱导缺血预适应反应等,为临床使用 α_1 -ARs 激动剂提供了依据^[13]。肾上腺素是一种外源性儿茶酚胺,化学性质不稳定,具有 α -和 β -肾上腺素能活性,能提高脑血流量、心肌血流、主动脉压及冠状动脉灌注压^[14]。魏芳玲等^[15]对 92 例心搏骤停患者观察发现:和常规剂量肾上腺素治疗比较,大剂量肾上腺素对于心搏骤停患者具有更明显的抢救效果,有助于患者自主循环和呼吸的迅速恢复,提高心肺复苏的成功率。本实验显示,10% CaCl_2 能迅速引起离体蟾蜍室颤,即心肌收缩力明显减小,心肌收缩力的基线明显上移,心肌细胞处在不完全强直状态,经过 Ad 大剂量治疗 3 次以后,可观察到心肌收缩力基线明显下移,在 30 min 左右,心肌收缩力恢复正常状态并维持。

任氏液组、高钙组和高钙+Ad 组的离体蟾蜍心率基本上没有变化,这可能是因为蟾蜍为两栖动物,心率本身相对较稳定,与人类等哺乳类动物有本质区别。离体蟾蜍蛙心室颤模型的建立操作简捷,材料易获取,模型建立成功率高且试验成本相较其他动物实验较低,采用本实验方法来建立室颤模型用于临床心律失常研究有广泛前景。

参考文献

- [1] 孙喜萍. 恶性心律失常的急救临床分析[J]. 中国医药科学,2013,3(16):207-208.
- [2] 马忠华. 恶性心律失常院前急救治疗及疗效评析[J]. 中国社区医师,2018,34(17):62,64.
- [3] 高于斯,贺鹏康,周菁. 心室颤动药物与电学治疗评价[J]. 实用心电学杂志,2018,27(3):207-213.
- [4] 苗成龙,李拥军. 室性心动过速和心室颤动治疗进展[J]. 临床荟萃,2018,33(9):753-755.
- [5] 何桂芝,李福林,章震宇. 心肺复苏肾上腺素能受体激动剂的应用[J]. 医学理论与实践,2005,18(10):1177-1178.
- [6] 袁世山,刘绍泽. 异丙肾上腺素在心肺复苏中应用时机的探讨[J]. 中国医药指南,2012,10(16):170-171.
- [7] 刘克敏,孙艺平,王珂萌,等. 鹿茸的心肌保护作用与 M 受体的相关性研究[J]. 重庆医学,2016,45(31):4404-4406.
- [8] 张毓,戴淑芳,王子丹,等. 茶色素对心肌缺血离体蟾蜍心脏活动的影响[J]. 重庆医学,2018,47(5):588-593.
- [9] 张冬梅,王俊亚. 关于蛙心灌流实验器材及方法的改进[J]. 现代医药卫生,2012,28(22):3401-3402.
- [10] 邹月柳,赵强. β_3 肾上腺素能受体与心力衰竭[J]. 中华临床医师杂志,2017,11(2):279-283.
- [11] 邵梦娇,张玲,商鲁翔,等. β_1 肾上腺素能受体自身抗体表达增强对心房颤动及心房电重构的影响[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志,2019,33(2):144-148.
- [12] 李红梅,王华东. 心脏 α_1 肾上腺素能受体与心肌细胞凋亡[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版),2016,37(3):221-225.
- [13] CHANG N,LI Y,ZHOU M,et al. The hemostatic effect study of cirsiun setosum on regulating α_1 -ARs [J]. Biomed Pharmacother, 2017,87,698-704.
- [14] 邢吉红,董均树,李佳睿. 不同剂量肾上腺素对室颤家兔血流动力学的影响[J]. 中国老年学杂志,2005,25(4):448-450.
- [15] 魏芳玲,任天成,董梅,等. 大剂量肾上腺素对心脏骤停患者的抢救效果观察[J]. 临床合理用药,2016,9(6A):14-15.