

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.15.007

## 犬重度心肌挫伤动物模型的建立及其应用价值

张为民<sup>1</sup>,赵兴吉<sup>1△</sup>,杜文华<sup>2</sup>,熊秀勤<sup>2</sup>

(1.重庆市急救医疗中心胸心外科 400014;2.第三军医大学大坪医院野战外科研究所超声诊断科,重庆 400042)

**[摘要]** **目的** 建立犬重度心肌挫伤(MC)的动物模型。**方法** 选用 12 只犬,体质量(11.36±1.50)kg,采用直接撞击犬左胸前裸区,设置驱动压为 800 kPa,撞击面积 16.61 cm<sup>2</sup>,胸壁向内压缩 4~6 cm,建成 MC 模型。伤后 8 h 行病理检查,根据简明损伤定级标准(AIS,2005 更新本)中 MC 的伤情评定方法进行分级。**结果** 受创区心外膜、心内膜出现散在大面积出血斑,未受创区无明显异常。以左心室横向切开冠状面病理检测,切面 8 h 坏死面积占总面积的(39.78±9.07)%,为重度 MC。**结论** 该研究中所建立的犬重度 MC 模型稳定和可重复性好,能够较准确模拟临时 MC 模型。

**[关键词]** 心肌挫伤;出血;撞击伤**[中图分类号]****[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)15-2037-03**Animal model construction of dog severe myocardial contusion and its application value**Zhang Weimin<sup>1</sup>, Zhao Xingji<sup>1△</sup>, Du Wenhua<sup>2</sup>, Xiong Xiuqin<sup>2</sup>

(1. Department of Cardiothoracic Surgery, Chongqing Emergency Medical Center, Chongqing 400014, China; 2. Department of Ultrasound, Daping Hospital,

Research Institute of Surgery Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish an animal model of dog severe myocardial contusion(MC). **Methods** 12 dogs with the body weight of (11.36±1.50)kg were selected. The BIM-II type biological impact machine was adopted to directly impact the bare area of the left chest by the driving pressure of 800 kPa, the impact area was 16.61 cm<sup>2</sup> and the chest wall was inward compressed within 4~6 cm, the severe myocardial contusion model was established. The pathological examination was taken at 8 h after injury and grading was performed according to the Abbreviated Injury Scale (AIS, update in 2005). **Results** The scattered large area bleeding spots appeared in the epicardium and endocardium of wound area. No obvious abnormality was found in the non-wound area. The pathological examination was performed based on the coronal plane of the left ventricular cross section. The percentage of the section 8 h necrosis area to the total area was (39.78±9.07)%. **Conclusion** The established dog severe myocardial contusion model is stable and reproducible, which can accurately simulate the temporary MC mode.

**[Key words]** myocardial contusion; hemorrhage; impact injury

创伤是目前年轻人死亡的主要原因,约占普通人群死亡的 1/3。因胸部创伤而死亡的患者大约占 25%,其中因交通事故所致心脏创伤而死亡的人数又占 20%<sup>[1-2]</sup>。据文献报道,在胸部钝性损伤(blunt chest trauma, BCT)中,心肌挫伤(myocardial contusion, MC)发生率报道差别很大,可以是 7%~71%<sup>[3]</sup>;临床表现较多为轻微的心电图异常,临床上因 MC 导致心脏破裂而死亡的病例并不少见,临床诊断缺乏金标准,许多 MC 患者常常死于心律失常、低血压、心脏压塞、心源性休克、心脏破裂等严重并发症,常常在死亡后尸检中发现 MC<sup>[4]</sup>。目前虽然对 MC 的报道较多,但诊断极为困难,主要的原因是对其重视不够。而相关的研究也较少,最主要的原因是缺乏稳定且科学可靠的动物模型。本研究将重点探讨重度 MC 模型的建立方法,并分析其实际应用价值。

**1 材料与方法****1.1 模型的制备**

**1.1.1 致伤设备** BIM-II 型生物撞击机主要包括 4 部分:气炮、撞击锤及其固定架、检测系统。气炮由高压源、气室、阀门、炮管和炮弹组成。撞击锤有不同面积、可根据需要建成不同致

伤模式。致伤过程:首先将撞击锤固定好。调整动物体位,选择撞击部位,根据需要选择不同的撞击头,打开电源,推动撞击锤,撞击动物。

**1.1.2 撞击参数的设置** 驱动压 800 kPa,撞击面积 16.61 cm<sup>2</sup>,胸壁向内压缩 4~6 cm,卧式准静态撞击。

**1.1.3 具体方法** 选用健康杂种犬 12 只(由第三军医大学大坪医院野战外科研究所动物中心提供),雌雄不限,体质量(11.36±1.50)kg,用 3% 戊巴比妥钠 30 mg/kg 静脉注射麻醉。采用撞击机撞击犬左胸前裸区,撞击中心点为超声定位左室短轴切面心包裸区,卧位准静态撞击(见图 1)。驱动压 800 kPa,撞击面积 16.61 cm<sup>2</sup>、胸壁内压缩 4~65 cm 建成犬 MC 模型,常规心电图监测。其中 2 只分别于伤后 1、4 h 出现心室颤动而死亡,在下文实验结果中未统计在内。

**1.2 病理活检与损伤范围检定** 伤后 8 h 用 10% 的 KCl 处死犬,取出心脏,先行大体标本观察,然后沿左心室横向剪开心脏,冠状面分层,每个层面厚 5 mm,用氯化三苯基四氮唑(TTC)染色(37℃,20 min)。TTC 染色后正常心肌呈红色,缺血心肌呈暗砖红色,坏死心肌仍呈心肌原苍白色。将经 TTC

染色后的病理切片摄像输入计算机,采用 Photoshop 软件系统进行分析、测量左室横向切开计算冠状面总面积(TA1)及 TTC 染色显示坏死面积(A1),并计算 A1/TA1 比值。并取部分心肌组织常规 10% 甲醛固定,HE 染色,光镜观察。

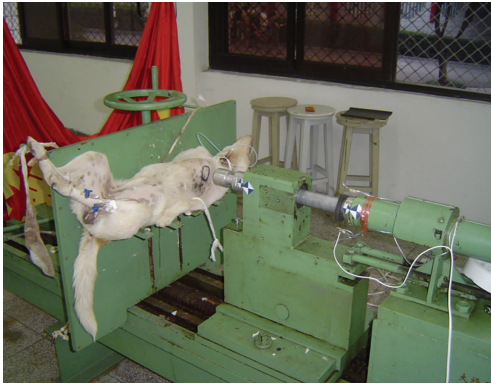


图 1 撞击实验时动物致伤体位与撞击机

1.3 统计学处理 除所测心肌组织病理标本数据外,均以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 2 结果

2.1 大体病理检查 受创区心外膜、心内膜出现散在大面积出血斑,未受创区无明显异常(图 2)。最常见部位依次为心尖部、室间隔及近头肌处、左心房、右心室和右心房。心尖部可见片状心肌实质出血,主动脉根部可见淤血,未见室间隔穿孔及主动脉、肺动脉根部破裂,冠状动脉内未见血栓形成。

2.2 显微病理检查 心肌组织可见广泛充血及多灶性出血,心肌细胞肿胀,损伤范围不规则,心内膜下及心肌组织间见大量的红细胞,并可见大量炎性细胞浸润,部分心肌纤维断裂(图 3),心肌大片状出血灶。

2.3 TTC 染色检查 心脏各腔、室壁可见损伤不规则的心肌实质缺血区与坏死区,可见少许透壁性心肌全层坏死损伤区,以左室心尖部、室间隔肌层最重,乳头肌损伤以缺血为主(图 4)。右室室壁坏死较重。本实验以左室乳头肌横断面为标准进行病理检测,左室短轴切面坏死面积占总面积的  $(39.78 \pm 9.07)\%$ 。病理所测伤后 8 h 心肌坏死面积及其所占总面积的百分比,见表 1。



图 2 心内膜下广泛的点状出血

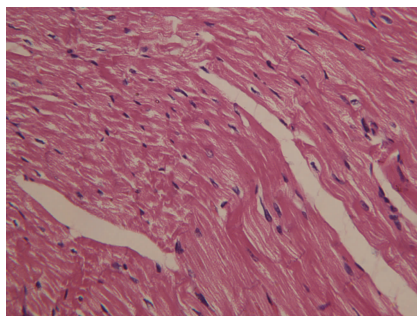


图 3 MC 后心肌纤维断裂(HE×400)



图 4 心肌 TTC 染色

表 1 病理所测伤后 8 h 心肌坏死面积及其所占总面积的百分比

动物序号	A1(cm <sup>2</sup> )	TA1(cm <sup>2</sup> )	A1/TA1(%)
1	2.89	11.45	25.24
2	3.61	12.01	30.06
3	3.92	10.30	38.07
4	5.83	11.40	51.12
5	5.42	12.14	44.65
6	6.15	11.33	54.28
7	5.29	12.72	41.59
8	3.98	9.20	43.26
9	4.00	11.13	35.94
10	4.38	13.04	33.59
$\bar{x} \pm s$	$4.55 \pm 1.06$	$11.47 \pm 1.13$	$39.78 \pm 9.07$

A1:左室短轴切面心肌坏死面积;TA1:左室短轴切面心肌的总面积;A1/TA1:左室短轴切面心肌坏死面积占该切面心肌总面积的百分比。

## 3 讨论

3.1 MC 模型的建立 有关心脏撞击伤动物 MC 模型的文獻

报道已经较多,多着重探讨 MC 后心律失常的变化规律、血流动力学的改变及其生物力学机制,对 MC 后形态学的改变研究较少<sup>[5]</sup>。本实验主要探讨 MC 后心脏及心肌形态学的改变。模型的建立方法各有不同,主要有直接撞击和间接撞击两种。Guan 等<sup>[6]</sup>以 10.0 m/s 直接撞击犬胸前区,制成 MC 模型,病理检查获得成功,并为探讨 MC 后血流动力学、心电图的改变提供了良好的动物模型。杜文华等<sup>[7]</sup>采用直接撞击家兔胸前区制成动物模型,通过病理检测,效果较差,主要是家兔体型较小,定位困难,另外家兔心腔较小,心率较快,行二维超声心动图和彩色多普勒检查非常不准确,与临床实际工作要求相差较大,该类动物模型研究价值较小。本实验采用超声定位直接撞击犬左胸前裸区,建成动物模型。结果表明超声定位致伤部位准确,致伤程度一致,可控性好,易于操作。病理活镜检查证实:受创区心外膜、心内膜出现散在大面积出血斑,未受创区无明显异常。最常见部位依次为心尖部、室间隔及近头肌处、左心房、右心室和右心房。心尖部可见片状心肌实质出血,主动脉根部可见淤血,未见室间隔穿孔及主动脉、肺动脉根部破裂,冠状动脉内未见血栓形成。TTC 染色见左室以室间隔、前壁、侧壁损伤为主。部分动物有轻度肺表面片状出血,面积较小,胸腔内微量积血,未见肺破裂或气胸,未见肝脾破裂伤,对

动物的病理生理影响较小。因此,该动物模型更能准确反映 MC 引起的病理生理改变,同时该动物模型致伤方法简便简单、可控性及重复性好,生理更符合人体,部位准确,易于监测及研究,能更好地满足临床研究的需要。

**3.2 MC 分级** 关于 MC 的分级,目前临床上尚无统一的分类标准。目前国内外主要在形态学方面参考的简明损伤定级标准(AIS,2005)中 MC 的分级标准,临床上采用手术或尸检证实:单一心肌裂伤,AIS 分值为 3 分(较重度);多发性裂伤,AIS 分值为 6 分(极重度)。或者钝性心脏伤致室性早搏连续( $\geq 5$ 次)或多灶性室性早搏,AIS 分值为 4 分,心脏损伤定位 III 级(较重度)。新近阅家新参考 Lau 等<sup>[8]</sup>的方法对心脏钝性伤的分级标准为:心血管系统有淤血点为 1 分;有散在性点灶状出血为 2 分;出血面积小于 10%为 3 分;出血面积 10%~30%为 4 分;出血面积 10~30%且有心肌出血为 5 分;大血管破裂或心包撕裂为 6 分。该分级方法可以直观地估计心脏损伤的程度,具有方便、快捷等优点。但也存在标准单一,对心肌是否坏死及面积的大小缺乏病理证实,应用存在一定的局限性。刘维永等<sup>[9]</sup>认为重度 MC 的病理标准为:重度 MC 后 4 h 可见心肌纤维结构完整性破坏,挫伤灶周围充血、浊肿,嗜酸性粒细胞增加,横纹肌消失,可见广泛间质出血,红细胞散在或形成灶性分布于心肌纤维间,局部有中性粒细胞和淋巴细胞浸润,部分可见心肌纤维断裂,PMN 大量浸润及心肌内微小血栓形成。有核仁裂解,细胞溶解等不可逆性损伤表现。心肌细胞损伤程度半定量分析:重度 MC 组心肌细胞严重损伤的百分比( $36.8 \pm 12.5$ %)明显高于轻度 MC 组( $15.3 \pm 5.4$ )%, $P < 0.01$ 。该分级标准客观、真实。但缺乏临床表现,难以准确预测心肌挫伤后的并发症及其伤后可能出现的高危因素。根据本实验所观察到的动物损伤后的心电图变化、大体病理及显微病理改变、心肌不同截面损伤与坏死心肌占总面积的比值等,同时参照简明损伤定级标准(AIS,2005)MC 的伤情评定方法并参考文献[9-10]关于重度 MC 的评定标准,对本实验中的动物伤情予以评分,其中 1 只犬因点状出血,心尖部坏死面积小于 30%,被评为 3 分;1 只犬因伤后室性早搏,ST-T 压低超过 1 mm,病理检查发现为单一的心肌裂伤,坏死面积大于 30%被评为 3 分;8 只犬因广泛的心外膜、心内膜点或片状出血,连续性室性早搏( $\geq 5$ 次/分钟)或多灶性室性早搏,ST 段弓背向上抬高,病理检查发现左心室短轴切面坏死面积占总面积的百分比大于 30%,被评为 4 分。因此,在本实验中,所有伤后存活的 10 只动物的综合平均创伤评分达到 3.8 分,完全符合重度损伤的临床诊断标准。

本实验结合 MC 后的心电图表现及病理结果建立的分级

标准,与临床尸检病例报到:钝性心脏伤中左、右心室最易发生挫伤,包括:出血、肌纤维断裂、坏死想一致<sup>[11]</sup>,更能较为准确地预测伤后并发症的发生及可能出现危及生命的高危因素,贴近临床实际,适于 MC 机制与相关临床诊断的研究。

#### 参考文献

- [1] Pretre R, Chilcott M. Blunt trauma to the heart and great vessels[J]. N Engl J Med, 1997, 336(9): 626-632.
- [2] Feghali NT, Prisant LM. Blunt myocardial injury[J]. Chest, 1995, 108(6): 1673-1677.
- [3] Lancey RA, Monahan TS. Correlation of clinical characteristics and outcomes with injury scoring in blunt cardiac trauma[J]. J Trauma, 2003, 54(3): 509-515.
- [4] Kaye P, O'Sullivan I. Myocardial contusion: emergency investigation and diagnosis[J]. Emerg Med J, 2002, 19(1): 8-10.
- [5] Cooper GJ, Pearce BP, Stainer MC, et al. The biomechanical response of the thorax to non-penetrating impact with particular reference to cardiac injury[J]. J Trauma, 1986, 22(12): 994-1008.
- [6] Guan DW, Zhang XG, Zhao R, et al. Diverse morphological lesions and serious arrhythmias with hemodynamic insults occur in the early myocardial contusion due to blunt impact in dogs[J]. Forensic Sci Int, 2007, 166(1): 49-57.
- [7] 杜文华, 闵家新, 朱佩芳, 等. 家兔实验性心肌挫伤后早期心功能与血流动力学变化规律的研究[J]. 中华创伤杂志, 2002, 18(9): 562-563.
- [8] Lau VK, Viano DC. Influence of impact velocity on the severity of nonpenetrating hepatic injury[J]. J Trauma, 1981, 21(2): 115-123.
- [9] 刘维永, 蔡建辉, 易定华, 等. 心脏撞击伤生物力学致伤机制及心脏挫伤分级[J]. 第四军医大学学报, 2000, 21(5): 540-542.
- [10] 闵家新, 朱佩芳, 王正国, 等. 不同致伤条件撞击兔对兔心肌挫伤伤情影响的实验研究[J]. 第三军医大学学报, 2002, 22(6): 509-511.
- [11] Tenzer ML. The spectrum of myocardial contusion: a review[J]. J Trauma, 1995, 25(7): 620-627.

(收稿日期:2014-11-08 修回日期:2015-02-16)

## 《重庆医学》开通微信公众平台

《重庆医学》已开通微信公众平台(微信号:ChongqingMedicine),《重庆医学》将以微信平台渠道向广大读作者发送终审会动态报道、各期杂志目录、主编推荐文章、学术会议、《重庆医学》最新资讯等消息。欢迎广大读作者免费订阅。读作者可以点击手机微信右上角的“+”,在“添加朋友”中输入微信号“ChongqingMedicine”,或在“添加朋友”中的“查找公众号”一栏输入“重庆医学”,添加关注。