

单纯肢体远隔缺血后处理及联合亚低温治疗 对猪心肺复苏后心功能的疗效评价

叶森 徐杰丰 王茉莉 陈国锋 汪正权 李子龙 周文华

心脏骤停 (CA) 是一个全球性的公共卫生问题。据统计,我国每年死于 CA 的患者高达 54.4 万^[1]。近年来,心肺复苏 (CPR) 指南的不断更新,已明显提高 CA 的复苏成功率,然而并未改善患者的出院存活率^[2-3]。有调查显示,复苏后的死因中有 23% 归因于心血管功能障碍^[4]。

近年来,经肢体实施的远隔缺血后处理 (RIpostC) 受到越来越多的关注。经肢体实施的 RIpostC 介导的心脏保护作用,已经在多种心肌缺血-再灌注损伤动物模型如猪^[5]、兔^[6]、大鼠^[7]等中得到证实。CA/CPR 作为缺血-再灌注损伤的特殊形式,表现为全身性的缺血-再灌注损伤,亦可能从 RIpostC 中获益。此外,亚低温治疗对复苏后神经及心血管系统有明确的保护作用,已为美国心脏病协会心肺复苏指南所推荐^[8]。

因此,在本研究中笔者将塑造心肺复苏的猪模型,评价远隔缺血后处理、远隔缺血后处理联合亚低温治疗对猪心肺复苏后心功能的影响。

1 材料与方 法

1.1 动物准备

国产健康白猪 21 头,雄性,体质量 35 ~ 40 kg,上海甲干生物科技有限公司提供,动物合格证号 SCXK (沪) 2010-0028。实验前动物禁食 12 h,不禁水。氯胺酮 20 mg/kg 肌注诱导麻醉,戊巴比妥钠首剂 30 mg/kg 静脉全麻,实验中间断予戊巴比妥钠 8 mg/kg 维持麻醉状态。麻醉后行气管插管,呼吸机辅助通气,频率 15 次/min,潮气量 15 mL/kg,氧浓度 21%。经右股动脉置管至腹主动脉监测动脉血压及体温,经右股静脉置管至右房监测右房压,经右锁骨下静脉置管放置诱颤电极至右心室。所有动静脉导管预充 2.5 U/mL 肝素盐水,并通过压力转换器 (美国 EDWARDS) 连接心电监护仪 (深圳 Mindray BeneView T6 型)。采集基线状态数据,包括体温、血流动力学、动脉血气及乳酸、肌钙蛋白 I (cTNI)、B 型钠尿肽前体 (NT-proBNP) 等。

1.2 实验分组

所有动物在复苏前随机 (随机数字法) 分入 3 组:对照组 (Control)、远隔缺血后处理组 (RIpostC)、远隔缺血后处理联合亚低温组 (RIpostC + Cooling)。每组 7 头。RIpostC 组和 RIpostC + Cooling 组在 CPR 开始的同时,立即用输液皮条捆绑右下肢实现远隔肢体缺血,以缺血 5 min 与再灌注 5 min 为 1 循环,循环 4 次。RIpostC + Cooling 组在复苏后 5 min 开始用控温毯 (Hirtz HICO-VARIO THERM550 型) 诱导低温并维持至 32 ~ 34 °C 4 h,4 h 后去除控温毯自然复温。其余两组在实验中用控温毯保持体温在 (37.5 ± 0.5) °C。

1.3 心肺复苏猪模型制作

经右心室电极放电诱导室颤 10 min,然后开始 CPR。CPR 包括人工胸外按压 (深度 5 cm、频率 100 次/min) 和人工球囊辅助通气 (氧浓度 100%),按压与呼吸之比为 30:2。在 CPR 2.5 min,静脉予以肾上腺素 20 μg/kg,之后每间隔 3 min 重复一次。在 CPR 5 min,予以 150 J 的双向波电除颤 1 次。若血压恢复,平均动脉压 ≥ 60 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa) 维持 5 min 以上,考虑自主循环恢复 (ROSC)。若 ROSC 未恢复,立即再进行 2 min 的 CPR,然后电除颤 1 次。该流程最多重复 5 次,如果实验动物仍未达到 ROSC,则认为复苏失败,动物死亡。

1.4 复苏后观察

所有动物在复苏后进行机械通气并连续观察 4 h,记录每组动物的复苏情况。整个实验过程全程监测平均动脉压、心率、右房压、心电以及体温。每 30 min 用 PICCO (德国 PULSION) 监测复苏后全心射血分数 (GEF)、每搏输出量 (SV) 等心功能参数。复苏后 2、4、24 h 采血离心,ELISA 法检测 cTNI、NT-proBNP (试剂盒由上海美轩生物科技有限公司提供)。复苏 4 h 后去除动物机械通气及动静脉置管,用控温毯肛表继续监测体温 2 h。

1.5 统计学方法

应用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学处理,计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用单因素方差分析及 SNK-*q* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2015.02.014

作者单位: 315400 浙江省余姚,宁波大学医学院附属余姚市人民医院急诊科 宁波大学急诊医学研究所 (叶森、徐杰丰、王茉莉、陈国锋、汪正权、李子龙); 宁波大学医学院 (周文华)

2 结果

2.1 三组动物基础参数比较

3 组动物复苏前体质量、血气分析、体温、血流动力学参数 (包括心率、平均动脉压) 以及除颤次数和复苏时间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 三组动物基本资料 ($\bar{x} \pm s$)

指标	Control (n=7)	RIpostC (n=7)	RIpostC + Cooling (n=7)
体质量 (kg)	38 ± 2	37 ± 1	37 ± 2
PaO ₂ (mmHg)	94 ± 16	95 ± 17	90 ± 11
PaCO ₂ (mmHg)	40 ± 6	39 ± 5	41 ± 5
pH	7.48 ± 0.05	7.48 ± 0.06	7.49 ± 0.03
中心体温 (°C)	37.4 ± 0.3	37.4 ± 0.5	37.4 ± 0.3
心率 (次/min)	114 ± 11	109 ± 7	113 ± 10
平均动脉压 (mmHg)	112 ± 6	111 ± 8	110 ± 4
除颤次数 (次)	3 ± 2	3 ± 2	3 ± 2
复苏时间 (min)	6.7 ± 3.7	7.0 ± 3.7	6.7 ± 3.7

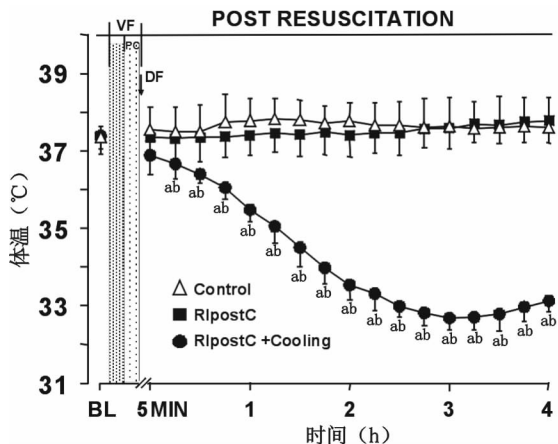
2.2 体温变化比较

Control 组和 RIpostC 组在复苏后体温保持在 (37.5 ± 0.5)°C。RIpostC + Cooling 组在复苏后 105 min 到达 (34.0 ± 0.4)°C, 之后维持在 32 ~ 34°C, 最低体温为 (32.7 ± 0.3)°C (见图 1), 自然复温 2 h 后体温上升至 (37.2 ± 0.2)°C。

2.3 心功能比较

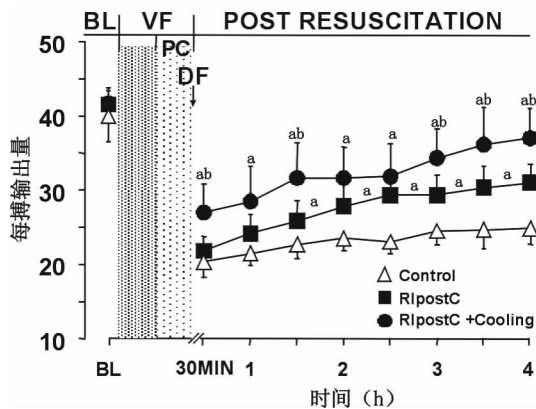
2.3.1 每搏输出量 (SV) 比较 与 Control 组相比, RIpostC 组和 RIpostC + Cooling 组在复苏后 SV 均有明显改善 ($P < 0.05$)。其中复苏 3 h 后, RIpostC + Cooling 组较 RIpostC 组更有明显好转 ($P < 0.05$)。见图 2。

2.3.2 全心射血分数 (GEF) 比较 与 Control 组相比, RIpostC 组和 RIpostC + Cooling 组在复苏后 GEF 均有明显改善 ($P < 0.05$)。其中复苏 3.5 h 后, RIpostC + Cooling 组较 RIpostC 组更有明显好转 ($P < 0.05$)。见图 3。



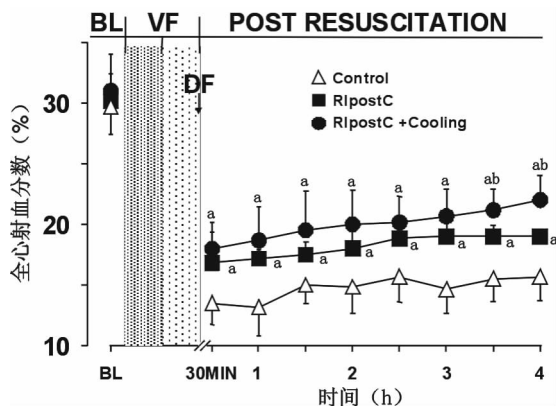
BL: 基础状态; VF: 心室颤动; PC: 胸外按压; DF: 除颤。与 Control 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 RIpostC 组比较, ^b $P < 0.05$

图 1 各组体温变化 (°C)



BL: 基础状态; VF: 心室颤动; PC: 胸外按压; DF: 除颤。与 Control 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 RIpostC 组比较, ^b $P < 0.05$

图 2 各组每搏输出量



BL: 基础状态; VF: 心室颤动; PC: 胸外按压; DF: 除颤。与 Control 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 RIpostC 组比较, ^b $P < 0.05$

图 3 各组全心射血分数

2.3.3 肌钙蛋白 I (cTNI) 比较 与 Control 组相比, RIpostC 组和 RIpostC + Cooling 组在复苏后 4 h 及 24 h cTNI 均有明显好转 ($P < 0.05$)。其中复苏后 24 h, RIpostC + Cooling 组较 RIpostC 组更低 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组肌钙蛋白 I (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	复苏前	复苏后 2 h	复苏后 4 h	复苏后 24 h
Control (n=7)	138 ± 21	159 ± 26	361 ± 53	523 ± 43
RIpostC (n=7)	140 ± 16	155 ± 21	293 ± 45 ^a	453 ± 30 ^a
RIpostC + Cooling (n=7)	140 ± 14	150 ± 8	279 ± 17 ^a	403 ± 35 ^{ab}

注: 与 Control 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 RIpostC 组比较, ^b $P < 0.05$

2.3.4 B 型钠尿肽前体 (NT-proBNP) 比较 与 Control 组相比, RIpostC 组和 RIpostC + Cooling 组在复苏后 2 h、4 h 及 24 h NT-proBNP 均有明显好转 ($P < 0.05$)。其中复苏后 24 h, RIpostC + Cooling 组较 RIpostC 组更低 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组 B 型钠尿肽前体 (pg/mL $\bar{x} \pm s$)

组别	复苏前	复苏后 2 h	复苏后 4 h	复苏后 24 h
Control (n=7)	67 ± 27	264 ± 87	357 ± 60	338 ± 62
RIpostC (n=7)	65 ± 20	175 ± 29 [*]	274 ± 35 ^a	250 ± 45 ^a
RIpostC + Cooling (n=7)	69 ± 29	168 ± 31 ^a	252 ± 19 ^a	201 ± 22 ^{ab}

注: 与 Control 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 RIpostC 组比较, ^b $P < 0.05$

3 讨论

通过本实验发现与 Control 组相比, RIpostC 组和 RIpostC + Cooling 组明显改善复苏后 SV、GEF、cTNI 与 NT-proBNP, 这说明远隔缺血后处理对心肺复苏后心功能有明显的保护作用。在复苏 3 h 后, 即亚低温治疗到达目标温度约 1 h 后, RIpostC + Cooling 组能获得比 RIpostC 组更好的 SV、GEF 数据, 这说明远隔缺血后处理联合亚低温能获得更佳的心脏保护作用, 这在复苏后 24 h 的 cTNI 和 NT-proBNP 也得到体现。

缺血预处理被认为是迄今发现的最强大的心肌内源性抗缺血-再灌注损伤机制, 已被广泛地应用在各种临床缺血事件的研究中。2000 年 Tang 等^[9]发现缺血预处理通过 ATP 敏感性钾通道的激活, 明显改善复苏后大鼠的心功能及存活。然而, 由于心脏骤停事件的不可预知性, 缺血预处理在 CPR 领域的应用受到了限制。2003 年, Zhao 等^[10]发现在缺血事件发生后给予缺血心肌短暂的缺血-再灌注处理同样能减轻心肌损伤, 提出缺血后适应的概念。2005 年, Kerendi 等^[11]发现通过对远隔器官如肾动脉进行缺血-再灌注处理, 也能明显减轻心肌缺血-再灌注损伤, 这种现象被称为远隔缺血后处理 (RIpostC)。由于 RIpostC 能在疾病发生后实施, 并能在一个容易评估并对缺血相对耐受的器官上进行, 使得其临床应用可行性大大增加。

近年来, 经肢体实施的 RIpostC 因其具有缺血耐受能力强、观察方便、实施简便易行等优点, 受到越来越多的关注。其介导的心脏保护作用, 已经在多种缺血-再灌注损伤动物模型^[5-7]中得到证实。目前发现的主要机理包括: (1) 减轻活性氧的损伤, 加强心肌抗氧化作用^[12]; (2) 激活心肌 δ 受体^[13]; (3) 通过上调 Bcl-2 的表达和抑制促凋亡基因 caspase-3 的活化, 减少心肌细胞的坏死和凋亡^[14]; (4) 激活磷脂酰肌醇 3 激酶/丝苏氨酸蛋白激酶信号转导通路^[15]; (5) 改善纤溶/抗纤溶系统功能, 抑制血栓形成^[16]; (6) 增加血红素加氧酶的表达^[17]。在本次研究中, 笔者首次发现经肢体实施的 RIpostC 对心肺复苏后心功能同样具有保护作用, 同时联合亚低温可以获得更好的效果, 这些都为心肺复苏后的综合治疗提供了重要的补充。

参考文献

[1] 陈娣, 杨光田. 心脏骤停复苏抢救的新进展 [J]. 内科急危重症杂志, 2009, 15 (3): 156-158.
 [2] 余涛, 唐万春. 心肺复苏 50 年: 我们学到了什么? [J]. 中华急诊医学杂志, 2013, 22 (1): 6-8.

[3] Xue JK, Leng QY, Gao YZ, et al. Factors influencing outcomes after cardiopulmonary resuscitation in emergency department [J]. World J Emerg Med, 2013, 4 (3): 183-189.
 [4] Laver S, Farrow C, Turner D, et al. Mode of death after admission to an intensive care unit following cardiac arrest [J]. Intensive Care Med, 2004, 30 (11): 2126-2128.
 [5] Andreaka G, Vertesaljai M, Szantho G, et al. Remote ischaemic postconditioning protects the heart during acute myocardial infarction in pigs [J]. Heart, 2007, 93 (6): 749-752.
 [6] 曹广运, 谢瑞芹, 崔炜, 等. 骨骼肌和心肌缺血后处理对兔缺血-再灌注心肌的保护作用 [J]. 中国应用生理学杂志, 2012, 28 (5): 476-480.
 [7] 许亚超, 薛富善, 熊军, 等. 芬太尼后处理和肢体远隔缺血后处理对大鼠心肌缺血-再灌注损伤的影响 [J]. 中华麻醉学杂志, 2010, 30 (8): 946-949.
 [8] Wang XP, Lin QM, Zhao S, et al. Therapeutic benefits of mild hypothermia in patients successfully resuscitated from cardiac arrest: A meta-analysis [J]. World J Emerg Med, 2013, 4 (4): 260-265.
 [9] Tang W, Weil MH, Sun S, et al. K (ATP) channel activation reduces the severity of postresuscitation myocardial dysfunction [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000, 279 (4): 1609-1615.
 [10] Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion; comparison with ischemic preconditioning [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003, 285 (2): 579-588.
 [11] Kerendi F, Kin H, Halkos ME, et al. Remote postconditioning. Brief renal ischemia and reperfusion applied before coronary artery reperfusion reduces myocardial infarct size via endogenous activation of adenosine receptors [J]. Basic Res Cardiol, 2005, 100 (5): 404-412.
 [12] Li CM, Zhang XH, Ma XJ, et al. Limb ischemic postconditioning protects myocardium from ischemia-reperfusion injury [J]. Scand Cardiovasc J, 2006, 40 (5): 312-317.
 [13] 许亚超, 薛富善, 袁玉静, 等. δ 受体在芬太尼后处理和肢体远隔缺血后处理对大鼠心肌缺血-再灌注损伤保护效应中作用的实验研究 [J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2012, 33 (3): 151-157.
 [14] 任慧敏, 谢瑞芹, 崔炜, 等. 下肢骨骼肌缺血后处理对兔缺血-再灌注心肌坏死和凋亡的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2012, 28 (4): 323-327.
 [15] 许亚超, 薛富善, 袁玉静, 等. 磷脂酰肌醇 3 激酶/丝苏氨酸蛋白激酶信号转导通路在芬太尼后处理和远隔缺血后处理心肌保护中的作用 [J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2012, 33 (6): 363-368.
 [16] 李作武, 郭继芳, 游陆. 肢体缺血后处理对兔心肌缺血-再灌注损伤后纤溶因子的影响 [J]. 牡丹江医学院学报, 2010, 31 (4): 26-29.
 [17] 江莹, 夏中元, 高瑾, 等. 缺血后处理对大鼠缺血-再灌注损伤血红素加氧酶-1 表达的影响 [J]. 中华急诊医学杂志, 2012, 21 (10): 1122-1126.

(收稿日期: 2014-08-26)

(本文编辑: 何小军)