

自体冷血停跳液对婴幼儿心肌保护机制的研究

张青,孟保英,彭乐,王涛,马超,陶静

(深圳市儿童医院心血管中心,广东 深圳 518000)

[摘 要] 目的 研究婴幼儿心内直视手术灌注不同停跳液心肌细胞丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)的变化,探讨自体冷血停跳液对婴幼儿心肌保护的作用机制。方法 30 例非紫绀型先天性心脏病婴幼儿(体重≤8 kg),随机分为晶液体组、冷血组 and 自体冷血停跳液组,每组 10 例。分别于心脏停跳前、复跳后取右心耳心肌,检测心肌 MDA 和 SOD 含量。术中记录复跳时间、自动复跳率和室颤发生率。术后监测心脏指数(CI),正性肌力药物依赖情况。结果 术前 3 组 MDA 分别为(0.87±0.14)、(0.88±0.11)、(0.86±0.15)nmol/mg prot;SOD 分别为(61.3±3.4)、(69.2±3.1)、(64.4±4.2)U/g,差异无显著性($P>0.05$);同组术后与术前比较,MDA 明显升高,分别为(3.12±0.21)、(2.93±0.27)、(1.67±0.15)nmol/mg prot,SOD 明显降低(42.6±2.3)、(44.6±3.1)、(57.7±2.1)U/g,差异有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$);术后自体冷血组与晶液体组、冷血组冷血比较,MDA 含量降低,SOD 含量升高,复跳时间缩短,正性肌力药物依赖性降低,CI 升高,差异均有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$);晶液体组与冷血组比较,复跳时间、正性肌力药物依赖性及 CI 差异有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 自体冷血停跳液对婴幼儿心内直视手术心肌保护主要作用机制是降低心肌细胞氧自由基的产生。

[中国当代儿科杂志,2009,11(8):638-640]

[关键词] 自体冷血停跳液;氧自由基;心肌保护;体外循环;婴幼儿
[中图分类号] R54 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2009)08-0638-03

Myocardial protection of cold autoblood cardioplegia in infants with congenital heart disease

ZHANG Qing, MENG Bao-Ying, PENG Le, WANG Tao, MA Chao, TAO Jing. Heart Center, Shenzhen Children's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518000, China (Email: szzhangqing@126.com)

Abstract: Objective To study the effects of cold autoblood cardioplegia on oxygen free radicals in the myocardium in infants who underwent cardiopulmonary bypass and to explore the possible mechanism of myocardial protection of autoblood cardioplegia. **Methods** Thirty infants with acyanotic congenital heart disease (CHD) (weight≤8 kg) were randomized to receive cold crystalloid, cold blood or cold autoblood cardioplegia ($n=10$ each group) during cardiopulmonary bypass. The biopsy samples were taken from the right atrium just before heart arrest and after heart self-recovery for the measurement of malonaldehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) contents. The time and the rate of the heart self-recovery to sinus rhythm, and the incidence of ventricular fibrillation were recorded during operation. The cardiac index (CI) and the dependence of positive inotropic drugs were monitored after operation. **Results** Before the operation, there were no significant differences in myocardial MDA (0.87±0.14, 0.88±0.11 and 0.86±0.15 nmol/mg prot, respectively) and SOD contents (61.3±3.4, 69.2±3.1 and 64.4±4.2 U/g, respectively) among the crystalloid, the blood and the autoblood cardioplegia groups. After operation, the myocardial MDA content increased (3.12±0.21, 2.93±0.27 and 1.67±0.15 nmol/mg prot, respectively) and SOD content (42.6±2.3, 44.6±3.1 and 57.7±2.1 U/g, respectively) decreased significantly in the three groups ($P<0.05$ or 0.01). The autoblood cardioplegia group had lower myocardial MDA content and higher SOD content than the crystalloid and the blood cardioplegia groups ($P<0.05$). The time of heart self-recovery was shortened and the dependence of positive inotropic drugs were reduced in the autoblood cardioplegia group compared with the crystalloid and the blood cardioplegia groups ($P<0.05$). Post-operational CI in the autoblood cardioplegia group was significantly higher than that in the blood and the crystalloid cardioplegia groups. There were significant differences in the time of heart self-recovery, the dependence of positive inotropic drugs and the CI between the blood and the crystalloid cardioplegia groups ($P<0.05$ or 0.01). **Conclusions** Cold autoblood cardioplegia reduces oxygen free radicals in the myocardium, thus providing myocardial protections in infants undergoing cardiopulmonary bypass.

[Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (8):638-640]

Key words: Cold autoblood cardioplegia; Oxygen free radical; Myocardial protection; Cardiopulmonary bypass; Infant

[收稿日期]2008-12-05;[修回日期]2009-02-01
[基金项目]深圳市科委项目(JH200507120884A)。
[作者简介]张青,男,硕士,副主任医师。主攻方向:婴幼儿先天性心脏病。

心内直视手术灌注心脏停跳液使心脏停跳以达到心肌保护目的。20 世纪 50 年代 Melrose 等开始灌注晶体停跳液。近年来,有人开始灌注冷血停跳液。但上述停跳液均可引起冠状动脉内皮细胞、心肌细胞膜受损,同时大量的炎性介质和细胞因子释放,特别是氧自由基,导致心肌细胞损伤。但尚无自体血停跳液保护婴幼儿心肌的报道,本研究应用自体血停跳液取得良好的临床效果,并对自体血停跳液对未成熟心肌的保护作用的机制作了探讨。

1 资料和方法

1.1 临床资料

非紫绀型先天性心脏病(先心病)患儿 30 例,男 19 例,女 11 例;年龄 2 ~ 14 个月,平均(6.7 ± 3.2)个月,体重 3.6 ~ 8.0 kg,平均(6.2 ± 1.8)kg,其中室间隔缺损 2 例,室间隔缺损伴肺动脉高压 11 例,室间隔缺损伴房间隔缺损伴肺动脉高压 9 例,房间隔缺损 2 例,室间隔缺损伴卵圆孔未闭 6 例。随机将 30 例患儿(按使用停跳液种类)分为自体冷血组、冷血组和晶液体组,每组 10 例。主动脉阻断时间:晶液体组 22 ~ 41 min,平均(30.2 ± 5.8)min,冷血组 24 ~ 42 min,平均(32.7 ± 6.2)min,自体冷血组 27 ~ 45 min,平均(32.3 ± 7.1)min。体外循环时间:晶液体组 35 ~ 58 min,平均(41.2 ± 8.5)min,冷血组 31 ~ 62 min,平均(43.6 ± 7.9)min,自体冷血组 33 ~ 67 min,平均(42.1 ± 8.7)min。

1.2 停跳液制备及心肌保护

晶液体组:改良托马氏晶体停跳液;冷血组:体外循环开始后,经氧合器按血液:晶体 4:1 比例抽取停跳液;自体冷血组:体外循环开始前,经主动脉根部按血液:晶体 4:1 比例抽取停跳液。停跳液抽取后制成 4℃ 冷停跳液备用。所有患儿采用 JOSTRA 人工心肺机,POLYSTAN 膜式氧合器,全血预充,体外循环采用浅、中低温(25 ~ 32℃),血球压积 25% ~ 30%,升主动脉阻断后,主动脉根部灌注 4℃ 冷停跳液,晶体停跳液组首次剂量 10 mL/kg,血停跳液组首次剂量 30 mL/kg,灌注压力 40 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa),每间隔 30 min 重复一次,第二次灌注剂量减半。

1.3 检测方法及术中、术后监测

心脏停跳前、复跳后分别切右心耳心肌 0.06 ~ 0.13 g,迅速置 - 70℃ 冰箱保存。检测心肌细胞丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)含量,按说明书操作规程操作(试剂盒购于南京建成生物工程研

究所)。术中记录主动脉开放后至心脏复跳转为窦性节律时间(复跳时间)及复跳率。术后采用尼克-3000 无创血流动力检测系统动态监测心脏指数(CI)和正性肌力药物依赖情况等。

1.4 统计学方法

数据应用 SPSS 11.0 统计软件处理,数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组内差异和组间差异比较应用 *t* 检验,*P* < 0.05 为差异有显著性。

2 结果

术前 3 组之间比较:MDA 和 SOD 差异无显著性(*P* > 0.05)。同组术后与术前比较,MDA 含量明显升高,SOD 含量明显降低,差异有显著性(*P* < 0.05、*P* < 0.01);术后自体冷血组与晶液体组和冷血组比较,MDA 含量降低,SOD 含量升高,差异有显著性,复跳时间、正性肌力药物依赖性及 CI 差异亦有显著性(*P* < 0.05、*P* < 0.01)。晶液体组与冷血组比较:术前、术后 MDA 和 SOD 含量差异均无显著性(*P* > 0.05);复跳时间、正性肌力药物依赖性差异有显著性(*P* < 0.05),冷血组 CI 大于晶液体组。各组之间室颤发生率和自动复跳率差异无显著性(表 1 ~ 3)。

表 1 3 组手术前后心肌组织 MDA 和 SOD 的变化

组别	例数	MDA(nmol/mg prot)		SOD(U/g)	
		术前	术后	术前	术后
晶液体组	10	0.87 ± 0.14	3.12 ± 0.21 ^b	61.3 ± 3.4	42.6 ± 2.3 ^a
冷血组	10	0.88 ± 0.11	2.93 ± 0.27 ^a	69.2 ± 3.1	44.6 ± 3.1 ^a
自体冷血组	10	0.86 ± 0.15	1.67 ± 0.15 ^{a,c}	64.4 ± 4.2	57.7 ± 2.1 ^{a,c}

a:与同组术前比较,*P* < 0.05; b:*P* < 0.01; c:与晶液体组和冷血组比较,*P* < 0.05

表 2 3 组术前、术后各项指标的比较

组别	例数	复跳	室颤发生率	自动复跳率	正性肌力药物依赖
		时间(s)	例数(%)	例数(%)	例数(%)
晶液体组	10	182 ± 97	1(10)	10(100)	7(70)
冷血组	10	95 ± 41 ^c	0	10(100)	4(40) ^c
自体冷血组	10	52 ± 36 ^{a,b}	0	10(100)	1(10) ^{a,b}

a:与冷血组比较,*P* < 0.05; b:与晶液体组比较,*P* < 0.01; c:与晶液体组比较,*P* < 0.05

表 3 3 组术后各时点 CI(L/min · m²)的变化

组别	例数				
		30 min	12 h	24 h	48 h
晶液体组	10	2.6 ± 0.8	2.6 ± 0.3	3.0 ± 0.7	3.9 ± 0.7
冷血组	10	2.7 ± 0.6	3.0 ± 0.7	3.4 ± 0.9	4.1 ± 0.6
自体冷血组	10	3.5 ± 1.1	3.6 ± 0.9	3.8 ± 0.8	4.3 ± 0.7

3 讨论

心内直视手术机体处于一种非生理状态,可导致心肌代谢障碍、缺血再灌注损伤为主的病理生理改变,在此过程中产生的氧自由基是造成心肌损伤的主要因素^[1]。

近年来研究表明,氧自由基可以引起细胞膜脂质过氧化,形成大量降解产物MDA,使得正常的膜结构受到破坏,通透性增高;直接攻击核酸,使DNA、RNA交链断裂;抑制前列环素合成酶,激活血小板环化酶,生成大量的血栓素A₂;使肌浆网钙依赖性ATP失活,肌浆网摄钙能力下降,肌浆内钙离子浓度升高,兴奋收缩偶联受损等,引起心肌损伤^[2,3]。SOD可以清除体内的氧自由基,因此SOD的高低可以反映机体清除氧自由基的能力。

本研究发现,术后各组心肌组织MDA明显升高、SOD明显降低,说明体外循环后产生大量氧自由基,其原因可能是:①体外循环可直接激活中性粒细胞,产生氧自由基^[4];②体外循环中在开放升主动脉和复温心肺再灌注时,一方面损伤的内皮细胞和巨噬细胞可产生氧自由基,另一方面心肌缺血后再灌注时,细胞膜脂质过氧化过程也可产生氧自由基;③体外循环中创伤的红细胞有可能发生脂质过氧化反应,是产生氧自由基的潜在来源^[5]。晶体、冷血停跳液组MDA升高、SOD下降更为明显,复跳时间更长,正性肌力药物依赖更强,CI较低,说明晶体、冷血停跳液组心肌组织内氧自由基更多,心肌细胞损伤更严重,可能是由于心肌停跳后心脏的血液供应停止,心肌供氧中断,心肌细胞有氧代谢停止,但是心脏停跳后心肌能量消耗仍然存在,晶体停跳液不能提供氧及营养物质,晶体渗透压和胶体渗透压失衡,心肌细胞更容易水肿,直接造成心肌细胞损伤^[6]。异体冷血停跳液虽然可以提供氧及代谢底物,如葡萄糖、脂肪酸等,增加缺血心肌的氧供^[7],但是异体冷血停跳液是在体外循环后经氧合器管道抽取,由于氧合器内预充了大量的血浆、库血等预充液,体外循环后血液与管道及氧合器等生物材料接触,释放出大量细胞因子如白细胞介素、血小板和肿瘤坏死因子等;同时补体系统被激活,释放出过敏毒素C3a和C5a,C3a和C5a进一步加重白细胞的黏附和氧自由基的释放^[8]。灌注含有大量氧自由基、白细胞介素、各种细胞因子和细胞毒素的含血停跳液,可引起心肌细胞损伤。自体冷血停跳液是在体外循环前经主动脉抽取的动脉血,其血液成分没有

被破坏,其内含有大量的氧合血红蛋白及溶解氧,还有丰富的葡萄糖、乳酸、游离脂肪酸等能量底物,为满足心肌有氧代谢和无氧酵解提供物质基础^[9]。此外,自体冷血停跳液中的胶体缓冲系统、电解质均正常,有利于维持心肌细胞内离子,尤其是钙离子的正常分布以及酸碱平衡等内环境稳定;自体冷血停跳液未与管道及氧合器等生物材料接触,其内不含有活化的中性粒细胞、各种细胞因子、细胞毒素和氧自由基等;自体冷血停跳液中红细胞未被破坏,红细胞产生的SOD、过氧化氢酶等内源性氧自由基清除剂,对消除氧自由基等有害物质有一定作用^[10]。

我们认为,自体冷血停跳液可以减轻心肌细胞内氧自由基的产生,是自体冷血停跳液对心肌保护作用的重要机制。

[参 考 文 献]

[1] 董礼文,都欣毅,杨勇,叶芄. 体外循环中应用中低温含血停跳液诱导停跳的心肌保护作用[J]. 浙江临床医学, 2003, 5(12):895-896.

[2] Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J, Musial WJ. Oxidative stress and neutrophil activation-the two keystones of ischemia/reperfusion injury [J]. Int J Cardiol, 2002, 86(1):41-59.

[3] Tabet F, Savoia C, Schiffrin EL, Touyz RM. Differential calcium regulation by hydrogen peroxide and superoxide in vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2004, 44(2):200-208.

[4] Hoffman JW Jr, Gilbert TB, Poston RS, Silldorff EP. Myocardial reperfusion injury: etiology, mechanism, and therapies [J]. J Extra Corpor Technol, 2004, 36(4):391-411.

[5] Belboul A, Roberts D, Börjesson R, Johnsson J. Oxygen free radical generation in healthy blood donors and cardiac patients; the protective effect of allopurinol [J]. Perfusion, 2001, 16(1):59-65.

[6] Nordlie MA, Wold LE, Simkhovich BZ, Sesti C, Kloner RA. Molecular aspects of ischemic heart disease: ischemia/reperfusion-induced genetic changes and potential applications of gene and RNA interference therapy [J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2006, 11(1):17-30.

[7] Chen YF, Lin YT. Comparison of blood cardioplegia to electrolyte cardioplegia on the effectiveness of preservation of right atrial myocardium; mitochondrial morphometric study [J]. Ann Thorac Surg, 1985, 39(2):134-138.

[8] Boyle EM Jr, Pohlman TH, Johnson MC, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the systemic inflammatory response [J]. Ann Thorac Surg, 1997, 63(1):277-284.

[9] Toyoda Y, Yamaguchi M, Yoshimura N, Oka S, Okita Y. Cardioprotective effects and the mechanisms of terminal warm blood cardioplegia in pediatric cardiac surgery [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2003, 125(6):1242-1251.

[10] 吴歆,王斌,顾熊飞. 人红细胞保护蛋白对羟基自由基的清除作用 [J]. 中国生化药物杂志, 2004, 25(5):297-299.

(本文编辑:徐福兰)