

甲泼尼龙琥珀酸钠对窒息型大鼠复苏后早期的心功能影响

朱旻婕 李 响 方唯一

【摘要】 目的:探讨甲泼尼龙琥珀酸钠(甲强龙)对窒息大鼠模型心肺复苏后早期心功能的影响及机制。 方法:45 只 SD 大鼠,雌雄不拘,分为对照组、常规复苏组(常规复苏+肾上腺素 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)和甲强龙组(常规复苏+肾上腺素 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ + 甲强龙 1.8 mg/kg)。对窒息大鼠模型进行心肺复苏,记录平均动脉压(MAP)、左心室收缩压(LVSP)和左心室舒张末压(LVEDP)的变化,ELISA 法检测大鼠心脏组织中肾上腺素能 α_1 受体和 β_1 受体水平。 结果:在心肺复苏自主循环恢复(ROSC)30 min 后,与对照组比较,常规复苏组及甲强龙组大鼠的 MAP 和 LVSP 均有明显下降(P 均 <0.05);在 ROSE 后 0、15 min 时,常规复苏组及甲强龙组 LVEDP 与对照组相比有显著性差异(P 均 <0.05)。甲强龙组 MAP 在 ROSC 后 60、120 min 时, LVSP 在 ROSC 后 30、60、120 min 时均显著高于常规复苏组(P 均 <0.05)。心肺复苏后,甲强龙组与对照组、常规复苏组比较,心脏组织中肾上腺素能 α_1 受体和 β_1 受体水平均明显升高(P 均 <0.05)。 结论:甲强龙可提高心肺复苏后心脏组织内肾上腺素能 α_1 受体和 β_1 受体含量,有利于心肺复苏后 MAP 和 LVSP 的稳定。

【关键词】 心肺复苏;心功能不全;甲泼尼龙琥珀酸钠

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2017.01.007

Effects of methylprednisolone on myocardial function at early stage of resuscitation in the rats model of asphyxia ZHU Minjie¹, LI Xiang², FANG Weiyi¹. 1. Department of Cardiology, Shanghai Chest Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030; 2. Intensive Care Unit, Minhang Central Hospital, Shanghai 201199, China

【Abstract】 **Objective:** To investigate the effects and mechanism of methylprednisolone on myocardial function at early stage of resuscitation in the rats model of asphyxia. **Methods:** A total of 45 health SD rats were randomly divided into the control group, conventional resuscitation group (routine resuscitation + epinephrine 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and methylprednisolone group (routine resuscitation + epinephrine 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ + methylprednisolone 1.8 mg/kg). Hemodynamic indexes of mean arterial pressure (MAP), left ventricular systolic pressure (LVSP) and left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP) were collected to estimate myocardial function. The levels of α_1 and β_1 adrenoreceptors in the cardiac tissue were detected by ELISA. **Results:** At 30min, 60 min and 120 min after recovery of spontaneous circulation (ROSC), the MAP and LVSP of conventional resuscitation group and methylprednisolone group were significantly decreased compared with the control group (all $P<0.05$). The LVDEP of conventional resuscitation group and methylprednisolone group were significantly higher than that of the control group at 0 min and 15 min after ROSC (all $P<0.05$). However, the MAP of methylprednisolone group was significantly higher than that of conventional resuscitation group at 60 min

基金项目:上海市科委课题(13ZR1436500);上海市卫计委面上项目(21024063)

作者单位:200030 上海交通大学附属胸科医院心内科(朱旻婕,方唯一);201199 上海市闵行区中心医院重症监护室(李 响)

通信作者:方唯一,Email:fwychest@163.com

and 120 min after ROSC (both $P < 0.05$). The LVSP of methylprednisolone group was significantly higher than that of conventional resuscitation group at 30min, 60min and 120min after ROSC (all $P < 0.05$). The levels of α_1 and β_1 adrenoreceptors in the cardiac tissue of methylprednisolone group were significantly increased compared with the control group and conventional resuscitation group after cardiopulmonary resuscitation (all $P < 0.05$). **Conclusion:** The methylprednisolone can increase the levels of the α_1 and β_1 adrenoreceptors in the cardiac tissue, which is beneficial to the stabilization of MAP and LVSP after cardiopulmonary resuscitation.

【Key words】 Cardiopulmonary resuscitation; Myocardial dysfunction; Methylprednisolone

心肺复苏后心功能不全是引起复苏成功后死亡的主要原因之一^[1]。肾上腺素虽可提高现场心肺复苏自主循环恢复 (return of spontaneous circulation, ROSC), 但可加重复苏后心力衰竭进而影响预后。改善复苏后心功能不全、提高复苏后患者出院率是目前研究重点^[2-5]。研究发现, 复苏后出现肾上腺功能不全与心脏骤停患者的死亡率存在一定相关性^[6-9]。心肺复苏中给予外源性糖皮质激素是否可以改善复苏后心功能不全、提高心肺复苏的成功率和存活率值得探讨。本研究通过对窒息型大鼠进行心肺复苏, 观察甲泼尼龙琥珀酸钠(甲强龙)对复苏后早期大鼠心功能指标和肾上腺素能受体水平的影响, 探讨甲强龙对心肺复苏后心功能不全的作用机制, 为临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

盐酸肾上腺素注射液, 国药集团化学试剂有限公司; 甲强龙注射液, 美国辉瑞制药有限公司, 40 mg/支, 批号 L26807; 肾上腺素能 α_1 受体和 β_1 受体 ELISA 试剂盒, 上海信裕生物科技有限公司; ML830 型 PowerLab 数据采集分析系统, 澳大利亚埃德仪器有限公司; BL-420K 型多导联生理实验记录仪, 成都泰盟科技有限公司。

1.2 实验动物与分组

健康成年 SD 大鼠 45 只, 雌雄不拘, 体质量 (250 ± 20) g, 购于上海西普尔必凯实验动物有限公司, 实验动物许可证号为 SCXK(沪)2013-0016。大鼠随机分为 3 组, 每组 15 只。对照组: 麻醉后手术插管, 不窒息; 常规复苏组: 麻醉后手术插管、窒息, 在心肺复苏同时单次静脉注射肾上腺素 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$; 甲强龙组: 麻醉后手术插管、窒息, 在心肺复苏的同时单次经静脉注射肾上腺素 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ + 甲强龙 $1.8 \text{ mg}/\text{kg}$ 。大鼠术前 1 d 晚上禁食, 允许自由饮水, 维持体温正常。

1.3 动物模型制备及心功能指标检测

腹腔注射 25% 乌拉坦 $1.25 \text{ g}/\text{kg}$ 麻醉大鼠后, 将大鼠仰卧位固定于鼠板, 将舌牵出以防止舌后坠引起窒息。针状电极插入四肢皮下检测心电图。分离左侧股动、静脉, 插入充满肝素 ($100 \text{ U}/\text{mL}$) 的自制动、静脉导管, 动脉导管用于检测动脉血压, 静脉导管用于静脉给药; 分离右侧颈总动脉, 插入自制心导管。动脉导管和心导管连接压力换能器, 针状电极连接生物电放大器, 压力换能器和生物电放大器经 PowerLab 与电脑相连, 实时显示心电波形、动脉压力波形、平均动脉压 (MAP)、左心室收缩压 (LVSP) 和左心室舒张末压 (LVEDP)。缓慢推进心导管, 到达主动脉瓣口时轻轻转动导管, 当动脉压力波型突然变成标准的心室内方波时表示导管进入左心室, 固定导管。动物稳定 15 min 后记录 MAP、LVSP 和 LVEDP 变化, 作为基础值。夹闭常规复苏组和甲强龙组大鼠气管导管使其窒息, 心脏骤停后行心肺复苏及静脉给药, 人工胸外心脏按压频率 $160 \sim 200 \text{ 次}/\text{min}$, 幅度 $2 \sim 3 \text{ cm}$, 连续呼吸机辅助呼吸频率为 $70 \text{ 次}/\text{min}$, 潮气量 $6 \sim 8 \text{ mL}$, 至出现 ROSE, 即自主心律恢复、四肢末端口鼻黏膜紫绀明显改善, 于 ROSC 后 0、15、30、60、120 min 重复测量 MAP、LVSP、LVEDP。对照组动物不窒息, 记录基础值, 再稳定 4 min 后记录 MAP、LVSP 和 LVEDP 作为 0 min 测量值, 依次记录 15、30、60、120 min 测量数据。

1.4 肾上腺素能 α_1 受体和 β_1 受体水平检测

所有操作、数据采集完成后, 对照组大鼠进行气管夹管使其窒息, 解剖大鼠取心脏, 常规复苏组及甲强龙组大鼠直接解剖取心脏。对心脏组织进行匀浆, 低温离心后取上清液, ELISA 法检测肾上腺素能 α_1 受体和 β_1 受体水平。

1.5 统计学处理

采用 GraphPad Prism 5.0 软件对数据进行统计学分析, 实验数据均以均数 \pm 标准差表示, 组间比较采用单因素方差分析, 组内比较采用非配对 t 检

验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

45 只大鼠共存活 36 只, 死亡 9 只。其中对照组 2 只死于麻醉意外; 常规复苏组 2 只死于麻醉意外, 2 只在复苏后 60 min 后死亡; 甲强龙组 1 只大鼠未复苏成功, 2 只大鼠在复苏后 60 min 后死亡。后续数据中不包括死亡大鼠。

2.1 各组 MAP、LVSP、LVEDP 测量结果

各组间 MAP、LVSP 和 LVEDP 基础值无统计学差异。各组间 MAP 和 LVSP 在 ROSE 0、15 min

时无统计学差异, 但在 ROSE 30 min 后常规复苏组和甲强龙组 MAP 和 LVSP 呈下降趋势, 与对照组比较有显著性差异 (P 均 <0.05); 在 ROSE 60 min 及 120 min 时甲强龙组 MAP 显著高于常规复苏组 (P 均 <0.05), 在 ROSE 30 min 后各时间点甲强龙组 LVSP 显著高于常规复苏组 (P 均 <0.05)。常规复苏组和甲强龙组 LVEDP 仅在 ROSE 0、15 min 时与对照组相比有显著性差异 (P 均 <0.05), 甲强龙组 LVEDP 在 ROSE 后各时间点与常规复苏组相比无显著性差异。见表 1。

表 1 各组大鼠心肺复苏后心功能指标的变化/mmHg

心功能指标	复苏后时间	对照组	常规复苏组	甲强龙组
MAP	基础值	104.5 ± 3.0	116.6 ± 4.1	108.4 ± 3.8
	0 min	105.2 ± 2.8	106.0 ± 5.3	103.3 ± 4.2
	15 min	104.4 ± 2.9	105.7 ± 5.4	103.7 ± 4.6
	30 min	102.1 ± 2.8	91.0 ± 6.3 ⁽¹⁾	89.0 ± 4.0 ⁽²⁾
	60 min	95.2 ± 2.7	80.4 ± 7.7 ⁽²⁾	90.1 ± 3.4 ⁽²⁾⁽³⁾
	120 min	96.1 ± 3.0	71.4 ± 6.2 ⁽²⁾	81.1 ± 4.2 ⁽²⁾⁽³⁾
LVSP	基础值	149.9 ± 4.4	157.4 ± 6.7	158.2 ± 3.5
	0 min	149.6 ± 4.2	149.2 ± 5.3	146.8 ± 6.3
	15 min	148.6 ± 4.0	137.1 ± 6.1	137.0 ± 5.7
	30 min	147.0 ± 4.1	121.9 ± 6.4 ⁽¹⁾	127.1 ± 4.2 ⁽²⁾⁽³⁾
	60 min	140.2 ± 3.8	107.9 ± 6.5 ⁽²⁾	128.2 ± 4.1 ⁽²⁾⁽³⁾
	120 min	136.3 ± 2.0	97.4 ± 3.5 ⁽²⁾	116.7 ± 2.8 ⁽²⁾⁽³⁾
LVEDP	基础值	-8.6 ± 1.4	-7.7 ± 3.0	-8.3 ± 1.9
	0 min	-9.3 ± 1.0	-3.4 ± 2.0 ⁽¹⁾	-4.3 ± 3.3 ⁽¹⁾
	15 min	-9.5 ± 1.0	-5.3 ± 3.8 ⁽¹⁾	-4.9 ± 3.6 ⁽¹⁾
	30 min	-8.9 ± 1.0	-6.2 ± 1.3	-6.1 ± 1.6
	60 min	-8.2 ± 0.8	-6.8 ± 1.6	-6.5 ± 1.5
	120 min	-6.4 ± 1.8	-5.8 ± 2.0	-6.4 ± 2.5

注: 与对照组比较, ⁽¹⁾ $P<0.05$, ⁽²⁾ $P<0.01$; 与常规复苏组比较, ⁽³⁾ $P<0.05$

2.3 各组肾上腺素能 α1 受体和 β1 受体水平的比较

甲强龙组大鼠心肺复苏后心脏肾上腺素能 α1 受体和 β1 受体水平较常规复苏组及对照组均显著升高 ($P<0.05$)。

表 2 各组大鼠心肺复苏后心脏肾上腺素能受体水平的变化/ $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$

组别	肾上腺素能 α1 受体	肾上腺素能 β1 受体
对照组	37.02 ± 0.98	106.51 ± 2.34
常规复苏组	38.10 ± 0.72	118.73 ± 19.80
甲强龙组	42.04 ± 0.99 ⁽¹⁾⁽³⁾	132.34 ± 2.03 ⁽²⁾⁽⁴⁾

注: 与对照组比较, ⁽¹⁾ $P<0.05$, ⁽²⁾ $P<0.01$; 与常规复苏组比较, ⁽³⁾ $P<0.05$, ⁽⁴⁾ $P<0.01$

3 讨论

肾上腺素是治疗心脏骤停的首选药物^[2-3], 其主要通过与肾上腺素能受体作用升高动脉舒张压, 维持心肌收缩力, 提高心率、心肌兴奋性及血流灌注, 从而改善 ROSC, 提高心肺复苏存活率^[10]。

本研究结果显示应用甲强龙能提高窒息型大鼠心肺复苏后心肌肾上腺素能 α1 受体和 β1 受体水平。心脏骤停后垂体-下丘脑-肾上腺轴被抑制, 肾上腺皮质功能减退^[11], 肾上腺皮质激素分泌减少, 在心肺复苏过程中外源性补充糖皮质激素可能改善肾上腺皮质功能减退。在心脏骤停后早期, 机体产生大量内源性儿茶酚胺, 持续刺激肾上腺素能受体, 甲强龙可使受体敏感性得以改善^[12]。

本研究发现甲强龙可以改善复苏后心肌收缩功能,提高 MAP 和 LVSP 水平,可能的原因包括:(1)糖皮质激素能诱导肾上腺素能基因的转录和表达,增强儿茶酚胺介导的血管平滑肌收缩^[13];(2)复苏后缺血再灌注损伤导致活性氧产生,心肌功能障碍与氧自由基破坏细胞磷脂膜上的关键蛋白以及线粒体生物膜结构相关,而糖皮质激素可通过抗氧化作用维持细胞膜稳定^[14-15];(3)炎症反应激活的级联反应导致复苏后心肌功能障碍,细胞因子白细胞介素-1(IL-1)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)通过抑制肾上腺素能 β 受体引起心肌收缩功能减退^[16],而糖皮质激素可抑制促炎性因子及白细胞黏附^[17],从而改善心肌收缩功能。

本研究存在一定局限性。实验终点为 ROSE 后 120 min,观测时间相对较短,欠缺对长期生存影响的研究;实验使用乌拉坦为麻醉剂,对呼吸及循环虽无明显抑制作用^[18],但有研究显示乌拉坦对心脏缺血再灌注有一定保护作用^[19],可能提高了实验动物的总体生存率,对实验结果有一定影响。

总之,心肺复苏中甲强龙可以上调心脏组织中肾上腺素能 α_1 受体和 β_1 受体的表达,有利于稳定 MAP 和血流动力学,提高心肌收缩力。

参 考 文 献

- [1] Arrich J, Sterz F, Herkner H, et al. Total epinephrine dose during asystole and pulseless electrical activity cardiac arrests is associated with unfavourable functional outcome and increased in-hospital mortality[J]. Resuscitation, 2012, 83 (3):333-337.
- [2] Penson PE, Ford WR, Broadley KJ. Vasopressors for cardiopulmonary resuscitation. Does pharmacological evidence support clinical practice? [J]. Pharmacol Ther, 2007, 115(1):37-55.
- [3] Eng Hock Ong M, Chan YH, Anantharaman V, et al. Cardiac arrest and resuscitation epidemiology in Singapore (CARE I study)[J]. Prehosp Emerg Care, 2003, 7(4): 427-433.
- [4] Arntz HR, Breckworldt J. Cardiac resuscitation:Epinephrine to treat cardiac arrest-a double-edge sword[J]. Nat Rev Cardiol, 2012, 9(7):380-382.
- [5] Papastilianou A, Mentzelopoulos S. Current pharmacological advances in the treatment of cardiac arrest[J]. Emerg Med Int, 2012, 2012: 815857.
- [6] Foley PJ, Tacker WA, Wortsman J, et al. Plasma catecholamine and serum cortisol responses to experimental cardiac arrest in dogs[J]. Am J Physiol, 1987, 253(3 Pt 1): E283-289.
- [7] Schultz CH, Rivers EP, Feldkamp CS, et al. A characterization of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function during and after human cardiac arrest[J]. Crit Care Med, 1993, 21(9):1339-1347.
- [8] Ito T, Saitoh D, Takasu A, et al. Serum cortisol as a predictive marker of the outcome in patients resuscitated after cardiopulmonary arrest [J]. Resuscitation, 2004, 62 (1): 55-60.
- [9] Chalkias A, Xanthos T. Post-cardiac arrest syndrome: Mechanisms and evaluation of adrenal insufficiency [J]. World J Crit Care Med, 2012, 1(1):4-9.
- [10] Bernstein D, Fajardo G, Zhao M, et al. The role of β -adrenergic receptor in heart failure; differential regulation of cardiotoxicity and cardioprotection[J]. Prog Pediatr Cardiol, 2011, 31(1): 35-38.
- [11] Schultz CH, Rivers EP, Feldkamp CS. A characterization of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function during and after human cardiac arrest[J]. Crit Care Med, 1993, 21(9):1339-1347.
- [12] 武建军, 李利华, 张颖丽, 等. 大鼠心肺复苏前后心脏和肾脏的 α_1 肾上腺素能受体变化[J]. 中华危重病急救医学, 1998, 10(7):386-389.
- [13] Sakave M, Hoffman BB. Glucocorticoids induce transcription and expression of the alpha 1B adrenergic receptor gene in DTT1 MF-2 smooth muscle cell[J]. J Clin Invest, 1991, 88 (2):385-389.
- [14] Nayler WG, Fassold E, Yezpe C. Pharmacological protection of mitochondrial function in hypoxic heart muscle: effect of verapamil, propranolol, and methylprednisolone [J]. Cardiovasc Res, 1978, 12 (3):152-161.
- [15] Spath Jr JA, Jane DL, Lefer AM. Protective action of methylprednisolone on myocardium during experimental myocardial ischemia in the cat[J]. Circ Res, 1974, 35(1): 44-51.
- [16] Cain BS, Meldrum DR, Dinarello CA, et al. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta synergistically depress human myocardial function[J]. Crit Care Med, 1999, 27(2): 1309-1318.
- [17] Skyschally A, Haude M, Drge H, et al. Glucocortico pretreatment prevents progressive myocardial dysfunction resulting from experimental coronary microembolization[J]. Circulation, 2004, 109 (19): 2337-2342.
- [18] Koblin DD. Urethane: help or hindrance? [J]. Anesth Analg, 2002, 94(2):241-242.
- [19] Jin Z, Wu T, Bi S, et al. Myocardial protective effect of urethane on isolated rat hearts in prolonged hypothermic preservation [J]. Heart Surg Forum, 2009, 12 (6): E316-319.

(收稿:2016-07-21 修回:2016-12-01)

(本文编辑:胡晓静)