

• 论著 •

亚低温疗法减少家兔再灌注急性心肌梗死范围的实验研究

钱远宇 孟庆义 王志忠 马勇 王云中 董振南

【摘要】 目的 探讨亚低温对家兔缺血-再灌注急性心肌梗死(AMI)范围的影响。**方法** 14 只家兔随机分为亚低温组和常温组,结扎心脏冠状动脉前降支造成 AMI,45 min 后松开结扎线,进行再灌注 2 h;动物的中心体温通过热敏电阻探头测定。亚低温组通过物理降温使结扎后 30 min 体温降到 35℃ 以下,此后保持在 32~35℃;常温组体温维持在 38℃ 以上。再灌注结束后取出心脏染色切片,计算梗死心肌、濒危心肌和左室心肌的质量。**结果** 亚低温组心电图胸前导联抬高幅度之和低于常温组[(25.8±8.5)mV 比 (37.7±6.5)mV, $P=0.021$]。亚低温组梗死 3 h 的血清肌酸激酶同工酶(CK-MB)活性改变明显低于常温组[(2 646.9±1 227.3)U/L 比 (4 787.8±1 934.2)U/L, $P=0.045$]。组织学检查显示亚低温组梗死心肌质量(0.23±0.05)g 明显低于常温组(0.42±0.16)g($P=0.020$)。亚低温组梗死心肌占濒危心肌的比例(0.214±0.044 比 0.357±0.066, $P=0.001$)和占左室心肌质量的比例(0.041±0.010 比 0.071±0.027, $P=0.029$)均小于常温组;亚低温组存活心肌占濒危心肌的比例高于常温组(0.786±0.044 比 0.643±0.066, $P<0.001$)。**结论** 亚低温可减少家兔缺血-再灌注 AMI 的梗死范围,增加濒危区的存活心肌。

【关键词】 亚低温; 心肌梗死,急性; 再灌注; 家兔

中图分类号:R454.5;R542.22 文献标识码:A 文章编号:1003-0603(2004)03-0129-04

Experimental study of the effects of mild hypothermia on the acute myocardial infarction size in the rabbits with coronary artery reperfusion QIAN Yuan-yu*, MENG Qing-yi, WANG Zhi-zhong, MA Yong, WANG Yun-zhong, DONG Zhen-nan. * Emergency Department of the Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

【Abstract】 Objective To study the effect of mild hypothermia on the acute myocardial infarction size in the rabbits with coronary artery reperfusion. **Methods** Fourteen rabbits were randomly divided into two groups: mild hypothermia group and control group. Each group underwent 45 minutes of left anterior descending coronary artery occlusion and 2 hours of reperfusion. Core temperatures were measured with thermistor. The mild hypothermia group received ice cooling around the body and the core temperature was dropped to 32-35℃ after occluded for 30 minutes, while the control group's body temperature were kept above 38℃. The myocardial area at risk and the infarct area were determined with Evan's blue dye and triphenyl tetrazolium chloride(TTC). **Results** The total elevated amplitude of ST segment in chest leads V1, V3 and V5 in the mild hypothermia group was (25.8±8.5)mV, it was lower than that in the control group (37.7±6.5)mV ($P=0.021$). The changes of serum MB isoenzyme of creatine kinase(CK-MB) activities in mild hypothermia group was (2 646.9±1 227.3)U/L, it was significantly lower than that in the control group (4 787.8±1 934.2)U/L ($P=0.045$). The weight of infarct myocardium of the mild hypothermia group was (0.23±0.05)g, it was lower than that in the control group (0.42±0.16)g ($P=0.020$). Myocardial infarct size as a percentage of the risk zone (0.214±0.044 vs. 0.357±0.066, $P=0.001$) and of the left ventricle weight (0.041±0.010 vs. 0.071±0.027, $P=0.029$) were smaller than those in the control group. The ratio of the survived myocardial area over the risk zone in the mild hypothermia group was significantly higher than that in the control group (0.786±0.044 vs. 0.643±0.066, $P<0.001$). **Conclusion** Mild hypothermia may reduce infarct size in the rabbits with transient acute myocardial infarction, and increase survived myocardium in the risk zone.

【Key words】 mild hypothermia; acute myocardial infarction; reperfusion; rabbits

CLC number:R454.5;R542.22 Document code:A Article ID:1003-0603(2004)03-0129-04

临床研究已表明,体温降低后可以降低组织的耗氧量,减缓组织缺血时 ATP 消耗速度,所以低温

技术已经在心脏外科手术和颅脑疾病的治疗中得到广泛应用,并取得了良好的效果^[1-3]。虽然已有动物实验证明低温处理可以缩小心肌梗死范围^[1,4,5],但由于体温过于降低会引起低血压、心律失常、血液黏度增加等不良反应,所以限制了低温疗法在心肌梗死临床治疗中的应用。近来的研究表明,采用 32~35℃ 的亚低温一般不会出现明显的不良反应^[4-6],

基金项目:教育部留学回国人员科研启动基金(2003)

作者单位:100853 北京,解放军总医院急诊科(钱远宇,孟庆义,王志忠,马勇,王云中);生化科(董振南)

作者简介:钱远宇(1970-),男(汉族),湖北省咸宁市人,医学硕士,主治医师,主要从事急性心肌梗死的急救。

故急性心肌梗死(AMI)早期应用亚低温处理可能有效。据此,本研究在家兔再灌注 AMI 模型中观察亚低温对心肌梗死范围的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物与试剂:健康新西兰白兔 14 只,雌雄不拘,平均体质量(2.95 ± 0.14)kg,由解放军总医院实验动物中心提供;麻醉药物速眠新由长春军需大学兽医研究所提供;染色剂伊文思兰和氯化三苯基四氮唑(triphenyl tetrazolium chloride, TTC)由北京化学试剂公司提供,并分别配成质量分数为 2% 和 1% 的溶液。

1.2 实验分组:14 只家兔随机分为常温组和亚低温组,每组 7 只。常温组在实验过程中动物中心温度维持在 38℃ 以上;亚低温组从结扎冠状动脉时开始物理降温,于冠状动脉结扎 30 min 时将体温降到 35℃,此后保持在 32~35℃。

1.3 手术方法:

1.3.1 常温组动物经速眠新(0.2 ml/kg)肌肉注射麻醉后覆盖薄毯保温。耳缘静脉建立输液通道,惠普 64S 监护仪进行心电监护;连接多导心电图电极,分别于开胸前、冠状动脉结扎后 5 和 45 min 以及再灌注 1 和 2 h 分 5 次记录心电图行气管插管,江湾 1 型微型呼吸机(第二军医大学研制)机械通气,频率 40 次/min,潮气量 20 ml/kg,给体积分数为 100% 的氧气。分离颈内动脉,插管连接压力转换器测量血压,并于开胸前和再灌注 2 h 抽取血标本,送检心肌酶。经食管将热敏电阻插入约 15 cm 到右心房后侧,动态测量动物深部温度。沿胸骨中线切开皮肤,剪开胸骨左缘第 2、3 肋软骨,拉开胸壁,剪开心包缝做心包床,暴露冠状动脉前降支,用小圆弯针 1 号缝合线于第一分支下缝扎前降支主干,结扎 45 min 后松开缝线,继续监护 2 h。

1.3.2 亚低温组手术方法与上相同,但在麻醉后不予保温,并在动物周身放置冰袋以降低体温,依据监测温度调节冰袋的数量和位置,使中心温度保持在 32~35℃。

1.4 染色方法:行再灌注 2 h 后,质量分数为 10% 的氯化钾 5 ml 静脉注射以处死动物,立即取下心脏,生理盐水冲洗,2% 伊文思蓝染液、100 cm H₂O (1 cm H₂O = 0.098 kPa)压力逆行灌注主动脉。染色完毕取心脏称重,冷冻 10 min 后,平行于冠状沟均匀地将心室横断切成 5 片,置于质量分数为 1% 的 TTC 溶液中 37℃ 水浴 10~15 min,体积分数为 10% 的甲醛固定 24 h。切片上伊文思蓝染色区域为

正常心肌;不染色区域为结扎后缺血的濒危心肌;濒危心肌经 TTC 温浴后不红染的白色区域为梗死心肌。分别将切片称重、照相,计算每个切片上各部分心肌的相对面积,根据切片的质量求出心脏总的梗死心肌质量(infarct size, IS)、濒危心肌质量(area at risk, AAR)和左室心肌质量(left ventricle size, LVS),濒危心肌中尚存活的心肌用 AAR 减去 IS。

1.5 心电图及心肌酶学测定:心电图计算方法是以开胸前的心电图 V₁、V₃ 和 V₅ 的 ST 段高度为基准,分别测量开胸后 4 次心电图 V₁、V₃ 和 V₅ 导联的 ST 段抬高幅度,求其和表示心肌受损程度(Σ ST)。血清肌酸激酶(creatine kinase, CK)测定采用 37℃ 速率法,肌酸激酶同工酶(CK-MB)测定采用免疫抑制法。

1.6 统计学处理:所有结果均采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料的比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确 *P* 检验;成组计量资料的比较采用 Student *t* 检验;*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况:常温组和亚低温组动物体质量分别为(3.01 ± 0.14)kg 和(2.90 ± 0.12)kg, *P* > 0.05;心脏质量分别为(6.87 ± 0.52)g 和(6.78 ± 0.39)g (*P* > 0.05);麻药用量、手术时程、输液量、采血量等比较也均无统计学差异。常温组和亚低温组各有 1 只动物出现心律失常而死亡。

2.2 体温变化:亚低温组体温从结扎冠状动脉后开始降低,结扎后 30 min 降到 35℃ 目标体温,平均为(34.9 ± 0.3)℃,明显低于常温组(38.8 ± 0.5)℃ (*P* < 0.001),随后在 33℃ 左右波动。常温组体温维持在 38℃ 以上。见表 1。

2.3 血压变化:常温组和亚低温组的血压从结扎 15 min 后都开始下降,结扎 30 min 后血压与结扎前比较有显著差异(*P* 均 < 0.01);结扎后和再灌注时亚低温组的血压稍低于常温组,但无统计学意义(*P* 均 > 0.05)。见表 2。

2.4 心电图及心肌酶学改变:亚低温组心电图胸导联 Σ ST 为(25.8 ± 8.5)mV (*n* = 6),明显低于常温组(37.7 ± 6.5)mV (*n* = 6),差异显著(*P* = 0.021)。两组的心肌酶学改变见表 3,可见再灌注 2 h 时亚低温组 CK 和 CK-MB 水平较常温组降低,差异显著(*P* 均 < 0.05);再灌注 2 h 时亚低温组血清 CK 和 CK-MB 上升的幅度明显低于常温组,差异具有统计学意义(*P* 均 < 0.05),这表明亚低温可以减少心肌酶的释放。

2.5 心肌梗死范围:亚低温组平均 IS、IS/AAR 和 IS/LVS 低于常温组, 差异显著 (P 均 < 0.05); 说明亚低温能够缩小心肌的梗死范围。亚低温组存活心肌占 AAR 的比例高于常温组 ($P < 0.001$), 说明亚低温治疗可增加濒危心肌区域中存活心肌的范围。见表 4。

3 讨论

近年来的临床研究表明, 虽然广泛应用了溶栓疗法和介入治疗等冠状动脉再通手段, 许多患者的预后还是很差。因此, 如何进一步改善预后, 已成为心肌梗死临床研究的一个重要课题。本研究结果表明, 亚低温疗法可以减轻 AMI 家兔再灌注时的心肌损伤程度并减少心肌酶的释放, 缩小梗死心肌范围, 增加濒危区内存活心肌的数量, 从而为临床上采用亚低温治疗 AMI 奠定了一定的理论基础。自 1969 年 Angell 等人首次报道了低温可以减缓心肌缺血损伤的进程, 此后人们对 30°C 以下的中度或深度低温保护心脏的作用进行了深入研究, 但是对 32°C 以上的亚低温对心脏的研究还仍很少。1997 年 Hale

等^[4]对 30 min 冠状动脉闭塞、3 h 再灌注的家兔分别在结扎后 10 min 给予心脏局部低温处理, 使心肌温度平均降低 6°C 左右, 结果表明降温组 IS/AAR 从常温组的 44% 下降到 23%; Duncker 等^[7]采用 $35\sim 39^{\circ}\text{C}$ 温度对猪进行了实验, 推算出温度每降低 1°C , IS 占 AAR 的比例下降约 20%。Schwartz 等^[5]也比较了犬低温组 ($35.5\sim 38.0^{\circ}\text{C}$) 和高温组 ($38.1\sim 41.0^{\circ}\text{C}$) 在冠状动脉左旋支闭塞 60 min、再灌注 3 h 后 IS/AAR 的改变, 结果表明, 低体温组 IS/AAR 为 0.169 ± 0.027 , 明显低于高体温组的 0.319 ± 0.050 。随后, Miki 等^[6]采用 $32\sim 35^{\circ}\text{C}$ 亚低温对家兔 IS 的影响进行了研究, 结果表明结扎前降支 30 min 后再灌注 3 h, 常温组 IS/AAR 为 0.373 ± 0.025 , 亚低温组在缺血前达到 32°C 低温可使该比值降到 0.036 ± 0.013 , 结扎 10 min 达到 32°C 时则降到 0.081 ± 0.012 , 结扎 20 min 后达到 32°C 该比值则降到 0.228 ± 0.018 。总之, 目前多数研究表明, 亚低温可减少 AMI 再灌注时梗死心肌的范围, 本实验的结果与上述研究的结果是一致的。本研究结果

表 1 常温组和亚低温组的体温变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Changes of body temperature in normal temperature group and mild hypothermia group ($\bar{x} \pm s$) $^{\circ}\text{C}$

组别	结扎前	结扎 15 min	结扎 30 min	结扎 45 min	再灌注 1 h	再灌注 2 h
常温组	38.5 ± 0.6	38.7 ± 0.7	38.8 ± 0.5	38.7 ± 0.4	38.8 ± 0.5	38.8 ± 0.6
亚低温组	38.1 ± 0.4	$36.7 \pm 0.5^*$	$34.9 \pm 0.3^*$	$34.1 \pm 0.3^*$	$33.2 \pm 0.5^*$	$32.9 \pm 0.4^*$
P 值	0.204	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: 与常温组比较; * $P < 0.01$

表 2 常温组和亚低温组的平均血压变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Changes of mean blood pressure in normal temperature group and mild hypothermia group ($\bar{x} \pm s$) mm Hg

组别	结扎前	结扎 15 min	结扎 30 min	结扎 45 min	再灌注 1 h	再灌注 2 h
常温组	68.9 ± 11.5	56.9 ± 10.2	$47.5 \pm 9.0^*$	$46.2 \pm 13.0^*$	$43.1 \pm 7.6^*$	$45.9 \pm 5.1^*$
亚低温组	66.6 ± 10.3	58.2 ± 9.1	$45.4 \pm 8.4^*$	$44.7 \pm 12.6^*$	$41.3 \pm 5.5^*$	$44.1 \pm 6.6^*$
P 值	0.723	0.821	0.685	0.843	0.648	0.609

注: 与本组结扎前比较; * $P < 0.01$; 1 mm Hg = 0.133 kPa

表 3 常温组和亚低温组 CK 和 CK-MB 活性的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Changes of CK and CK-MB activity in normal temperature group and mild hypothermia group ($\bar{x} \pm s$) U/L

组别	动物数 (只)	CK			CK-MB		
		结扎前	再灌注 2 h	上升幅度	结扎前	再灌注 2 h	上升幅度
常温组	6	2877.9 ± 967.1	10281.2 ± 3018.9	7403.3 ± 3064.2	1895.0 ± 624.1	6682.8 ± 1916.6	4787.8 ± 1934.2
亚低温组	6	2357.3 ± 1134.6	6382.3 ± 2137.7	4025.0 ± 1803.7	1553.0 ± 739.5	4199.9 ± 1272.8	2646.9 ± 1227.3
P 值		0.412	0.027	0.042	0.407	0.029	0.045

表 4 组织学染色测定心肌梗死范围的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Changes of infarct size in normal temperature group and mild hypothermia group ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	IS(g)	AAR(g)	LVS(g)	IS/AAR	IS/LVS	AAR/LVS	AAR-IS/AAR
常温组	6	0.42 ± 0.16	1.20 ± 0.47	5.97 ± 0.38	0.357 ± 0.066	0.071 ± 0.027	0.201 ± 0.074	0.643 ± 0.066
亚低温组	6	0.23 ± 0.05	1.67 ± 0.15	5.79 ± 0.28	0.214 ± 0.044	0.041 ± 0.010	0.190 ± 0.028	0.786 ± 0.044
P 值		0.020	0.533	0.372	0.001	0.029	0.741	0.001

还表明,亚低温治疗组存活心肌与濒危心肌质量的比例明显高于常温组,这提示亚低温可以延缓濒危心肌中缺血心肌的坏死速度,从而为临床上拯救心肌在时间上提供了机会。

有关低温对心肌梗死的保护作用机制,目前认为可能与降低心肌耗氧量和减缓心肌缺血时 ATP 消耗速度有关,低温情况下心肌葡萄糖消耗明显减少,使组织间乳酸盐的蓄积显著减轻。Miki 等^[6]曾从细胞水平进行了研究,发现低温时心肌细胞收缩力下降,支持心肌氧耗降低的结论;低温还可以引起轻度心率下降,但没有证据表明它与心肌保护作用有关。也有研究表明低温可以减低热休克蛋白 HSP70 的表达^[8],抑制心肌细胞内外 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换,减轻再灌注时细胞内 Ca^{2+} 负荷,从而起到心肌保护作用。有作者把低温和缺血预处理(ischemia precondition, IP)、腺苷拮抗剂等联合起来研究,结果表明低温的保护作用是独立存在的,联合应用的心肌保护作用可以累加^[6,9]。

本研究心电监护的结果显示,亚低温组出现恶性心律失常的次数和常温组相当,两组均有 1 只动物在结扎冠状动脉后出现心室纤颤死亡。两组动物在结扎冠状动脉后血压都有大幅下降,但两组间无显著差异,似乎表明血压下降可能与心肌梗死、手术、采血等因素有关,而与体温降低的关系不明显。

本研究结果表明,亚低温应用于 AMI 时,可缩小再灌注心肌的梗死范围,为 AMI 的治疗开辟了一

条新途径。但由于家兔和人类之间存在较大差异,故此实验结果用于人类还有待于进一步的研究。

参考文献:

- 1 Birdi I, Caputo M, Underwood M, *et al.* Influence of normothermic systemic perfusion temperature on cold myocardial protection during coronary artery bypass surgery[J]. Cardiovasc Surg, 1999, 7(3): 369-374.
- 2 李承晏, 李涛, 梅志忠, 等. 实验性脑梗死的亚低温治疗时间窗——亚低温开始时间对脑梗死体积的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2001, 13(8): 485-487.
- 3 李承晏, 刘传玉, 李涛. 亚低温联合升压治疗对局灶性脑缺血的脑保护作用[J]. 中国危重病急救医学, 2002, 14(11): 684-685.
- 4 Hale S L, Kloner R A. Myocardial temperature in acute myocardial infarction: protection with mild regional hypothermia[J]. Am J Physiol, 1997, 273: H220-H227.
- 5 Schwartz L M, Verbinski S G, Vander-Heide R S, *et al.* Epicardial temperature is a major predictor of myocardial infarct size in dogs[J]. J Mol Cell Cardiol, 1997, 29: 1577-1583.
- 6 Miki T, Liu G S, Cohen M V, *et al.* Mild Hypothermia reduces infarct size in the beating rabbit heart: a practical intervention for acute myocardial infarction[J]? Basic Res Cardiol, 1998, 93: 372-383.
- 7 Duncker D J, Klassen C L, Ishibashi Y, *et al.* Effect of temperature on myocardial infarction in swine[J]. Am J Physiol, 1996, 270: H1189-H1199.
- 8 Kita T. The role of heat shock proteins on the disordered tissues: implication for the pathogenesis and diagnostics in the forensic practice[J]. Nippon Hoigaku Zasshi, 2000, 54(3): 367-371.
- 9 Sharon L, Hale A, Robert A. Ischemic preconditioning and myocardial hypothermia in rabbits with prolonged coronary artery occlusion[J]. Am J Physiol, 1999, 276: H2029-H2034.

(收稿日期: 2003-12-30 修回日期: 2004-02-17)

(本文编辑: 李银平)

• 启事 •

2004 年全国危重病急救医学学术交流征文通知

中国中西医结合学会急救医学专业委员会拟于 2004 年 6 月末在四川省成都市(暂定)召开 2004 年全国危重病急救医学学术交流会。本届学术会议主要内容有 4 个方面: ①讨论国际脓毒症诊断标准并继续讨论及制订我国的脓毒症诊断标准。②介绍国内外危重病急救医学研究的新进展。③各省、市互相交流对 SARS 诊治及有关危重病急救的诊治经验。④多器官功能障碍综合征(MODS)协作组的成立, 并制订临床试验观察表。

1 征文内容: 由于危重病急救医学是跨学科, 跨专业的新兴学科, 我国尚未形成危重病急救医学新专业。因此, 征文内容广泛涉及各学科各专业, 以便互相交流, 互相学习, 促进我国危重病急救医学新专业的形成。征文内容包括: 西医、中医、中西医结合, 内、外、妇、儿、脑、麻醉、放射、消化、窥镜等各学科基础与临床研究的论文。主要病种包括: 心血管、呼吸、肾脏、营养代谢、胃肠、肝、胆、胰、介入治疗、内分泌、创伤、烧伤、急腹症以及感染性及非感染性全身炎症反应综合征(SIRS)及 MODS、护理技术、临床监测新技术及急救药物等。

2 征文要求: 全文 3 000 字以内, 附 500 字摘要(必须规范, 包括目的、方法、结果、结论), 用稿纸正楷打印, 标点符号要准确, 著者要顺序排列, 交稿时务必要同时交寄软盘(Word 排版), 并附单位介绍信。来稿不论录取与否概不退还。

3 收稿截止日期: 2004 年 5 月 5 日。

4 稿件寄交地址: 天津市和平区睦南道 122 号, 《中国危重病急救医学》杂志编辑部 王凤琴收, 邮编: 300050。信封上注明“急救征文”字样。

(中国中西医结合学会急救医学专业委员会)