

• 论著 •

不同窒息时间对心搏骤停家兔心肺复苏后多器官功能障碍发生的影响

张东 王育珊 李南 陈颖

【摘要】 目的 探讨不同窒息时间对心搏骤停家兔心肺复苏(CPR)后多器官功能障碍形成的影响,为后续研究建立一种 CPR 后多器官功能障碍综合征(CPR-MODS)的动物模型提供可行性依据。**方法** 采用窒息法致家兔心搏骤停,将 30 只家兔按随机数字表法分成窒息 7 min 组和窒息 8 min 组,每组 15 只。在 CPR 自主循环恢复(ROSC)后,观察两组家兔 ROSC 率、不同时间点死亡率和全身炎症反应综合征(SIRS)发生率;同时检测两组家兔复苏前及 ROSC 后 12、24、48 h 血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、心肌肌酸激酶同工酶(CK-MB)、丙氨酸转氨酶(ALT)、肌酐(Cr)、血糖(Glu)水平及动脉血氧分压(PaO_2);并计算 CPR-MODS 的发生率。**结果** 窒息 7 min 组 CPR 时间(s)明显短于窒息 8 min 组(147.60 ± 22.09 比 193.08 ± 23.07 , $P < 0.01$)。窒息 7 min 组和窒息 8 min 组 ROSC 率分别为 100.00% 和 86.67%,差异无统计学意义;两组家兔 ROSC 后存活 24 h 以上 MODS 发生率均为 100.00%。窒息 7 min 组 ROSC 后 6 h 死亡率明显低于窒息 8 min 组(6.67% 比 46.67%, $P < 0.05$);至 48 h 时窒息 8 min 组动物全部死亡。两组家兔 ROSC 后 SIRS 发生率均为 100.00%。与窒息前比较,两组家兔 ROSC 后 12 h 即有 TNF- α (ng/L)、CK-MB(U/L)明显升高(TNF- α :窒息 7 min 组 100.71 ± 20.43 比 49.13 ± 8.64 ,窒息 8 min 组 118.09 ± 21.90 比 48.48 ± 6.70 ;CK-MB:窒息 7 min 组 786.88 ± 211.84 比 468.20 ± 149.45 ,窒息 8 min 组 894.88 ± 248.80 比 462.11 ± 115.15 ,均 $P < 0.05$);ROSC 后 24 h ALT(U/L)、Glu(mmol/L)明显升高(ALT:窒息 7 min 组 174.25 ± 36.28 比 50.27 ± 9.37 ,窒息 8 min 组 205.50 ± 10.61 比 51.13 ± 10.37 ;Glu:窒息 7 min 组 11.21 ± 1.14 比 5.59 ± 1.10 ,窒息 8 min 组 11.55 ± 0.35 比 6.41 ± 1.23 ,均 $P < 0.05$);Cr($\mu\text{mol/L}$)在窒息 8 min 组于 ROSC 12 h 即明显升高(98.83 ± 16.70 比 65.93 ± 13.81),窒息 7 min 组于 ROSC 24 h 明显升高(144.25 ± 41.64 比 67.71 ± 16.47 ,均 $P < 0.05$);两组 PaO_2 均于 ROSC 12 h 明显升高,于 24 h 明显下降。**结论** 选择窒息 7 min 更适合建立家兔心搏骤停模型,为后续进一步建立 CPR-MODS 模型提供了可能性和可行性。

【关键词】 心搏骤停; 多器官功能障碍综合征; 动物模型; 窒息法

The influence of different asphyxia time on the reproduction of multiply organ dysfunction model after cardiopulmonary resuscitation following cardiac arrest in rabbit ZHANG Dong, WANG Yu-shan, LI Nan, CHEN Ying. Intensive Care Unit, the First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jinlin, China Corresponding author: WANG Yu-shan, Email: wang-yushan@tom.com

【Abstract】 Objective To explore the effects of different asphyxia time on the reproduction of multiply organ dysfunction syndrome in rabbit after cardiopulmonary resuscitation (CPR-MODS) for cardiac arrest, in order to provide a method to reproduce an animal model of CPR-MODS for further research of cardiopulmonary resuscitation (CPR). **Methods** The rabbit cardiac arrest was caused by asphyxia as a result of clamping the trachea. Thirty rabbits were divided into 7-minute asphyxia group and 8-minute asphyxia group by means of random number table with 15 rabbits in each group. The rate of resumption of spontaneous circulation (ROSC), the mortality at different time points and the occurrence incidence of systemic inflammatory response syndrome (SIRS) of two groups were observed after CPR and the ROSC. The levels of serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), myocardial MB-isoenzyme of creatine kinase (CK-MB), alanine aminotransferase (ALT), creatinine (Cr), glucose (Glu) and arterial partial pressure of oxygen (PaO_2) before resuscitation and 12, 24 and 48 hours after ROSC were measured simultaneously in the two groups. The incidence of CPR-MODS was calculated. **Results** The CPR time (seconds) in 7-minute asphyxia group was significantly shorter than that in 8-minute asphyxia group (147.60 ± 22.09 vs. 193.08 ± 23.07 , $P < 0.01$). The ROSC rate of 7-minute asphyxia group and 8-minute asphyxia group was 100.00% and 86.67%, respectively, and there was no significant difference. The incidence of MODS in the rabbits surviving more than 24 hours after ROSC was 100% in both groups. The mortality at 6 hours after ROSC in 7-minute asphyxia group was remarkably lower than that of 8-minute asphyxia group (6.67% vs. 46.67%, $P < 0.05$). All the rabbits in 8-minute asphyxia group died at 48 hours. The incidence of SIRS after ROSC was 100% in both groups. Compared with that before asphyxiation, the level of serum TNF- α (ng/L) as well as CK-MB (U/L) increased significantly at 12 hours after ROSC in both groups (TNF- α in 7-minute asphyxia group: 100.71 ± 20.43 vs. 49.13 ± 8.64 , in 8-minute asphyxia group: 118.09 ± 21.90 vs. 48.48 ± 6.70 ; CK-MB in 7-minute asphyxia group: 786.88 ± 211.84 vs. 468.20 ± 149.45 , in 8-minute asphyxia

group; 894.88 ± 248.80 vs. 462.11 ± 115.15 , all $P < 0.05$). There was a significant elevation of ALT (U/L) and Glu (mmol/L) at 24 hours after ROSC (ALT in 7-minute asphyxia group; 174.25 ± 36.28 vs. 50.27 ± 9.37 , in 8-minute asphyxia group; 205.50 ± 10.61 vs. 51.13 ± 10.37 ; Glu in 7-minute asphyxia group; 11.21 ± 1.14 vs. 5.59 ± 1.10 , in 8-minute asphyxia group; 11.55 ± 0.35 vs. 6.41 ± 1.23 , all $P < 0.05$). Cr ($\mu\text{mol/L}$) was significantly higher at 12 hours after ROSC in 8-minute asphyxia group (98.83 ± 16.70 vs. 65.93 ± 13.81), while it was elevated at 24 hours in 7-minute asphyxia group (144.25 ± 41.64 vs. 67.71 ± 16.47 , both $P < 0.05$). PaO_2 in both groups was significantly higher at 12 hours after ROSC and significantly decreased at 24 hours. **Conclusion** The model of cardiac arrest caused by 7 minutes asphyxia provided more possibility and feasibility for the subsequent study of reproducing CPR-MODS model.

【Key words】 Cardiac arrest; Multiply organ dysfunction syndrome; Animal model; Asphyxia

心肺复苏(CPR)后合并多器官功能障碍综合征(CPR-MODS)是导致心搏骤停患者死亡和致残的最常见原因^[1-3],严重影响了 CPR 的最终成功率,并成为影响复苏患者存活率的独立危险因素^[4]。因此,CPR-MODS 的防治越来越成为 CPR 领域关注的焦点。对于心搏骤停自主循环恢复(ROSC)后如何进一步复苏和防止 MODS 的发展,临床还面临许多尚未解决的问题,需进一步探讨心肌功能障碍机制以及 CPR-MODS 确切的发生机制、预防措施等^[5-6],这些都依赖于建立合适的动物模型。但目前绝大多数心搏骤停动物模型仍停留于 ROSC 的相关研究,缺乏对复苏动物 CPR-MODS 发生发展及防治措施的后续研究,特别是缺乏具有实际应用价值的动物模型和模型建立的方法。因此,本研究在窒息法致家兔心搏骤停模型研究的基础上,进一步对 ROSC 家兔进行了后续研究,探讨不同窒息时间对家兔 CPR-MODS 形成的影响,为 CPR-MODS 动物模型建立和相关研究提供可行性依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与模型制备:清洁级成年家兔 30 只,体重 $2.0 \sim 2.5$ kg,雌雄不拘,由吉林大学白求恩医学部动物实验中心提供,动物合格证号:SCXK(吉)2007-0004。采用随机数字表法将家兔分成窒息 7 min 和 8 min 组,每组 15 只。大鼠术前 6 h 禁食不禁水,经耳缘静脉留置针,3%戊巴比妥(30 mg/kg)麻醉,心电图监护。分离左侧颈动脉并置管,接有创血压监测管及压力转换器与 BL-420S 生物机能实验系统相连接,记录血压。经口气管插管,在血压、呼吸频率、心律平稳后观察并记录 5 min,在呼气末夹闭气管致心搏骤停,松夹后给予呼吸机辅助呼吸(控制呼吸、吸入氧浓度 1.00、呼吸频率 30 次/min、潮

气量 $15 \sim 20 \text{ ml/kg}$),并于胸骨正中胸外心脏按压约 150 次/min,按压深度为兔胸廓前后径的 1/3,同时快速静脉推注肾上腺素 0.02 mg/kg (视情况每 3~5 min 给药 1 次,可重复 3 次),连续监测并记录心电图、颈动脉血压,至 ROSC 或 15 min 无效时放弃复苏。对 ROSC 动物,连续监测颈动脉血压和心电图,通过耳缘静脉给予平衡盐溶液,对复苏后循环不稳定的动物酌情给予多巴胺、肾上腺素、利多卡因、多巴酚丁胺及 5%碳酸氢钠,同时给予呼吸机辅助通气,ROSC 6~8 h 血压、心率及自主呼吸稳定至少 1 h 后逐步撤机、拔管,撤除颈动脉置管,局部结扎,逐层缝合颈部各层组织,连续观察 24 h 以上。本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.2 观察指标及方法:观察两组家兔 ROSC 率、不同时间点死亡率和 CPR-MODS 发生率。检测两组家兔 ROSC 后不同时间点呼吸频率、心率、直肠温度和白细胞计数,观察全身炎症反应综合征(SIRS)的发生情况。留取两组复苏前及复苏后 12、24、48 h 存活家兔的动脉血标本 3 ml,采用 7600 自动生化分析仪检测心肌肌酸激酶同工酶(CK-MB)、丙氨酸转氨酶(ALT)、肌酐(Cr);用血气分析仪检测动脉血氧分压(PaO_2)、血糖(Glu);以酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,按试剂盒(美国 ADL 公司)说明书步骤进行操作。每次抽血后回输等量生理盐水。

1.3 相关实验室判定标准

1.3.1 心搏骤停判定标准:①心电图监护示平均动脉压(MAP) $< 30 \text{ mm Hg}$ ($1 \text{ mm Hg} = 0.133 \text{ kPa}$),心室纤颤(室颤)、电-机械分离或心室停搏;②心尖区听诊心音消失,颈动脉置管局部波动消失;③动物皮肤、黏膜发绀。

1.3.2 ROSC 判断指标:①心电图出现气管夹闭前的正常心电图表现;②MAP 上升到 60 mm Hg 并持续 1 min 以上;③可触及明显的心脏搏动;④动物皮肤、黏膜发绀明显减轻。

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2011.06.007

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30870351);吉林省科技发展计划项目(200705201)

作者单位:130021 长春,吉林大学第一医院 ICU

通信作者:王育珊,Email:wang-yushan@tom.com

1.3.3 CPR 时间:从 CPR 开始到 ROSC 的时间。

1.3.4 ROSC 率:每组 ROSC 动物数占该组总动物数的百分比。

1.3.5 自主呼吸判断标准:以出现腹式呼吸且撤掉呼吸机后持续 5 min 为自主呼吸恢复的标志。

1.3.6 SIRS 诊断标准:目前尚缺乏动物 SIRS 的诊断标准。在人类 SIRS 临床诊断依据的基础上,参照胡森等^[7]提出的动物 SIRS 诊断依据:①直肠温度较正常或心搏骤停前升高或降低 1℃;②呼吸频率超过对照值 2 倍或动脉血二氧化碳分压(PaCO₂)较对照值降低 25%;③白细胞总数超过对照值的 2 倍或减少 50%;④心率较对照值增加 50%。上述几项中,采用直肠温度、PaCO₂、白细胞计数和分类的变化进行诊断相对较为准确。

1.3.7 心搏骤停后 CPR-MODS 动物模型的鉴定标准:目前国内外还没有统一和公认的动物器官功能障碍的诊断标准。各实验室往往根据其对 MODS 模型的认识、研究目的以及检测条件,制定各自的诊断标准。本研究中参照胡森等^[8]提出的动物 MODS 诊断标准,即诱发因素+SIRS+多器官功能障碍(2 个或以上):①胃肠功能障碍:腹胀、肠鸣音减弱或消失、出现应激性溃疡;②肝功能障碍:血 ALT 或总胆红素(TBil)≥2 倍对照值;③凝血功能障碍:血小板≤80%对照值,凝血酶原时间(PT)及凝血酶时间(TT)比对照值延长≥3 s;④心功能障碍:无血容量不足,心率≥2 倍对照值或心律紊乱、心率<60 次/min 和(或)MAP 持续≤70%对照值;⑤肺功

能障碍:呼吸窘迫,呼吸频率≥2 倍对照值,PaO₂≤69.75 mm Hg 和(或)PaCO₂≥44.85 mm Hg;⑥肾功能障碍:血 Cr≥2 倍对照值,或少尿。

1.4 统计学处理:应用 PEMS 3.1 医学统计软件,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用 *t* 检验,组内比较用方差分析;计数资料以率表示,采用 χ^2 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组家兔复苏及预后指标比较(表 1):窒息 7 min 组 CPR 时间明显短于窒息 8 min 组(*P*<0.01);窒息 7 min 组和窒息 8 min 组家兔的 ROSC 率分别为 100.00%和 86.67%,差异无统计学意义(*P*>0.05)。两组家兔 ROSC 后存活 24 h 以上时,MODS 发生率均为 100.00%。窒息 8 min 组 ROSC 后 6 h 死亡率明显高于窒息 7 min 组(*P*<0.05);在 12~48 h 窒息 8 min 组死亡率虽有高于窒息 7 min 组的趋势,但差异无统计学意义(均 *P*>0.05);至 48 h 时窒息 8 min 组动物全部死亡。

2.2 两组家兔全身炎症反应及主要器官功能指标比较(表 2):两组家兔 ROSC 后 12~24 h 均出现 SIRS,发生率为 100.00%。两组 ROSC 后 12 h 即有 TNF-α、CK-MB 明显升高(均 *P*<0.05);24 h ALT、Glu 出现明显升高(均 *P*<0.05);Cr 在窒息 8 min 组于 ROSC 12 h 即明显升高,在窒息 7 min 组于 ROSC 24 h 明显升高(均 *P*<0.05);两组 PaO₂ 均在 ROSC 后 12 h 明显升高,于 24 h 出现明显下降(均 *P*<0.05)。

表 1 不同窒息时间组家兔复苏及预后指标比较

组别	动物数	CPR 时间 ($\bar{x} \pm s$)	ROSC 率 (% (只))	24 h MODS 发生率(% (只))	复苏后不同时间点死亡率(% (只))			
					6 h	12 h	24 h	48 h
窒息 7 min 组	15	147.60±22.09	100.00(15)	100.00(15)	6.67(1)	26.67(4)	46.67(7)	73.33(11)
窒息 8 min 组	15	193.08±23.07 ^a	86.67(13)	100.00(15)	46.67(7) ^b	60.00(9)	86.67(13)	100.00(15)

注:CPR,心肺复苏;ROSC,自主循环恢复;MODS,多器官功能障碍综合征;与窒息 7 min 组比较,^a*P*<0.01,^b*P*<0.05

表 2 不同窒息时间对心搏骤停家兔不同时间点全身炎症反应及主要器官功能指标变化的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	动物数	TNF-α(ng/L)	CK-MB(U/L)	ALT(U/L)	Cr(μmol/L)	Glu(mmol/L)	PaO ₂ (mm Hg)
窒息 7 min 组	窒息前	15	49.13±8.64	468.20±149.45	50.27±9.37	67.71±16.47	5.59±1.10	68.20±7.74
	ROSC 后 12 h	11	100.71±20.43 ^a	786.88±211.84 ^a	62.64±12.24	62.64±12.24	7.17±1.06	182.71±19.77 ^a
	ROSC 后 24 h	8	264.92±44.64 ^a	2 294.48±1 134.40 ^a	174.25±36.28 ^a	144.25±41.64 ^a	11.21±1.14 ^a	80.22±11.65 ^a
	ROSC 后 48 h	4	229.52±36.64 ^a	1 227.14±427.27 ^a	261.75±27.90 ^a	176.75±37.53 ^a	10.43±0.75 ^a	37.82±5.49 ^a
窒息 8 min 组	窒息前	15	48.48±6.70	462.11±115.15	51.13±10.37	65.93±13.81	6.41±1.23	67.37±7.52
	ROSC 后 12 h	6	118.09±21.90 ^a	894.88±248.80 ^a	63.67±11.88	98.83±16.70 ^a	7.45±1.71	171.28±28.57 ^a
	ROSC 后 24 h	2	317.90±37.17 ^a	3 066.13±1 135.38 ^a	205.50±10.61 ^a	230.50±88.39 ^a	11.55±0.35 ^a	55.64±3.53 ^a

注:ROSC,自主循环恢复;TNF-α,肿瘤坏死因子-α;CK-MB,肌酸激酶同工酶;ALT,丙氨酸转氨酶;Cr,肌酐;Glu,血糖;PaO₂,动脉血氧分压;与本组窒息前比较,^a*P*<0.05;1 mm Hg=0.133 kPa

3 讨论

心搏骤停 ROSC 后,机体经历了全身缺血/再灌注(I/R)损伤,产生大量氧自由基,并激发促炎介质的过度释放而导致 SIRS 的发生^[9],若不能阻断累积氧债造成的血管内皮细胞活化和改善各器官功能,不可避免会导致 MODS 的发生,使心搏骤停 CPR 后 ROSC 患者预后不良。但是心搏骤停后发生的多器官病理改变与其他致伤因素导致 MODS 有所不同,其全身 I/R 损伤的严重程度与心搏骤停 ROSC 的时间密切相关,心搏骤停后 ROSC 很快恢复并不能造成 CPR-MODS 的发生,若以心搏骤停 ROSC 后的研究为主要目的,在心搏骤停动物模型方法的选择上要综合考虑缺血、缺氧时间对 MODS 形成的影响。

本研究显示,不同窒息时间组家兔在 ROSC 后早期均出现 SIRS,并伴有炎症介质 TNF- α 的明显升高,同时 CK-MB 也明显升高;24 h 出现 ALT、Glu 的明显升高,而 Cr 在窒息 8 min 组于 ROSC 12 h 即明显升高,在窒息 7 min 组于 ROSC 24 h 明显升高;两组 MODS 发生率达 100%;24 h 出现 PaO₂ 明显下降。提示窒息法致兔心搏骤停在 ROSC 后确实会发生 SIRS,并伴有炎症介质 TNF- α 的明显升高以及随之发生的主要器官功能指标的改变,采用窒息法建立心搏骤停 CPR-MODS 动物模型具有一定可行性。

目前多数研究认为窒息法致心搏骤停动物模型在窒息时间选择上以 7~9 min 为宜^[10],窒息时间过短则达不到心脏停搏的目的,而窒息时间过长则可能导致动物 ROSC 率下降,达不到后续研究制模的要求。本研究中在观察不同窒息时间对动物复苏后多器官功能影响的同时,也对其预后进行了比较,以进一步探讨合适的窒息时间及提高 CPR-MODS 动物模型建立的成功率。结果显示:两组家兔 ROSC 率无显著差异;窒息 8 min 组 ROSC 后 6 h 死亡率明显高于窒息 7 min 组;两组 12~48 h 死亡率虽然差异无统计学意义,但窒息 8 min 组死亡率有增高的趋势;两组 ROSC 后存活 24 h 以上动物 MODS 发生率为 100%;窒息 8 min 组 CPR 时间明显长于窒息 7 min 组。由此提示,虽然选择不同窒息时间都有可能建立 CPR-MODS 动物模型,但是窒息 7 min 组有更高的 ROSC 率和 6 h 以上存活率。因此,在采用窒息法建立兔心搏骤停 CPR-MODS 模型时,选择窒息时间为 7 min 将更适合制模和复苏后续研究

需要。窒息 7 min 组预后相对好的原因可能与其 CPR 时间明显缩短有关,但具体机制有待进一步深入研究和较大样本的动物研究证实。

在探索心搏骤停 CPR-MODS 动物模型的创建中应注意以下问题:①在 MODS 动物模型建立过程中,动物遭受致伤因素打击后没有强有力的器官支持措施,因而难以渡过最初的休克或单器官衰竭而早期死亡,使可能发展到 MODS 的自然过程中断。因此,如何加强 CPR-ROSC 动物的血流动力学、呼吸及代谢监测与支持,是提高 CPR-MODS 模型成功率的关键。②在一般致伤因素如创伤、失血性休克和感染等因素导致 MODS 发展过程中,重点打击敏感器官肺和肠道(屏障功能)将有助于 MODS 发生。但心搏骤停后 MODS 的发生明显与全身重要组织器官的缺血、缺氧时间有关,尤其是形成以脑组织损害出现时间早、持续时间长、程度重为特点的 MODS,这与其他因素导致的 MODS 存在着明显不同。因此,建立 CPR-MODS 模型存在着一定的特殊性,如何在动物模型制作过程中摸索合适的室颤或心脏停搏时间、窒息时间以及复苏早期干预时间都是模型能否成功建立的关键问题。

参考文献

- [1] Niskanen M, Kari A, Halonen P. Five-year survival after intensive care, comparison of 12,180 patients with the general population. *Crit Care Med*, 1996, 24, 1962-1967.
- [2] 李雄文. 复苏后综合征 47 例临床分析. *中国危重病急救医学*, 2002, 14, 235-236.
- [3] 朱英, 黄淮, 颜景华, 等. 心肺复苏后多器官功能障碍综合征危险因素和预后分析. *中国医师杂志*, 2006, 8, 1048-1050.
- [4] 李雄文, 唐旭军, 莫伟强, 等. Logistic 回归分析影响心肺复苏后存活率的因素. *中国综合临床*, 2003, 19, 226-227.
- [5] Nolan JP, Neumar RW, Adrie C, et al. Post-cardiac arrest syndrome: epidemiology, pathophysiology, treatment, and prognostication. *Resuscitation*, 2008, 79, 350-379.
- [6] 李春盛. 关注心肺复苏术的若干问题. *中国危重病急救医学*, 2010, 22, 67-68.
- [7] 胡森, 盛志勇, 周宝桐. MODS 动物模型研究进展. *中国危重病急救医学*, 1999, 11, 504-506.
- [8] Hu S, Sheng Z, Zhou B, et al. Study on delay two-phase multiple organ dysfunction syndrome. *Chin Med J (Engl)*, 1998, 111, 101-108.
- [9] Geppert A, Zorn G, Karth GD, et al. Soluble selectins and the systemic inflammatory response syndrome after successful cardiopulmonary resuscitation. *Crit Care Med*, 2000, 28, 2360-2365.
- [10] 陈寿权, 李章平, 王姗姗, 等. 窒息法致大鼠心脏骤停模型复苏的影响因素. *中华急诊医学杂志*, 2005, 14, 814-817.

(收稿日期: 2010-08-10)

(本文编辑: 李银平)