doi:10.3969/j.issn.1674-5817.2014.06.003

房颤兔模型制作方法的优化

张方亮[1,2]，陈颖敏[1]，宋 磊[1]，罗章源[3]，张文赞[3]，许向东[2]，何 奔[1]
(1. 上海交通大学医学院附属仁济医院心内科，上海 200001;
2. 嘉定区中心医院心内科，上海 201800; 3.恩识医疗科技(上海)有限公司，上海 201112)

[摘要] **目的** 优化无线植入刺激系统房颤(AF)动物模型制作方法。**方法** 1)麻醉方案优化，将30只新西兰兔分为3组,每组10只,分别用三种不同的麻醉方法。A组：戊巴比妥钠，B组：陆眠宁Ⅱ+地西泮+利多卡因，C组：陆眠宁Ⅱ+咪达唑仑+利多卡因。比较其首次麻醉时间，对呼吸、心率的抑制作用，麻醉2 h内补充麻醉次数，麻醉死亡。2)采集电极留置部位优化，先将心动图采集电极连接注射器针头在兔体表不同部位采集心电图分析后选择最终采集部位。3)植入子刺激电极和手术方法优化，使用优质不锈钢丝制作刺激电极和一种改进的电极缝合固定方法。**结果** A组麻醉中呼吸、心率抑制较B、C组明显。B组首次麻醉时间最长。C组补充麻醉次数最多。优化心电图采集位置后获得了最佳心动图。优化的刺激电极明显改善了刺激效果，改进手术方法后使手术简单易行，缩短了手术时间。**结论** 通过优化麻醉方案、心电图采集部位，改进刺激电极和手术方法后制作植入式遥测刺激器建立AF动物模型更加符合实验动物的3R原则。

[关键词] 房颤(AF); 动物模型; 兔; 优化

[中图分类号] Q95-33 [文献标识码] A [文章编号] 1674-5817(2014)06-0443-06

以往作者制作犬房颤(AF)模型时，将犬用氯胺酮诱导麻醉，气管插管，机械通气，异氟烷维持麻醉后先在左侧背部做一皮下囊袋，植入体内植入式遥测刺激器，然后左侧开胸，在左心耳缝合一对刺激电极，经皮下隧道连接至背部皮下囊袋内的体内植入装置，再将一对头端分别位于胸骨右缘第一肋间及左侧肋下腹部处的记录电极经皮下隧道连接至植入装置。术后1周开始无线刺激、遥测记录并成功建立了犬的AF模型[1]。但上述AF动物模型制作过程繁琐，费用昂贵。基于实验动物的3R原则，作者将动物改为家兔，再从麻醉药物的选用、实验方法步骤及实验器材改进，进一步优化运用植入式遥测刺激装置建立兔的AF模型的方法，使实验更加符合动物福利要求。

1 材料与方法

1.1 实验动物

普通级新西兰兔2~2.3 kg，30只,雌雄各半，10周龄左右,购自上海市松江区车墩实验动物良种场[SXCK(沪)2012-0008]。将新西兰兔分为A、B、C三组，每组10只，雌雄各半。三组分别用不同的麻醉方法在上海交通大学医学院进行实验[SYXK(沪)2013-0050]。

1.2 体内植入式遥测系统和工作原理

杰升生物公司无线植入系统(科研型GENIX2010,产地:上海)。分为体内植人式遥测刺激器、体外无线信号接收与控制系统、计算机分析存储显示系统三部分，其电脑工作界面如图1所示。其调控系统能满足所有的实验要求电压频率范

[收稿日期] 2014-05-09
[基金项目] 上海市科委科研计划资助项目(124119b1700)
[基金项目] 上海市嘉定区卫生系统第三轮学科(项目)建设计划支助(TS02)
[作者简介] 张方亮(1971-),硕士研究生,主治医师,从事心血管内科临床诊疗及相关研究。
E-mail: zhfangliang@163.com
[通讯作者] 陈颖敏,博士,主任医师,从事心血管内科电生理诊疗及相关研究。
E-mail: chenyingmin@medmail.com.cn

万方数据

图 1 无线植入系统电脑工作界面

围，使动物术后在自由活动的基础上完成实验，可在同一动物身上进行高频起搏，Burst 刺激，S1S2 刺激，有效不应期的测定等试验。

1.3 手术器材和药物

超净工作台, 小动物胸廓撑开器，止血钳，小铺巾，无菌纱布，注射器，酒精，棉球，碘伏，戊巴比妥钠注射液，陆眠宁 II 注射液，地西泮注射液，咪达唑仑注射液，青霉素钠，生理盐水。

1.4 优化麻醉方案

将上述分组的新西兰兔选择三种常用的麻醉方法: A 组, 体积分数 3% 的戊巴比妥钠液体 30 mg/kg 耳缘静脉注射，如术中动物出现挣扎再次耳缘静脉推注 9 mg 戊巴比妥钠。B 组，陆眠宁 II 4 mg/kg 肌注后地西泮 1 mg/kg 耳缘静脉麻醉，体积分数 2% 利多卡因局部麻醉的复合麻醉，如兔出现挣扎耳缘静脉再次推注 0.5 mg 地西泮，利多卡因伤口局部浸润。C 组，陆眠宁 II 4 mg/kg 肌肉注射，咪达唑仑 0.5 mg/kg 耳缘静脉麻醉，体积分数 2% 利多卡因局部麻醉的复合麻醉，如术中兔出现挣扎再次耳缘静脉推注咪达唑仑 0.25 mg，利多卡因伤口局部浸润。观察不同组间首剂麻醉时间(为首剂麻醉后至第 1 次追加麻药时间)，首剂麻醉后 2 h 内追加麻药次数，手术结束至完全苏醒时间，心率抑制率，呼吸抑制率，麻醉死亡率。

1.5 最佳心电采集电极位置选择

兔进入麻醉状态后，取仰卧位，植入子埋入右上腹囊袋内，分别将植入子的两个心电采集电极头端在体外与 5 ml 注射器金属针头尾端连接后将针头刺入兔不同部位的皮下记录体表心电图，分析后选择最佳心动图采集位置，再经皮下隧道将电极头端固定与最佳位置。

1.6 植入子电极及手术方法的改进

将植入子刺激电极头端材料由普通电线焊锡制成改为优质不锈钢丝制作的螺旋形电极。两个刺激电极在左侧开胸后通过皮下隧道缝固于左心房表面。术后一周起进行 S1S2 刺激、Burst 刺激或高频起搏建立 AF 模型。笔者原来刺激电极缝固的方法是将刺激电极先用一根带线缝针缝于左心房后再第二次用带线缝针穿过电极头端小孔缝于其下方心房肌以使电极牢固缝合于心房，由于不停跳动的心脏使第二针缝线非常困难。现在将两根带线缝合针同时穿过电极头端小孔，其中一根头段和尾段先用止血钳夹住便于分辨，另一根带线缝针先穿过心房肌表面后将缝线头尾端用一止血钳夹住，然后以同样的方法将另一根缝线在前缝线所穿心房肌附近再穿过少量心房肌，然后将电极头端送至心房肌表面将两根缝线逐一打结使电极固定于心房表面。

1.7 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS17.0 统计软件, 计量资料进行方差齐性检验后采用 Bonferroni 单因素方差分析，记数资料采用卡方检验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三种不同麻醉效果比较

三组麻醉中 A 组的呼吸抑制率和心率抑制率均高于其他两组， B 组的首剂麻醉时间高于其他两组，C 组的补充麻醉次数多于其他两组，差异有统计学意义(表 1)。

2.2 最佳采集电极位置

通过事先不同体表部位心动图采集导联位置的比较分析后选择最佳的心动图采集位置(图 2)。例如位置 1: 左右上肢腋下, 体表心电图; 位置 2: 右上肢腋下及左腋前线与十二肋交点处, 体表心电图; 位置3: 右上肢腋下及左侧腋前线与第五六肋间交点处, 体表心电图。然后选择导联信号最清晰最符合生理状态的部位, 用记号笔描记清楚, 并找寻体表标记如肋骨、明显大血管等。经过比较后最终选择位置 1 为体表心动图采集的位置, 在植入子埋入腹部皮下后通过皮下隧道将心电图采集电极头端拉至该位置后缝线固定。经优化后的体表心动图采集位置, 明显改善了遥测时心电图的波形质量和稳定性。所有存

万方数据

表 1 三种不同麻醉方法的比较

观察项目	A组	B组	C组
首剂麻醉维持时间/min	55.6 ± 6.1	82.6 ± 15.97$^{\triangle\triangle}$	66.4 ± 17.5$^{\triangle\triangle *}$
麻醉2 h内追加麻药次数	2.2 ± 0.63	2.12 ± 1.25	3.5 ± 0.53$^{\triangle\triangle *}$
手术结束至完全苏醒时间/min	23.6 ± 3.28	28.85 ± 7.88	23.7 ± 9.17
呼吸抑制率/%	56.5 ± 12.06	33.61 ± 8.55$^{\triangle\triangle}$	32.57 ± 7.14$^{\triangle\triangle}$
心率抑制率/%	40.32 ± 1.79	19.6 ± 11.86$^{\triangle\triangle}$	14.39 ± 5.11$^{\triangle\triangle}$
麻醉死亡率/%	40(4/10)	20(2/10)	10(1/10)

注: 与A组比较, $^{\triangle\triangle}$ P<0.01, 与B组比较, **P<0.01

活的23只兔的P波幅值达到了0.083 ± 0.036 mV，QRS波幅值达到了0.66 ± 0.13 mV，T波幅值达到了0.16 ± 0.06 mV。经300倍放大后可清晰的被观察到(图3)。对已经完成的家兔AF动物模型AF持续时间>48 h(图4)。

2.3 植入子刺激电极及手术方法的改进

作者原先用普通电线经焊锡加工后制成刺激电极头端缝在兔心房，实验后发现前3 d可以成功刺激心房而后心房却无法有效应答，解剖发现两电极头端周围出现大量肉芽组织(图5)。检测两刺激电极间的电阻达20 kΩ，明显过高，考虑电极本身存在缺陷，因此作者改良优化了电极。改良电极头(图6)使用优质不锈钢丝做成螺旋形状，合理增加电极与心房的接触面积降低阻抗并改善了电极的

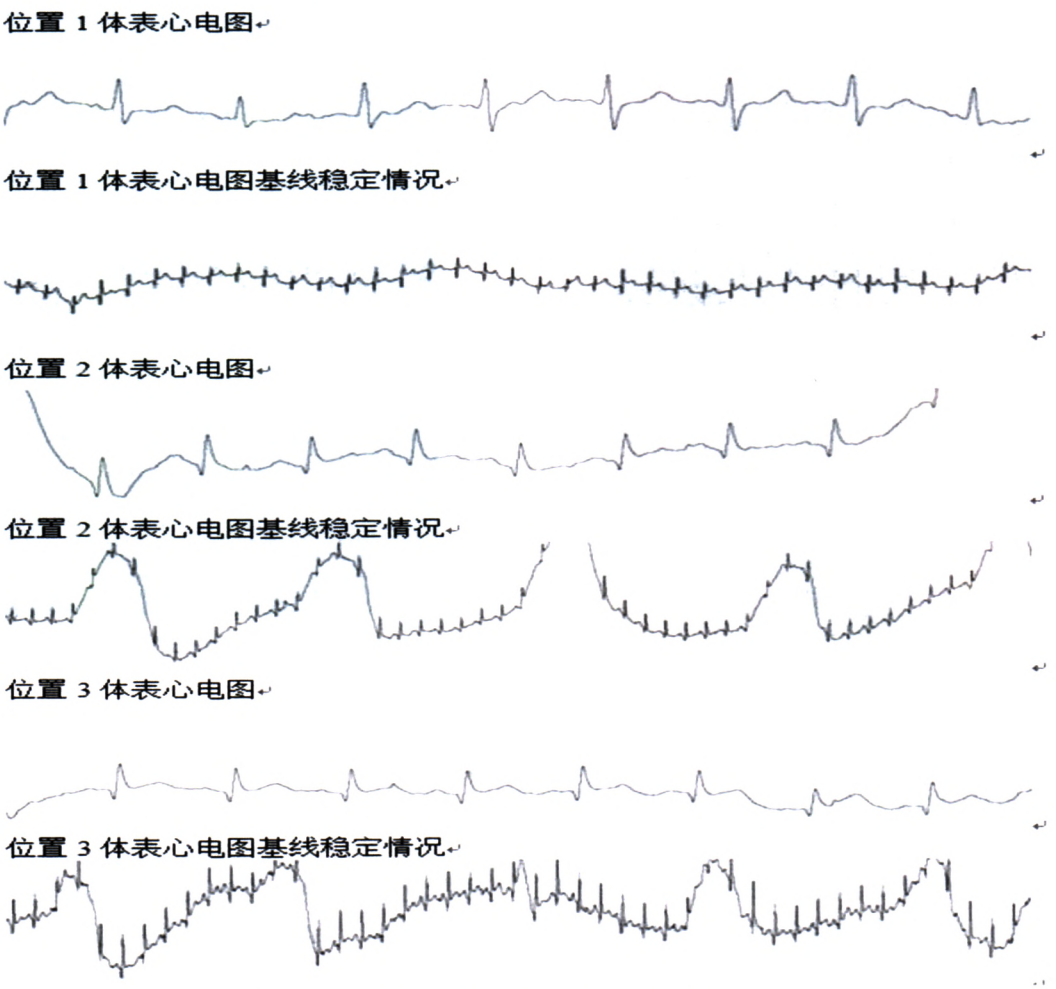

图 2 不同体表位置心动图波形及其基线稳定情况

万方数据

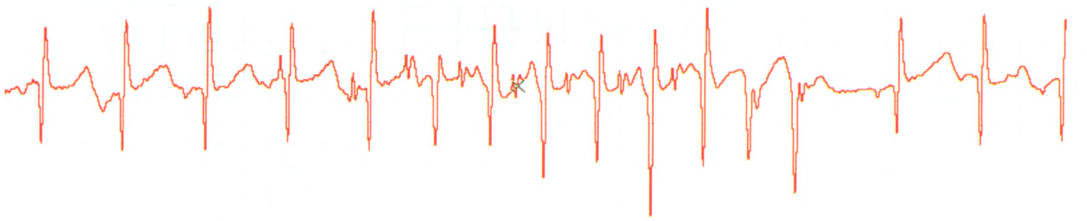

图 3 兔左心房 S1S2 刺激的遥测心电图

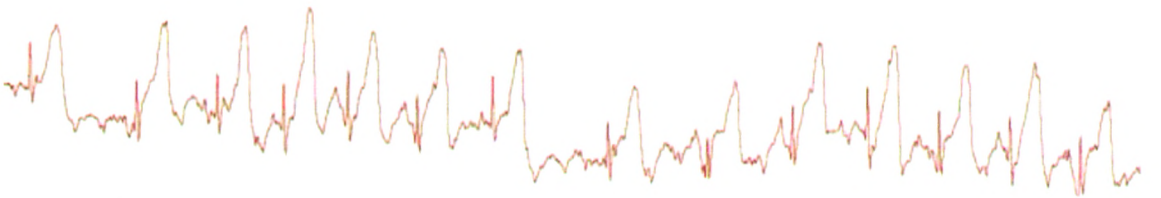

图 4 家兔持续房颤体表心电图

图 5 两刺激电极周围大量肉芽组织

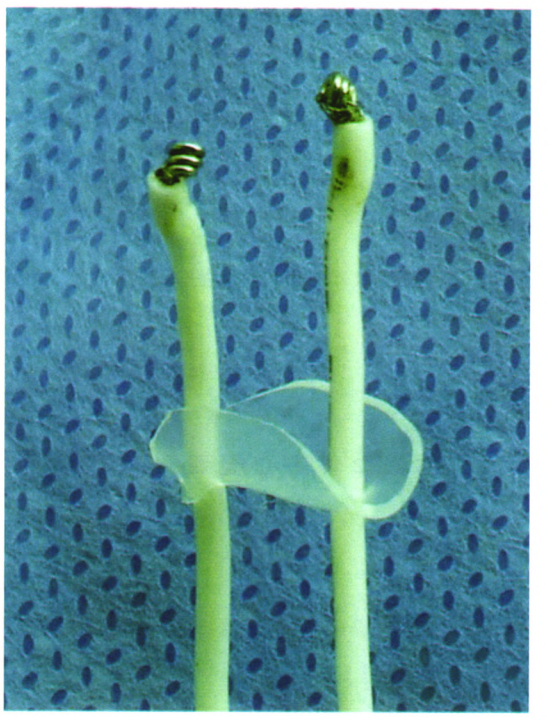

图 6 改良刺激电极

组织生物相容性，缝合硅胶片有效隔离心房表面的电极与周围组织的接触，经过改良后的电极明显增加了心房刺激的有效应答，电极植入 2 周以上仍有很好的刺激应答(图 3)。刺激 3 周以上后出现了持续性 AF(图 4)。作者将缝线事先穿过刺激电极后再缝于心房的手术方法使电极头端在狭小的兔肋间隙更容易操作，明显缩短了手术时间。

3 讨论

自 1947 年《纽伦堡守则》的出现,动物实验被广泛地应用到医学领域的科学试验中,随着动物实验的增加，人们也越来越关注实验动物的伦理和福利[2,3]，1959 年英国动物学家 Russell 和微生物学家 Burch 提出了 3R 原则。因此作者尝试了优化 AF 动

万方数据

物模型的制作实验。AF模型动物的选择中使用小动物代替大动物时，因鼠类的心房太小,不容易形成AF，而家兔成为制作AF模型的越来越多地选择。制作兔AF模型的方法多种多样，Liu 等[4]，用朗氏液灌注离体兔模型心脏,通过burst刺激诱发AF。Zhang等[5]通过颈动脉插入一根5F四极电极导管至兔右心房进行500~600次/min快速起搏诱发AF。Li等[6]通过右侧颈静脉插入一根4F多电极导管至右心房进行电生理检查和brust刺激同时静脉注射乙酰胆碱来诱发AF。He等[7]通过一对缝合于左心房钩状电极连接至背部体外的起搏装置，以1000次/min起搏4周制作AF模型。但这些方法制作的AF模型并不理想符合动物福利要求的持久AF模型，因此作者通过不断的优化实验探索一种理想的AF模动物型的制作方法。

首先，实验动物麻醉的目的是满足手术需要和保证实验动物安全，对动物产生制动、镇静和镇痛作用,这可以减少实验动物的痛苦，当麻醉的影响不可避免时，应了解和控制影响的程度和范围，并提供校正和分析实验结果的资料[8]。不仅如此，麻醉可能会直接影响心律失常的诱发[9]。作者通过对三组麻醉方法的比较，分析不同麻醉的优缺点后可以选择最适合手术要求的麻醉，这样可以使实验动物的麻醉得到优化。本实验中戊巴比妥钠对呼吸和心率的影响较大，且麻醉死亡率较高达到40%，但死亡率组间比较无统计学差异。多处文献[10,11]提到戊巴比妥钠推注速度过快会严重影响家兔呼吸、心率，这可能是增加本次实验中家兔死亡率的原因。而复合麻醉则明显减轻了呼吸、心率抑制,术中动物局部皮下注射利多卡因有效避免切皮疼痛,不仅不会抑制心率呼吸，且麻醉效果快而显著。实验发现B组首剂麻醉时间最长,C组首剂麻药维持时间较短，首次麻醉后需多次补充麻醉。了解这些麻醉药物的特性对于手术的顺利进行十分必要，而且可以根据不同的手术需要选择不同的麻醉方案。比如手术简单,持续时间较短，术者麻醉手术熟练时可以选用A/C组方法。术者手术不够熟练，预计手术时间较长时可以选用B组方法。以上麻醉方案均咨询有关实验动物专家。

在心动图采集电极位置选择中，因为P波是观察AF的重要指标之一，因此事先在不同体表位置试验采集电极，以尽量选择P波明显的导联，同时要考虑呼吸对心动图基线平稳的影响及电极的皮下隧道距离最短，这样可以使试验的效果得到优化。通过改进植入子刺激电极头端及手术方法均可增加实验的成功率并减小试验动物的痛苦，减少手术时间。因为作者的植入系统可在无线基础上进行遥测和刺激，所以植入1周后可无需再次麻醉进行心房刺激，除了使动物能在自由状态下完成试验外，还可消除除麻醉对心律失常诱发的影响。

总之,作者在制作基于无线植入刺激系统AF动物模型时通过优化麻醉方案，选择最佳心动图采集位置和改良植入子刺激电极及手术方法以及用家兔代替犬进行同样的试验符合实验动物福利的3R原则,可以使AF动动物模型的制作得到进一步优化。

参考文献：

[1] 陈雯雯,陈颖敏,徐瑾,等.基于无线刺激与遥测系统的心房颤动动物模型[J].中国心脏起搏与电生理杂志,2012,26(3):241-245.

[2] 杨国滨.生物医学研究中实验动物伦理学问题的思考[J].中国医学理论学,2010,23(3):10-13.

[3] 贺争鸣,邢瑞昌,方喜业,等.论实验动物福利?动物实验与动物实验替代方法[J].实验动物科学与管理,2005,22(1):61-64.

[4] Liu T, Zhao H, Li J, et al. Rosiglitazone attenuates atrial structural remodeling and atrial fibrillation promotion in alloxan-induced diabeticrabbits[J]. Cardiovasc Ther, 2014 May 9. doi: 10.1111/1755-5922.12079.

[5] Zhang DX, Ren K, Guan Y, et al. Protective effects of apocynin on atrial electrical remodeling and oxidative stress in a rabbit rapidatrial pacing model[J]. Chin J Physiol, 2014, 57(2):76-82.

[6] Li H, Scherlag BJ, Kem DC, et al. The Propensity for Inducing Atrial Fibrillation: A Comparative Study on Old versus Young Rabbits[J]. J Aging Res, 2014; 2014:684918. doi: 10.1155/2014/684918.

[7] He XY, Gao XR, Peng LY, et al. Atrial fibrillation induces myocardial fibrosis through angiotensin II type 1 receptor-specific Arkadia-mediated downregulation of Smad7[J]. Circ Res, 2011, 108(2):164-175.

[8] 赵厚德,陶均,郝智慧,等.麻醉对动物实验的影响[J].中国比较医学杂志,2004,14(6):386-387.

[9] Inaba H, Hayami N, Ajiki K, et al. Deep anesthesia suppresses ventricular tachyarrhythmias in rabbit model of the acquired long QT syndrome[J]. Circ J, 2011, 75:89-93.

[10] 孙婷婷,王宏坤.一种家兔持续静脉麻醉方法[J].中国比较医学,2011,21(3):56-58.

[11] 郑桂银,马维红.外科动物实验应用地西泮麻醉家兔效果的研究进展[J].华夏医学,2010,23(2):197-200.

万方数据

Refinement on Establishment of Atrial Fibrillation Model in Rabbit

ZHANG Fang-liang, CHEN Ying-min, SONG lei, LUO Zhang-yuan,
ZHANG Wen-zan, XU Xiang-dong, HE Ben
(1. Ren Ji Hospital, School of Medicine , Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200001, China;
2. Jiading district central hospital,Shanghai 201800, China;
3. Ensense Biomedical technologies(Shanghai) Co. Ltd. , Shanghai 201112, China)

[Abstract] Objective To optimize the method for establishing an animal model of atrial fibrillation (AF) based on self-designed implantable telemetry and stimulator. **Method** First, the anesthetic protocols were refined. Thirty New Zealand rabbits, half males and half females, were divided into three groups. Group A, pentobarbital sodium only, Group B, xylazine with diazepam and lidocaine, and Group C, xylaxine with midazolam and lidocaine. Second, the location of recording electrodes were optimized by using a needle to connect to ECG collect electrode and the needle was punctured to the different location of the rabbit chest subcutaneous to analyze the electrocardiogram before choose the best location. Third, the stimulating electrode was refined and the method of operation was improved. **Results** At the anesthesia, the heart rate and breath rate of Group A were depressed more than Group B and Group C, first anesthesia time of Group B was longest, complemental anesthesia times of Group C was more than Group A and Group B. The best electrode location could prove good ECG record . Refined stimulating electrode could improve the effect of stimulation. Reformed operation method could simplify the operation procedure. **Conclusion** The refined method for establishing an animal model of atrial fibrillation used by Implantable telemetry and stimulator was feasible, and more conformance to animal welfare.
[Key words] Atrial fibrillation(AF); Animal model; Rabbit; Refinement

万方数据

房颤兔模型制作方法的优化

作者： 张方亮， 陈颖敏， 宋磊， 罗章源， 张文赞， 许向东， 何奔， ZHANG Fang-liang， CHEN Ying-min ， SONG lei， LUO Zhang-yuan， ZHANG Wen-zan， XU Xiang-dong， HE Ben

作者单位： 张方亮,ZHANG Fang-liang(上海交通大学医学院附属仁济医院心内科,上海200001;嘉定区中心医院心内科 ,上海201800)， 陈颖敏,宋磊,何奔,CHEN Ying-min,SONG lei,HE Ben(上海交通大学医学院附属仁济医院 心内科,上海,200001)， 罗章源,张文赞,LUO Zhang-yuan,ZHANG Wen-zan(恩识医疗科技(上海)有限公司 ,上海,201112)， 许向东,XU Xiang-dong(嘉定区中心医院心内科,上海,201800)

刊名： 实验动物与比较医学ISTIC

英文刊名： Laboratory Animal and Comparative Medicine

年，卷(期)： 2014,34(6)

参考文献(11条)

1. 陈雯雯;陈颖敏;徐瑾 基于无线刺激与遥测系统的心房颤动动物模型 2012(03)

2. 杨国滨 生物医学研究中实验动物伦理学问题的思考 2010(03)

3. 贺争鸣;邢瑞昌;方喜业 论实验动物福利?动物实验与动物实验替代方法 2005(01)

4. Liu T;Zhao H;Li J Rosiglitazone attenuates atrial structural remodeling and atrial fibrillation promotion in alloxan-induced diabeticrabbits 2014

5. Zhang DX;Ren K;Guan Y Protective effects of apocynin on atrial electrical remodeling and oxidative stress in a rabbit rapidatrial pacing model 2014(02)

6. Li H;Scherlag BJ;Kem DC The Propensity for Inducing Atrial Fibrillation:A Comparative Study on Old versus Young Rabbits 2014

7. He XY;Gao XR;Peng LY Atrial fibrillation induces myocardial fibrosis through angiotensin Ⅱ type 1 receptorspecific Arkadia-mediated downregulation of Smad7 2011(02)

8. 赵厚德;陶均;郝智慧 麻醉对动物实验的影响 2004(06)

9. Inaba H;Hayami N;Ajiki K Deep anesthesia suppresses ventricular tachyarrhythmias in rabbit model of the acquired long QT syndrome 2011

10. 孙婷婷;王宏坤 一种家兔持续静脉麻醉方法 2011(03)

11. 郑桂银;马维红 外科动物实验应用地西泮麻醉家兔效果的研究进展 2010(02)

引用本文格式：张方亮.陈颖敏.宋磊.罗章源.张文赞.许向东.何奔.ZHANG Fang-liang.CHEN Ying-min.SONG lei.LUO Zhang-yuan.ZHANG Wen-zan.XU Xiang-dong.HE Ben 房颤兔模型制作方法的优化[期刊论文]-实验动物与比较医学 2014(6)