

• 论著 •

提高平均动脉压对猪心肺复苏后脑功能及超微结构的影响

王胜奇 李春盛

【摘要】 目的 探讨使用去甲肾上腺素提高平均动脉压(MAP)对心肺复苏(CPR)猪脑功能及超微结构的影响。**方法** 10 头猪致心室纤颤(室颤)4 min 后行 CPR 及电除颤。将自主循环恢复(ROSC)的猪按随机数字表法分为两组:高灌注组 5 头以去甲肾上腺素升压,使 MAP 升至麻醉前基础状态的 130%;正常灌注组 5 头以去甲肾上腺素维持 MAP 至麻醉前状态。另取 2 头猪作为假手术组,既不给予室颤、也不给予 CPR。持续监测血流动力学指标;ROSC 后 24 h 进行大体神经功能分类(OPC),然后处死动物取缺血敏感部位脑组织(大脑皮质、海马 CA1 区、小脑皮质、纹状体)进行组织缺失评分(HDS)及细胞凋亡计数(原位末端标记法(TUNEL));同时在电镜下观察上述部位脑细胞的超微结构。**结果** 高灌注组 5 头猪均有较好的神经功能评分(OPC 1~2 分);正常灌注组 5 头中只有 3 头获得较好神经功能评分(OPC 1~3 分)。假手术组各部位脑组织基本正常;高灌注组大脑皮质及海马 CA1 区 HDS(分)明显好于正常灌注组(大脑:1.6±0.5 比 2.2±0.8,海马:1.8±0.8 比 2.8±0.5,均 $P<0.05$);小脑皮质及海马 CA1 区凋亡细胞(个)较正常灌注组明显减少(小脑:21.2±3.2 比 38.6±3.8,海马:22.7±7.6 比 35.0±6.8,均 $P<0.05$)。电镜下观察,坏死神经元主要位于大脑皮质、纹状体及海马 CA1 区,而凋亡主要发生于小脑颗粒细胞及海马 CA1 区神经胶质细胞。高灌注组神经元损伤明显减轻。**结论** 使用去甲肾上腺素提高灌注压可以有效减轻脑损伤,并抑制脑组织细胞凋亡。

【关键词】 心搏骤停; 脑灌注压; 心肺复苏; 凋亡; 组织病理

The effects on brain function and ultrastructure changes by elevating mean arterial pressure after cardiopulmonary resuscitation in pigs WANG Sheng-qi *, LI Chun-sheng. * Emergency Department, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China
Corresponding author: LI Chun-sheng, Email: lscyy@sohu.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects on brain function and ultrastructure changes by elevating mean arterial pressure (MAP) with norepinephrine after cardiopulmonary resuscitation (CPR) in pigs. **Methods** After 4 minutes of untreated ventricular fibrillation, CPR was begun in 10 piglets, followed by defibrillation. Following the restoration of spontaneous circulation (ROSC), the animals were randomly assigned to two treatment groups: the hypertension group (HT, $n=5$), in which animals were given an infusion of norepinephrine to maintain the MAP to 130% above that before ventricular fibrillation, and the normal perfusion group (NP, $n=5$) who received an infusion of norepinephrine to maintain the MAP to that obtained right after ROSC. Sham-operation group of 2 animals were treated identically, with the exception that neither cardiac arrest was induced nor CPR was performed, to serve as control group. Variables of hemodynamics were measured at baseline and also 4 hours after ROSC. The overall performance categories (OPC) was evaluated 24 hours after ROSC. Then, animals were sacrificed and the brains were removed for histopathological examination of cerebral cortex, CA1 region of hippocampus, cerebellar cortex, and corpus striatum for the assay of histological damage score (HDS), and apoptosis of cerebral neurons were evaluated [terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL)] 24 hours after ROSC. The ultrastructure of neurons was characterized, using transmission electron microscopy. **Results** Five animals in the HT group showed good OPC (OPC 1-2), while 3 animals in the NP group showed good OPC (OPC 1-3). Brain tissue from different regions was normal in sham-operation group. The HDS in the cerebral cortex and CA1 region of hippocampus in the HT group was lower than that in the NP group (cerebral cortex: 1.6±0.5 vs. 2.2±0.8, hippocampus: 1.8±0.8 vs. 2.8±0.5, both $P<0.05$). The TUNEL-positive cells in the cerebella and the CA1 region of hippocampus were significantly reduced in the HT group compared with the NP group (cerebella: 21.2±3.2 vs. 38.6±3.8, hippocampus: 22.7±7.6 vs. 35.0±6.8, both $P<0.05$). With transmission electron microscopy, necrotic neurons were found in the cerebral cortex, striatum and the CA1 region of hippocampus, while in cerebella only granular cells and glial cells in the CA1 region of hippocampus showed apoptosis. The damages to neurons were significantly reduced in HT group. **Conclusion** Hypertension induced by norepinephrine is a safe and effective method to reduce brain damages and prevent apoptosis of neurons.

【Key words】 Cardiac arrest; Cerebral perfusion pressure; Cardiopulmonary resuscitation; Apoptosis; Tissue pathology

心肺复苏(CPR)的最终目标是使患者不留神经缺失出院并有一个较好的长期预后。脑缺血、缺氧及再灌注损伤是造成不可逆脑损害的主要原因。动物实验表明,心脏停搏 15 s 后脑内可利用氧耗尽,至 15 min 脑内三磷酸腺苷(ATP)则耗竭,因此心脏停搏 1 min 则可致延髓麻痹,4 min 脑损害则不可逆^[1];而胸外按压只能恢复 40% 的脑血流^[2],复苏后脑组织在经历一个短暂的充血过程后进入低灌注状态,大多数神经元都在再灌注阶段死亡^[3]。这种低灌注状态可以持续到心搏骤停后 2~12 h^[4]。脑血流尤其是微循环血流的恢复与平均动脉压(MAP)密切相关^[2],维持较高的灌注压对复苏后脑组织 ATP 有着较大的益处^[5]。在心搏骤停复苏后的急性期,大脑的自动调节功能受损或缺失,因此在复苏后,应该保持 MAP 在一个高于正常的水平才能保证大脑的灌注。既往的临床和实验研究已经证实复苏后保持较高的 MAP 与神经系统预后有很大关系^[6-7],但其对脑保护的作用机制尚未完全明了。细胞凋亡被认为在脑缺血、缺氧刺激中起重要作用。本研究中拟采用静脉输注去甲肾上腺素来提高心搏骤停猪的 MAP 以改善神经预后并减少凋亡,进一步通过电镜观察脑组织超微结构。

1 材料和方法

1.1 动物准备:本研究经首都医科大学动物研究和伦理委员会批准。在处理动物上遵循了美国国家科研协会和医学研究院的指南。12 头家猪,雌雄不限,体重 25~29 kg,平均(26.9±1.5) kg,由首都医科大学提供,动物许可证号 SYXK(京)2004-2007。以氯胺酮肌肉注射及丙泊酚耳缘静脉注射诱导麻醉,戊巴比妥 8 mg·kg⁻¹·h⁻¹维持麻醉动物。气管插管接呼吸机辅助通气,吸入氧浓度(FiO₂)0.21,呼气末正压(PEEP)5 cm H₂O(1 cm H₂O=0.098 kPa),潮气量 15 ml/kg,调整呼吸频率使呼气末二氧化碳分压(P_{ET}CO₂)维持于 35~45 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)。以生理盐水 10 ml·kg⁻¹·h⁻¹持续输注补充液体丢失。从右侧股静脉插入 Swan-Ganz 导管至肺动脉,通过压力转换器测量肺动脉压(PAP)、肺毛细血管楔压(PCWP)及中心静脉压(CVP);通过持续心排量监护仪测量心排量(CO)、混合静

脉血氧饱和度(SvO₂)和核心体温。右侧颈外静脉插管用输液、给药及采血,并置入电极导线诱导心室纤颤(室颤);从左侧股动脉插入血管造影管作为采血通道及通过压力转换器监测 MAP;侧脑室穿孔监测颅内压(ICP)。

1.2 实验过程:在 30 min 无操作期后,记录基础状态值。用模式 S1S2(300/200 ms)、电压 40 V、比例 8:1、步长-10 ms 诱导室颤,以心电图(ECG)变化及动脉压迅速下降确认,室颤开始后断开呼吸机。无脉期持续 4 min 后进行 CPR,以保持胸外按压频率(100±5)次/min,按压深度(50±1) mm 并能够完全放松;同时给予动物机械通气,FiO₂ 1.00,按压通气比 30:2;胸外按压 2 min 后给予 150 J 双向波除颤。如果自主心脏节律恢复伴 MAP>60 mm Hg 并持续≥10 min,则认为复苏成功;如果室颤未成功逆转,则继续给予 1 min 胸外按压及不超过 2 次的电除颤;此时仍未恢复自主循环(ROSC)者剔除实验。复苏成功的猪在 ROSC 后将 FiO₂ 调回 0.21,并按随机数字表法分为两组:高灌注组(HT 组)ROSC 后给予去甲肾上腺素持续静脉泵入,使 MAP 升至基础状态的 130%,直至复苏后 4 h;正常灌注组(NP 组)ROSC 后给予去甲肾上腺素持续静脉泵入,使 MAP 维持于基础状态,直至复苏后 4 h。另取 2 只动物不诱导室颤、也不给予 CPR 作为假手术组。所有动物严密监护 4 h。

1.3 监测指标及方法

1.3.1 血流动力学、血气及氧代谢指标:监测心率(HR)、MAP、CVP、PAP、PCWP、CO、SvO₂、ICP,计算脑灌注压(CPP)。于基础状态及 ROSC 后 0、2、4 h 从主动脉及颈外静脉取血进行血气分析,同时取混合静脉血测血红蛋白(Hb),计算外周血管阻力(SVR)、肺血管阻力(PVR)、血氧含量。测定颈动脉血氧含量(CaO₂)和颈外静脉血氧含量(CvO₂),计算动-静脉氧含量差(CavO₂)、氧耗(VO₂)、氧摄取率(O₂ER)。

1.3.2 神经功能评分:在 ROSC 后 24 h,由 3 位观察者采用大体神经表现分类(OPC)以及神经功能缺损程度评分(NDS)独立对动物的神经功能进行评价。OPC 分为正常、轻度异常、重度异常但意识清醒、昏迷、死亡 5 个层次,依次记为 1~5 分^[8]。NDS 包括意识水平、呼吸模式、颅神经功能、感觉和运动功能以及行为 5 个方面,NDS≤10%为正常,NDS 100%则表示脑死亡^[9]。

1.3.3 神经元组织学评估及超微结构观察:在

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.11.009

基金项目:国家自然科学基金项目(0972863C160203)

作者单位:100053 北京,首都医科大学宣武医院急诊科(王胜奇);首都医科大学附属北京朝阳医院急诊科(李春盛)

通信作者:李春盛,Email:lcscyy@sohu.com

ROSC 24 h 后处死动物,开颅取大脑顶叶皮质、海马 CA1 区前部、小脑皮质、壳核(纹状体)脑组织制备组织切片,将标本进行苏木素-伊红(HE)染色,对各部位缺血损伤程度进行组织缺失评分(HDS)^[9];制备脑组织电镜标本,醋酸双氧铀染色,透射电镜下观察神经元超微结构。

1.3.4 细胞凋亡检测:观察各部位脑组织切片,原位末端刻度标记法(TUNEL)染色深染的细胞为阳性细胞(即凋亡细胞),在 6 个不重叠的高倍镜视野($\times 400$)内计数 TUNEL 阳性细胞,计算出平均每 100 个细胞内的 TUNEL 阳性细胞。

1.4 统计学处理:采用 SPSS 16.0 软件进行统计学处理,数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)或中位数及四分位间距表示,采用独立 t 检验、配对 t 检验、单因素方差分析及 Turkey 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物一般情况:在观察期间动物均存活。HT 组及 NP 组动物在基础状态时体重及血流动力学、血气、氧代谢指标差异均无统计学意义(表 1~2;均 $P>0.05$),有可比性。

2.2 血流动力学指标(表 1):与基础状态水平比较,两组 ROSC 后即刻 HR 即显著增加,HT 组 HR 明显高于 NP 组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且持续时间更长。NP 组 MAP、CO、CPP 维持于基础状态水平,HT 组 MAP、CO、CPP 则明显高于 NP 组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。ROSC 0.5 h 后,NP 组 SVR 明显高于基础状态水平,而 HT 组至 ROSC 4 h 才明显高于基础状态水平($P<0.05$ 或 $P<0.01$);ROSC 1 h、2 h 时 NP 组 SVR 均明显高于 HT 组(均 $P<0.05$)。ROSC 0.5 h 后两组 PVR 均显著增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

2.3 血气及氧代谢指标(表 2):ROSC 后 NP 组动脉血二氧化碳分压(PaCO_2)显著降低($P<0.05$),HT 组无明显变化,且两组间无明显差异。ROSC 2 h NP 组动脉血氧分压(PaO_2)显著下降,HT 组显著升高,且明显高于 NP 组($P<0.05$)。两组 ROSC 后动脉血氧饱和度(SaO_2)、 CaO_2 均无明显变化。ROSC 2 h NP 组 SvO_2 下降幅度大于 HT 组;两组 CavO_2 均明显升高(均 $P<0.01$)。ROSC 2 h 两组 VO_2 、 ERO_2 均明显升高,HT 组 VO_2 较 NP 组明显升高, ERO_2 则明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表 1 两组猪心肺复苏后血流动力学的变化比较($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	动物数	HR(次/min)	MAP(mm Hg)	CO(L/min)	CPP(mm Hg)	SVR(kPa $\cdot$ s $^{-1}\cdot$ L $^{-1}$)	PVR(kPa $\cdot$ s $^{-1}\cdot$ L $^{-1}$)
NP 组	基础值	5	122 $\pm$ 11	106 $\pm$ 5	4.0 $\pm$ 0.2	86 $\pm$ 7	193.7 $\pm$ 16.5	30.6 $\pm$ 7.0
	ROSC 0 h	5	162 $\pm$ 11 ^a	83 $\pm$ 14 ^a	3.8 $\pm$ 1.0	60 $\pm$ 8	148.0 $\pm$ 22.3	33.8 $\pm$ 8.8
	ROSC 0.5 h	5	140 $\pm$ 15 ^a	112 $\pm$ 15	3.5 $\pm$ 0.5	92 $\pm$ 14	209.9 $\pm$ 15.7 ^a	39.2 $\pm$ 5.7 ^a
	ROSC 1 h	5	145 $\pm$ 13 ^a	108 $\pm$ 10	3.3 $\pm$ 0.3	85 $\pm$ 9	250.9 $\pm$ 31.5 ^b	37.8 $\pm$ 10.8 ^a
	ROSC 2 h	5	134 $\pm$ 7	106 $\pm$ 3	3.4 $\pm$ 0.2	88 $\pm$ 2	227.3 $\pm$ 13.2 ^b	41.1 $\pm$ 2.3 ^b
	ROSC 4 h	5	125 $\pm$ 8	113 $\pm$ 5	3.6 $\pm$ 0.2	96 $\pm$ 6	234.3 $\pm$ 25.4 ^a	33.6 $\pm$ 7.7
HT 组	基础值	5	122 $\pm$ 16	101 $\pm$ 7	3.8 $\pm$ 0.3	81 $\pm$ 10	198.7 $\pm$ 14.3	37.4 $\pm$ 7.9
	ROSC 0 h	5	172 $\pm$ 13 ^a	90 $\pm$ 10	4.0 $\pm$ 0.7	67 $\pm$ 9	159.7 $\pm$ 13.8	36.1 $\pm$ 18.9
	ROSC 0.5 h	5	167 $\pm$ 8 ^{bd}	132 $\pm$ 4 ^{bc}	4.6 $\pm$ 0.8 ^{ac}	102 $\pm$ 9 ^a	200.3 $\pm$ 24.5	31.1 $\pm$ 7.0 ^a
	ROSC 1 h	5	170 $\pm$ 7 ^{bc}	131 $\pm$ 9 ^{bd}	4.9 $\pm$ 0.1 ^{bd}	105 $\pm$ 13 ^{ac}	201.9 $\pm$ 14.3 ^c	31.9 $\pm$ 7.5 ^a
	ROSC 2 h	5	163 $\pm$ 13 ^{bd}	141 $\pm$ 9 ^{bd}	5.3 $\pm$ 0.3 ^{bd}	118 $\pm$ 12 ^{bd}	200.1 $\pm$ 7.7 ^c	31.2 $\pm$ 8.0 ^a
	ROSC 4 h	5	166 $\pm$ 9 ^{bd}	135 $\pm$ 4 ^{bd}	4.6 $\pm$ 0.3 ^{bd}	114 $\pm$ 8 ^{bd}	220.9 $\pm$ 9.6 ^a	35.2 $\pm$ 5.0

注:NP 组:正常灌注组,HT 组:高灌注组,ROSC:自主循环恢复,HR:心率,MAP:平均动脉压,CO:心排量,CPP:脑灌注压,SVR:外周血管阻力,PVR:肺血管阻力;与本组基础值比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与 NP 组同期比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$;1 mm Hg=0.133 kPa

表 2 两组猪心肺复苏后血气及氧代谢指标的变化比较($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	动物数	PaCO_2 (mm Hg)	PaO_2 (mm Hg)	SaO_2	SvO_2	CaO_2 (ml/L)	CavO_2 (ml/L)	VO_2 (ml/min)	ERO_2 (%)
NP 组	基础值	5	42 $\pm$ 4	95 $\pm$ 4	0.98 $\pm$ 0.01	0.71 $\pm$ 0.04	150 $\pm$ 7	43 $\pm$ 7	171 $\pm$ 31	29 $\pm$ 4
	ROSC 2 h	5	35 $\pm$ 6 ^a	89 $\pm$ 5 ^a	0.97 $\pm$ 0.02	0.55 $\pm$ 0.04 ^a	148 $\pm$ 6	65 $\pm$ 3 ^b	220 $\pm$ 18 ^a	44 $\pm$ 3 ^b
	ROSC 4 h	5	37 $\pm$ 4 ^a	96 $\pm$ 4	0.97 $\pm$ 0.02	0.69 $\pm$ 0.03	149 $\pm$ 5	38 $\pm$ 12	158 $\pm$ 17	29 $\pm$ 4
HT 组	基础值	5	38 $\pm$ 4	95 $\pm$ 8	0.97 $\pm$ 0.01	0.70 $\pm$ 0.03	154 $\pm$ 2	44 $\pm$ 8	168 $\pm$ 38	28 $\pm$ 3
	ROSC 2 h	5	40 $\pm$ 6	107 $\pm$ 12 ^{ac}	0.98 $\pm$ 0.01	0.64 $\pm$ 0.04 ^{ac}	156 $\pm$ 17	61 $\pm$ 13 ^b	351 $\pm$ 80 ^{bc}	36 $\pm$ 3 ^{bc}
	ROSC 4 h	5	36 $\pm$ 4	101 $\pm$ 9	0.97 $\pm$ 0.01	0.77 $\pm$ 0.02 ^{bd}	154 $\pm$ 23	34 $\pm$ 2 ^a	155 $\pm$ 15	22 $\pm$ 2 ^{bd}

注:NP 组:正常灌注组,HT 组:高灌注组,ROSC:自主循环恢复, PaCO_2 :动脉血二氧化碳分压, PaO_2 :动脉血氧分压, SaO_2 :动脉血氧饱和度, SvO_2 :混合静脉血氧饱和度, CaO_2 :动脉血氧含量, CavO_2 :动-静脉氧含量差, VO_2 :氧耗, ERO_2 :氧摄取率;与本组基础值比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与 NP 组同期比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$;1 mm Hg=0.133 kPa

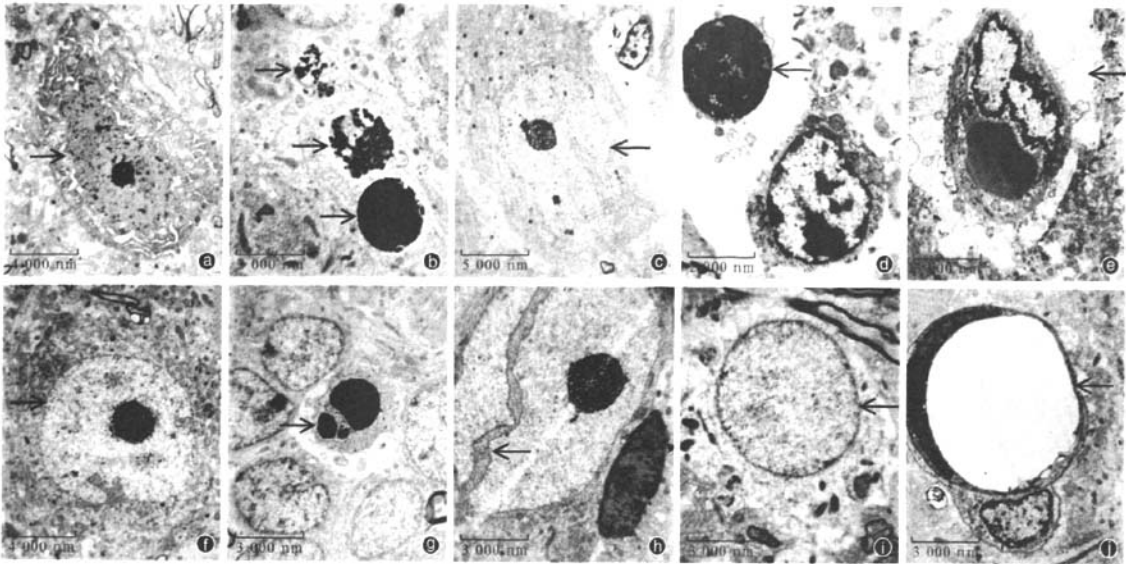


图 2 显微镜下观察各组猪大脑顶叶、小脑及海马 CA1 区神经元超微结构 正常灌注组大脑顶叶皮质神经元胞核固缩、坏死(箭头所示, a $\times 4\,000$);小脑皮质颗粒细胞可见大量凋亡早、中、晚期的小脑颗粒细胞(箭头所示)及凋亡小体(b $\times 8\,000$);海马 CA1 区神经元固缩、坏死(箭头所示, c $\times 6\,000$);海马 CA1 区少突胶质细胞凋亡晚期(箭头所示),可见染色质边集,线粒体破坏(d $\times 8\,000$);血管旁星形细胞足突严重肿胀(箭头所示, e $\times 6\,000$);高灌注组大脑顶叶皮质神经元结构相对完整,核膜可见变形(箭头所示, f $\times 4\,000$);小脑皮质颗粒细胞可见少量凋亡细胞(箭头所示, g $\times 6\,000$);海马 CA1 区神经元核膜凹陷(箭头所示)及少突胶质细胞环绕(h $\times 6\,000$);海马少突胶质细胞形态正常(箭头所示, i $\times 6\,000$);血管内皮细胞形态正常,星形细胞足突轻度肿胀(箭头所示, j $\times 6\,000$) 醋酸双氧铀染色

表 3 两组猪心肺复苏后 24 h 缺血脑组织 HDS 及细胞凋亡情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	HDS(分)				凋亡细胞(个/100 个细胞)			
		大脑	海马	小脑	纹状体	大脑	海马	小脑	纹状体
假手术组	2	1.0 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.0	10.6 $\pm$ 2.4	4.6 $\pm$ 2.4	18.8 $\pm$ 3.1	7.6 $\pm$ 1.8
NP 组	5	2.2 $\pm$ 0.8 ^b	2.8 $\pm$ 0.5 ^{ab}	1.4 $\pm$ 0.5	1.4 $\pm$ 0.5	7.4 $\pm$ 2.3	35.0 $\pm$ 6.8 ^a	38.6 $\pm$ 3.8 ^a	9.0 $\pm$ 2.2
HT 组	5	1.6 $\pm$ 0.5 ^a	1.8 $\pm$ 0.8 ^a	1.6 $\pm$ 0.5	1.0 $\pm$ 0.0	11.8 $\pm$ 2.8	22.7 $\pm$ 7.6 ^{ab}	21.2 $\pm$ 7.6 ^b	10.8 $\pm$ 1.5

注:HDS:组织缺失评分,NP 组:正常灌注组,HT 组:高灌注组;与假手术组比较,^a $P<0.05$;与 NP 组比较,^b $P<0.05$

2.4 神经功能评分:HT 组 ROSC 后 24 h OPC 正常 3 只,轻度异常 2 只;NP 组 OPC 正常 1 只,轻度异常 2 只,重度异常但意识清醒有 2 只。与 HT 组比较,NP 组 ROSC 24 h 后 NDS 显示出更为严重的神经障碍[(17 $\pm$ 11)%比(9 $\pm$ 4)%, $P=0.62$]。

2.5 脑组织病理及超微结构改变(彩色插图 1,图 2;表 3):光镜下 HE 染色显示,假手术组动物各部位脑组织无变化。HT 组胞质深染、尼氏体消失、胞核固缩及破裂甚至核仁消失改变较轻。NP 组各部位脑组织可见不同程度神经元损伤,其中大脑顶叶皮质、海马 CA1 区前部 HDS 评分明显高于 HT 组(均 $P<0.05$)。电镜下,各组不同部位脑组织超微结构有不同程度变化。假手术组神经元、胶质细胞以及血脑屏障均完整。NP 组大脑顶叶皮质、海马 CA1 区前部及壳核(纹状体)神经元以坏死为主,表现为

核固缩和电子密度增加;而小脑颗粒细胞及海马 CA1 区胶质细胞则以细胞凋亡为主,表现为细胞缩小和变形,细胞质和核染色质发生浓缩,染色质聚集于细胞核周边,部分细胞质发生断裂,形成由细胞膜包裹、含有多少不等的核碎片及细胞质的凋亡小体;星形细胞足突明显肿胀。HT 组神经元胞核有所变形,但坏死神经元少见;凋亡细胞主要见于小脑颗粒细胞,而胶质细胞则较少见;星形细胞足突可见轻度肿胀。

2.6 凋亡细胞(彩色插图 3;表 3):细胞凋亡主要见于神经元及胶质细胞。NP 组和 HT 组 ROSC 后 24 h 所有部位脑组织都可见散在分布的凋亡细胞;主要位于海马 CA1 区及小脑,且 NP 组凋亡细胞数明显多于 HT 组(均 $P<0.05$)。假手术组动物则少见凋亡细胞。

3 讨论

韩奕和李春盛^[10]研究表明,去甲肾上腺素诱导心搏骤停 CPR 猪高血压灌注状态可维持血流动力学稳定和氧代谢平衡。本研究结果显示:CPR 后使用去甲肾上腺素提高 MAP 可以增加 CO 及氧输送,保证有效的脑灌注,从而减轻脑损伤。接受高灌注治疗的动物,特定区域坏死及凋亡的细胞明显减少,电镜下也证实了这一点。所有接受去甲肾上腺素升压的动物都有较好的神经预后(OPC 1~2 分)。

复苏后脑能量代谢与脑血流量(CBF)密切相关,而 CBF 与 CPP 又密切相关。正常状况下脑组织存在自我调节机制,在心搏骤停复苏后的急性期,大脑的自动调节功能受损或缺失^[11]。保证 CPP 是复苏后加强脑保护的重要步骤。复苏后血液黏度增加、血管塌陷,因此,要想恢复足够的 CBF 必须提高 CPP。Safar^[12]研究认为,复苏后立即将收缩压升至 150~200 mm Hg 以重新启动灌注,并防止压力过高增加复苏后患者心脏负担。

在升压药物选择方面,肾上腺素为 CPR 的经典用药,但长期以来对其使用争议不断,Schmitz 等^[13]研究发现,动物复苏后使用大剂量肾上腺素进行升压,其脑损伤并未得到明显改善;Berg 等^[14]甚至发现,在复苏后使用大剂量肾上腺素升压的动物有着更高的死亡率。去甲肾上腺素具有 α_1 、 α_2 受体兴奋作用,在改善心肌和脑血流方面与肾上腺素相似,去甲肾上腺素在 ROSC 方面比肾上腺素要强^[15]。吴丽娟等^[16]研究表明,与多巴胺相比,去甲肾上腺素有明显收缩血管、提高体循环阻力的作用,且在内脏灌注及组织氧合方面作用更为突出。Sterz 等^[6]研究发现,使用去甲肾上腺素将动物的 MAP 提高至 >200 mm Hg 后,仅动物的神经功能预后明显好于对照组。去甲肾上腺素有收缩全身血管的作用,有可能加重复苏后的器官功能衰竭。

本研究中采用去甲肾上腺素将血压的靶目标设置在基础 MAP 的 130%,此血压低于以往文献报道,我们希望在尽可能减少去甲肾上腺素副作用的前提下发挥其对脑灌注的正面作用。从实验结果可看出,高灌注对血流动力学的改变具体表现为:HT 组 CO、MAP、CPP 在 ROSC 后都有不同程度的升高,说明 HT 组在使用去甲肾上腺素后 CO 增加,全身各器官包括脑组织有效供血量得到改善;而 SVR、PVR 在 ROSC 后并未见明显增加,说明去甲肾上腺素对血管阻力,尤其在脑组织并无副作用;但由于在 CPR 后脑血管自动调节机制受损,脑血管对

体内儿茶酚胺收缩反应减弱,此时提高 CPP、增加 CO 意义尤其重要。但 HT 组 HR 明显增加,并且高灌注对全身器官的血液供应改善作用是以增加心肌每搏量为代价的,其对心肌的氧耗是否有负面影响尚待研究。氧代谢方面,HT 组 VO_2 均高于 NP 组,而 ERO_2 则低于 NP 组,因此可以看出 HT 组较 NP 组对氧运输起有益的作用。

对 ROSC 后 24 h 脑组织病理学超微结构观察及细胞凋亡染色发现,海马 CA1 区神经元对缺血较敏感,而高灌注对海马 CA1 区和顶叶皮质神经元损伤的改善较明显。而有研究表明,在短时间心搏骤停模型中,大多数小脑浦肯野纤维、纹状体神经元以及对心搏骤停缺血损伤较为敏感的细胞损伤并不严重,因此说明高灌注对这些神经元的改善并不明显;对缺血较为耐受的小脑颗粒细胞在复苏后 24 h 有明显的凋亡现象,说明小脑颗粒细胞对心搏骤停后缺血并不如之前认为的那样耐受,但其死亡选择方式上不同于海马神经元和小脑浦肯野纤维的坏死,而是以凋亡为主要表现形式^[17]。本研究发现,在浦肯野纤维尚未出现严重损伤的情况下,小脑颗粒细胞已经启动了凋亡程序,并于 ROSC 后 24 h 出现较大面积的凋亡,相信 CPR 后小脑颗粒细胞对凋亡的敏感对脑复苏有着重要意义。其他对凋亡较敏感的细胞有海马 CA1 区、齿状核神经元,而 HT 组中,这些部位的细胞凋亡都得到了明显的改善。可以认为,高灌注对凋亡的抑制作用应该是其对 CPR 后脑保护的一条重要机制。

CPR 脑组织超微结构的变化是各种病理变化的基础。本研究发现,在短暂心搏骤停 CPR 后,各部位脑组织均可见变性、坏死神经元,以海马 CA1 区神经元坏死较为严重;经电镜证实海马 CA1 区神经元多为坏死晚期神经元,而小脑颗粒细胞及海马 CA1 区少突胶质细胞则以凋亡为主要表现,这种凋亡在以往的 CPR 研究中并未见报道。小脑颗粒细胞是一种释放兴奋性物质的神经细胞,其过量凋亡必将造成神经兴奋性下降;而少突胶质细胞则是合成髓鞘的重要细胞,对神经传导有着重要意义。以往对复苏后脑损伤的研究多集中于复苏后神经元损伤的研究,而对复苏后神经传导的研究较少。复苏后少突胶质细胞凋亡必定会使神经纤维髓鞘合成受损,从而导致神经元冲动释放障碍,我们认为这种少突胶质细胞凋亡造成的神经传导障碍也是脑复苏失败的一条重要原因。本研究中应用高灌注后脑组织各部位超微结构均有不同程度的好转,神经元坏死减少,

小脑颗粒细胞及海马少突胶质细胞凋亡亦明显减少,但在 HT 组仍可见部分凋亡的小脑颗粒细胞,说明即使在增加脑灌注、降低脑代谢的情况下,小脑颗粒细胞复苏后仍不可避免发生损伤,可见小脑颗粒细胞对心搏骤停及复苏后的再灌注损伤敏感性很高。在本实验中未涉及到更远期的神经系统功能监测,而在某些研究中认为复苏后远期细胞凋亡会更严重^[18],这应引起我们的重视。

综上所述可以认为,使用去甲肾上腺素输注以提高灌注压是改善 CPR 后脑组织细胞凋亡及坏死的有效方法,有利于神经预后。

参考文献

- [1] 王佩燕. 急诊医学的一个重要领域——复苏学的现状和未来. 中国危重病急救医学, 2002, 14: 710-712.
- [2] Ristagno G, Tang W, Sun S, et al. Cerebral cortical microvascular flow during and following cardiopulmonary resuscitation after short duration of cardiac arrest. Resuscitation, 2008, 77: 229-234.
- [3] White BC, Grossman LI, Krause GS. Brain injury by global ischemia and reperfusion; a theoretical perspective on membrane damage and repair. Neurology, 1993, 43: 1656-1665.
- [4] Hossmann KA. Ischemia-mediated neuronal injury. Resuscitation, 1993, 26: 225-235.
- [5] Shaffner DH, Eleff SM, Brambrink AM, et al. Effect of arrest time and cerebral perfusion pressure during cardiopulmonary resuscitation on cerebral blood flow, metabolism, adenosine triphosphate recovery, and pH in dogs. Crit Care Med, 1999, 27: 1335-1342.
- [6] Sterz F, Leonov Y, Safar P, et al. Hypertension with or without hemodilution after cardiac arrest in dogs. Stroke, 1990, 21: 1178-1184.
- [7] Safar P, Xiao F, Radovsky A, et al. Improved cerebral resuscitation from cardiac arrest in dogs with mild hypothermia plus blood flow promotion. Stroke, 1996, 27: 105-113.
- [8] Nozari A, Safar P, Stezoski SW, et al. Critical time window for intra-arrest cooling with cold saline flush in a dog model of cardiopulmonary resuscitation. Circulation, 2006, 113: 2690-2696.
- [9] Fries M, Nolte K, Demir F, et al. Neurocognitive performance after cardiopulmonary resuscitation in pigs. Crit Care Med, 2008, 36: 842-847.
- [10] 韩奕, 李春盛. 去甲肾上腺素诱导的高血压灌注对猪心搏骤停复苏后肝脏的影响. 中国危重病急救医学, 2010, 22: 89-92.
- [11] Nordmark J, Rubertsson S. Induction of mild hypothermia with infusion of cold (4 °C) fluid during ongoing experimental CPR. Resuscitation, 2005, 66: 357-365.
- [12] Safar P. Cerebral resuscitation after cardiac arrest; research initiatives and future directions. Ann Emerg Med, 1993, 22: 324-349.
- [13] Schmitz B, Fischer M, Bockhorst K, et al. Resuscitation from cardiac arrest in cats: influence of epinephrine dosage on brain recovery. Resuscitation, 1995, 30: 251-262.
- [14] Berg RA, Otto CW, Kern KB, et al. High-dose epinephrine results in greater early mortality after resuscitation from prolonged cardiac arrest in pigs: a prospective, randomized study. Crit Care Med, 1994, 22: 282-290.
- [15] 李春盛. 应掌握现代复苏时药物应用的原则. 中国危重病急救医学, 2000, 12: 643-644.
- [16] 吴丽娟, 何权瀛, 李刚, 等. 多巴胺及去甲肾上腺素对脓毒性休克患者血流动力学及组织氧合的影响. 中国危重病急救医学, 2008, 20: 18-22.
- [17] Radovsky A, Safar P, Sterz F, et al. Regional prevalence and distribution of ischemic neurons in dog brains 96 hours after cardiac arrest of 0 to 20 minutes. Stroke, 1995, 26: 2127-2133.
- [18] Teschendorf P, Padosch SA, Spöhr F, et al. Time course of caspase activation in selectively vulnerable brain areas following global cerebral ischemia due to cardiac arrest in rats. Neurosci Lett, 2008, 448: 194-199.

(收稿日期: 2010-10-04) (本文编辑: 李银平)

• 科研新闻速递 •

先天免疫因子在血流动力学方面对脓毒性休克发挥积极作用

先天免疫因子在脓毒性休克中的具体作用至今尚未完全明确,最近荷兰学者对此进行了研究。学者选取 14 例脓毒性休克患者进行前瞻性研究,每 6 h 测量 1 次血流动力学、血浆补体 C3a、补体激活产物、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平,并记录血管活性药物剂量。其中 8 例死亡患者均伴有心动过速、轻度低血压、心排血指数增加、周围血管扩张和心力衰竭。检测结果显示:补体 C3a、IL-6、TNF-α 在各时间点分别有 89%、96%、75% 高于正常值;其中 IL-6 水平增高时平均动脉压和全身血管抵抗指数降低,补体 C3a 水平增高时左心室功能降低,而 TNF-α 水平与外周血管及心肌功能参数无相关。研究人员认为,各种先天免疫因子在脓毒性休克过程中发挥着各自的作用,IL-6 的释放与周围血管扩张有显著的相关性,而补体激活则可在一定程度上抑制心力衰竭。

钟毓贤,编译自《Immunol Invest》,2010-08-18(电子版);胡森,审校

吸烟对创伤患者脓毒症、呼吸衰竭、器官功能衰竭发生率无明显影响

吸烟者在创伤患者中占有很大比例,人们一直认为吸烟对危重患者急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征的发展有一定影响,很多吸烟的创伤患者在因受伤进入重症监护病房(ICU)后常经历急性尼古丁戒断。吸烟和急性尼古丁戒断对创伤后患者的影响至今尚无报道,近日美国学者对此进行了研究,对吸烟和不吸烟创伤患者脓毒症、脓毒性休克、多器官功能障碍综合征等的发生率进行了比较。严格筛选出符合条件的 327 例创伤患者病例资料进行分析,其中吸烟者 156 例,非吸烟者 171 例。在进行统计学分析后,研究人员得出结论,吸烟对没有基础疾病创伤患者的影响几乎可以忽略不计,而急性尼古丁戒断对创伤患者脓毒症、呼吸衰竭、器官功能衰竭发生率无明显影响。

钟毓贤,编译自《Trauma》,2010,69:308-312;胡森,审校

提高平均动脉压对猪心肺复苏后脑功能及超微结构的影响

(正文见 674 页)

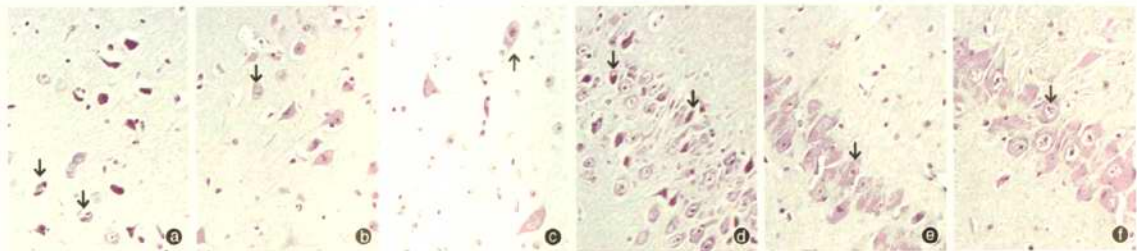


图1 光镜下观察各组猪大脑及海马 CA1 区组织学改变 正常灌注组大脑皮质可见细胞核固缩, 甚至裂解(箭头所示, a); 高灌注组大脑皮质可见轻度水肿(箭头所示, b); 假手术组大脑皮质病理改变不明显(c); 正常灌注组海马 CA1 区可见神经元细胞固缩、坏死(箭头所示, d); 高灌注组病理改变较轻(箭头所示, e); 假手术组无明显病理改变(箭头所示, f) HE $\times 400$

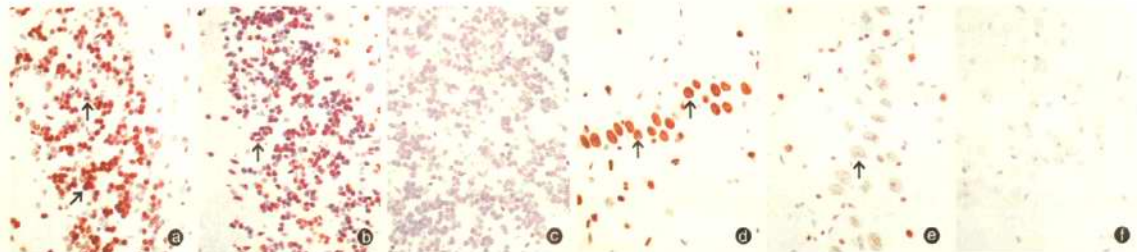


图3 光镜下观察各组猪小脑及海马 CA1 区细胞凋亡 正常灌注组小脑皮质可见大量深褐色凋亡细胞(箭头所示, a); 高灌注组小脑皮质凋亡细胞(箭头所示, b)数量明显少于正常灌注组; 假手术组小脑皮质未见凋亡细胞(c); 正常灌注组海马 CA1 区可见神经元及胶质细胞凋亡(箭头所示, d); 高灌注组海马 CA1 区可见少量凋亡的少突胶质细胞(箭头所示, e); 假手术组海马 CA1 区未见凋亡细胞(f) TUNEL $\times 400$

心肌缺血/再灌注损伤后瘦素的改变及机制初探

(正文见 680 页)

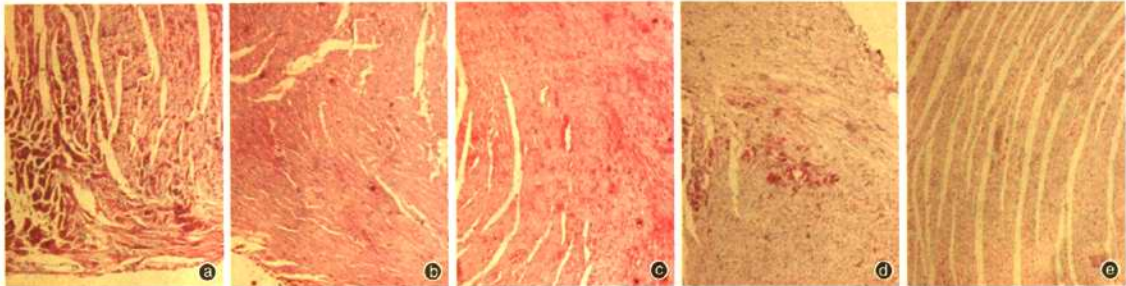


图1 光镜下观察各组心肌缺血/再灌注(I/R)损伤大鼠心肌病理改变 假手术组(a)心肌细胞边界清楚, 细胞核位于中央, 心肌纤维结构正常, 间质无充血、水肿; 缺血组(b)心肌细胞出现坏死, 细胞体积缩小, 胞质浓缩, 坏死细胞呈明显肿胀, 核染色体浓缩, 核固缩成均一的密集物, 肌间质轻微充血、水肿; I/R 1 h 组(c)心肌细胞出现局部凝固性坏死, 核碎裂, 固缩染色体脱落, 肌间质充血、水肿加重; I/R 2 h 组(d)心肌细胞大片坏死, 肌纤维松解, 肌间质充血、水肿更加重; I/R 4 h 组(e)心肌细胞已基本坏死, 出现纤维样变 HE $\times 200$

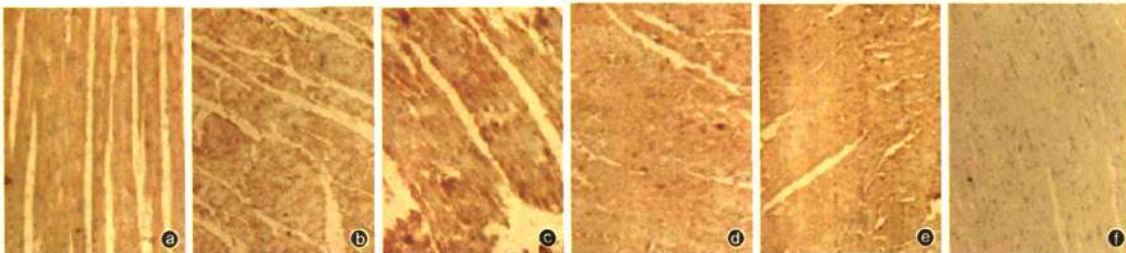


图2 光镜下观察各组心肌缺血/再灌注(I/R)损伤大鼠心肌组织瘦素(Leptin)的蛋白表达 假手术组(a)心肌组织有一定的 Leptin 蛋白表达; 缺血组(b) Leptin 蛋白表达较假手术组(a)明显减少; I/R 1 h 组(c) Leptin 蛋白表达增强; I/R 2 h 组(d) Leptin 蛋白表达较 I/R 1 h 组(c)降低; I/R 3 h 组(e) Leptin 蛋白表达较 I/R 2 h 组(d)又明显增强, 呈现损伤后早期降低后期升高的整体趋势; 阴性对照组心肌组织未见 Leptin 蛋白表达(f) 免疫组化 $\times 200$