彭薪元,刘燕,夏天娇,等. 三种麻醉药对 C57BL/6 雄性小鼠体表心电图的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(6): 118 - 122.

Peng XY, Liu Y, Xia TJ, et al. Effects of three anesthetics on electrocardiograms of male C57BL/6 mice [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(6): 118 - 122.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.06.019

三种麻醉药对 C57BL/6 雄性小鼠体表心电图的影响

彭薪元,刘　燕,夏天娇,丁　洁,徐力致*

(南京大学医学院,南京　210023)

【摘要】　目的　通过比较三种常规动物麻醉药对 C57BL/6 小鼠心电图的影响,探寻对小鼠心电图干扰较小的麻醉药。**方法**　将小鼠分为 3 组腹腔注射 20%氨基甲酸乙酯,1%戊巴比妥钠,2.5%水合氯醛,待完全麻醉后将小鼠连接上肢体导联的心电扫描仪,进行连续 1 h 的心电图记录。**结果**　随给药时间延长(0~40 min),20%氨基甲酸乙酯对小鼠心电图各项指标无明显影响;1%戊巴比妥钠可引起小鼠心率降低,PR 间期,QRS 波宽度明显延长;2.5%水合氯醛使小鼠心率降低、PR 间期延长,20 min 后趋于稳定。**结论**　20%氨基甲酸乙酯对 C57BL/6 小鼠心电图各项指标影响最小。2.5%水合氯醛在麻醉后 20 min 后适合进行相应科学研究。

【关键词】　小鼠;麻醉;氨基甲酸乙酯;水合氯醛;戊巴比妥钠;心电

【中图分类号】R-33　　**【文献标识码】**A　　**【文章编号】**1671-7856(2019) 06-0118-05

Effects of three anesthetics on electrocardiograms of male C57BL/6 mice

PENG Xinyuan, LIU Yan, XIA Tianjiao, DING Jie, XU Lizhi*

(Medicine School of Nanjing University, Nanjing 210023, China)

【Abstract】　Objective　To investigate the anesthetics that do not interfere with electrocardiograms (ECG) by comparing the effects of three anesthetics on ECG in C57BL/6 mice. **Methods**　Mice were randomly divided into three groups: intraperitoneal injection of 20% ethyl carbamate, 1% pentobarbital sodium, and 2.5% chloral hydrate. After complete anesthesia, the mice were connected to an ECG scanner by a limb lead for 1 hour of electrocardiogram recording. **Results**　Within the administration time between 0-40 min, 20% EC did not significantly affect the ECG parameters of mice. However, mice in the 1% pentobarbital sodium group had a reduced heart rate, and prolonged PR interval and QRS duration. Mice in the 2.5% chloral hydrate group had a reduced heart rate and prolonged PR interval. **Conclusions**　Our findings indicates that 20% EC has the least effect on the ECG of C57BL/6 mice and that 2.5% chloral hydrate is suitable for experimental studies 20 min after anesthesia is induced in mice.

【Keywords】　mice; anesthesia; ethyl carbamate; chloral hydrate; pentobarbital sodium; electrocardiogram

---

[基金项目]江苏省自然科学基金(SBK2016020542);南京大学“十三五”实验教学改革研究课题(SY201720);江苏省省级大学生创新创业训练计划项目(S201810284050)

[作者简介]彭薪元(1997—),女,南京大学医学院 2015 级临床医学 8 年制学生,研究方向:环境与疾病发生。E-mail: 151230026@smail.nju.edu.cn

[通信作者]徐力致(1972—),女,博士,南京大学医学院基础实验教学中心,教授级高级工程师,硕士生导师,研究方向:人类疾病动物模型的建立,环境与疾病发生。E-mail: xulizhi@nju.edu.cn

由于哺乳动物的基本生命过程具有的共性特征使得医学实验中探索生命过程的反应可以部分利用实验动物来替代。然而,不同种属的动物又存在各自的生理特点,其对药效学、药代动力学、毒性等各项反应存在差异,因此只有熟悉并掌握动物的这些差异,才能获得真实的动物实验结果[1],并将其有效的运用于人类疾病的替代研究中。

心电图描记在生物及医学实验研究中是一种常用的方法。然而由于动物大多数无法配合检测,强制性束缚又会导致心电观察不准,因此多数情况下动物是在麻醉状态下进行心电观测[2]。这就需要考虑不同麻醉药由于其作用机制不同,动物对其反应性所产生的差别[3],以防止由于麻醉药物的本底影响而导致的实验偏差甚至错误。

本课题组在前期的实验研究中关注到,部分麻醉药作用的小鼠心电波形与麻醉时长存在一定的相关性。因此设计了本实验,以 C57BL/6 雄性成年小鼠为试验对象,探讨了三种常见动物麻醉药对小鼠心电图的影响,探寻对小鼠心电干扰因素较低的麻醉药及恰当的数据采集时间,以期为环境安全、生命科学及医学研究中涉及小鼠心电图的初步观察提供一定的参考依据,降低因麻醉药使用或观测时间点的选取不当造成的实验失败。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6 雄性成年小鼠 24 只,10~12 周龄,体重 25~32 g,小鼠购自南京大学模式动物研究所[SCXK(苏)2015-0001],按照标准操作规程饲养于清洁级 ICV 动物房中[SYXK(苏)2014-0052],自然光照、恒温 20℃ ~ 22℃、恒湿 60% ~ 70%,自由饮用无菌去离子水,喂养 SPF 级小鼠维持型饲料(江苏省协同医药生物工程有限责任公司)。所有动物实验符合南京大学医学院附属鼓楼医院实验动物伦理委员会要求。

1.2 主要试剂与仪器

RM6240 多道生理信号采集处理系统(成都仪器厂),银针型电极,氨基甲酸乙酯(化学纯,批号:20150123),水合氯醛(分析纯,批号:20170309)购自国药集团化学试剂有限公司,戊巴比妥钠(分析纯,批号:3G223G27)购自生兴生物技术有限公司。药品均使用上海百特医疗用品有限公司购买的 0.9%氯化钠溶液(批号:S1610052)进行配置。氨基甲酸乙酯与 0.9%氯化钠溶液比例为 0.2 g/mL 配置成 20%的氨基甲酸乙酯溶液;水合氯醛与 0.9%氯化钠溶液比例为 0.025 g/mL 配置成 2.5%的水合氯醛溶液;戊巴比妥钠与 0.9%氯化钠溶液比例为 0.01 g/mL 配置成 1%的戊巴比妥钠溶液。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组

所有小鼠随机分配为三组,每组 8 只,分别为:20%氨基甲酸乙酯组、2.5%水合氯醛组、1%戊巴比妥钠组。

1.3.2 麻醉

所有小鼠实验前禁食 12 h。麻醉方式采用腹腔注射麻醉。20%氨基甲酸乙酯溶液麻醉,剂量为 7 mL/kg; 2.5%水合氯醛溶液麻醉,剂量为 3 mL/kg; 1%戊巴比妥钠溶液麻醉,剂量为 10 mL/kg。等待小鼠出现四肢无力,对皮肤疼痛反应消失,判断小鼠已经麻醉完全。

1.3.3 小鼠心电图描记

在干净、光线柔和、无噪音的实验室中,打开 RM6240E 多道生理信号采集处理系统及计算机。

将小鼠以仰卧位置于 38℃(小鼠正常体温)保温实验台上将 3 根银针电极分别插入小鼠脚踝皮下,注意针头与电极的连接须十分紧,针头切勿插入肌肉(以防出现肌电波)。选择 II 导联(按照右上肢绿色,左下肢红色,右下肢黑色的顺序,连入 RM6240E 多道生理信号采集处理系统,参数设定:扫描速度为 40 ms/div,灵敏度为 500 μV,连续记1 h 的心电图数据,进行统计分析。

RM6240E 多道生理信号采集处理系统连续记录心电波形,从初始记录开始,每隔 5 min 读取心率一次,每次记录时间为 10 s;每隔 10 min 读取一次 PR 间期,QRS 群宽度,P 波振幅,选择每个时间段中基线平稳的连续 5 个心搏,分别取其平均值为该时段相应参数测量值。

1.4 统计学处理

用 Prism 统计软件对各项指标进行处理,组间比较用 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同麻醉药作用小鼠心电图波形表现

三种不同麻醉药作用于小鼠连续观察 1 h,比较初始心电图波形与 40 min 后波形改变情况,由表 1 可发现,水合氯醛组心电图波形变化主要表现为间

期随时间延长;戊巴比妥钠组呈现出两种主要波形,4 只表现为 S 波较深型,4 只变现为 S 波较浅型,且两种波形均表现为间期随时间延长;氨基甲酸乙酯组在初始时的心电图与 40 min 时的心电图波形基本一致,无明显变化。

表 1 三种麻醉药作用下心电图波形变化情况

Table 1 Changes in ECG of C57BL/6 mice by three anesthetics

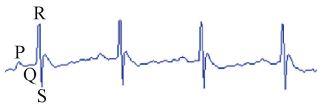
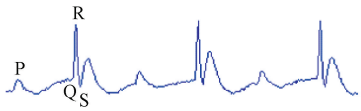
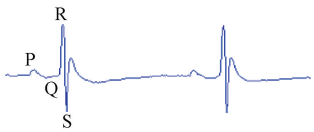
分组 Groups	麻醉初始心电波形 0 min ECG waveform	麻醉 40 min 后心电波形 40 min ECG waveform
水合氯醛组 Chloral hydrate group		
戊巴比妥钠组(S 波较深型) Sodium pentobarbital group (deeper S wave type)		
戊巴比妥钠组(S 波较浅型) Sodium pentobarbital group (shallow S wave type)		
氨基甲酸乙酯组 Ethyl carbamate group		

表 2 不同麻醉药对小鼠心率的影响

Table 2 Effect of different anesthetics on heart rate in the C57BL/6 mice

时间(min) Time	2.5%水合氯醛 2.5%Chloral hydrate	1%戊巴比妥钠 1% Pentobarbital sodium	20%氨基甲酸乙酯 20% Ethyl carbamate
0	404.60±63.77	405.13±79.76	639.69±23.51
5	358.54±59.37	342.54±65.31	622.85±16.24
10	321.45±50.16[a]	282.36±44.55[b]	618.62±18.50
15	308.55±51.59[b]	300.16±108.64[a]	606.60±20.14
20	283.79±59.28[b]	244.31±41.06[b]	609.10±25.39
25	285.98±59.42[b]	234.44±41.78[b]	587.98±36.51
30	283.80±49.20[b]	220.74±37.34[b]	602.84±39.60
35	247.25±92.79[b]	227.84±44.29[b]	624.01±34.67
40	266.93±57.47[b]	210.52±35.74[b]	607.23±30.43

注:与麻醉初始比较(0 min),[a]P<0.05,[b] P <0.01。

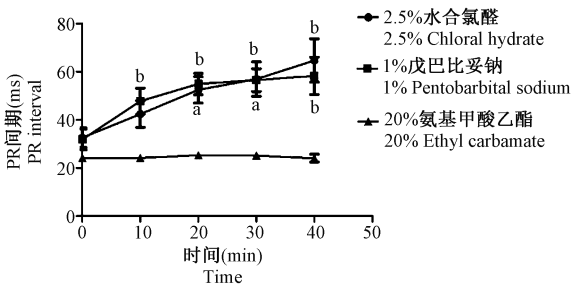
Note. Compared with 0 min, [a] P <0.05, [b] P <0.01.

2.2 不同麻醉药对小鼠心率的影响

表 2 显示,氨基甲酸乙酯组的平均心率明显高于水合氯醛组和戊巴比妥钠组(P<0.01),并且维持在这一高水平。水合氯醛组和戊巴比妥钠组小鼠的心率随时间延长均表现为受到抑制。与初始值(0 min)相比,戊巴比妥钠组在 10 min~20 min 存在心率明显降低(P<0.01),其后逐渐趋于稳定;水合氯醛组在 15 min 左右心率明显降低(P <0.01),随后心率逐渐趋于平稳。

2.3 不同麻醉药对心电图 PR 间期的影响

氨基甲酸乙酯组在实验全程 PR 间期基本不变,水合氯醛组以及戊巴比妥钠组 PR 间期延长(图 1)。



注:与麻醉初始比较(0 min),[a]P<0.05,[b] P <0.01。

图 1 不同麻醉剂对小鼠 PR 间期的影响

Note. Compared with 0 min, [a] P <0.05, [b] P <0.01.

Figure 1 Effect of different anesthetics on the PR interval in the EGG of C57BL/6 mice

2.4　不同麻醉剂对小鼠 QRS 群宽度的影响

戊巴比妥钠组 QRS 宽度明显增长，水合氯醛组和氨基甲酸乙酯组 QRS 群宽度无明显变化（$P > 0.05$）（图 2）。

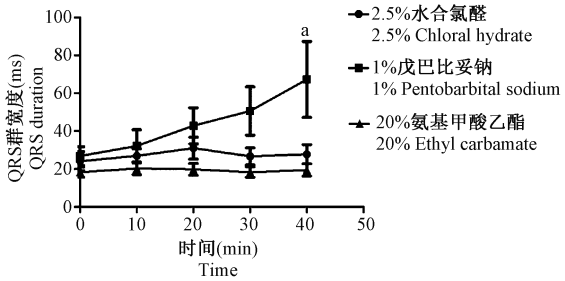


图 2　不同麻醉剂对小鼠 QRS 群宽度的影响

Figure 2　Effect of different anesthetics on QRS duration in the EGG of C57BL/6 mice

2.5　不同麻醉剂对心电图 P 波振幅的影响

水合氯醛组 P 波振幅无明显变化，戊巴比妥钠组 10 min 时有抬高，但无统计学意义（$P > 0.05$）。氨基甲酸乙酯组振幅不随时间有明显变化。（图 3）

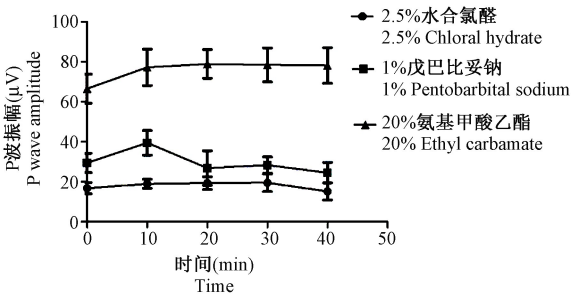


图 3　不同麻醉剂对小鼠 P 波振幅的影响

Figure 3　Effect of different anesthetics on the P-wave amplitude in C57BL/6 mice

3　讨论

实验动物学在现代生命科学和医学研究中起着重要作用，伴随着人类文明的进步，人们也同样关注动物生存福利。科学研究者们依循“减少（reduction）、替代（replacement）、优化（refinement）”的“3R”原则，除了在动物进行有创实验前必须实施有效麻醉[4]，减轻动物由实验造成的痛苦外，还应注重优化实验，在确保实验数据的真实有效情况下，尽量减少实验动物的使用量。对于实验进行细致的优化处理，不仅符合当今伦理学要求，更可以保障一些较难重复的实验（譬如环境污染对机体造成的慢性复杂性疾病发生）可以同步获得较多的初期指标（诸如血常规、心功能、肺功能等），以利于进一步机制的深入探索。

常用动物麻醉药有戊巴比妥钠，水合氯醛，氨基甲酸乙酯，氯胺酮等[5-6]，或者使用两种或两种以上麻醉药比如甲苯噻嗪与氯胺酮组合对动物复合麻醉[7]。由于麻醉药物的浓度和剂量选择在不同研究中较为复杂，尤其在心电图观察中，剂量过多容易造成心电基线不稳。同时麻醉药本身还存在药品不同批号存在药效差异。研究人员根据文献报道[8-11]及本实验室过往经验，利用少量小鼠（2~4 只/组）进行了初步预实验，最终确定 20% 氨基甲酸乙酯 7 mL/kg 剂量、2.5% 的水合氯醛溶液 3 mL/kg 剂量和 1% 戊巴比妥钠溶液 10 mL/kg 剂量均可获得基线稳定的心电图波形。

本研究显示给予 20% 氨基甲酸乙酯后对小鼠心率前后的影响不明显，而 2.5% 水合氯醛和 1% 戊巴比妥钠对小鼠的心率均有一定的抑制作用，这一结果与文献报道一致[12]。

水合氯醛对心脏表现为非迷走神经效应和迷走神经效应双重作用。非迷走神经效应是对心脏代谢的抑制；而迷走神经效应表现为心动徐缓。本研究显示 2.5% 水合氯醛对小鼠的心率有抑制作用，引起 PR 间期延长，这与心率的变化对应。QRS 波宽度未观察到明显变化，同时对于 P 波振幅没有明显影响。同时发现 2.5% 水合氯醛注射 20 min 后小鼠心电趋于平稳，有报道显示临床口服水合氯醛作为先天性心脏病患儿心脏彩超检查镇静剂[13]，可见其对心脏各项功能影响不大。

本研究发现 1% 戊巴比妥钠腹腔注射给药后，小鼠心率降低、PR 间期，QRS 波宽度和 QT 间期均明显延长。有研究指出戊巴比妥钠可延缓房室结-希蒲系统传导，延长心室除极和复极时间，并抑制窦房结自律性[14]，且随麻醉时间延长而加重。这与本实验中所观察到 1% 戊巴比妥钠引起 C57BL/6 小鼠 QRS 波群增宽以及 P 波振幅下降的现象相符。QRS 波群宽度反映的是心室除极和复极的时间，而 P 波作为心房除极的反映，其电位一部分是由窦房结的动作电位组成，窦房结受到抑制可影响 P 波振幅。此外戊巴比妥钠作用下，小鼠心电表现较不规律，有文献报到戊巴比妥钠可用于心衰模型的建立[15]，制造急性心功能不全。

本研究中 20% 氨基甲酸乙酯对小鼠的心率及各波形组份均无较大影响，与之前文献报道的结果相一致[12]。研究发现在氨基甲酸乙酯麻醉状态下，

交感神经系统和副交感神经系统对于维持心血管活动仍起张力性作用[16]。因此多数学者认为氨基甲酸乙酯较其它麻醉药对各种心血管反射有更好的保护作用。但是,此作用可能掩盖心血管药物对心肌的基础生理反应,在研究中需加以注意。

“动物麻醉药是动物临床上的一类重要药品,各类动物的个性化需求增大,临床应用广泛;但由于其特殊性,需要严格的监管,临床应用上出现一些困扰,常常出现无法购买到正规药品,或者无药可用的尴尬局面[17]”。而水合氯醛是一类价格低廉、容易获得的正规药品。同时必须指出,水合氯醛作用于中枢神经产生麻醉效果仅为催眠作用,并不具有镇痛作用。此外,腹腔注射水合氯醛与大鼠肠梗阻、腹膜炎和胃溃疡有关,因此不推荐通过腹腔注射进行存活手术[18]。美国兽医协会(AVMA)目前已不推荐水合氯醛用于动物的麻醉及安乐死。因此,国内的研究者在其研究中往往考虑折中的方式进行相关研究,即:仅需其催眠镇静作用进行的相关研究(不涉及手术等创伤),且不作为存活实验的前期麻醉药。譬如本文的心电图测量以及一些影像学研究,并在进行有效观察后,终止动物生存。

综上所述,20%氨基甲酸乙酯对小鼠心电前后影响不大,但始终处于高心率状态。1%戊巴比妥钠与 2.5%水合氯醛均抑制小鼠心率,使 PR 间期,QRS 波宽度明显延长。且水合氯醛在注射 20 min 后小鼠心电各波形变化趋于平稳。因此,在进行科学研究过程中,选择水合氯醛进行麻醉时,最好在麻醉 20 min 后再进行相应数据测量,以减少麻醉药自身带来的干扰。

最后还应指出,不同麻醉药甚至同一麻醉药的不同给药剂量,对于同一种属不同年龄阶段的动物均可造成较大差异[19],只有做出精细的实验设计,才能真正获得安全、可靠的实验数据,才能完成动物实验真实的价值。

参考文献:

[1] 秦川.实验动物学[M].北京:人民卫生出版社,2010 年,第一版,147.

[2] Gargiulo S, Greco A, Gramanzini M, et al. Mice anesthesia, analgesia, and care, Part II: Anesthetic considerations in preclinical imaging studies [J]. ILAR J, 2012, 53(1): E70-E81.

[3] Goldbarg AN, Hellerstein HK, Bruell JH, et al. Electrocardiogram of the normal mouse, Mus musculus: general considerations and genetic aspects[J]. Cardiovasc Res, 1968, 2(1): 93-99.

[4] 朱家桥,贾筱琴,钱亚云.美国加州大学戴维斯分校兽医临床和科研中动物伦理探析[J].高教学刊,2018,13:10-12.

[5] 周昆, 屈彩芹. 动物实验常用麻醉剂的比较与选择[J]. 实验动物科学, 2008, 25(2):41-43.

[6] 杨亚南,舒晴,陈丽,等.不同麻醉方法在大鼠脑室置管术中的效果及其对存活率的影响[J].中国比较医学杂志,2018,28(6):89-95.

[7] 姜龙, 张晓燕, 姜平. 动物麻醉方法和麻醉药物研究现状[J]. 动物医学进展, 2014, 35(2):119-123.

[8] 郑杰蔚,陆丰荣,李国樑,等.不同麻醉剂及采血方式对 SD 大鼠和昆明小鼠血常规影响[J].中国职业医学,2018,45(1):51-54.

[9] 李少春,马丽娜,李峰杰,等.不同浓度水合氯醛对大鼠的麻醉作用比较[J].中国药业,2014,23(9):22-23.

[10] Hao P. Monitoring of renal ischemia reperfusion injury in rabbits by ultrasonic contrast and its relationship with expression of VEGF in renal tissue[J]. Asian Pacific J Trop Med, 2016, 9(2):188-192.

[11] Li J, Duan R, Zhang YY, et al. Beta-adrenergic activation induces cardiac collapse by aggravating cardiomyocyte contractile dysfunction in bupivacaine intoxication[J]. PLoS One, 2018, 13(10): e0203602.

[12] 晁晓峰, 赵宇, 陆凯,等.麻醉剂及其他试剂对小鼠心电活动的影响[J].江苏实用心电学杂志, 2012, 21(4):235-241.

[13] 金立红, 许文妍, 白洁,等.水合氯醛用于小儿影像学检查时镇静的有效性和安全性[J].临床麻醉学杂志, 2013, 29(7):678-680

[14] 郭萍, 周秀娟, 郭艳如,等.戊巴比妥钠腹腔麻醉对 C57BL/6J 小鼠体表心电图的影响[J].安徽医药, 2017, 18(11):653-655.

[15] 李彦川,李欣欣.心力衰竭动物模型简述[J].医学综述,2011,17(8):1154-1157.

[16] 杨黎黎, 李树清。乌拉坦麻醉动物的病理生理学作用[J].微循环学杂志, 2011, 21(1):59-61.

[17] 马保臣. 动物全身麻醉药的应用现状以及管控初探[J].中国兽医杂志, 2018,54(2):112-113.

[18] Baxter MG, Murphy KL, Taylor PM, et al. Chloral hydrate is not acceptable for anesthesia or euthanasia of small animals [J]. Anesthesiology. 2009,111(1):209,author reply 209-10.

[19] 李少春,马丽娜,李峰杰,等.不同浓度水合氯醛对大鼠的麻醉作用比较[J].中国药业,2014,23(9):22-23.

〔收稿日期〕2018-11-22