

# 窒息法与室颤法复苏模型心脏损伤的比较研究

何宇敏 赵燊 黄子通 方向韶 徐雯

**【摘要】目的** 对比大鼠窒息法和室颤法心搏骤停模型在复苏后不同时期心脏的损伤及恢复情况。**方法** 动物模型在中山大学心肺脑复苏研究所病理生理实验室完成；35 只 SD 雄性大鼠随机（随机数字法）分组制作窒息法与室颤法诱导 8 min 心搏骤停的心肺复苏模型及假手术组，于复苏成功后 4、24、72 h 行心肌 HE 染色、心肌线粒体呼吸控制率（RCR）、心脏彩超的比较。计量资料用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，两组均数比较采用 *t* 检验，多组比较采用单因素方差分析，以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。**结果** HE 染色 4 h 室颤组肌溶解较窒息组明显，72 h 二组肌纤维排列紊乱；RCR 4 h 室颤组低于窒息组，24 h 恢复且两组间差异无统计学意义；心脏彩超示左室射血分数（LVEF）室颤组 4 h 低于窒息组（29.68% vs. 42.16%， $P = 0.031$ ），24 h 室颤组与假手术组无异，而窒息组 72 h 方与假手术组间差异无统计学意义，72 h 两组左室前壁厚度均较假手术组增加（2.41 mm vs. 1.72 mm， $P = 0.013$ ；2.61 mm vs. 1.72 mm， $P = 0.007$ ），组间差异无统计学意义。**结论** 室颤模型在复苏后早期心肌损伤较窒息模型严重；中间期两种模型均有所恢复，且室颤组较窒息组更早恢复；复苏后后期两组均出现代偿性心肌肥厚，心功能差异无统计学意义。

**【关键词】** 心搏骤停；心肺复苏；室颤；窒息；线粒体呼吸功能；心脏彩超

**Comparison of myocardial injuries between asphyxia and ventricular fibrillation models of cardiac arrests** He Yumin\*, Zhao Shen, Huang Zitong, Fang Xiangshao, Xu Wen. \*Emergency Department of Fujian Provincial Hospital, Fuzhou 350001, China

Corresponding author: Huang Zitong, Email: syxhzt@sina.cn

**【Abstract】Objective** To compare the difference in cardiac injuries between asphyxia and ventricular fibrillation modes in different periods after cardiac arrest (CA). **Methods** The model was established in Cardiopulmonary Resuscitation Lab, Sun Yat-sen University. A total of 35 male SD rats were used to produce the asphyxia or ventricular fibrillation (VF) cardiac arrest models randomly. Both of the two modes were induced 8 minutes cardiac arrest. The myocardial HE stains, mitochondrial respiratory control ratio (RCR), and echocardiography were observed at 4 h, 24 h and 72 h after ROSC (restoration of spontaneous circulation). The results were expressed as ( $\bar{x} \pm s$ ), *t* test was performed to compare between two groups, and one way analysis of variance was used to compare multiple groups.  $P < 0.05$  was considered as significant difference. **Results** HE stains showed damages were more serious in the VF mode than in asphyxia mode at 4 h, and both of them had a disorderly-arranged myocardium at 72 h. RCR in VF mode became worse at 4 h, and RCR resumed at 24 h in both modes without significant difference compared with the sham operated rats. The echocardiography showed VF mode had a lower left ventricular ejection fraction (LVEF) than asphyxia mode at 4 h (29.68% vs. 42.16%,  $P = 0.03$ ), and there was no difference in LVEF between VF mode and the sham operated rats at 24 h, however no difference in LVEF between the

asphyxia and sham operated rats at 72 h. Both of them had a thicker left ventricular anterior wall than the sham operated rats at 72 h (2.41 mm vs. 1.72 mm,  $P=0.013$ ; 2.61 mm vs. 1.72 mm,  $P=0.007$ ), and there was no significant difference between them. **Conclusions** The ventricular fibrillation mode has a more severe injuries in early period, but it recovers sooner than asphyxia one. Both of two groups get compensatory left ventricular hypertrophy in later period of ROSC.

**【Key words】** Cardiac arrest; Cardiopulmonary resuscitation; Ventricular fibrillation; Asphyxia; Respiratory control ratio; Echocardiography

猝死一直是威胁人类健康及生命的主要疾病,直至今日心肺复苏成功率依旧很低,长期存活率更低于 10%<sup>[1]</sup>。心搏骤停 (cardiac arrest, CA) 和心肺复苏过程中,机体经历严重缺血缺氧、酸中毒、电解质紊乱、缺血-再灌注和应激等一系列病理过程<sup>[2]</sup>。许多患者在自主循环恢复 (restoration of spontaneous circulation, ROSC) 后,往往因心肌损伤使心脏和循环功能不能维持而发生低血压或休克,组织发生缺氧和代谢障碍,最终不能存活<sup>[3]</sup>。但多数对复苏后心功能的研究都着重于室颤所致的心功能不全<sup>[4,6]</sup>或复苏后早期心功能不全<sup>[7-9]</sup>,而室颤所致心搏骤停复苏后的心功能不全和复苏后中后期的心功能却较少有人研究。本研究采用动物模型模拟心源性 (室颤法) 及呼吸源性 (窒息法) 心搏骤停复苏后心脏损伤和修复的过程,通过心肌组织病理 (HE 染色)、心肌细胞线粒体呼吸控制率 (respiratory control ratio, RCR)、心脏彩超检查评价及对比大鼠不同复苏模型在复苏后不同时期心肌的损伤和修复情况。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器与试剂

Spacelabs 监护仪 (美国太空公司); Windaq 数据采集系统及心功能分析软件 (美国 DATAQ 公司); YP200 压力换能器 (新航机电设备有限公司); 动物心肺复苏装置 (中山大学心肺脑复苏研究所自行研制专利号: ZL2006 2 0063261.9); 除颤仪 (美国卓尔医学产品); Clark 氧电极 (汉莎科学仪器有限公司); VEVO2100 成像系统 (加拿大 Visual Sonics Vevo 公司); 碧云天线粒体分离试剂 (南京恩晶生物科技有限公司); GMS10097 纯化线粒体呼吸控制率定量检测试剂盒 (广州展晨生物技术有限公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 动物模型

动物模型在中山大学心肺脑复苏研究所病理生

理实验室操作完成。体质量 450 ~ 550 g SPF 级雄性 SD 大鼠选自中山大学动物实验中心 (许可证号: SCXK 粤 2011-0029), 随机 (随机数字法) 分 3 个组: 假手术组 (sham)、窒息组 (AS) 和室颤组 (VF)。而后两组按复苏后取材时间进一步随机分为 3 个亚组, 分别为 AS-4 h、AS-24 h、AS-72 h、VF-4 h、VF-24 h、VF-72 h, 每组 5 只。术前禁食一晚。麻醉使用戊巴比妥 45 mg/kg 腹腔内注射。大鼠备皮后仰卧固定于操作板上。由口腔置入气管导管 14 G 静脉留置针套管 (雅培公司)。23G PE-50 管置入左侧股动脉用于监测动脉压, 所有的导管均充满 5 U/mL 肝素盐水并通过压力传感器与数据采集卡连接实时记录数据电脑存盘。4F 硬质导管由右侧颈静脉置入右心室用于致颤。左下肢、双上肢插入导电针用于监测心电图。待大鼠麻醉清醒后进行复苏 (假手术组仅进行以上操作, 不复苏)。按压呼吸比为 250:50, 潮气量 0.6 mL/100 g, 氧体积分数 80%, 待 ROSC 后氧体积分数降为 21%。自主心率恢复、舒张压升高至 60 mmHg 以上定义为 ROSC (1 mmHg = 0.133 kPa)。

**窒息法动物模型:** 经左股动脉予维库溴铵 (VK 2 mg/mL) 0.25 mL, 30 s 后若大鼠仍有自主呼吸, 则堵塞气管导管, 约 5 min 后平均动脉压可降至 20 mmHg 以下, 开始心搏骤停计时, 8 min 后予胸外按压 (chest compression, CC), 按压前予机械通气, 按压 2 min 时予肾上腺素 (Ep 0.1 mg/mL) 0.1 mL, 继续按压, 若有室颤则予 4 J 能量除颤, 连续除颤 3 次, 若无反应则继续按压 2 min 再予肾上腺素 0.1 mL, 继续按压 2 min, 若无 ROSC 则视为复苏失败。

**室颤法动物模型:** 从右侧颈动脉导管置入导丝至右心室, 予 3 mA 电流致颤 (VF), 心搏骤停 8 min 后予按压, 按压前机械通气, 按压 5 min 予肾上腺素 (Ep 0.1 mg/mL) 0.1 mL, 按压 6 min 出现室颤粗波以 4 J 能量除颤, 连续除颤 3 次无效, 继续按压 30 s 后再次予 Ep 0.1 mg/mL 肾上腺素 0.1 mL, 1 min 后除颤, 连续除颤 3 次无 ROSC 则复苏

失败。

### 1.3 检测方法

大鼠复苏后 4、24、72 h 分别行心脏彩超检查, 比较不同时期心脏功能如左室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF) 大小、舒张期左室前壁厚度 (left ventricular anterior wall diameter, LVAWd), 并比较窒息组及室颤组在同一时期的心功能。戊巴比妥麻醉大鼠后取心脏, 部分心脏组织用 4% 甲醛溶液固定, HE 染色做病理切片了解两个组不同时间点心脏微观结构的差异, 通过心肌溶解、水肿、坏死程度等评价心肌损伤情况; 部分心肌组织采用碧云天线粒体分离试剂提取心肌线粒体, 通过 Clark 氧电极行线粒体 RCR 检测。

### 1.4 统计学方法

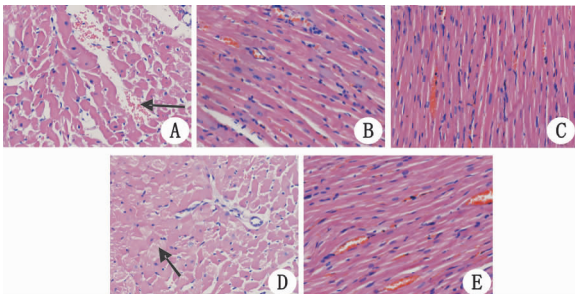
所有统计方法均用 SPSS 19 软件进行, 计量资料用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组均数比较采用 *t* 检验, 多组比较采用单因素方差分析, 并在组间差异具有统计学意义的, 采用 LSD-*t* 检验进一步分析。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

窒息组大鼠复苏成功率 80% (16/20), 其中 1 只死于 ROSC 24 h 之后, 室颤组大鼠复苏成功率 75% (15/20), 两组的复苏成功率差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 0.143, P = 0.705$ )。

### 2.1 HE 染色结果

4 h 时 HE 染色图片两组均可见心肌细胞肿胀、充血, 部分细胞坏死、肌溶解, 其中窒息组充血肿胀更明显, 而室颤组较窒息组肌溶解更明显; 72 h 实验组肌纤维对比假手术组增粗, 心肌排列紊乱、疏松, 并有少许炎症细胞浸润。见图 1。



A: 窒息组 4 h (箭头示心肌细胞充血肿胀); B: 窒息组 72 h; C: 假手术组; D: 室颤组 4 h (箭头示肌溶解); E: 室颤组 72 h

图 1 各组心肌 HE 染色图片 (×200)

Fig 1 HE stains of myocardium in each group (×200)

### 2.2 线粒体呼吸功能 (RCR) 的比较

如表 1 所示, 窒息组 4 h RCR、24 h、72 h 与假手术组间差异无统计学意义 ( $F = 5.197, P = 0.073$ ); 室颤组内各时间点不全相同, 差异有统计学意义 ( $F = 24.619, P = 0.005$ ), 4 h RCR 与假手术组差异有统计学意义 ( $LSD-t = 5.042, P = 0.033$ ), 24 h 与假手术组间差异无统计学意义 ( $LSD-t = 1.219, P = 0.101$ ), 72 h 组与假手术组差异有统计学意义 ( $LSD-t = 4.548, P = 0.041$ )。

表 1 各组 RCR、EF、LVAWd 的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

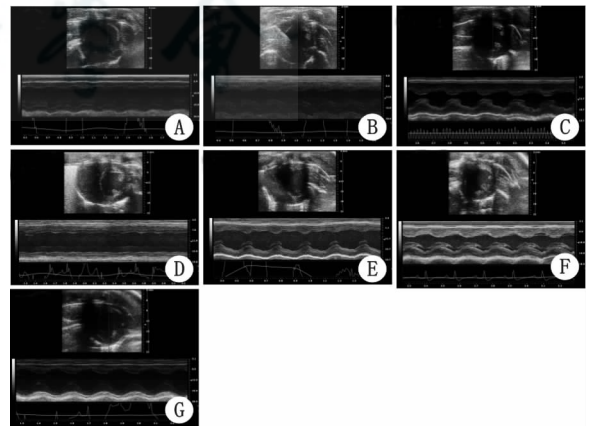
Table 1 Comparison of RCR, EF, LVAWd among groups in different periods ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	ROSC 4 h	ROSC 24 h	ROSC 72 h
线粒体呼吸功能 (RCR)			
假手术组	3.37 ± 0.11	—	—
窒息组	2.79 ± 0.19	3.49 ± 0.41	3.61 ± 0.30
室颤组	2.52 ± 0.36 <sup>a</sup>	3.90 ± 0.27	4.39 ± 0.27 <sup>a</sup>
左室射血分数 (EF, %)			
假手术组	69.47 ± 1.56	—	—
窒息组	42.16 ± 2.72 <sup>bc</sup>	62.58 ± 3.37 <sup>b</sup>	79.14 ± 3.42 <sup>b</sup>
室颤组	29.68 ± 1.60 <sup>ac</sup>	64.49 ± 6.78	77.00 ± 2.82 <sup>a</sup>
舒张期左室前壁厚度 (LVAWd, mm)			
假手术组	1.72 ± 0.58	—	—
窒息组	1.51 ± 0.82	2.14 ± 0.16	2.61 ± 0.29 <sup>b</sup>
室颤组	2.10 ± 0.07	2.14 ± 0.18	2.41 ± 0.24 <sup>a</sup>

注: 室颤组与假手术组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 窒息组与假手术组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 窒息组与室颤组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

### 2.3 心脏彩超的比较

不同组不同时期心脏彩超如图 2 所示。



A: 窒息组 4 h; B: 窒息组 24 h; C: 窒息组 72 h; D: 室颤组 4 h; E: 室颤组 24 h; F: 室颤组 72 h; G: 假手术组

图 2 各组心脏彩超图片

Fig 2 The echocardiography of each groups

如表 1 所示, EF (%) 窒息组不同时间点不

全相同, 4 h 与假手术组差异有统计学意义 ( $LSD-t = 17.630, P < 0.01$ ), 24 h 与假手术组差异有统计学意义 ( $LSD-t = 4.450, P = 0.048$ ), 72 h 与假手术组间差异有统计学意义 ( $LSD-t = 6.242, P = 0.017$ ); 室颤组不同时间点 EF 不全相同, 4 h 与假手术组差异有统计学意义 ( $LSD-t = 25.099, P < 0.01$ ), 24 h 与假手术组差异无统计学意义 ( $LSD-t = 1.989, P = 0.118$ ), 72 h 与假手术组差异有统计学意义 ( $LSD-t = 4.748, P = 0.040$ ); 窒息组与室颤组 4 h 组间差异有统计学意义 ( $t = 5.584, P = 0.031$ ), 而两组 24 h 组间 ( $t = 0.421, P = 0.695$ )、72 h 组间差异无统计学意义 ( $t = 1.016, P = 0.399$ )。

舒张期 LVAWd (mm) 窒息组不同时间点不全相同, 其中 4 h、24 h 与假手术组差异无统计学意义, 72 h 与假手术组差异有统计学意义 ( $LSD-t = 8.062, P = 0.007$ ), 72 h 与 4 h 差异有统计学意义 ( $LSD-t = 9.978, P = 0.003$ ); 而室颤组不同时间点 LVAWd 不全相同, 其中 72 h 与假手术组差异有统计学意义 ( $LSD-t = 6.682, P = 0.013$ ), 4 h 与 72 h 差异有统计学意义 ( $LSD-t = 3.027, P = 0.049$ ), 其余 4 h、24 h、假手术组差异无统计学意义; 舒张期左室前壁厚度窒息组与室颤组在相同时间点差异无统计学意义, 见表 1。

### 3 讨论

#### 3.1 复苏后早期不同模型心脏损伤和功能变化

本研究心肌组织 HE 染色图片可观察到 4 h 时室颤及窒息模型都有心肌损伤, 室颤组肌溶解明显。线粒体是细胞能量代谢的场所, 再灌注期线粒体氧化磷酸化功能异常, 产生大量活性氧, 损伤线粒体呼吸链结构, 使线粒体氧化磷酸化功能下降<sup>[2, 10]</sup>。RCR 初步提示线粒体呼吸功能, 从能量代谢能力方面评价心肌损伤及修复情况, 两种模型 RCR 显示心肌线粒体呼吸功能受损。与此类似, 心脏彩超提示两组的心脏左室射血分数下降, 以上均提示在复苏后早期两种复苏模型的心肌损伤严重, 心功能下降。这与 Tang 等<sup>[4]</sup>等发现大鼠复苏后心肌的收缩功能和左室顺应性下降, Gazmuri 等<sup>[5]</sup>发现猪复苏后左室射血分数下降, 每搏输出量和心脏做功指数下降, 所提示的心肺复苏后早期即出现严重心功能不全的结果相符。然而 Wu 等<sup>[9]</sup>在猪 8 min 心搏骤停窒息法和室颤法复苏模型的比

较中提出, 在复苏后早期窒息模型心肌超微结构损害及凋亡较室颤模型严重; Tsai 等<sup>[7]</sup>在大鼠 5 min 心搏骤停复苏模型的对比中亦提出在复苏后早期窒息模型出现弥漫性心肌损伤; 而本研究心脏彩超结果却显示, 复苏后早期室颤模型心功能较窒息模型差 (EF 减小)。考虑与室颤模型在电流刺激下发生严重的心电紊乱导致心搏骤停和心脏供血的突然中断, 在再灌注时期可能发生心肌顿抑<sup>[11]</sup>有关, 心肌顿抑虽然无心肌坏死, 但在心脏血流恢复之后心功能障碍却无法立即恢复<sup>[11]</sup>, 导致暂时性的心功能恶化。

#### 3.2 复苏中后期不同模型心脏损伤的修复和功能的变化

随着生存时间的延长, 两种模型的心功能均有所恢复, 并且室颤组的 EF 较窒息组的更早恢复, 这一结果亦支持室颤模型发生心肌顿抑的假设, 同时窒息模型的缺氧时间较室颤模型长, 心肌弥漫性损伤及超微结构损伤可能较室颤模型严重<sup>[7, 9, 12]</sup>, 导致心肌的损伤修复过程更长, 因此心功能恢复更慢。

在后期, 两种复苏模型心脏大体可见心肌向心性肥厚, 光镜下所见的心肌细胞排列紊乱, 同时心脏彩超也显示模型组在恢复期左室前壁厚度增加, 提示无论是心源性还是呼吸源性心搏骤停复苏成功后, 均存在心肌细胞损伤、心肌重构的可能。室颤组在 72 h 心脏射血分数及线粒体呼吸功能均较对照组增强, 窒息组 72 h 心脏射血分数较假手术组增加, 结合实验组左室前壁厚度增加, 均提示恢复期 (24 ~ 72 h) 处于心肌重构代偿期, 这也与心肌重构在代偿期有改善心功能的作用<sup>[13]</sup>的情况相符。心肌重构的过程中心肌细胞由正常心肌细胞向胎儿类型心肌细胞转化, 这种心肌细胞能耗低, 肌肉最大缩短速度和张力发展速度缓慢, 不能满足长期高效工作需要, 最后导致心肌收缩功能下降<sup>[14]</sup>。心力衰竭是各种心脏病的临床终末阶段, 20 世纪 90 年中期开始认识到导致慢性心衰的共同的病理生理基础是心肌重构<sup>[13]</sup>。

美国心脏学会估计如果能成功治疗复苏后心功能不全, 每年可拯救 2.5 万人的生命<sup>[15]</sup>, 2005 年国际复苏指南强调了复苏中和复苏后心肌保护的重要性。与复苏后大鼠模型相似, 心肺复苏成功的患者在复苏后早期心功能不全所造成的血流动力学状态不稳定及休克和心律失常, 可导致患者继续处

于血流灌注不稳定、器官组织持续缺血缺氧的情况，促发多脏器功能不全，使复苏最终失败<sup>[16]</sup>；即使在生命体征平稳后患者的心脏缺血损伤坏死等仍可能引起心肌重构，即患者将面临慢性心力衰竭的发生，再次的威胁生命。研究证实早期药物干预中断重构进程，能延缓或防止心功能不全继续恶化，提高患者存活率<sup>[14]</sup>；那么是否在心肌损伤恢复期中断心肌重构，亦可以改善复苏后患者远期的心功能预后？

本研究的结果提示，室颤模型在早期心肌损伤较窒息模型严重；中间期两种模型均有所恢复，且室颤组较窒息组更早恢复；后期两组均出现代偿性心肌肥厚，心功能差异无统计学意义。

参 考 文 献

[1] Eisenberg MS, Mengert T. Cardiac Resuscitation [J]. N Engl J Med, 2001, 344 (17): 1304.  
 [2] 张雷, 林兆奋, 李新宇, 等. 心肺复苏后大鼠脑细胞线粒体呼吸功能及能量代谢的变化 [J]. 中国现代医学杂志, 2008, 18 (12): 1648-1651.  
 [3] 晏平, 陈寿权, 李章平. 心肺复苏中心脏保护药物的研究进展 [J]. 中华急诊医学杂志, 2008, 17 (1): 105-107.  
 [4] Tang W, Weil MH, Sun S, et al. Progressive myocardial dysfunction after cardiac resuscitation [J]. Crit Care Med, 1993, 21 (7): 1046.  
 [5] Gazmuri RJ, Weil MH, Bisera J, et al. Myocardial dysfunction after successful resuscitation from cardiac arrest [J]. Crit Care Med, 1996, 24 (6): 992-1000.  
 [6] Tsai MS, Huang CH, Tsai CY, et al. Combination of intravenous ascorbic acid administration and hypothermia after resuscitation

improves myocardial function and survival in a ventricular fibrillation cardiac arrest model in the rat [J]. Acad Emerg Med, 2014, 21 (3): 257-265.  
 [7] Tsai MS, Huang CH, Tsai SH, et al. The difference in myocardial injuries and mitochondrial damages between asphyxia and ventricular fibrillation cardiac arrests [J]. Am J Emerg Med, 2012, 30 (8): 1540-1548.  
 [8] Kamohara T, Weil MH, Tang W, et al. A comparison of myocardial function after primary cardiac and primary asphyxial cardiac arrest [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2002, 166 (5): 774.  
 [9] Wu CJ, Li CS, Zhang Y, et al. Differences of post-resuscitation myocardial dysfunction in ventricular fibrillation versus asphyxiation [J]. Am J Emerg Med, 2013, 31 (12): 1690-1696.  
 [10] 黄子通, 符岳. 脑复苏研究现状与展望 [J]. 中华急诊医学杂志, 2011, 20 (2): 124-125.  
 [11] Chalkias A, Xanthos T. Pathophysiology and pathogenesis of post-resuscitation myocardial stunning [J]. Heart Fail Rev, 2012, 17 (1): 117-128.  
 [12] Chalkias A. Postresuscitation myocardial dysfunction after asphyxial cardiac arrest: is it time to reconsider the existing paradigm? [J]. Am J Emerg Med, 2013, 31 (12): 1697-1698.  
 [13] 中华医学会心血管病学分会. 慢性收缩性心力衰竭防治建议 [J]. 中华心血管病杂志, 2002, 30 (1): 7-11.  
 [14] 黄少华. 心肌重构与心功能不全 [J]. 国外医学: 心血管病分册, 1995, 22 (3): 135-140.  
 [15] 江慧琳, 孙明. 复苏后心功能不全 [J]. 现代临床医学生物工程杂志, 2005, 11 (2): 84-85.  
 [16] Eefting F, Rensing B. Role of apoptosis in reperfusion injury [J]. Cardiovasc Res, 2004, 61 (3): 414-426.

(收稿日期: 2014-05-16)

(本文编辑: 郑辛甜)

读者 · 作者 · 编者

World Journal of Emergency Medicine (WJEM) 征稿启事

World Journal of Emergency Medicine (WJEM) 是由浙江大学医学院附属第二医院主办并编辑出版的全英文国际性期刊。WJEM 主要报道国际急诊医学领域最新的科研成果和临床诊疗经验，以急诊医学和相关学科的临床、教学和科研人员为主要读者对象。

杂志设有述评、专家论坛、论著、院前急救、病例报告、标准与指南、综述、讲座等栏目。本刊奉行严格的同行审稿制度，所有稿件均执行三审制。欢迎踊跃投稿。

投稿方式通过电子邮件: em\_nancy@zju.edu.cn;

网址: http://www.wjem.org