

## 维生素 C 对心脏骤停动物模型复苏后心功能的影响

张国振 何庆

(西南交通大学附属医院 成都市第三人民医院, 四川 成都 610036)

**【摘要】目的** 探究维生素对心脏骤停动物模型复苏后心功能的影响。**方法** 利用随机数字选取 10 只 SD 大鼠, 随机分为对照组和实验组, 通过诱导 6 min 心室颤动以及 8 min 心肺复苏对大鼠进行心脏骤停造模, 运用超声检查比较实验组和对照组的心功能状态及微循环检查观察全身微循环灌注状况。使用参数检验对实验数据进行统计分析。**结果** 与对照组相比, Vitamin C 组在第 1 小时心输出量明显增加 ( $P=0.047$ ), 第 2 小时射血分数也明显增加 ( $P<0.001$ ), 在第 3 小时开始心肌性能指数明显降低 ( $P=0.001$ )。在舌下微循环观察中发现, Vitamin C 组与对照组相比, 微血管血流指数和微血管密度分别在第 1、2 小时表现出明显的差异性 ( $P<0.001$ ,  $P=0.01$ )。**结论** Vitamin C 对心肺复苏后心功能的恢复有一定改善作用。

**【关键词】** 维生素 C; 心脏骤停; 血流动力学

**【DOI】** 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.07.023

## Effect of Vitamin C on Cardiac Function after Resuscitation in Animal Models of Cardiac Arrest

ZHANG Guozhen, HE Qing

(The Affiliated Hospital of Southwest Jiaotong University, The Third People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610036, Sichuan, China)

**【Abstract】Objective** To explore the effect of vitamin on cardiac function after resuscitation in animal model of cardiac arrest. **Methods** Ten SD rats were randomly divided into the control group and the experimental group. Rat model of cardiac arrest was established by inducing 6 minutes ventricular fibrillation and 8 minutes cardiopulmonary resuscitation. The cardiac function and microcirculation are compared by ultrasonic examination between the experimental group and the control group. Statistical analysis of experimental data was performed using parameter test. **Results** Compared with the control group, vitamin C group experienced a significant increase in cardiac output at the 1st hour ( $P=0.047$ ), meanwhile there was a significant increase in ejection fraction at the 2nd hour ( $P<0.001$ ). Myocardial performance index had a significant decrease at the 3rd hour ( $P=0.001$ ). The vitamin C group was compared with the control group under the observation of sublingual microcirculation, and microvascular blood flow index had a significant increase in the 1st hour ( $P<0.001$ ), and microvascular density showed obvious difference at the 2nd hour ( $P=0.01$ ). **Conclusion** Vitamin C improved the recovery of myocardial function after cardiopulmonary resuscitation.

**【Key words】** Vitamin C; Cardiac arrest; Hemodynamics

心脏骤停有着较高的发病率和死亡率, 严重影响了大众健康, 尽管在心脏病的治疗方面取得了进展, 但突发心脏骤停的患者在恢复自主循环后的结果仍然很差, 大约 60% 的心脏骤停患者入院死于并发症。因此, 建立心脏骤停的动物模型以及观察药物对缺血再灌注后心肌功能的影响具有重大意义。有研究表明, 缺血再灌注损伤的病理生理学途径, 主要包括内皮功能障碍、细胞损伤和多器官衰竭的大量活性氧 (reactive oxygen species, ROS)<sup>[1]</sup>。维生素 C (Vitamin

C) 是一种重要的循环抗氧化剂, 具有抗炎和免疫支持作用<sup>[2]</sup>, 是重要的单氧合酶和双氧合酶的辅助因子, 可拮抗缺血再灌注带来的 ROS 损伤<sup>[3]</sup>。有研究表明: 在心脏骤停后的第 1 天, 患者与健康志愿者相比, 血浆中 Vitamin C 浓度降低了 50% 以上, 3 d 后, 一半以上的患者缺乏维生素<sup>[1]</sup>。然而尚不清楚 Vitamin C 对心功能的具体效果, 因此现通过观察心脏骤停大鼠模型从自主循环恢复 4 h 内的血流动力学的变化, 从而判断 Vitamin C 对心脏骤停后大鼠心功能的潜在影响

作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物前期准备

使用戊巴比妥 (45 mg/kg) 腹膜内诱导麻醉雄性 Sprague-Dawley 大鼠 (450 ~ 550 g) (购自恩维戈公司)。将使用安装在钝针 (Abbocath-T; 美国伊利诺伊州北芝加哥阿伯特医院产品部) 上的 14-G 套管对口腔气管进行插管, 尖端为 145°。CO<sub>2</sub> 将通过插在气管套管和呼吸机之间的侧流红外 CO<sub>2</sub> 分析仪 (Capstar-100 CO<sub>2</sub> 分析仪; 阿德莫尔, 宾夕法尼亚州) 进行连续监测。传统的 II 导联心电图将被连续监测。通过加热的手术台将核心温度 (静脉血温度) 保持在 37°C。通过左颈外静脉, 将一根 PE-50 (BD 公司, 美国马里兰州斯帕克斯) 导管推入右心房, 以测量右心房压力。另一根 3-F 导管 (C-PMS-301J 型; 美国印第安纳州布卢明顿) 通过右颈外静脉, 进入右心房准备诱颤。另一根 PE-50 导管将从左股动脉伸入降主动脉, 以测量动脉压和动脉抽血。将一根 PE-50 导管放置在右股静脉内进行药物给药。将热电偶微型探头 (IT-18; 新泽西州克利夫顿的实验室设备供应商, 美国新泽西州) 插入左股静脉以测量血液温度。另外, 将另一根 PE-50 导管放置在右股静脉内进行药物输注。一旦放置了所有导管, 就将经弯曲的导丝穿过右颈外静脉导管推进到右心室, 经胸心电图证实。所有导管将用含 2.5 IU/mL 结晶牛肝素的盐水间歇冲洗。

### 1.2 构建动物模型

动物模型参考美国 Weil 实验室实验标准<sup>[4]</sup>。在诱导心室颤动 (VF) 前 15 min, 获得基线血流动力学测量和超声心动图。机械通气的潮气量为体重的 0.60 mL/100 g, 呼吸频率为 100 次/min, 吸入 O<sub>2</sub> 分数 (FiO<sub>2</sub>) 为 0.21。使用频率为 60 Hz 的交流电流逐渐增加到最大 3.5 mA 引发 VF, VF 发作后, 停止机械通气, 然后传递到右心房内膜。电流持续 3 min, 防止自发除颤。诱颤 6 min 后使用气、动机械胸压气机开始胸前按压, 并进行机械通气 (潮气量 0.60 mL/100 g 体重, 呼吸频率 100 次/min, FiO<sub>2</sub> 1.0)。胸前按压将以 200 次/min 的速度进行, 并保持同步, 在 8 min 的时间内, 以同等的按压-放松的方式提供 2 : 1 的按压/通气。最初调整压缩深度以保持冠状动脉灌注压 (CPP) 为 (22±2) mm Hg (1 mm Hg=0.133 3 kPa)。除颤将在心肺复苏 8 min 后进行 3 次 4 J 能量的电击, 最后待其自身恢复自主循环 (return of spontaneous circulation, ROSC) (指其平均主动脉压>50 mm Hg 可稳定 5 min, 此时心室上节律已基本恢复)。如果在 3 次电击的第 1 次除颤尝试后不能达到 ROSC, 则在下一除颤尝试

(最多 3 次) 之前, 进行 30 s 的胸前按压。在 ROSC 之后, FiO<sub>2</sub> 为 1.0 的情况持续 1 h, 第 2 小时调整为 0.5, 之后调整为 0.21。

### 1.3 实验分组

将大鼠以抽签的形式随机分为 2 组, 每组 5 只。实验组使用 Vitamin C (200 mg/kg), 对照组使用生理盐水 (1 mL)。Vitamin C 和生理盐水均在按压 4 min 时由静脉注入。

## 2 检测指标

### 2.1 血流动力学和心肌功能

由 WINDAQ 软件支持的个人计算机数据采集系统持续记录心电图、主动脉和右心房压、二氧化碳分压 (ETCO<sub>2</sub>) 以及血温值。在心电图上计算 10 个 RR 间隔并取其平均值, 然后手动记录和测量 VF 的数量和持续时间。CPP 的计算方法为同时舒张主动脉和右心房压力的时间差值, 并实时显示。在超声 (飞利浦医疗系统, 荷兰, 埃因霍温, 美国) 上利用具有 12.5 Hz 传感器超声心动图 (HD11XE) 测量 ROSC 后基线、1 h、2 h、3 h 和 4 h 的射血分数 (ejection fraction, EF)、心输出量 (cardiac output, CO) 和心肌性能指数 (myocardial performance index, MPI)。采用 CO 法和 EF 法测定心肌收缩力; 采用 MPI 评估左室舒张功能。MPI = (a-b)/b, 其中 a 等于二尖瓣瓣膜关闭到开始的时间间隔, b 等于主动脉血流喷射时间 (从左心室流出道获得图像)。

### 2.2 舌下微循环

使用侧流暗场成像设备 (MicroVision Medical, 荷兰阿姆斯特丹) 观察大鼠基线以及 ROSC 后 1 h、2 h、3 h 和 4 h 的舌下微循环状态, 物镜放大倍数为 5 倍, 屏幕放大倍数为 276 倍, 微血管图像将被记录保存。微血管血流指数 (microvascular flow index, MFI) 采用 Pozo 等<sup>[5]</sup>的方法进行定量。图像将被分为四个象限, 且对每个象限<20 μm 直径的血管评估其主要的流动状态并打分 (不流动为 0 分, 间歇性流动为 1 分, 缓慢流动为 2 分, 正常流动为 3 分)。MFI 分数代表四个象限的平均值。采用 de Backer 法<sup>[6]</sup>测量灌注血管密度 (perfused vessels density, PVD)。

## 3 统计分析

使用 SPSS 22.0 软件 (SPSS Inc, 芝加哥, 伊利诺斯州, 美国) 进行统计分析。使用参数检验 (ANOVA) 比较所有变量。对于组间的测量, 使用方差分析和 Bonferroni 多重比较技术。通过重复测量单向方差分析 (ANOVA) 对各组内基于时间的测量结果进行比较。所有数据均以均数±标准差表示。P 值<0.05 表示该差异有统计学意义。

#### 4 结果

将 10 只成功复苏的动物(复苏后平均动脉压  $\geq 50$  mm Hg 且可稳定维持 5 min)随机分为两组。两组之间在基线体重以及开始复苏时体温、血压和  $\text{ETCO}_2$  无显著差异(表 1)。

##### 4.1 Vitamin C 对大鼠心肌功能的影响

通过观察记录 CO、MPI 和 EF 值发现,与对照组相比,在第 3 小时开始 MPI 明显减少,在第 2 小时开始 CO 明显增加,在第 3 小时开始 EF 明显增加,反映了随着时间的变化,Vitamin C 组的大鼠心功能较对照

组有明显好转。综上所述,Vitamin C 对心脏骤停后大鼠心肌功能的恢复有一定的改善作用(可见表 2、图 1、图 2 和图 3)。

表 1 对照组和 Vitamin C 组的大鼠基线信息

	对照组 (n=5)	Vitamin C (n=5)	P 值
体重(g)	482±20	484±23	>0.05
平均动脉压(mm Hg)	132±6.0	126±7.7	>0.05
呼吸末期 $\text{CO}_2$ (mm Hg)	34.46±2.46	35.58±3.12	>0.05
体温(℃)	36.7±0.5	36.6±0.6	>0.05

表 2 对照组和 Vitamin C 组在心功能参数上的比较

时间	对照组 (n=5)			Vitamin C 组 (n=5)			P 值		
	MPI	CO (mL/min)	EF (%)	MPI	CO (mL/min)	EF (%)			
基线	0.664±0.072	159.140±5.089	73.620±2.638	0.693±0.065	153.767±3.530	76.267±2.346	0.586	0.163	0.098
1 h	1.208±0.078	49.320±5.614	52.860±2.031	1.267±0.050	57.867±1.692	55.333±5.016	0.319	0.047	0.069
2 h	1.482±0.056	43.240±2.167	48.440±1.576	1.447±0.096	79.467±3.958	54.233±1.060	0.748	<0.001	<0.001
3 h	1.572±0.110	53.000±7.664	47.700±1.603	1.250±0.030	88.333±3.553	57.600±2.100	0.001	<0.001	<0.001
4 h	1.352±0.206	62.260±7.588	52.840±2.366	1.073±0.064	116.333±4.362	64.167±5.227	0.004	<0.001	<0.001

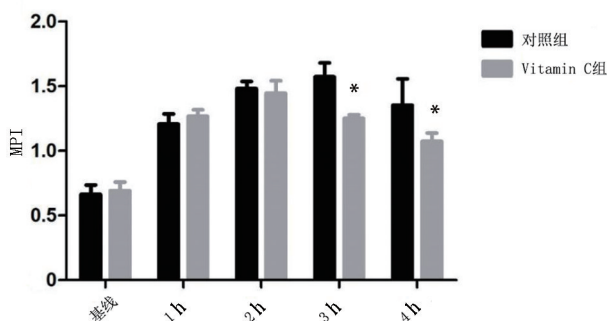


图 1 对照组和 Vitamin C 组的 MPI 比较

注: \*  $P < 0.05$  vs 对照组。

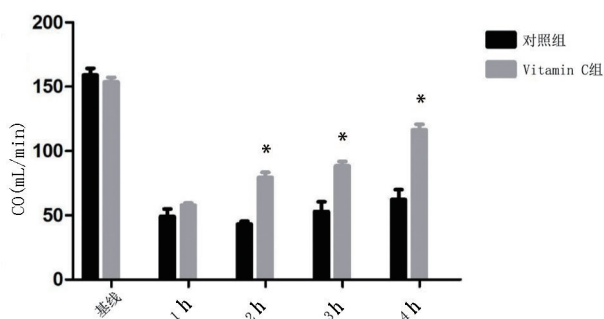


图 2 对照组和 Vitamin C 组的 CO 比较

注: \*  $P < 0.05$  vs 对照组。

##### 4.2 Vitamin C 对舌下微循环的影响

通过观察记录微循环、PVD 和 MFI 的值发现,与对照组相比,从第 2 小时开始 PVD 下降得到了缓解(表 3 和图 4),而在第 1 小时 MFI 的下降得到了明显

缓解(表 3 和图 5),解释了 Vitamin C 组心脏骤停后大鼠的组织灌注起到了改善的作用。图 6 和图 7 分别为对照组和 Vitamin C 组 4 h 后的微循环图片。

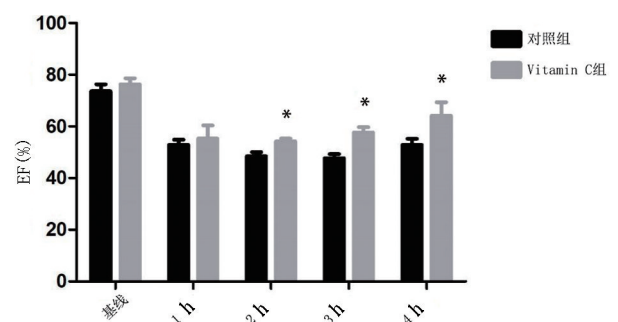


图 3 对照组和 Vitamin C 组的 EF 比较

注: \*  $P < 0.05$  vs 对照组。

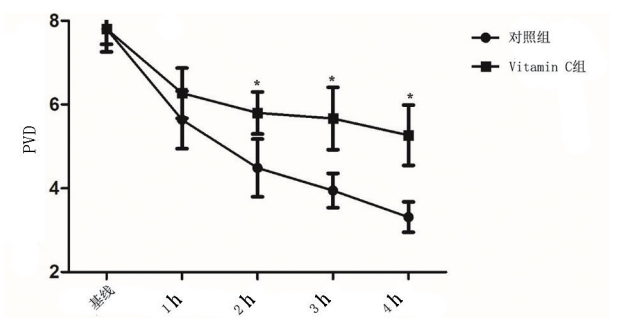


图 4 对照组和 Vitamin C 组的 PVD 比较

注: \*  $P < 0.05$  vs 对照组。

表 3 对照组和 Vitamin C 组在微循环功能参数上的比较

时间	对照组 (n=5)		Vitamin C (n=5)		P 值	
	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)		
基线	PVD 7.81 (0.56)	MFI 3.00 (0)	PVD 7.81 (0.37)	MFI 3.00 (0)	0.56	-
1 h	5.64 (0.69)	1.98 (0.15)	6.27 (0.60)	2.77 (0.07)	0.157	<0.001
2 h	4.49 (0.69)	1.48 (0.15)	5.80 (0.50)	2.53 (0.05)	0.01	<0.001
3 h	3.95 (0.41)	1.12 (0.10)	5.67 (0.75)	2.45 (0.07)	0.002	<0.001
4 h	3.31 (0.36)	1.14 (0.09)	5.27 (0.72)	2.31 (0.00)	0.001	<0.001

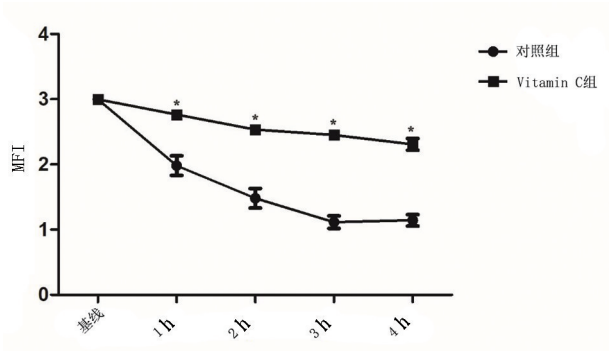


图 5 对照组和 Vitamin C 组的 MFI  
注: \* P<0.05 vs 对照组。

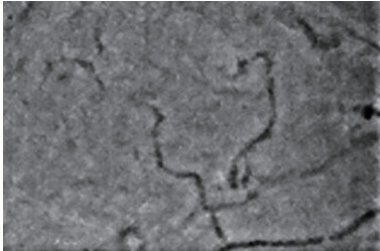


图 6 对照组 4 h 微循环血流

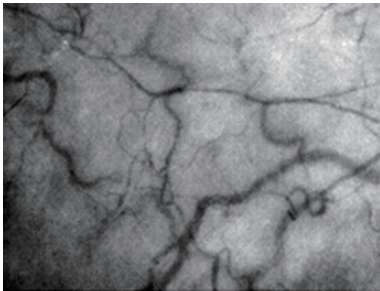


图 7 Vitamin C 组 4 h 微循环血流

5 讨论

本研究首先证实了舌下微循环血流状况与心脏之间的密切关系。进一步证明心脏骤停后微循环受

损的严重程度与血流动力学密切相关。面对临床上如何改善心脏骤停患者的预后状况,通过 4 h 观察复苏发现,注射 Vitamin C 的大鼠与对照组超声结果相比,心功能指标 EF 和 CO 的升高以及 MFI 的降低有明确的统计学差异。同时,微循环参数 MPI 和 PVD 与对照组相比也存在显著的差异性,这揭示 Vitamin C 对心肺复苏后心功能的改善存在一定价值。

在心脏骤停复苏后,炎症反应触发产生和释放大量的炎症细胞因子,增加了白细胞的转运。红细胞失去扩张血管的能力,难以变形且易于聚集,从而导致微血栓形成和毛细血管堵塞,内皮细胞和小动脉平滑肌细胞失去调节功能。此外,肾上腺素敏感性和张力以及内皮屏障功能的损害,可能会导致内皮通透性增加,从而导致液体渗漏和组织水肿<sup>[7]</sup>。这可依次压迫微脉管系统并导致组织缺氧。这些改变不会被常规的血流动力学监测系统检测到,然而可通过微循环参数来表示(MFI 和 PVD)<sup>[8]</sup>。在本研究中,使用了侧流暗场成像系统用于监测微血管的改变。发现舌下微循环约 2 h 发生差异性改变,这与 CO 和 EF 发生改变的时间几乎一致。故早期对心肺复苏患者监测微循环有利于了解患者的预后状况。

之前的研究表明,大剂量静脉注射 Vitamin C 与静脉注射硫酸胺和应激剂量的类固醇相结合,可显著加速休克逆转并提高脓毒症生存率<sup>[9]</sup>,而在 Vitamin C 和心脏骤停相关的研究中存在一定争议<sup>[10]</sup>。这可能与 Vitamin C 具有较长的半衰期以及 Vitamin C 在人体中的特殊作用相关。首先 Vitamin C 可抑制 ROS 改善心肌的能量代谢同时减弱过氧化物的产生<sup>[11]</sup>;其次 Vitamin C 通过抑制核因子  $\kappa$ B,防止多种促炎细胞因子的转录导致内皮功能障碍、凝血功能激活和细胞损



伤;最后 Vitamin C 作为去甲肾上腺素、肾上腺素和血管加压素的必要辅助因子,可减少血浆蛋白的泄漏并恢复内皮通透性屏障,维持人体大血管与微血管的功能状态<sup>[12]</sup>。同时在临床研究中发现,心脏骤停患者体内的 Vitamin C 在几天内就迅速消耗<sup>[1]</sup>,这意味着尽管 Vitamin C 有着种种益处,但在人体内,短时间内也许无法发现 Vitamin C 的潜在效益。

本实验还存在一定的局限性,首先缺少大鼠组织的病理学检查,这对 Vitamin C 是否降低相关炎症介质存在一定争议。其次缺少 72 h 生存组之间的比较,并未深入探索 Vitamin C 是否可改善心脏骤停后大鼠的生存率。这些内容仍需进一步研究。

### 参考文献

- [1] Spoelstra-de Man AME, Elbers PWG, Oudemans-van Straaten HM. Making sense of early high-dose intravenous vitamin C in ischemia/reperfusion injury [J]. *Crit Care*, 2018, 22(1):70.
- [2] Carr AC, Maggini S. Vitamin C and immune function [J]. *Nutrients*, 2017, 9(11):1211.
- [3] Tsai MS, Huang CH, Tsai CY, et al. Ascorbic acid mitigates the myocardial injury after cardiac arrest and electrical shock [J]. *Intensive Care Med*, 2011, 37(12):2033-2040.
- [4] Hua T, Wu X, Wang W, et al. Micro- and macrocirculatory changes during sepsis and septic shock in a rat model [J]. *Shock*, 2018, 49(5):591-595.
- [5] Pozo MO, Kanoore Edul VS, Ince C, et al. Comparison of different methods for the calculation of the microvascular flow index [J]. *Crit Care Res Pract*, 2012, 2012:102483.
- [6] de Backer D, Hollenberg S, Boerma C, et al. How to evaluate the microcirculation: report of a round table conference [J]. *Crit Care*, 2007, 11(5):R101.
- [7] Marechal X, Favory R, Joulin O, et al. Endothelial glycocalyx damage during endotoxemia coincides with microcirculatory dysfunction and vascular oxidative stress [J]. *Shock*, 2008, 29(5):572-576.
- [8] de Backer D, Ospina-Tascon G, Salgado D, et al. Monitoring the microcirculation in the critically ill patient: current methods and future approaches [J]. *Intensive Care Med*, 2010, 36(11):1813-1825.
- [9] Marik PE, Khangoora V, Rivera R, et al. Hydrocortisone, vitamin C, and thiamine for the treatment of severe sepsis and septic shock: a retrospective before-after study [J]. *Chest*, 2017, 151(6):1229-1238.
- [10] Motl J, Radhakrishnan J, Ayoub IM, et al. Vitamin C compromises cardiac resuscitability in a rat model of ventricular fibrillation [J]. *Am J Ther*, 2014, 21(5):352-357.
- [11] 王颖骅, 何奔. 脓毒症型心肌梗死的研究进展 [J]. *心血管病学进展*, 2019, 40(8):1150-1153.
- [12] Marik PE. Vitamin C for the treatment of sepsis: the scientific rationale [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 189:63-70.

收稿日期:2019-12-18

## 本刊增加论著栏目的启事

本刊 2019 年起新增论著栏目,论著投稿注意事项如下。

1. 论著文章 5 000 字以内(包括摘要、图表及参考文献);论著采用结构式摘要(含目的、方法、结果和结论),摘要篇幅以 200~400 个汉字符为宜,并有完整的英文摘要(含文题、作者、单位、摘要和关键词);关键词以 3~8 个为宜;论著引用参考文献要求达到 20 条以上。

2. 论文如属国家自然科学基金项目或省、部级以上重点攻关课题、其他科研基金资助的项目,请在文稿首页脚注“【基金项目】×××科研资助项目(编号)”,如获专利请注明专利号。本刊对重大研究成果、国家自然科学基金、卫生部科研基金、省科技厅项目,将优先发表。

3. 本刊已全部实行网上投稿,请通过《心血管病学进展》杂志的稿件远程处理系统投稿(登录 <http://xxgbxzz.paperopen.com> 后,点击“作者投稿”,在“作者投稿管理平台”中投稿)。网上投稿成功后还需报送以下材料:(1)稿件处理费 50 元(可通过手机银行转账)。(2)推荐信(可发电子版):来稿需经作者单位审核,并附单位推荐信。推荐信应注明对稿件的审评意见以及无一稿多投、不涉及保密、署名无争议等项,并加盖公章。如涉及保密问题,需附有关部门审查同意发表的证明。(3)若此项研究为基金项目者,需附基金批文复印件(可发电子版)。

本刊编辑部