

• 综述 •

脑复苏中能量代谢与细胞凋亡

王胜奇(综述) 李春盛(审校)

【关键词】 脑复苏; 能量代谢; 凋亡

现代心肺复苏(CPR)技术始于 20 世纪 50 年代末 60 年代初,经过 50 多年的发展,CPR 技术水平日臻完善。然而,CPR 尤其是脑复苏的现状仍不能令人满意。在 CPR 后存活的患者中,80% 都经历了不同时间的昏迷,其中 40% 的患者进入了持续植物状态,仅 1%~8% 的院外心搏骤停患者能够无神经损害出院^[1]。在院内没有使用监护器的 CPR 成功且生存患者中,只有不到 10% 者没有脑损伤^[2]。造成心肺脑复苏(CPCR)成功率低下的原因是多方面的,对 CPR 前后脑能量代谢变化知之甚少是其中的重要原因。

1 脑复苏中的能量代谢

CPR 中,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。脑血流(CBF)在 CPR 的能量代谢中起到重要作用。尽管脑组织只占体重的 2%,但它却接受 20% 的心排血量(CO)。在心搏骤停过程中,CBF 明显减少,复苏后脑组织要经历一个短暂的充血过程,机制是复苏后出现短暂的血管神经麻痹,这个过程可以持续 15~30 min,之后脑组织进入低灌注状态,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,不同部位脑组织涓细血流(<10% CBF)甚至无血流区域分散于低血流、正常血流和高血流区域。涓细血流甚至无血流的机制包括复苏后血液黏度增高、血管管腔的病理性塌陷、血管内皮细胞微绒毛形成及灌注压不足等^[4]。脑组织缺血后的无血流状态是限制心搏骤停后生存率的重要因素。

复苏后脑能量代谢与 CBF 密切相关

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.11.018

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30972863C160203)

作者单位:100053 北京,首都医科大学宣武医院急诊科

通信作者:李春盛,Email:lcsccyy@sohu.com

关,而 CBF 与脑灌注压(CPP)又有密切关系,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^[5]。复苏后血液黏度增加、血管塌陷,这使得要想恢复足够的 CBF 必须提高 CPP。正常情况下, CPP 为 60~90 mm Hg(1 mm Hg = 0.133 kPa),当 CPP 降低到 50 mm Hg 以下时,CBF 即开始明显下降, CPP 降低到 30 mm Hg 以下时,神经元开始出现变性。保证 CPP 是复苏后加强脑保护的重要步骤。所需要的 CPP 与室颤(室颤)时间密切相关,较长时间的室颤往往需要更高的 CPP。Safar^[2]的研究认为,复苏之后立即将收缩压升至 150~200 mm Hg 以重新启动灌注,然后进行补液及用血管活性药物维持收缩压至正常血压以防止过高压力增加复苏后患者的心脏负担。另外,复苏后能量代谢异常会造成脑水肿,而维持较高的 CPP 还有防止复苏后脑水肿的作用^[6]。

心搏骤停后脑组织储存的氧在 10 s 内即被耗尽,而葡萄糖在 2~4 min 内被耗尽,ATP 也将在 4~5 min 内被耗尽^[7]。在心搏骤停脑组织低灌注状态下,脑细胞以无氧代谢生成 ATP 进行代偿,其代价是产生大量乳酸,造成脑组织酸中毒。而复苏后由于应激,机体又往往处于高血糖状态,这种复苏后的高血糖不仅不能帮助脑组织纠正能量代谢异常,还会起到有害作用,血糖的升高加重了无氧代谢,影响细胞内 pH(pHi)的恢复,加重了酸中毒^[7]。当 pHi 达到 5.5~5.7 甚至更低时便会对脑复苏产生极为不利的影 响。高血糖伴涓细血流要比无血流脑组织恢复更差。一般认为,将复苏后血糖控制在 5.55~11.10 mmol/L(100~200 mg/dl)是比较安全的^[2]。这对于基础血糖偏高的患者(如糖尿病)更为重要,这些患者由于高血糖使得脑组织的缓冲能力较差^[8],虽然复苏后短时间内似乎 pHi 恢复更快^[9],而远期的生存率却更差。然而复苏后适当使用胰岛素仍存在着争议。胰岛素增加了脑组织内天

冬氨酸、谷氨酰胺及 γ -氨基丁酸的水平^[10],但对乳酸水平影响很小^[11]。

复苏后,即使在脑灌注恢复的情况下仍会继发能量代谢异常^[12]。在常温下的心搏骤停,即使复苏后再灌注充分,脑组织能量代谢仍需至少 1 h 才能逐渐恢复,在一些实验中,恢复所需时间甚至可以延长到 72 h,在这段时间里,脑灌注已得到一定的恢复,但 ATP 水平仍低于心搏骤停前,ATP 下降最明显的时间点通常认为是复苏后 6 h^[13]。因此,要想提高脑复苏的效果,复苏后支持治疗的时间一定要足够长。

2 脑复苏中的细胞凋亡机制

在脑复苏后的能量代谢中,线粒体功能是继发能量代谢异常的关键因素。有研究认为,复苏后脑细胞中的有功能线粒体数量决定了细胞的死亡方式,当复苏后细胞内线粒体能够产生足够的 ATP 以合成凋亡所需蛋白时,细胞即进入凋亡过程;反之,如果细胞内只有少量甚至无有功能的线粒体时,细胞即进入死亡过程。正常情况下,脑细胞产生能量的 50%~75% 都用于离子通道的维持,ATP 缺乏的情况下,Na⁺-K⁺ 泵失调,细胞及其内部细胞器离子浓度无法维持,造成 Ca²⁺ 超载、膜电位改变,严重时细胞出现肿胀、破裂等异常改变。这些因素,尤其是 Ca²⁺ 内流被认为是通透性转运孔(PTP)开放的关键因素,从而诱发细胞凋亡。以前认为,脑损伤引起的急性期神经元死亡是以坏死为主,细胞坏死与细胞凋亡并存,细胞坏死位于缺血中心区,而细胞凋亡主要出现在缺血半暗带;继发死亡或迟发死亡则以凋亡为主。但观察坏死神经元超微结构却发现,缺血中心区的死亡神经元极少完全表现为坏死特征,而细胞凋亡的特征在绝大多数神经元中都存在^[14]。缺血后 0.5 h,缺血中心区神经元即可检测到天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1(caspase-1)和 caspase-8 的激活^[15],这说明缺血中心区存在着凋亡活动。基于此,一些学者提出

假设:缺血早期部分缺血中心区细胞可能首先发生细胞凋亡,但由于细胞凋亡是一个需要能量的过程,而缺血中心区血流减少,当其所提供能量不足以完成细胞凋亡时,缺血神经元便会由凋亡转向坏死。

细胞死亡方式的选择与细胞缺血时间、细胞部位以及类型相关。缺血时间越长,神经元越趋向于坏死,这可能跟缺血时间长导致严重的线粒体损害和 ATP 缺乏有关。不同部位神经元对缺血的耐受程度也不同,海马、大脑皮质、小脑对缺血敏感性较高,小脑浦肯野纤维通常是选择坏死,而小脑颗粒细胞的死亡则更多选择凋亡。海马凋亡通常发生在内层神经元,而坏死经常发生在更为成熟的外层神经元。而在大脑白质凋亡则更加常见^[16],除复苏后血流分布不同等原因外,缺血后神经元早期基因表达的变化和后期分子表型的改变可能起到很大的作用^[17]。在细胞凋亡中,细胞色素 C 被认为是激活 caspases 启动凋亡的触发因子,细胞色素 C 于再灌注 6 h 即有释放^[18],其释放依赖于 PTP 的开放。当膜电位尚未明显变化时,细胞色素 C 的释放更多依赖于 Bcl-2 蛋白家族,它们可以在人工脂质体和双层质膜中形成功能性离子通道。这些通道都具有多种电导状态,对 pH 值和电压敏感,对离子具有低选择性。CPR 中脑组织 pH_i 降低可以激活 Bcl-2 家族以启动凋亡程序。细胞尚可通过不依赖于 caspases 的凋亡诱导因子(AIF)、Fas/CD95、内质网信号通路等途径诱导凋亡^[19]。

3 脑复苏后的治疗

目前被证实确切有效的复苏后能量代谢异常的治疗方法只有亚低温治疗。早期人们认为亚低温治疗是通过减少底物来降低脑代谢,从而使脑组织无氧酵解和乳酸产量减少。现在发现亚低温治疗可以降低脑组织葡萄糖代谢率和氧代谢率,并减缓 ATP 的降解^[20]。总的来说,在温度 22~37 °C 的脑组织,每降低 1 °C 脑氧耗率大约降低 5%。此外亚低温可以降低 pH_i,阻止或延迟细胞毒性物质和氧自由基生成,以延缓、减低继发能量代谢异常的影响^[21],从而大大降低复苏后脑组织损伤。

关于脑缺血刺激后抗凋亡治疗方面的研究很多,但都处于实验阶段,未能应用于临床。理想的神经细胞凋亡抑制剂

应有以下特点:①足够稳定性,较高的生物利用率,能够穿透血脑屏障并选择性作用于某一类凋亡细胞。②尽量避免外周效应,从而减少对机体正常细胞代谢的干扰,避免致癌作用。③防止神经细胞由凋亡转向坏死,同时应早期应用抗凋亡药物。Caspases 抑制剂可在缺血刺激后有效地限制细胞凋亡,但却不能维持正常神经元功能。研究发现,在能量缺失的情况下,caspases 抑制剂可促使细胞从凋亡转向坏死。天然短肽类凋亡抑制剂由于其穿透血脑屏障能力及选择性较差且较易被清除,不适合作为抗神经细胞凋亡的治疗药物^[22]。目前较多的研究集中在采用病毒作为载体的抗凋亡蛋白进行抗凋亡治疗。在这些蛋白中,X 染色体相关的凋亡抑制剂(XIAP)作用最强,它可以抑制 caspase-3、caspase-7、caspase-9,脑缺血后神经元缺失可被腺病毒介导表达的 XIAP 明显减少^[23]。p35 是一种广谱 caspases 抑制剂,它可以抑制 caspase-1、caspase-3、caspase-6、caspase-7、caspase-8 和 caspase-10。以杆状病毒为载体表达 p35 的小鼠心搏骤停 6 min 后复苏,转基因小鼠 7 d 生存率明显高于对照组^[24]。

综上所述,能量代谢是脑复苏的中心环节,其在 CPR 后的异常会造成细胞坏死或凋亡。而目前研究发现,细胞凋亡在 CPR 后神经细胞死亡中起到极其重要的作用。理解复苏后能量代谢及细胞凋亡的机制并对其进行相应的治疗,对 CPR 后脑功能恢复有着至关重要的作用。但目前关于 CPR 后能量代谢研究尤其是脑神经元凋亡的研究由于实验模型的限制仍存在着许多不足,常见的脑血管闭塞小动物模型临床价值较低,夹闭脑血管的模型侧支循环对脑组织缺血、缺氧的影响大,同时 CPR 后全身缺血/再灌注损伤难以模拟。这些差异都可能导致得出的结论与 CPR 模型得出的结论不一致,因此,对目前的研究结果仍需进一步的探讨。

参考文献

[1] Eisenberg MS, Mengert TJ. Cardiac resuscitation. *N Engl J Med*, 2001, 344:1304-1313.
[2] Safar P. Cerebral resuscitation after cardiac arrest; research initiative and future directions. *Ann Emerg Med*, 1993,22:324-349.
[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] Sundgreen C, Larsen FS, Herzog TM, et al. Autoregulation of cerebral blood flow in patients resuscitated from cardiac arrest. *Stroke*, 2001, 32: 128-132.
[6] Hosomi N, Mizushige K, Kitadai M, et al. Induced hypertension treatment to improve cerebral ischemic injury after transient forebrain ischemia. *Brain Res*,1999,835:188-196.
[7] Dempsey RJ, Baskaya MK, Combs DJ, et al. Effect of hyperglycemia on reperfusion-associated recovery of intracellular pH and high energy phosphates after transient cerebral ischemia in gerbils. *Neurol Res*,1996, 18:546-552.
[8] Hoxworth JM, Xu K, Zhou Y, et al. Cerebral metabolic profile, selective neuron loss, and survival of acute and chronic hyperglycemic rats following cardiac arrest and resuscitation. *Brain Res*,1999,821:467-479.
[9] Sieber FE, Koehler RC, Brown PR, et al. Diabetic chronic hyperglycemia and cerebral pH recovery following global ischemia in dogs. *Stroke*, 1994, 25:1449-1455.
[10] Guyot LL, Diaz FG, O'Regan MH, et al. Topical glucose and accumulation of excitotoxic and other amino acids in ischemic cerebral cortex. *Horm Metab Res*,2000,32:6-9.
[11] Sappey-Marini D, Chileuitt L, Weiner MW, et al. Hypoglycemia prevents increase in lactic acidosis during reperfusion after temporary cerebral ischemia in rats. *NMR Biomed*,1995, 8:171-178.
[12] Safar P, Kochanek P. Cerebral blood flow promotion after prolonged cardiac arrest. *Crit Care Med*,2000,28:3104-3106.
[13] Paschen W, Oldh L, Mies G. Effect of transient focal ischemia of mouse brain on energy state and NAD levels; no evidence that NAD depletion plays a major role in secondary disturbances of energy metabolism. *J Neurochem*, 2000,75:1675-1680.
[14] Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell

death; the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol*, 1980, 68: 251-306.

[15] Benchoua A, Couriaud C, Guégan C, et al. Active caspase-8 translocates into the nucleus of apoptotic cells to inactivate poly (ADP-ribose) polymerase-2. *J Biol Chem*, 2002, 277: 34217-34222.

[16] Bokesch PM, Marchand J, Seirafi PA, et al. Immediate-early gene expression in ovine brain after cardiopulmonary bypass and hypothermic circulatory arrest. *Anesthesiology*, 1996, 85: 1439-1446.

[17] Ruan YW, Ling GY, Zhang JL, et al. Apoptosis in the adult striatum after transient forebrain ischemia and the effects of ischemic severity. *Brain Res*, 2003, 982: 228-240.

[18] Ohtaki H, Takeda T, Dohi K, et al. Increased mitochondrial DNA oxidative damage after transient middle cerebral artery occlusion in mice. *Neurosci Res*, 2007, 58: 349-355.

[19] Nguyen HN, Wang C, Perry DC. Depletion of intracellular calcium stores is toxic to SH-SY5Y neuronal cells. *Brain Res*, 2002, 924: 159-166.

[20] Erecinska M, Thoresen M, Silver IA. Effects of hypothermia on energy metabolism in mammalian central nervous system. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003, 23: 513-530.

[21] Conroy BP, Lin CY, Jenkins LW, et al. Hypothermic modulation of cerebral-ischemic injury during cardiopulmonary bypass in pigs. *Anesthesiology*, 1998, 88: 390-402.

[22] Robertson GS, Crocker SJ, Nicholson DW, et al. Neuroprotection by the inhibition of apoptosis. *Brain Pathol*, 2000, 10: 283-292.

[23] Xu D, Bureau Y, McIntyre DC, et al. Attenuation of ischemia-induced cellular and behavioral deficits by X chromosome-linked inhibitor of apoptosis protein overexpression in the rat hippocampus. *J Neurosci*, 1999, 19: 5026-5033.

[24] Vogel P, Putten H, Popp E, et al. Improved resuscitation after cardiac arrest in rats expressing the baculovirus caspase inhibitor protein p35 in central neurons. *Anesthesiology*, 2003, 99: 112-121.

(收稿日期: 2010-09-14)
(本文编辑: 李银平)

• 科研新闻速递 •

被动抬腿和扩充血容量可以改善严重脓毒症患者的舌下微循环灌注

最近法国学者为研究被动抬腿(PLR)和扩充血容量(VE)对脓症患者舌下微循环情况的影响,将 25 例严重脓症患者列为研究对象,检测脉压变化(Δ PP)、心排血量(CO)和舌下微循环情况。试验分 5 个连续步骤进行:①半卧位(基线 1);②PLR 过程中;③再次回到半卧位(基线 2);④进行 VE,此过程中需与 PLR 达到同样程度前负荷;⑤VE 结束。其中每一阶段都需用侧流暗视野成像来监测功能性毛细血管密度(FCD)、微循环流动指数(MFI)、血管灌注率(PPV)和抗体异质性指数(FHI)。结果显示:与基线 1 和基线 2 比较,PLR、VE 及 VE 结束这 3 个时间段 CO、FCD、MFI 和 PPV 显著升高, Δ PP、FHI 显著下降。研究者认为,PLR 和 VE 可以有效改善脓症患者舌下微循环灌注。

钟毓贤,编译自《Intensive Care Med》,2010-08-20(电子版);胡森,审校

复杂心脏手术后接受心肺复苏的新生儿 2 年生存率和神经系统发育预后

研究者采用截距性队列研究,将 1996 年至 2005 年年龄 6 周岁以下所有接受心脏手术后心肺复苏(CPR)治疗的新生儿为 A 组(29 例),以心脏术后 1 年无 CPR 治疗的新生儿为 B 组(58 例),两组间先天性心脏病种类、外科干预前时间、染色体异常情况、社会经济背景等方面无明显差异。使用 Bayley 婴儿发育和适应性行为评分系统 I 评估 2 年神经系统发育情况,并且前瞻性回顾术前、术中和术后患儿的多项临床资料。回顾分析心搏骤停后多种变量,通过单因素分析和条件多元逻辑回归预测患儿的病死率。在存活者中,A 组和 B 组的精神发育指数[84.5 (12.2)比 81.0 (18.9)]、精神运动发育指数、一般自适应性综合评价[84.6 (15.3)比 84.3 (19.2)]、运动指数[8.4 (3.2)比 8.0 (3.8)]和延迟反应无明显差异。A 组 2 年病死率为 58.6%,B 组为 8.6%,条件多元逻辑回归分析发现,上述结果与 CPR 有关[相对比值比(OR)26.6,95%可信区间(95%CI)5.4~129.5]。条件多元逻辑回归发现,A 组 2 年病死率与胸部按压时间有关(OR 1.04,95%CI 1.01~1.08)。结论:在心脏术后实施 CPR 治疗的新生儿病死率显著升高,但存活患者的 2 年神经系统发育结局与无 CPR 新生儿没有明显不同。

崔倩,编译自《Resuscitation》,2010-11-13(电子版);尹明,审校

住院期间心搏骤停患者采用体外氧合心肺复苏术与常规心肺复苏术的比较

研究者回顾性分析了 2003 年 1 月至 2009 年 7 月 406 例住院期间心搏骤停接受 10 min 以上心肺复苏(CPR)治疗成年患者的临床资料,其中 85 例患者接受了体外膜肺氧合(ECMO)支持下的 CPR 治疗,321 例患者接受了常规 CPR 治疗。比较 ECMO 支持下 CPR 是否比常规 CPR 生存率提高。研究的一级终点是伴有轻微神经功能损伤者存活出院。使用得分法对各组患者可能影响预后的变量进行校正。结果显示:在匹配的 120 例患者中,实施 ECMO 支持 CPR 治疗的患者出院存活率显著高于常规 CPR 患者[相对比值比(OR)0.17,95%可信区间(95%CI)0.04~0.68, $P=0.012$];而且经 ECMO 支持 CPR 治疗的轻微神经功能损伤患者 6 个月后生存率显著高于常规 CPR 组(OR 0.48,95%CI 0.29~0.77, $P=0.003$)。通过分析心源性猝死亚组的结果同样发现,经 ECMO 支持 CPR 治疗的轻微神经功能损伤存活患者的 6 个月生存率较常规 CPR 组高,且差异有统计学意义(OR 0.56,95%CI 0.33~0.97, $P=0.038$)。

崔倩,编译自《Crit Care Med》,2010-11-04(电子版);尹明,审校