

尿激酶对家兔心肺复苏后脑灌注的实验研究

郭晓东 王贵生 高建华 张巍 马立芝 孙鲲 张礼 甄高鹤 王立祥

【摘要】 目的 探讨心肺复苏(CPR)时给予溶栓药物尿激酶对心搏骤停(CA)兔脑微循环灌注的影响。**方法** 将 20 只新西兰大白兔按随机数字表法分为药物溶栓组和常规 CPR 组,每组 10 只。采用注射氯化钾结合窒息法制备兔 CA 后,常规 CPR 组只进行 CPR 的基础生命支持,药物溶栓组在此基础上给予尿激酶 20 kU/kg 进行干预。于动物自主呼吸恢复 30 min,通过双源螺旋 CT 进行脑灌注成像,观察两组基底节区相对全脑血流量(rCBF)、血容量(rCBV)、达峰时间(rTTP),以此来证明尿激酶对兔脑微循环灌注的影响。**结果** 药物溶栓组 rCBF、rCBV 均明显大于常规 CPR 组(rCBF:1.248 ± 0.139 比 0.900 ± 0.070, $t=6.870$, $P=0.000$; rCBV: 1.206 ± 0.117 比 0.969 ± 0.067, $t=6.156$, $P=0.000$), rTTP 明显小于常规 CPR 组(0.950 ± 0.037 比 1.015 ± 0.026, $t=3.777$, $P=0.004$),提示药物溶栓组脑微循环灌注明显优于常规 CPR 组。常规 CPR 组与药物溶栓组自主循环恢复时间、自主呼吸恢复时间、平均动脉压均无明显差异[自主循环恢复时间(s):307.9 ± 96.4 比 242.0 ± 71.0, $t=-1.741$, $P=0.099$;自主呼吸恢复时间(min):20.6 ± 12.5 比 19.3 ± 10.1, $t=-0.256$, $P=0.801$;平均动脉压(mm Hg, 1 mm Hg=0.133 kPa):65.5 ± 6.2 比 69.0 ± 6.7, $t=1.217$, $P=0.239$]。**结论** 在对 CA 兔进行 CPR 时应用尿激酶可改善脑微循环灌注。

【关键词】 心肺复苏; 脑灌注; 微循环; 尿激酶; 溶栓

Effect of urokinase on cerebral perfusion in rabbits after cardiopulmonary resuscitation GUO Xiao-dong*, WANG Gui-sheng, GAO Jian-hua, ZHANG Wei, MA Li-zhi, SUN Kun, ZHANG Li, ZHEN Gao-he, WANG Li-xiang. * Department of Emergency, General Hospital of Chinese People Armed Police Forces, Beijing 100039, China

Corresponding author: WANG Li-xiang, Email: wjjjwlx@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of urokinase on cerebral microcirculatory perfusion after cardiopulmonary resuscitation (CPR) in rabbits after cardiac arrest (CA). **Methods** Twenty New Zealand rabbits were assorted into drug thrombolysis group and routine CPR group by randomized digital method with 10 in each group. Potassium chloride injection combined with asphyxia was employed to establish the CA model. CPR and basic life-support were performed in routine CPR group. Following the above treatments, 20 kU/kg urokinase was given in thrombolysis group. The relative cerebral blood flow (rCBF), cerebral blood volume (rCBV) and top teep time (rTTP) were observed by dual-slice spiral CT cerebral perfusion imaging in order to investigate the effect of urokinase on cerebral microcirculatory perfusion in rabbits. **Results** rCBF and rCBV in thrombolysis group were significantly higher than those in routine CPR group (rCBF: 1.248 ± 0.139 vs. 0.900 ± 0.070, $t=6.870$, $P=0.000$; rCBV: 1.206 ± 0.117 vs. 0.969 ± 0.067, $t=6.156$, $P=0.000$), and rTTP in thrombolysis group was significantly shorter than that in routine CPR group (0.950 ± 0.037 vs. 1.015 ± 0.026, $t=3.777$, $P=0.004$). The cerebral perfusion in thrombolysis group was obviously better than routine CPR group. There were no significant differences in the time for restoration of spontaneous circulation (ROSC), the time for restoration of spontaneous breathing or mean arterial pressure (MAP) between routine CPR group and thrombolysis group [time of ROSC (s): 307.9 ± 96.4 vs. 242.0 ± 71.0, $t=-1.741$, $P=0.099$; time of restoration of spontaneous breathing (minutes): 20.6 ± 12.5 vs. 19.3 ± 10.1, $t=-0.256$, $P=0.801$; MAP (mm Hg, 1 mm Hg=0.133 kPa): 65.5 ± 6.2 vs. 69.0 ± 6.7, $t=1.217$, $P=0.239$]. **Conclusion** Thrombolytic therapy with urokinase in CPR could improve the cerebral microcirculatory perfusion in CA rabbits.

【Key words】 Cardiopulmonary resuscitation; Cerebral perfusion; Microcirculation; Urokinase; Thrombolysis

心搏骤停(CA)后的脑复苏一直是医学界尚未解决的难题。研究显示,医院外发生呼吸、心搏骤停的患者心肺复苏(CPR)存活率约为 2%~9%^[1],CPR

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.11.010

基金项目:全军医学科技“十二五”课题计划(BWS11J077)

作者单位:100039 北京,武警总医院急救医学中心(郭晓东、马立芝、孙鲲、张礼、甄高鹤、王立祥),CT科(王贵生、高建华);100840 北京,总参信息化部门门诊部(张巍)

通信作者:王立祥,Email:wjjjwlx@163.com

后脑功能的恢复代表着复苏的最终成功,然而仅有少部分患者能达到一定程度的神经功能恢复。据资料显示,在洛杉矶院外 2 000 例 CA 患者中,CPR 成功后神经系统恢复者仅占 1.4%^[2]。影响脑复苏的原因很多,其中 CA-CPR 后机体存在凝血和纤溶系统功能紊乱、脑血管内微血栓形成,导致脑灌注减少或无灌注是重要原因之一^[3-5]。有关 CPR 的相关研究显示,溶栓药物治疗可提高脑复苏的成功率,改善神

经系统的功能^[6-7];另有研究证实,溶栓药物能改善脑微循环的灌注,减少脑无灌注区的面积,有助于改善神经系统的预后^[8-10]。但在 CPR 中应用溶栓药物,是否对脑微循环产生一定的影响值得研究。随着螺旋 CT 脑灌注成像技术的成熟,脑血流灌注的定量研究具有普及性,多层螺旋 CT 技术可以连续多层面灌注成像,扩大了观察范围^[11]。因此,通过螺旋 CT 脑灌注成像观察脑供血具备一定的可行性,可观察脑灌注情况。另外,兔作为一种较适合影像学研究的动物,近年来逐渐在脑 CT 灌注成像的基础研究中得到应用。本研究采用注射氯化钾结合窒息法制备兔 CA 模型,于 CPR 基本生命支持阶段给予尿激酶,并通过双源螺旋 CT 进行脑灌注成像,观察尿激酶对脑灌注的影响,现将结果报告如下。

1 材料与方 法

1.1 实验动物及分组:健康新西兰纯种大白兔 20 只,兔龄 5~6 个月,体质量 2~3 kg,由军事医学科学院实验动物中心提供,动物合格证号 SCXK(军)2012-0004。按随机数字表法将动物分为常规 CPR 组($n=10$)和药物溶栓组($n=10$)。

1.2 动物模型制备:实验兔术前 12 h 予以禁食,可自由饮水,术前 30 min 肌肉注射阿托品 0.01 mg/kg,称重后肌肉注射氯胺酮+速眠新(1:1) 0.2~0.3 mL/kg,麻醉后四肢连接心电图导联电极监测心电图,分离股动脉置入小儿心导管,导管肝素化后与迈瑞 9000 多道生理记录仪传感器相连监测动脉血压、平均动脉压(MAP)。分离股静脉置入 BD22G 套管针,用于静脉给药。气管切开置入气管插管以备呼吸机应用。参照文献^[12-13]采用注射氯化钾结合窒息法制备 CA 动物模型,经股静脉弹丸式注射 4℃ 的 10%氯化钾 70 mg/kg,待 CA 后于呼气末夹闭气管导管。CA 的标准为动脉血压波形消失而且 MAP<20 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa),心电图显示窦性心律消失,出现心室纤颤波或呈直线,听诊心音消失。CA 持续 3 min 后开始复苏。

1.3 复苏方法:松开夹闭的气管导管,连接小动物呼吸机,给予机械通气,呼吸频率 40 次/min,潮气量 20 mL/kg;胸外按压 150~180 次/min;均于复苏开始静脉注射肾上腺素 0.02 mg/kg,每 5 min 给药 1 次,重复 3 次。复苏 30 min 后自主循环未恢复者结束观察,表明复苏失败。药物溶栓组在开始复苏时给予尿激酶 20 kU/kg(溶于生理盐水 30 mL 中)于 30 min 内静脉滴完^[14];常规 CPR 组则给予生理盐水 30 mL 于 30 min 内静脉滴完。自主循环恢复后,继续

给予机械通气,直到恢复自主呼吸。

本研究中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.4 观察指标

1.4.1 自主循环恢复时间:在无胸外按压时,收缩压 ≥ 60 mm Hg 并维持 10 min 表示自主循环恢复^[15]。

1.4.2 自主呼吸恢复时间:以出现腹式呼吸,撤掉呼吸机后持续 5 min 为自主呼吸恢复的标志。

1.4.3 脑微循环灌注:于自主呼吸恢复后 30 min 进行双源螺旋 CT 脑灌注扫描和图像后处理。参照文献^[16-17]应用西门子双源螺旋 CT 进行脑灌注成像。实验动物仰卧于固定板上,先行头部冠状位扫描,层厚 2.5 mm、管电压 120 kV、管电流 150 mA。然后选用自定实验兔灌注扫描方式行全脑灌注扫描,层厚 1.5 mm、管电压 80 kV、管电流 200 mA,对比剂为碘佛醇(安射力,350 mg/mL),剂量为 1.5 mL/kg,扫描延迟时间为 5 s,连续 40 s 动态扫描,旋转时间 1 s,图像重建间隔时间为 0.5 s。

将所有图像传送至西门子 SYNGO ONE 工作站,使用 VTCP 软件进行后处理,对图像进行自动阈值定义,去除骨和空气影响。选取上矢状窦为流出静脉,获得血管的时间-密度曲线;经运算获得兔全脑血流量(CBF)、血容量(CBV)、达峰时间(TTP)。选取基底节区,感兴趣区大小为 10~15 个像素,测定两侧基底节区 CBF、CBV、TTP,取平均值后与左侧小脑相应值进行比较最终得出各自的相对值($rCBF$ 、 $rCBV$ 、 $rTTP$),并进行统计。 $rCBF=(CBF_{左}+CBF_{右})/2/$ $CBF_{左小脑}$ 。 $rCBV$ 、 $rTTP$ 的取值方法与 $rCBF$ 相同。

1.5 统计学处理:应用 SPSS 16.0 统计软件进行分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用配对 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 自主循环恢复时间、自主呼吸恢复时间及 MAP (表 1):两组自主循环恢复时间、自主呼吸恢复时间及 MAP 比较差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。

表 1 CPR 时给予尿激酶对 CA 兔自主循环和呼吸恢复时间及 MAP 的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	自主循环恢复时间(s)	自主呼吸恢复时间(min)	MAP (mm Hg)
常规 CPR 组	10	307.9 \pm 96.4	20.6 \pm 12.5	65.5 \pm 6.2
药物溶栓组	10	242.0 \pm 71.0	19.3 \pm 10.1	69.0 \pm 6.7
t 值		-1.741	-0.256	1.217
P 值		0.099	0.801	0.239

注:CPR 为心肺复苏,CA 为心搏骤停,MAP 为平均动脉压;

1 mm Hg=0.133 kPa

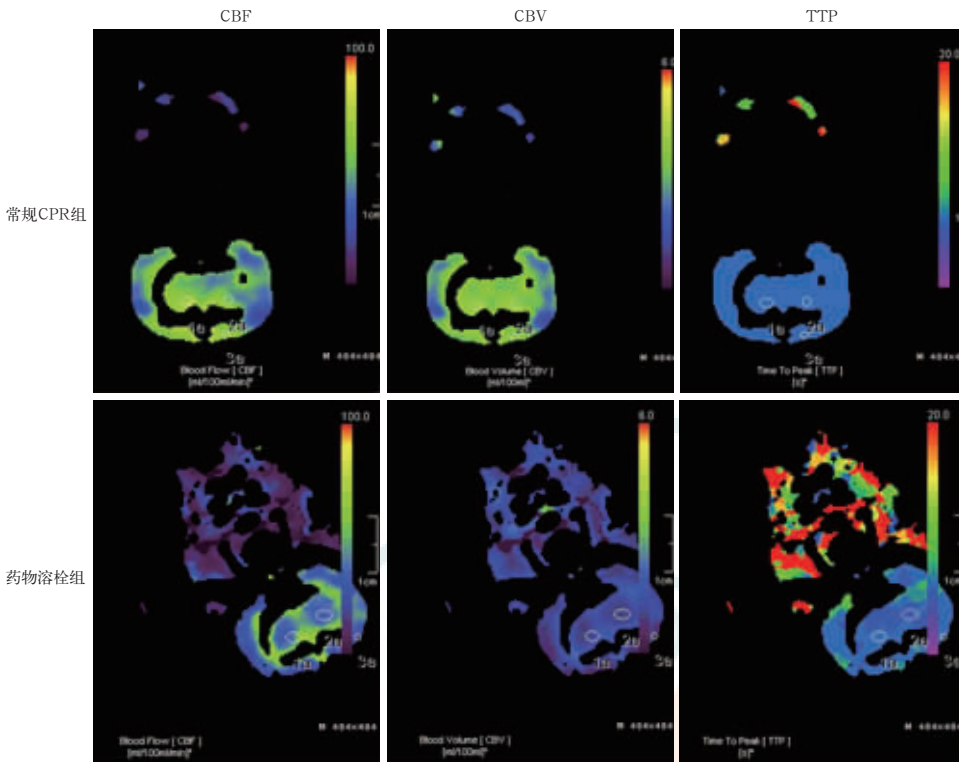


图 1 双源螺旋 CT 脑灌注成像显示,常规心肺复苏(CPR)组和 CPR 时给予尿激酶的溶栓组心搏骤停兔于自主呼吸恢复 30 min 后基底节区两侧全脑血流量(CBF)、血容量(CBV)、达峰时间(TTP)均无明显差异,且溶栓组未见明显灌注缺损;图中 1a、2a 分别表示两侧基底节感兴趣区,3a 表示左侧小脑半球感兴趣区;灌注量高低见左侧颜色条状带

2.2 CBF、CBV、TTP(图 1;表 2):双源螺旋 CT 脑灌注成像显示,常规 CPR 组和药物溶栓组两侧基底节区之间 CBF、CBV、TTP 均无明显差异,药物溶栓组无明显灌注缺损。药物溶栓组 rCBF 及 rCBV 明显大于常规 CPR 组,rTTP 明显小于常规 CPR 组,两组比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。

表 2 CPR 时给予尿激酶对 CA 兔脑微循环灌注的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	rCBF	rCBV	rTTP
常规 CPR 组	10	0.900 ± 0.070	0.969 ± 0.067	1.015 ± 0.026
药物溶栓组	10	1.248 ± 0.139	1.206 ± 0.117	0.950 ± 0.037
t 值		6.870	6.156	3.777
P 值		0.000	0.000	0.004

注:CPR 为心肺复苏,CA 为心搏骤停,rCBF、rCBV、rTTP 为两侧基底节区相对左侧小脑血流量、血容量、达峰时间的相对值

3 讨论

本研究采用注射氯化钾结合窒息法成功制备兔 CA-CPR 模型,能模拟 CA 复苏引起的全身病理生理改变,该模型稳定可靠,操作简便易行^[18]。

本研究中药物溶栓组与常规 CPR 组动物自主循环恢复时间、自主呼吸恢复时间以及 MAP 均无明

显差异,说明 CPR 后存在相同情况的微循环障碍。CA 和 CPR 后,由于血液淤滞、缺氧、酸中毒及血管内皮损伤等因素激活了凝血系统,机体出现凝血和纤溶系统功能紊乱,使脑血管内大量微血栓形成,造成脑微循环灌注不良^[19-23]。有研究表明快速建立循环通路可以提高 CPR 成功率^[24-25];虽然全身血流动力学已稳定,但是大脑却仍可能存在区域性代谢异常和微循环灌注缺陷,从而继续加重脑损伤^[26]。本研究通过比较 CBF、CBV、TTP 等指标,结果显示药物溶栓组脑灌注明显优于常规 CPR 组,分析原因可能为:溶栓药物不仅可以有效的作用于 CA

后大脑微血管栓子,还可改善脑微循环的灌注,减少脑无灌注区域面积,有助于改善神经系统的预后^[27]。Aliyev 等^[28]报道,家兔 CA 后在 CPR 的基础生命支持阶段,微循环血流量下降,有血细胞聚集现象,给予溶栓、抗凝药物干预可以改善基础生命支持阶段组织的微循环血流灌注,防止微循环内微血栓形成。尿激酶可直接使纤维蛋白酶原转变为纤维蛋白酶,直接溶解血栓,对新鲜血栓效果较好。给予尿激酶治疗后,由于尿激酶的纤溶作用能防止新的血栓形成,已形成的微血栓溶解,使微循环保持相对通畅^[29]。本课题组前期研究表明,大鼠呼吸、心搏骤停 5~8 min 即可造成脑血管内大量微血栓形成及脑神经细胞变性、坏死;复苏的同时给予尿激酶干预,可以减轻脑神经细胞损伤程度,改善预后^[30]。

在本研究中,我们于动物自主呼吸恢复 30 min 后进行基底节区 CT 扫描,考虑原因为:自主呼吸恢复平稳后,拔除气管插管,方便进行 CT 检查;另外,静脉注射尿激酶的血浆作用半衰期为 15 min;再者,基底节区域位于中部,便于成像、分析相关的结果,容易反映脑灌注的情况。通过双源螺旋 CT 进行脑灌注成像,在活体家兔观测到,于 CPR 开始给予尿

激酶治疗可明显增加脑灌注,使 CBF、CBV 及 TTP 明显好于常规 CPR 组。提示尿激酶溶栓治疗可明显改善 CA 和 CPR 后的脑缺血状态,改善脑微循环并恢复脑组织的有效血液灌注。故我们推测脑微循环的改善及早期恢复有效的脑灌注,可减轻因脑缺血、缺氧而造成的脑损害,进而提高脑复苏的成功率。

本研究由于条件受限,选取的样本量相对较少,仅选择在自主呼吸恢复 30 min 时进行检查。有必要进行多时间段、多部位的观察,以便更加全面反映脑灌注情况。

志谢 感谢武警总医院的 CT 室与动物实验室的全力支持,以及急诊室有关医生的配合与努力

参考文献

[1] Eckstein M, Stratton SJ, Chan LS. Cardiac Arrest Resuscitation Evaluation in Los Angeles: CARE-LA. *Ann Emerg Med*, 2005, 45: 504-509.

[2] Nadkarni VM, Larkin GL, Peberdy MA, et al. First documented rhythm and clinical outcome from in-hospital cardiac arrest among children and adults. *JAMA*, 2006, 295: 50-57.

[3] Adrie C, Monchi M, Laurent I, et al. Coagulopathy after successful cardiopulmonary resuscitation following cardiac arrest: implication of the protein C anticoagulant pathway. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46: 21-28.

[4] Johansson J, Riefeft P, Basu S, et al. Antithrombin reduction after experimental cardiopulmonary resuscitation. *Resuscitation*, 2003, 59: 235-242.

[5] Geppert A, Zorn G, Delle-Karth G, et al. Plasminogen activator inhibitor type 1 and outcome after successful cardiopulmonary resuscitation. *Crit Care Med*, 2001, 29: 1670-1677.

[6] Li X, Fu QL, Jing XL, et al. A meta-analysis of cardiopulmonary resuscitation with and without the administration of thrombolytic agents. *Resuscitation*, 2006, 70: 31-36.

[7] Mysiak A, Nowicki P, Kobusiak-Prokopowicz M. Thrombolysis during cardiopulmonary resuscitation. *Cardiol J*, 2007, 14: 24-28.

[8] Arntz HR, Wenzel V, Dissmann R, et al. Out-of-hospital thrombolysis during cardiopulmonary resuscitation in patients with high likelihood of ST-elevation myocardial infarction. *Resuscitation*, 2008, 76: 180-184.

[9] 楼正家, 诸葛丽敏, 郑文龙, 等. 川芎嗪对心肺复苏后脑缺血/再灌注损伤的保护作用. *中国中西医结合急救杂志*, 2003, 10: 299-301.

[10] 许荣廷, 宋慧玲, 倪一虹, 等. 生脉注射液加护心通用于心肺复苏的临床研究. *中国中西医结合急救杂志*, 2004, 11: 221-223.

[11] Roberts HC, Roberts TP, Smith WS, et al. Multisection dynamic CT perfusion for acute cerebral ischemia: the "toggling-table" technique. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2001, 22: 1077-1080.

[12] Crumrine RC, LaManna JC. Regional cerebral metabolites, blood flow, plasma volume, and mean transit time in total cerebral ischemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1991, 11: 272-282.

[13] Chen MH, Liu TW, Xie L, et al. A comparison of transoesophageal cardiac pacing and epinephrine for cardiopulmonary resuscitation. *Am J Emerg Med*, 2006, 24: 545-552.

[14] Liu WS, Huang ZZ, Wang XW, et al. Effects of microbubbles on transcranial Doppler ultrasound-assisted intracranial urokinase thrombolysis. *Thromb Res*, 2012, 130: 547-551.

[15] Xanthos T, Lelovas P, Vlachos I, et al. Cardiopulmonary arrest and resuscitation in Landrace/Large White swine: a research model. *Lab Anim*, 2007, 41: 353-362.

[16] Brandão CG, Ferreira HH, Piovesana H, et al. Development of an experimental model of liver cirrhosis in rabbits. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2000, 27: 987-990.

[17] Nabavi DG, Cenic A, Henderson S, et al. Perfusion mapping using computed tomography allows accurate prediction of cerebral infarction in experimental brain ischemia. *Stroke*, 2001, 32: 175-183.

[18] 孙欣, 李来传, 袁洲杰, 等. 心脏骤停动物模型的建立和试验方法的选择. *中华危重症医学杂志(电子版)*, 2010, 3: 129-133.

[19] Wetsch WA, Spöhr F, Teschendorf P, et al. Thrombolysis during cardio-pulmonary resuscitation. *Dtsch Med Wochenschr*, 2010, 135: 1983-1988.

[20] Adrie C, Laurent I, Monchi M, et al. Postresuscitation disease after cardiac arrest: a sepsis-like syndrome?. *Curr Opin Crit Care*, 2004, 10: 208-212.

[21] Janata K, Holzer M, Kürkciyan I, et al. Major bleeding complications in cardiopulmonary resuscitation: the place of thrombolytic therapy in cardiac arrest due to massive pulmonary embolism. *Resuscitation*, 2003, 57: 49-55.

[22] Laver S, Farrow C, Turner D, et al. Mode of death after admission to an intensive care unit following cardiac arrest. *Intensive Care Med*, 2004, 30: 2126-2128.

[23] Snyder-Ramos SA, Böttiger BW. Molecular markers of brain damage—clinical and ethical implications with particular focus on cardiac arrest. *Restor Neurol Neurosci*, 2003, 21: 123-139.

[24] 刘亚华, 王立祥, 孙鲲, 等. 骨髓腔穿刺建立循环对心搏骤停患者自主循环恢复的影响. *中国危重病急救医学*, 2010, 22: 492-493.

[25] 孙得权, 王联群, 曾仪, 等. 紧急体外循环在心肺复苏中应用 20 例. *中国危重病急救医学*, 2000, 12: 687.

[26] Lederer W, Lichtenberger C, Pechlaner C. Long-term survival and neurological outcome of patients who received recombinant tissue plasminogen activator during out-of-hospital cardiac arrest. *Resuscitation*, 2004, 61: 123-129.

[27] Matyal R, Mahmood F, Park KW. Tifacogin, recombinant tissue factor pathway inhibitor. *Int Anesthesiol Clin*, 2005, 43: 135-144.

[28] Aliyev F, Habeb M, Babalik E, et al. Thrombolysis with streptokinase during cardiopulmonary resuscitation: a single center experience and review of the literature. *J Thromb Thrombolysis*, 2005, 20: 169-173.

[29] 国家“九五”攻关课题协作组. 急性脑梗死六小时以内的静脉溶栓治疗. *中华神经科杂志*, 2002, 35: 210-213.

[30] 郭晓东, 马立芝, 高进, 等. 尿激酶对大鼠心肺复苏后脑神经细胞损伤及微血栓影响的实验研究. *实用医学杂志*, 2006, 22: 752-754.

(收稿日期: 2013-04-09)

(本文编辑: 李银平)

• 广告目次 •

①深圳迈瑞公司: 监护仪、呼吸机 (封二)

②天津生化制药: 琥珀氢可 (插页)

③珠海健帆: 血液灌流器 (插页)

④北京德美瑞: 腹部提压心肺复苏仪 (插页)

⑤德尔格: Savina300 (插页)

⑥天津红日药业: 血必净注射液 (插页)

⑦广东天普药业: 绿色方舟计划 (插页)

⑧罗氏诊断产品(上海)有限公司: 血气分析仪 (插页)

⑨第一制药: 克倍宁 (封三)

⑩江苏新晨: 艾贝宁® 盐酸右美托咪定注射液 (封四)