DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.10.037
第24卷第10期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 10
1208 2002年10月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Oct. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)10-1208-03

逆行灌注心脏不停跳心肌保护的实验研究

李福平[1],肖颖彬[1],高凌云[2] (第三军医大学附属新桥医院:[1]心血管外科,[2]心血管内科,重庆 400037)

提 要:目的 探讨逆行灌注心脏不停跳心肌保护的效果。方法 中国大白兔32只随机分为4组,每组8只,A组(对照组),B组(心脏不停跳组,血温34 ℃),C组(温血心脏麻痹液组,血温34 ℃),D组(冷血心脏麻痹液组,血温4 ℃)。采用离体兔心左室做功模型,经冠状静脉窦逆行灌注稀释血液或血停搏液60 min。比较观察心功能、冠脉排出液心肌酶谱、心肌组织乳酸、心肌细胞内游离钙浓度、心肌细胞膜ATP酶活性、心肌细胞膜脂质过氧化产物丙二醛含量的变化。结果 B组心功能恢复、心肌细胞膜ATP酶活性显著优于C组和D组,C组优于D组;B组心肌酶漏出、乳酸生成量、心肌细胞内游离钙浓度、心肌细胞膜丙二醛(MDA)含量低于C组和D组,C组低于D组。结论 常温氧合血逆灌心脏不停跳良好的心肌保护效果与其减轻自由基损伤,较好地保持细胞内外Ca^{2+}平衡,减轻细胞内钙超载,保护细胞膜酶功能有关。

关键词:逆行灌注;心脏不停跳;心肌保护
中图法分类号:R322.11;R654.1;R654.2 文献标识码:A

Experimental study of cardial protection with retrograde coronary sinus perfusion in beating heart

LI Fu-ping, XIAO Ying-bin, GAO Ling-yun (Department of Cardiovascular Surgery, Xingqiao Hospital, Third Military University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To study the myocardial protective effects of retrograde coronary sinus perfusion in beating heart. Methods Isolated rabbit working heart models were used in this study. Thirty-two isolated rabbit hearts were randomized to four groups, group A received antegrade perfusion with KH, group B were maintained heart beating by retrograde perfusion with normothermic oxygenated blood, group C received retrograde coronary sinus perfusion with warm blood cardioplegia, group D with cold blood cardioplegia. After retrograde perfusion for 60 min, the hearts were switched on Langendorff-Neely antegrade perfused working heart model for another 60 min. The cardiac function, myocardial enzyme leak, myocardial content of lactate, intramyocyte free calcium, ATPase of myocardial membrane and MDA of myocardial membrane were measured. Results ① After retrograde coronary sinus perfusion, recovery of cardiac funtion, activity of ATPase of the myocardial membrane in group B was superior to those of group C and D. Recovery of group C was better than group D. ② The leak of CK, LDH, myocardial content of lactate and MDA, and the intramyocyte calcium after retrograde perfusion was much lower in group B than those of group C and D. Conclusion Myocarial protective effects of retrograde normothermic oxygenated blood perfused beating heart is superior to those perfused with cold blood cardioplegia or warm blood cardioplegia.

Key words: retrograde perfusion beating heart myocardial protection

近年来,浅低温体外循环心脏跳动中心内直视手术技术日益受到重视,临床研究表明浅低温体外循环心脏跳动中心内直视手术技术安全可行,可有效减轻低温和缺血再灌注对心肺等脏器的损伤作用,有利于避免术中心脏传导阻滞的发生[1]。心脏跳动中心内直视手术可获得较理想的心肌保护效果[2],体外循环效果和术后护理较心脏停跳心内直视手术满意[3,4]。为了进一步探讨心脏跳动中心内直视手术心肌保护的机制,我们用离体兔左心做功模型及逆灌模型,从心功能、心肌酶谱、心肌组织的无氧代谢、脂质过氧化产物、心肌细胞内游离钙、心肌细胞膜酶活性进行研究。

1 材料和方法

1.1 灌注装置及灌注液

参照Neely和肖家思[5]的离体心脏灌注装置组建左心做功装置及冠状静脉窦逆灌装置。Langendorff灌注(经主动脉灌注)和顺灌左心做功(经左房灌注)用改良的KH液;稀释血灌注液配制方法为兔血与KH液按4∶1混合,红细胞压积20%以上,pH 7.25~7.45,K^+ 4.4 mmol/L,Na^+ 135 mmol/L,Ca^{2+} 1.32 mmol/L。血温调至34 ℃;稀释血心脏麻痹液配制方法为兔血与St. Thomas液按4∶1混合,红细胞压积20%以上,pH 7.3~7.5,K^+ 15 mmol/L,Na^+ 135 mmol/L,Ca^{2+} 1.8 mmol/L。血温调至34 ℃。灌注液不循环使用。

1.2 动物模型和实验分组

成年中国大白兔32只,体重3.0~3.5 kg,雌雄不拘,随机分为4组,每组8只。耳缘静脉麻醉,肝素化,开胸取心,行Langendorff灌注10 min,待心跳平稳后,自左房插入左房灌注管,顺灌左心做功20 min(前负荷为1.67 kPa,后负荷为7.86 kPa),持续逆行灌注60 min(逆灌压4.9 kPa,逆灌流量3 ml/min)。然后Langendorff灌注(经主动脉灌注)10 min,恢复顺灌左心做功60 min。

A组,顺灌左心做功20 min,不行逆灌;B组(心脏不停跳组),顺灌左心做功20 min,经冠状静脉窦持续逆灌稀释血液60 min(血温34 ℃),恢复顺灌左心做功60 min;C组(温血心脏麻痹液逆灌组),顺灌左心做功20 min,经冠状静脉窦持续逆灌温血麻痹液(血温34 ℃),恢复顺灌左心做功60 min;D组(冷血心

作者简介:李福平(1970-),男,山西省大同市人,硕士,医师,主要从事体外循环心肌保护方面的研究。电话:(023)68755000-74607

收稿日期:2001-08-05;修回日期:2001-10-05

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

脏麻痹液逆灌组), 顺灌左心做功 20 min, 经冠状静脉窦持续逆灌冷血麻痹液(血温 4 ℃), 恢复顺灌左心做功 60 min。

1.3　实验内容

于恢复顺灌左心做功 60 min 取左室壁心肌组织进行各项指标检测。

1.3.1　心功能测定　　于逆灌前顺灌左心做功和逆灌后恢复顺灌左心做功第 60 min 用二道生理记录仪记录心功能指标: 左室收缩峰压(LVSP)、左室舒张末压(LVEDP)心率(HR)、左室内压变化速率(±dp/dt)。并测量主动脉排出量(AF), 冠脉排出量(CF), 心输出量(CO)。

1.3.2　冠脉流出液指标检测　　取逆灌前及逆灌后顺灌左心做功第 60 min 冠脉流出液, 按照 CK 测试盒和 LDH 测试盒(南京建成生物工程研究所)测定肌酸磷酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)含量。

1.3.3　心肌组织匀浆指标检测　　制备心肌组织匀浆, 取上清, Lowry 法蛋白定量, 用乳酸测试盒(南京生物工程研究所)测定心肌组织乳酸含量。

1.3.4　心肌细胞内游离钙浓度([Ca^{2+}] i)测定[6]: 钙敏染料 Fura 2-AM 与心肌细胞共同孵育, 利用荧光分光光度计测定荧光强度, 计算钙离子浓度。

1.3.5　心肌细胞膜提取[7] 及指标检测　　改良的差速离心法提取心肌细胞膜, Lowry 法蛋白定量, 用试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定心肌细胞膜 Na^{+}-K^{+}-ATPase、Ca^{2+}-ATPase、Mg^{2+}-ATPase 活性。单位用 $\mu mol \cdot mg^{-1} \cdot h^{-1}$ 表示。TBA 法进行心肌细胞膜丙二醛(MDA)含量测定(荧光法)。

1.4　统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用单因素方差分析进行数据处理。

2　结果

2.1　心功能变化

B 组心功能恢复率高于 C、D 组, 见表 1。

表 1　逆灌后心功能恢复率($\bar{x} \pm s$)

Tab 1　Recorvery of cardiac function after retrograde perfusion($\bar{x} \pm s$)

Group	LVSP (kPa)%	LVEDP (kPa)%	+dp/dt (kPa/s)%	−dp/dt (kPa/s)%	HR (min)%	AF (ml/min)%	CF (ml/min)%	CO (ml/min)%
B(n=8)	87.41±2.34 ##**	188.71±14.23 ##**	78.05±3.11 ##**	91.38±4.67 ##**	87.58±1.52 #*	71.42±2.89 #**	61.89±3.11 ##**	65.33±3.79 ##**
C(n=8)	70.12±3.11 *	301.22±20.15	63.47±5.88	83.21±3.42 *	81.64±2.35	65.54±3.85	48.75±5.32 *	58.76±2.15 *
D(n=8)	66.45±2.41	298.56±17.55	60.86±6.35	77.75±4.61	80.76±3.75	63.42±4.12	40.24±3.88	55.17±3.63

#: P< 0.05, ##: P< 0.01 *vs* Group C;　*: P< 0.05,　**: P< 0.01 *vs* Group D;

2.2　冠脉流出液心肌酶谱

恢复顺灌左心做功第 60 min, B、C、D 组冠脉流出液肌酸磷酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)含量明显高于 A 组(P< 0.01), B 组明显低于 C、D 组(P< 0.01), 见表 2。

表 2　冠脉流出液心肌酶谱及心肌组织乳酸含量($\bar{x} \pm s$)

Tab 2　Content of myocardial enzyme leak and lactate($\bar{x} \pm s$)

Group	CK (mg/ml)	LDH(μmol/ml)	Lactate (mmol/g)
A(n=8)	5.56±2.79	27.56±21.53	0.035±0.009
B(n=8)	20.44±4.47 *△	188.15±18.85 *#△	0.037±0.008 #△
C(n=8)	23.54±5.34 *	222.11±15.20 *	0.043±0.011 *
D(n=8)	26.75±4.04 *	284.30±17.41 *	0.043±0.012 *

*: P< 0.01 *vs* Group A;　#: P< 0.05 *vs* Group C;　△: P< 0.01 *vs* Group D

2.3　心肌组织乳酸(Lactate)含量

逆灌后恢复顺灌左心做功第 60 min, B 组与 A 组相比差异不显著(P> 0.05), C、D 组与 A 组相比明显较高(P< 0.05), B 组心肌组织乳酸含量明显低于 C、D 组(P< 0.05), 见表 2。

2.4　心肌细胞内钙离子浓度([Ca^{2+}] i)

逆灌后恢复顺灌左心做功第 60 分钟, B 组与 A 组相比差异不显著(P> 0.05), C、D 组心肌细胞内钙与 A 组相比明显较高(P< 0.01), B 组明显低于 C、D 组(P< 0.05), 见表 3。

2.5　心肌细胞膜 ATPase 活性

逆灌后恢复顺灌左心做功第 60 min, B、C、D 组心肌细胞膜 Na^{+}-K^{+}-ATPase 活性与 A 组相比明显较低(P< 0.05)。C、D 组 Ca^{2+}-ATPase、Mg^{2+}-ATPase 活性明显降低(P< 0.05), B 组与 A 组相比无显著差异(P> 0.05)。B 组 ATPase 活性高于 C、D 组(P< 0.05), 见表 3。

2.6　心肌细胞膜丙二醛(MDA)含量

逆灌后 B、C、D 组丙二醛含量明显升高(P< 0.01), B 组明显低于 C、D 组(P< 0.01), 见表 3。

表 3　心肌细胞内钙离子浓度、心肌细胞膜 ATP 酶活性和膜 MDA 含量($\bar{x} \pm s$)

Tab 3　Content of intramyocyte free calcium, activity of myocardial cells membrane ATPase and MDA content of

Group	[Ca^{2+}] i (nmol/L)	ATPase(μmol·mg^{-1}·h^{-1})			MDA (nmol/ml)
		Na^{+}-K^{+}	Mg^{2+}	Ca^{2+}	
A(n=8)	110.00±14.16	38.20±3.14	8.86±1.37	7.77±1.44	1.55±0.71
B(n=8)	136.55±25.00 *#△△	28.20±2.42 *#△	7.83±1.97 #△	6.93±1.40 #△	4.13±1.54 *#△△
C(n=8)	210.42±10.30 *	23.81±2.90 *	6.07±1.25 *	4.39±0.72 *	8.63±2.72 *△
D(n=8)	250.14±16.38 *	21.03±1.32 *	6.28±0.80 *	3.61±0.58 *	11.92±1.78 *

*: P< 0.01 *vs* Group A;　#: P< 0.05,　##: P< 0.01 *vs* Group C;　△: P< 0.05,　△△: P< 0.01 *vs* Group D

3　讨论

心脏直视手术后的主要并发症之一是低心输出量综合征, 因此, 最大程度地恢复心脏功能是心肌保护的主要目的。我们的研究结果表明, 逆灌心脏不停跳心肌保护方法心功能恢复率高于温血和冷血逆灌心脏停跳。心肌酶谱是评价心肌损害程度的重要指标, 在本研究中, 常温氧合血逆灌心脏不停跳心肌酶漏出明显较低, 也就是说不停跳组心肌受损较轻。

较理想的灌注方法可以增加心肌的有效灌注、减

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

少灌注过程中酸性代谢产物的聚集和滞留。经冠状静脉窦逆行灌注心脏不停跳心肌灌注较充分，使心肌保持着较好的有氧代谢、酸碱和电解质平衡，酸性代谢产物比停搏组少，尤其比冷血停搏组少。不使用心脏停跳液，心脏不遭受停搏、高钾、中深度低温等的损害，最大程度地减轻了缺血缺氧损伤和再灌注损伤。膜酶功能得到较好的保护，对能量代谢和离子交换，尤其是钙离子的平衡影响小。我们的研究结果表明，心脏不停跳组心肌组织乳酸含量明低于温血停搏和冷血停搏组，这是停跳与不停跳的区别之一。

氧自由基生成及细胞内钙超载是心肌缺血再灌注损伤的重要机制。MDA 是观察氧自由基产生和造成膜损害的指标，在逆灌流量充分时，可使各层心肌组织较均匀地得到氧合血液供应。本实验不停跳组心肌细胞膜MDA 虽略有增高，但与停搏组相比明显较低。停搏组逆灌后恢复顺灌左心做功心肌细胞膜 MDA 和心肌细胞内 Ca^{2+} 含量大大增加，而不停跳组心肌细胞内 Ca^{2+} 只有轻度的升高，远低于各停搏组。

心肌细胞膜的损伤是心肌受损的重要环节，心肌细胞膜对载体介导通道、膜结合酶都有一定的作用[8]。心肌细胞膜MDA 蓄积可抑制膜酶（如 ATP 酶）活力[9]。我们发现，逆灌心脏不停跳心肌细胞膜酶功能得到了较好的保护，有效地维持了细胞内外离子平衡，特别是钙离子平衡，这对于减轻心肌细胞内钙超载，减轻缺血再灌注损伤具有重要作用。

参考文献：

[1] 肖颖彬，陈 林，王学锋，等. 浅低温体外循环心脏跳动中心内直视手术 1 032 例临床分析[J]. 第三军医大学学报，2001，23(5)：502－504.

[2] 陈 林，肖颖彬，王学锋，等. 先天性心脏病心脏停跳与不停跳心内直视手术的临床分析[J]. 第三军医大学学报，2000，22(11)：1 056－1 058.

[3] 刘 梅，肖颖彬，陈 林，等. 心脏停跳和不停跳瓣膜置换术体外循环效果比较[J]. 重庆医学，2000，29(3)：198－200.

[4] 刘晓莉，朱学敏，杜俊兰. 心脏停跳和不停跳下瓣膜置换术后观察与处理的对比分析[J]. 重庆医学，2000，29(3)：212－213.

[5] 李 靖，肖家思. 小哺乳动物心脏顺行性离体灌流技术[J]. 第三军医大学学报，1990，12(5)：424－426.

[6] Yorek M A，Davidson E P，Dunlap J A，*et al*. Effect of bradykinin on cytosolic calcium in neuroblastoma cells using the fluorescent indicator fluo-3 [J]. Biochimica et Biophysica Acta，1993，1 177(2)：215－220.

[7] Hall N C，Carney J M，Chen M S，*et al*. Ischemia/reperfusion-induced changes in membrane proteins and lipids of gerbil cortical synaptosomes[J]. Neuroscience，1995，64(1)：81－89.

[8] 刘金保，董传仁. 膜脂修饰与缺血/再灌注心肌的膜损伤[J]. 国外医学病理生理学与临床分册，1991，11(1)：176－179.

[9] 时安云. 心肌缺血与再灌注的病理生理[A]. 见：吴其夏 主编. 体液因素和血液循环病理生理学[M]. 北京：中国协和医科大学、北京医科大学联合出版社，1994.52－57.

（编辑 汪勤俭）

（上接 1207 页）

（88.3％）恢复正常，49 例下肢水肿的患者 41 例（83.7％）水肿消失。40 例重度（AHI≥50）患者经治疗后有 3 例降为中度（20≤AHI＜50），2 例降为轻度（5≤AHI≤20），35 例降为正常（AHI＜5），15 例中度、2 例轻度患者治疗后均恢复正常。另外，治疗后患者的体重有不同程度的降低。

表 1 57 例 **OSAS** 患者 **CPAP** 治疗前和治疗期间 **PSG** 参数的比较

	AHI（次/h）	OSA（次）	OSAT（s）	$LSaO_2$（％）
治疗前	48.64±11.04	218.22±90.09	32.47±4.67	80.57±5.71
治疗期间	5.59±4.40*	23.34±16.83*	13.52±3.08*	88.03±5.21*

*：$P<0.01$ 与治疗前比较

3 讨论

OSAS 是最常见的睡眠呼吸障碍性疾病，其发生系患者睡眠过程中上气道发生反复的可逆性阻塞导致反复呼吸暂停，严重者可出现缺氧和/或二氧化碳潴留，其主要特点是频发睡眠呼吸暂停、低通气引起的血氧饱和度下降和频繁觉醒，从而导致各脏器的缺氧及日间的不适症状。nCPAP 治疗是目前国内外应用最广泛、安全性最高的无创伤治疗手段[3]。nCPAP 是通过在呼吸过程中给气道内增加一定程度的正压，来保持上气道通畅，防止上气道发生塌陷和阻塞的机制治疗 OSAS。本组患者均整夜接受 nCPAP 呼吸机治疗，临床症状明显改善，患者睡眠后白天精神佳、无嗜睡，夜间尿频减少，下肢水肿消失，PSG 检测结果也改善明显，低通气及呼吸暂停明显减少（$P<0.01$），睡眠时最低血氧饱和度明显增加（$P<0.01$），本组多数患者的体重有不同程度的降低，是因为夜晚睡眠缺氧的改善，使白天嗜睡、乏力情况明显纠正，患者活动量增加，体重得以减轻；此外内分泌及代谢系统得到较好的恢复，激素分泌正常，也是体重减轻的原因。以上结果充分表明 CPAP 治疗 OSAS 患者效果明显。不足之处有：鼻咽干燥、鼻充血、局部皮肤反应等，通过加强护理及使用湿化器，可尽量避免不良反应的出现。

关键词：阻塞性睡眠；呼吸暂停综合征；经鼻持续气道正压通气治疗

中图法分类号：R56；R452 文献标识码：B

参考文献：

[1] White D P，Sleep-related breathing disorder. 2. Pathophysiology of obstructive sleep apnea[J]. Thorax，1995，50(7)：797.

[2] Hoffstine V，Philipson E A，Zamel N. Predicting nasal continuous positive airway pressure[J]. Am J Respir Crit Care Med，1994，150(4)：485.

[3] 张立强，黄席珍. 持续正压通气治疗阻塞性睡眠呼吸暂停综合征的进展[J]. 国外医学呼吸系统分册，1996，16(3)：128.

（编辑 郭建秀）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net