

低温盐水灌注对猪心肺复苏后肝肾核转录因子-κB 的影响

韩奕 李春盛

【关键词】 低温； 心搏骤停； 心肺复苏术； 核转录因子-κB

心肺复苏(CPR)后引起的缺血/再灌注(I/R)是一个复杂的病理生理过程,其直接作用可由缺血、缺氧激活一系列炎症反应而导致全身炎症反应综合征(SIRS)和脓毒症的发生。炎症反应涉及各种细胞信号系统的激活、效应分子基因表达的改变及其蛋白分子合成、释放的增加,在这一复杂的炎症反应网络中,核转录因子具有启动基因转录的功能,涉及各种信号机制的激活以及相应细胞效应的产生^[1],其中核转录因子-κB(NF-κB)是最重要的蛋白质之一。

一些研究认为亚低温能抑制 NF-κB 的核转录,从而可诱导抗炎细胞因子的表达,阻止中性粒细胞聚集,从而达到对组织器官的保护作用^[2];另有一些研究则指出低温时细胞核内 NF-κB 聚集较常温时显著延长,由此介导的炎症反应持续时间较长,可加重机体 I/R 损伤的程度^[3]。基于此,本研究中对猪心搏骤停 CPR 后立即给予 4 °C 生理盐水快速持续灌注,诱导及维持亚低温状态,观察肝、肾组织 NF-κB 的表达情况。

1 材料与方 法

1.1 动物准备:12 只体重为(28±2) kg 的实验用北京长白猪(购于北京绿源伟业养殖场),雌雄不限。耳缘静脉注射丙泊酚诱导麻醉,静脉推注戊巴比妥维持麻醉。用 HP M1165 多功能监测仪监测生命体征,气管插管后接呼吸机(西门子公司,德国)机械通气,频率 12 次/min,潮气量 15 ml/kg,使呼气末二氧化碳分压保持在 35~40 mm Hg(1 mm Hg = 0.133 kPa)。经左颈内静脉置入 6F 双

极临时起搏电极直到右心室;经左股静脉送入 Swan-Ganz 漂浮导管(Edwards 生命科学贸易公司,美国),连接连续心排量监测仪(Edwards 生命科学贸易公司,美国),连续监测中心体温。

1.2 模型制备及分组:将心室内电极导线外接医用程控刺激仪 GY-600A(开封华南仪器有限公司),连续电刺激直到出现心室纤颤,并维持 4 min^[4],给予 CPR 2 min,频率 100 次/min,同时呼吸机辅助通气,吸入氧浓度(FiO₂)1.00,按压通气比 30:2。CPR 2 min 后,若未出现自主循环恢复(ROSC),用双相除颤仪进行电除颤 1 次,能量 150 J;若除颤后仍未出现 ROSC,继续按压 2 min,并于 2 min 末除颤 1 次,直至 ROSC。成功复苏的标志为:动脉收缩压(SAP)≥80 mm Hg,持续 5 min^[4]。若 15 min 后仍未出现 ROSC 判定为死亡。将 ROSC 的动物按随机数字表法分为两组:①低温组;ROSC 后给予 4 °C 生理盐水,以 1.33 ml·kg⁻¹·min⁻¹的速度持续灌注 22 min 后,再以 10 ml·kg⁻¹·h⁻¹的速度维持灌注 4 h^[5];②常温组;ROSC 后给予常温生理盐水,以低温组相同速度进行灌注。两组动物均监测 4 h。本实验过程中动物的处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标:实时测量中心体温,于 ROSC 后 24 h 处死动物取肝、肾组织,于-70 °C 冰箱保存,用蛋白质免疫印迹

法(Western blotting)检测 NF-κB p105 蛋白表达。

1.4 统计学处理:计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 11.5 软件进行 t 检验,P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 动物存活情况:12 只猪有 2 只因复苏失败而死亡,ROSC 10 只,其中低温组 5 只,常温组 5 只。

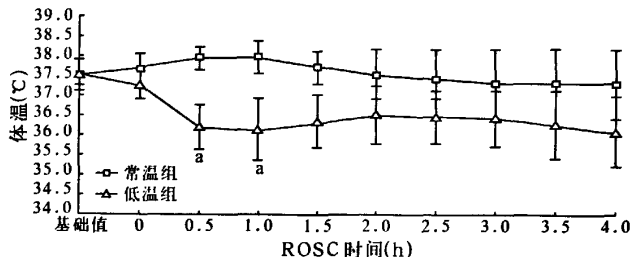
2.2 ROSC 后中心体温变化(图 1):与常温组相比,低温组在 ROSC 后体温呈下降趋势,始终低于基础水平,且在 ROSC 0.5 h、1 h 时两组体温差异最为显著(均 P<0.01)。与基础状态相比,低温组体温最多下降达 1.5 °C。

2.3 ROSC 后肝、肾组织 NF-κB 蛋白表达(表 1;图 2):ROSC 后低温组肝脏 NF-κB 蛋白表达较常温组有所降低,但差异无统计学意义(P>0.05);而低温组肾脏 NF-κB 蛋白表达较常温组明显降低(P<0.05)。

表 1 常温和低温复苏两组动物 ROSC 后 24 h 肝、肾组织 NF-κB 蛋白表达的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	肝 NF-κB 表达	肾 NF-κB 表达
常温组	5	0.587±0.017	0.646±0.042
低温组	5	0.523±0.003	0.513±0.034*

注:ROSC:自主循环恢复,NF-κB:核转录因子-κB;与常温组比较,*P<0.05



注:ROSC:自主循环恢复;与常温组比较,*P<0.01

图 1 两组动物 ROSC 前后中心体温的变化比较

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.

2010.02.021

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30972806);首都医学发展科研基金(2005-1006)

作者单位:100020 首都医科大学附属北京朝阳医院急诊科

通信作者:李春盛, Email: lcsccyy@sohu.com

3 讨论

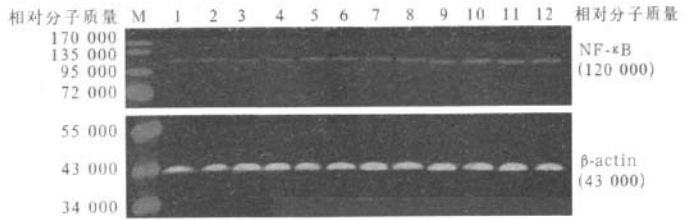
目前众多研究证明亚低温对机体炎症反应具有一定的抑制作用,可能由于在心搏骤停缺血过程中亚低温能减轻内皮细胞损伤,而在再灌注过程中可能减轻微循环衰竭,从而增加组织供氧,减轻器官损伤[6-9]。其中低温液体灌注是最有效的降温方式[10-11]。

心搏骤停复苏后,由于机体 I/R 损伤引发炎症因子浸润,导致全身炎症反应、脓毒症的发生[12]。目前有研究认为 NF-κB 是机体促炎症基因表达的枢纽之一,可引起细胞因子、黏附分子表达,从而诱导炎症反应的发生[1]。而在上述过程中产生的促炎介质如肿瘤坏死因子-α (TNF-α)、白细胞介素-6 (IL-6) 等又是 NF-κB 的强诱导剂,它们会进一步激活 NF-κB,形成恶性循环,加重缺血损伤的程度。此外, TNF-α 可诱导急性期蛋白的合成,增加血管内皮中性粒细胞的黏附[13],而 IL-6 被认为是激活细胞和体液免疫的主要因子[14],这些促炎介质表达引发机体炎症反应,加重 I/R 损伤。

因此,在本研究中,通过猪心搏骤停 CPR 模型,ROSC 后立即给予 4℃ 生理盐水快速持续灌注,诱导及维持亚低温状态。结果显示,4℃ 生理盐水快速持续灌注可使中心体温最多下降达 1.5℃,并维持机体亚低温状态。ROSC 后 24 h 两组肝脏 NF-κB 蛋白表达无明显变化,而低温组肾脏 NF-κB 蛋白表达较常温组明显降低。可以证明低温对复苏后肾脏炎症反应有抑制作用,而本课题组前期研究也表明 4℃ 生理盐水诱导的低温状态对复苏后肾脏生化功能、酶学以及超微结构具有保护作用。对肝脏而言,低温组 NF-κB 蛋白表达与常温组相比未见明显改变,可能与文献所述 NF-κB 的肝保护作用[15]有一定关系;也可能由于低温对肝脏可能并非通过 NF-κB 影响 TNF-α 和 IL-6,而是通过其他转录调节因子实现。有研究表明转录因子 AP-1 在其间可能有一定的作用[16],这有待进一步的研究来证实。结合本课题组前期所做的一些研究,可以认为 4℃ 生理盐水诱导的低温对复苏后肝、肾的炎症反应有一定抑制作用。

参考文献

[1] Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. J Immunol,



ROSC:自主循环恢复,NF-κB:核转录因子-κB,M:Marker,1~3:低温组肾组织,4~6:常温组肾组织,7~9:低温组肝组织,10~12:常温组肝组织,β-actin;β-肌动蛋白

图 2 蛋白质免疫印迹法检测常温和低温复苏两组动物 ROSC 后 24 h 肝、肾组织 NF-κB 蛋白表达

2006,177:7485-7496. [2] Scumpia PO, Sarcia PJ, Kelly KM, et al. Hypothermia induces anti-inflammatory cytokines and inhibits nitric oxide and myeloperoxidase-mediated damage in the hearts of endotoxemic rats. Chest,2004,125:1483-1491. [3] Fairchild KD, Singh IS, Patel S, et al. Hypothermia prolongs activation of NF-κB and augments generation of inflammatory cytokines. Am J Physiol Cell Physiol,2004,287:C422-431. [4] Stadlbauer KH, Rheinberger K, Wenzel V, et al. The effects of nifedipine on ventricular fibrillation mean frequency in a porcine model of prolonged cardio pulmonary resuscitation. Anesth Analg,2003,97:226-230. [5] Nordmark J, Rubertsson S. Induction of mild hypothermia with infusion of cold (4 degrees C) fluid during ongoing experimental CPR. Resuscitation, 2005,66:357-365. [6] Choi S, Noh J, Hirose R, et al. Mild hypothermia provides significant protection against ischemia/reperfusion injury in livers of obese and lean rats. Ann Surg,2005,241:470-476. [7] Wang CY, Ni Y, Huang ZH, et al. Mild hypothermia protects liver against ischemia and reperfusion injury. World J Gastroenterol,2005,11:3005-3007. [8] Behrends M, Hirose R, Serkova NJ, et al. Mild hypothermia reduces the inflammatory response and hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. Liver Int,2006;26:734-741. [9] 解启莲,胡皓夫,安会波.亚低温对全身炎症反应小鼠细胞因子与黏附分子表达的影响及意义.中国危重病急救医学,2000,12:617-619. [10] Kim F, Olsufka M, Carlborn D, et al. Pilot study of rapid infusion of 2 L of 4 degrees C normal saline for induction

of mild hypothermia in hospitalized, comatose survivors of out-of-hospital cardiac arrest. Circulation, 2005, 112: 715-719. [11] 李承晏,李涛,毛李征.低温生理盐水静脉灌注对局灶性脑梗死兔模型脑灌注压的影响.中国危重病急救医学,2004, 16:679-680. [12] Neumar RW, Nolan JP, Adrie C, et al. Post-cardiac arrest syndrome: epidemiology, pathophysiology, treatment, and prognostication, a consensus statement from the international liaison committee on resuscitation. Circulation, 2008, 118:2452-2483. [13] Bradley JR, Wilks D, Rubenstein D. The vascular endothelium in septic shock. J Infect,1994,28:1-10. [14] Giannoudis PV, Smith RM, Banks RE, et al. Stimulation of inflammatory markers after blunt trauma. Br J Surg, 1998,85:986-990. [15] Kuboki S, Okaya T, Schuster R, et al. Hepatocyte NF-kappa B activation is hepatoprotective during ischemia-reperfusion injury and is augmented by ischemic hypothermia. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2007, 292: G201-207. [16] Kato A, Singh S, McLeish KR, et al. Mechanisms of hypothermic protection against ischemic liver injury in mice. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,2002,282:608-616.

(收稿日期:2009-11-12)

(本文编辑:李银平)

• 广告目次 •

- ①广东天普药业:天普洛安…… (封二)
②珠海健帆:血液灌流器…… (插页)
③天津生化制药:琥珀氢可…… (插页)
④天津红日药业:血必净注射液…… (插页)
⑤第一制药:克倍宁…… (封三)

作者: 韩奕, 李春盛
作者单位: 首都医科大学附属北京朝阳医院急诊科, 100020
刊名: 中国危重病急救医学 ISTIC PKU
英文刊名: CHINESE CRITICAL CARE MEDICINE
年, 卷(期): 2010, 22(2)

参考文献(16条)

1. Bradley JR;Wilks D;Rubenstein D The vascular endothelium in septic shock 1994
2. Neumar RW;Nolan JP;Adrie C Post-cardiac arrest syndrome:epidemiology, pathophysiology, treatment, and prognostication, a consensus statement from the international liaison committee on resuscitation 2008
3. 李承晏;李涛;毛李征 低温生理盐水静脉灌注对局灶性脑缺血兔模型脑灌注压的影响[期刊论文]-中国危重病急救医学 2004(11)
4. Kim F;Olsufka M;Carlbom D Pilot study of rapid infusion of 2 L of 4 degrees C normal saline for induction of mild hypothermia in hospitalized, comatose survivors of out-of-hospital cardiac arrest 2005
5. Nordmark J;Rubertsson S Induction of mild hypothermia with infusion of cold (4 degrees C) fluid during ongoing experimental CPR 2005
6. Stadlbauer KH;Rheinberger K;Wenzel V The effects of nifedipine on ventricular fibrillation mean frequency in a porcine model of prolonged cardio pulmonary resuscitation 2003
7. Fairchild KD;Singh IS;Patel S Hypothermia prolongs activation of NF- κ B and augments generation of inflammatory cytokines 2004
8. 解启莲;胡皓夫;安会波 亚低温对全身炎症反应小鼠细胞因子与黏附分子表达的影响及意义[期刊论文]-中国危重病急救医学 2000(12)
9. Behrends M;Hirose R;Serkova NJ Mild hypothermia reduces the inflammatory response and hepatic ischemia/reperfusion injury in rats 2006
10. Wang CY;Ni Y;Huang ZH Mild hypothermia protects liver against ischemia and reperfusion injury[期刊论文]-World Journal of Gastroenterology 2005(11)
11. Choi S;Noh J;Hirose R Mild hypothermia provides significant protection against ischemia/reperfusion injury in livers of obese and lean rats 2005
12. Scumpia PO;Sercia PJ;Kelly KM Hypothermia induces anti-inflammatory cytokines and inhibits nitric oxide and myeloperoxidase-mediated damage in the hearts of endotoxemic rats 2004
13. Sen R;Baltimore D Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences 2006
14. Kato A;Singh S;McLeish KR Mechanisms of hypothermic protection against ischemic liver injury in mice 2002
15. Kuboki S;Okaya T;Schuster R Hepatocyte NF-kappa B activation is hepatoprotective during ischemiareperfusion injury and is augmented by ischemic hypothermia 2007
16. Giannoudis PV;Smith RM;Banks RE Stimulation of inflammatory markers after blunt trauma 1998

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgwzbjyx201002017.aspx