

· 论著 ·

4℃生理盐水诱导低温对猪心搏骤停
复苏后肾脏的影响

韩奕 李春盛

【摘要】 目的 探讨 4℃生理盐水诱导的低温状态对心搏骤停(CA)复苏后肾脏的影响。**方法** 将猪致心室纤颤(VF)4 min 后给予标准心肺复苏(CPR),按随机数字表法将自主循环恢复(ROSC)猪分为两组($n=5$),低温组给予 4℃生理盐水,以 $1.33 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度持续静脉泵入 22 min 后以 $10 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度维持 4 h;常温组同法给予常温生理盐水。于 CA 前基础状态和 ROSC 后各时间点监测血流动力学、氧代谢指标;取血检测血清尿素氮(BUN)和肌酐(Cr);于 ROSC 后 24 h 处死动物取肾脏组织,检测 ATP 酶活性,并于光镜及电镜下观察组织学改变。**结果** 4℃生理盐水持续静脉泵入可使中心体温较基础状态最多下降 1.5℃,心排血量有所降低,对 ROSC 后心率、平均动脉压和冠状动脉灌注压无明显影响,而氧摄取率较常温组降低。常温组 ROSC 2 h、4 h BUN(mmol/L)和 Cr($\mu\text{mol/L}$)均较 CA 前明显升高(BUN: 3.80 ± 0.79 、 4.12 ± 0.85 比 3.11 ± 0.48 , Cr: 94.43 ± 18.25 、 94.15 ± 14.03 比 79.70 ± 16.03 , 均 $P < 0.05$);低温组无明显变化,与常温组比较差异也无统计学意义。低温组 ROSC 24 h 肾脏 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP 酶}$ ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)、 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATP 酶}$ ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)活性虽较常温组下降,但差异无统计学意义(1.278 ± 0.664 比 3.190 ± 0.789 , 1.727 ± 0.772 比 2.630 ± 0.816 , 均 $P > 0.05$)。与常温组相比,低温组肾脏组织损伤程度明显减轻,且线粒体结构完整。**结论** CPR 后持续快速静脉泵入 4℃生理盐水可在短时间内造成机体亚低温环境,维持复苏后血流动力学及氧代谢稳定,对肾脏有一定的保护作用。

【关键词】 低温; 心搏骤停; 心肺复苏; 肾脏; 组织学

Influence on kidney after resuscitation of heart arrest due to hypothermia induced by 4℃ normal saline in pig HAN Yi, LI Chun-sheng. Department of Emergency, Beijing Chaoyang Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100020, China

Corresponding author: LI Chun-sheng, Email: lscsyty@163.com

【Abstract】 Objective To assess the effects of hypothermia state induced by 4℃ normal saline (NS) on kidney after successful cardiopulmonary resuscitation (CPR) in pig. **Methods** After the induction of a 4-minute ventricular fibrillation (VF) in pigs, standard CPR was performed, and then the surviving pigs were divided into two groups: hypothermia group ($n=5$) with 4℃ NS continuous infusion at the speed of $1.33 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ for 22 minutes, and then the speed was slowed down to $10 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ and maintaining for 4 hours; the normal temperature group ($n=5$) with infusion of NS of normal temperature with the same speed as that of the hypothermia group. The hemodynamic parameters and oxygen metabolism were monitored before CA and also at different time points after recovery of spontaneous circulation (ROSC). Blood samples were collected to determine the serum urea nitrogen (BUN) and creatinine (Cr). The animals were sacrificed, and the kidneys were collected to determine the ATPase activity, as well as the histological changes with both light and electron microscopy at 24 hours after ROSC. **Results** Continuous infusion of 4℃ NS could lower the central temperature by no more than 1.5℃, with a little lowering of cardiac output, without obvious changes in heart rate, mean arterial pressure and coronary perfusion pressure, but the oxygen extraction rate was decreased compared with that of the normal temperature group. Serum BUN (mmol/L) and Cr ($\mu\text{mol/L}$) at 2 hours and 4 hours of ROSC in the normal temperature group were higher than those before CA (BUN: 3.80 ± 0.79 , 4.12 ± 0.85 vs. 3.11 ± 0.48 ; Cr: 94.43 ± 18.25 , 94.15 ± 14.03 vs. 79.70 ± 16.03 , all $P < 0.05$), and the levels in hypothermia group showed no significant changes compared with those of normal temperature group. The activities of renal $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) and $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) at 24 hours after ROSC in the hypothermia group were lower than those in the normal temperature group, but without significant difference (1.278 ± 0.664 vs. 3.190 ± 0.789 , 1.727 ± 0.772 vs. 2.630 ± 0.816 , both $P > 0.05$). Compared with the normal temperature group, there were less cellular edema, necrosis and inflammatory cells infiltration in the hypothermia group, and the mitochondria appeared normal. **Conclusion** 4℃ NS continuous infusion after CPR could quickly create a hypothermia state, and the hemodynamics and oxygen metabolism were maintained, thus protecting the kidney.

【Key words】 Hypothermia; Cardiac arrest; Cardiopulmonary resuscitation; Kidney; Histology

DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2013.02.006

基金项目:国家自然科学基金项目(30972863)

作者单位:100020 首都医科大学附属北京朝阳医院急诊科

通信作者:李春盛,Email:lscsyty@163.com

心搏骤停(CA)心肺复苏(CPR)后常伴有肾功能不全,约有 12%进展为急性肾衰竭(ARF),其中 8%需行肾脏替代治疗(RRT)^[1-2]。目前动物和临床

研究均已证实,亚低温对 CPR 后保护脑功能、改善神经功能预后有一定作用^[3-4],但是否会对肾脏同样产生保护作用,文献报道尚少。为此,本研究中在心室纤颤(VF)猪经 CPR 后快速持续灌注 4℃生理盐水诱导及维持亚低温状态,观察血流动力学、氧代谢、肾功能、酶学及组织形态学的变化,为自主循环恢复(ROSC)后应用低温盐水保护肾功能提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物准备:北京长白猪 12 只,雌雄不限,体重质量(28 ± 2) kg,由首都医科大学动物实验室提供。2 mg/kg 丙泊酚诱导麻醉,静脉注射 3%戊巴比妥维持麻醉。气管插管接呼吸机,潮气量 15 ml/kg,通气频率 12 次/min,呼气末二氧化碳分压($P_{ET}CO_2$) 35~40 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)。

1.2 VF 模型诱导:左颈内静脉放置双极临时起搏电极,按文献[5]的程控刺激法复制 VF 模型。VF 判断标准:心电图出现 VF 波形,动脉血压迅速下降接近于 0。诱发 VF 时停止机械通气,维持 VF 4 min^[6]。

1.3 CPR:VF 4 min 后进行 2 min 胸外按压,频率 100 次/min,同时进行呼吸机辅助通气,应用间歇正压通气(IPPV)模式,潮气量 15 ml/kg,吸入氧浓度(FiO_2)1.00,按压通气比为 30:2。复苏 2 min 后若未出现 ROSC 则进行 150 J 电除颤 1 次,每隔 2 min 除颤 1 次,直至出现 ROSC。以动脉收缩压(SAP)≥80 mm Hg,持续 5 min 作为复苏成功的标志;若复苏 15 min 后仍未出现 ROSC 则判定为死亡。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.4 实验分组:将 ROSC 动物按随机数字表法分为两组。低温组于 ROSC 后持续静脉泵入 4℃生理盐水 $1.33 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 22 min,再以 $10 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度维持 4 h^[7]。常温组同样方法给予常温生理盐水持续灌注并维持。

1.5 测量数据及方法:右颈外静脉置入中心静脉导管测量右心房压力;右股动脉置入血管造影用导管测量主动脉血压;左股静脉置入 Swan-Ganz 导管连接监测仪监测血流动力学。两组动物均监测生命体征 4 h,于 CA 前的基础状态和 ROSC 0、10、30 min 及 1、2、3、4 h 8 个时间点记录血流动力学参数并计算氧代谢指标。复苏后 24 h 的动物静脉注射过量戊巴比妥处死备检。

1.5.1 血流动力学参数及氧代谢指标监测:心排血量(CO)、中心体温(T);主动脉收缩压(AOS)、主动脉舒张压(AOD);右心房收缩压(RAS)、右心房舒张压(RAD)。计算冠状动脉灌注压(CPP)、平均动脉压

(MAP)、体循环阻力(SVR)、肺循环阻力(PVR)、氧输送量(DO_2)、氧耗量(VO_2)、氧摄取率(O_2ER)。

1.5.2 血液指标测定:CA 前及 ROSC 2 h 和 4 h 3 个时间点抽取股动静脉血、混合静脉血进行血气分析及血清尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)检测。

1.5.3 组织指标测定:在 ROSC 后 24 h 将猪处死取右肾组织,检测 Na^+-K^+-ATP 酶、 $Ca^{2+}-ATP$ 酶;光镜下观察肾组织病理学改变,H-600 透射电镜下观察肾组织超微结构。

1.6 统计学分析:实验数据计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 11.5 软件进行 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

12 只猪有 2 只因复苏失败而死亡,10 只 ROSC 后进入本研究,其中低温组 5 只,常温组 5 只。

2.1 血流动力学(图 1):与 CA 前比较,低温组在 ROSC 后各时间点 T 明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),最低下降 1.5℃;而常温组无明显变化。两组 ROSC 后心率(HR)、MAP、CPP、SVR、PVR 均无明显改变(均 $P > 0.05$)。低温组 ROSC 后 30 min~2 h CO 较 CA 前有所降低(均 $P < 0.05$),但与常温组各时间点相比差异并无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.2 氧代谢(图 1):两组 ROSC 后 DO_2 较 CA 前均明显下降(均 $P < 0.05$),但由于 ROSC 后低温组 VO_2 较 CA 前显著降低(均 $P < 0.05$),因此在 ROSC 后低温组 O_2ER 较常温组显著降低(均 $P < 0.01$)。

2.3 肾脏 ATP 酶活性(表 1):低温组 ROSC 后 24 h 肾脏 Na^+-K^+-ATP 酶、 $Ca^{2+}-ATP$ 酶活性虽较常温组降低,但两组间相比差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

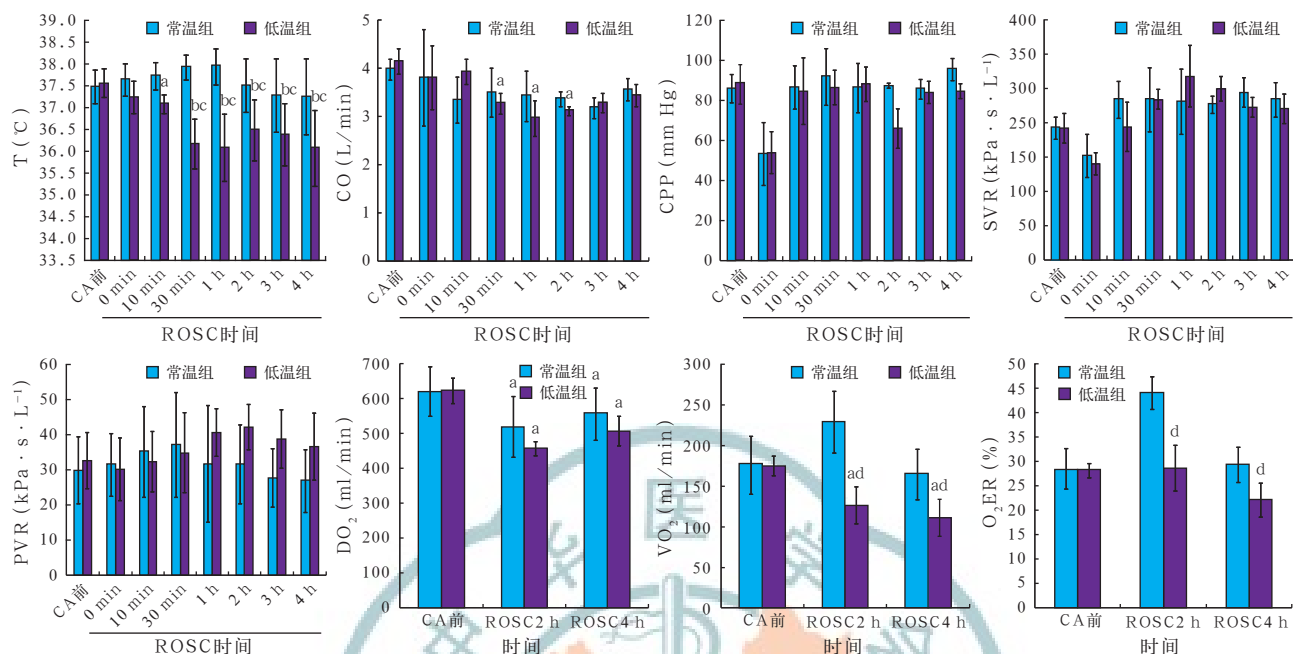
表 1 4℃生理盐水对 CA 猪 ROSC 后 24 h 肾脏 ATP 酶的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	Na^+-K^+-ATP 酶 ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	$Ca^{2+}-ATP$ 酶 ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)
常温组	5	3.190 ± 0.789	2.630 ± 0.816
低温组	5	1.278 ± 0.664	1.727 ± 0.772

注:CA:心搏骤停,ROSC:自主循环恢复

2.4 血中 BUN、Cr 含量(表 2):常温组 ROSC 后 2 h 和 4 h BUN、Cr 较 CA 前明显升高(均 $P < 0.05$),低温组 ROSC 前后则无明显变化(均 $P > 0.05$);两组 ROSC 后各个时间点 BUN、Cr 比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.5 肾脏组织学(图 2~3):与常温组比较,低温组肾脏炎性细胞浸润相对较少,并且线粒体结构更为完整,组织损伤程度减轻。



注: CA: 心搏骤停, ROSC: 自主循环恢复, T: 中心体温, CO: 心排量, CPP: 冠状动脉灌注压, SVR: 体循环阻力, PVR: 肺循环阻力,

DO₂: 氧输送量, VO₂: 氧耗量, O₂ER: 氧摄取率; 与本组 CA 前比较, ^a*P* < 0.05, ^b*P* < 0.01; 与常温组比较, ^c*P* < 0.05, ^d*P* < 0.01; 1 mm Hg = 0.133 kPa

图 1 4℃生理盐水对 CA 猪 ROSC 后血流动力学和氧代谢指标的影响

表 2 4℃生理盐水对 CA 猪 ROSC 前后血清 BUN 和 Cr 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	BUN (mmol/L)				Cr (μmol/L)			
		CA 前	ROSC 10 min	ROSC 2 h	ROSC 4 h	CA 前	ROSC 10 min	ROSC 2 h	ROSC 4 h
常温组	5	3.11 ± 0.48	3.23 ± 0.21	3.80 ± 0.79 ^a	4.12 ± 0.85 ^a	79.70 ± 16.03	90.18 ± 11.74	94.43 ± 18.25 ^a	94.15 ± 14.03 ^a
低温组	5	3.23 ± 0.08	3.44 ± 0.20	3.30 ± 0.65	3.46 ± 0.64	87.75 ± 14.86	91.48 ± 13.95	91.83 ± 9.97	91.40 ± 12.52

注: CA: 心搏骤停, ROSC: 自主循环恢复, BUN: 尿素氮, Cr: 肌酐; 与本组 CA 前比较, ^a*P* < 0.05

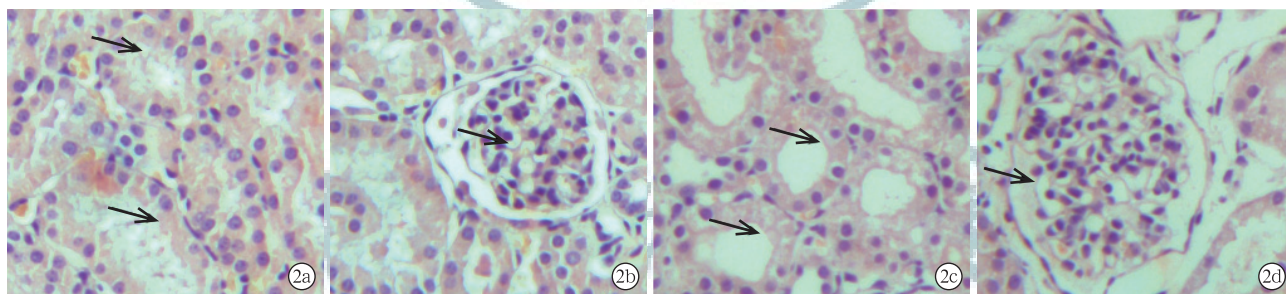


图 2 光镜下观察两组心搏骤停(CA)猪复苏后自主循环恢复(ROSC)24 h 肾脏病理学改变 常温组肾小管上皮细胞刷状缘脱失, 结构模糊(箭头所示, a), 肾小球中性粒细胞增多、浸润、贴壁(箭头所示, b); 低温组肾小管上皮细胞刷状缘结构连续、完整(箭头所示, c), 肾小球形态规则, 炎性细胞较少(箭头所示, d) HE 低倍放大

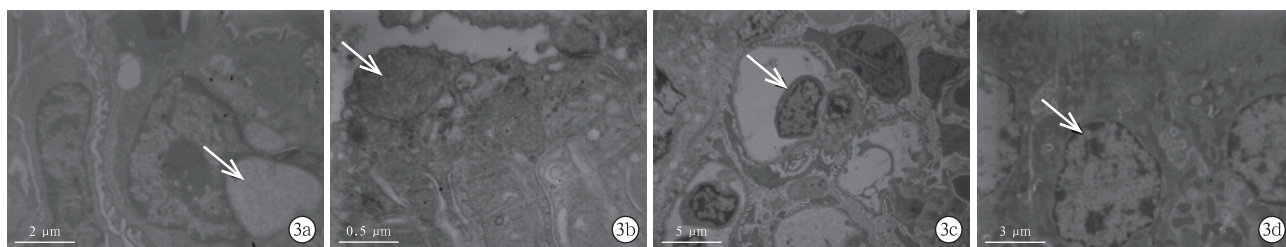


图 3 电镜下观察两组心搏骤停(CA)猪复苏后自主循环恢复(ROSC)24 h 肾脏超微结构改变 常温组肾小球内空泡形成(箭头所示, a, ×8000), 肾小管上皮细胞内线粒体形态欠规则, 电子密度增高(箭头所示, b, ×20 000); 低温组肾小球结构基底膜完整, 可见足突(箭头所示, c, ×3000), 肾小管上皮细胞形态规则, 其旁可见散在线粒体结构(箭头所示, d, ×5000) 饱和醋酸双氧铀染色

3 讨 论

CA 复苏后由于低心排致肾脏血流量减少以及肾脏缺血/再灌注(I/R)损伤,可引起肾功能不全或肾衰竭,又由于机体 I/R 损伤引发炎症因子浸润,导致全身炎症反应、脓毒症的发生,从而继发肾损害或肾衰竭^[8]。

亚低温治疗越来越多应用于 CPR 患者,诸多实验已证实复苏后亚低温的脑保护作用^[3,9-10]。但是 CPR 后的亚低温处理是否会对肾脏同样产生保护作用的研究尚少。本实验结果显示,ROSC 后用 4℃ 生理盐水静脉持续输注,可使基础体温在短时间内下降 1.5℃,与文献报道的 1.6℃^[7]相近;HR、MAP、CPP 在 ROSC 后与 CA 前基础状态相比未见明显变化,SVR 和 PVR 在 ROSC 后都有一定程度升高,但与 CA 前基础状态相比没有明显差异,因而可以维持血流动力学的稳定,不会引起 ROSC 后心功能进一步障碍,考虑与亚低温时机体整体代谢率降低,HR 亦发生平行性下降有关^[11]。在氧代谢方面,低温组 DO₂ 降低,但 VO₂ 降低更明显,因而 O₂ER 仍显著低于常温组,从而在 ROSC 后低血压、低心排的状态下使组织氧代谢更为合理,以满足组织在缺血缺氧应激状态下的供氧,有利于避免心搏骤停后综合征的发生,使器官功能得到明显的改善。常温组 ROSC 2 h 和 4 h 时 BUN 和 Cr 较 CA 前基础状态有明显升高,而低温组则无明显变化。此外,低温组肾脏 ATP 酶活性与常温组相比稍有下降。有文献报道指出低温可使肾脏血流减少,因而对肾功能有损害作用,可能是基于低温时肾脏入球小动脉收缩引起^[12]。但本研究显示,低温组血清 BUN 与 Cr 并未较 CA 前基础状态升高,但肾脏 ATP 酶活性较常温组稍低,可能与低温使酶失活有关。因此认为亚低温仍能维持细胞正常的能量代谢,对肾脏功能并无损害。

肾脏组织学观察表明,光镜下低温组肾小管上皮细胞刷状缘整齐,肾小球内炎性细胞较少;电镜下肾小球结构基底膜完整,可见足突,肾小管上皮细胞内线粒体形态结构正常,包膜完整、可见嵴结构。线粒体是产生 ATP 的细胞器结构,线粒体包膜完整和嵴结构完好是其正常工作的必要条件。电镜下低温组肾细胞内线粒体结构明显好于常温组,且 I/R 损伤程度明显较常温组轻,这一结果与文献^[13-14]报道的结论相似。因而从组织学上证实了亚低温对 ROSC 后肾脏的保护作用。

综上,用 4℃ 生理盐水快速持续灌注 CA-CPR

猪,可使体温迅速降低 1.5℃,由此诱导的亚低温状态可以维持 ROSC 后血流动力学的稳定及氧代谢的平衡,在保证生命体征平稳的基础上可以保证肾小球及肾小管上皮细胞内线粒体的正常功能,维持肾脏组织充足的能量供给,维持肾功能稳定,避免急性肾损伤、肾衰竭的发生。

4 结 论

本研究在功能学、形态学特别是超微结构方面证实了 ROSC 后使用 4℃ 生理盐水诱导亚低温状态对于 ROSC 后肾脏具有重要的保护作用,为 CPR 后使用 4℃ 生理盐水快速持续静脉灌注诱导机体亚低温状态保护脑、肾功能提供可行性依据。

参考文献

- [1] Domanovits H, Müllner M, Sterz F, et al. Impairment of renal function in patients resuscitated from cardiac arrest: frequency, determinants and impact on outcome. *Wien Klin Wochenschr*, 2000, 112: 157-161.
- [2] Domanovits H, Schillinger M, Müllner M, et al. Acute renal failure after successful cardiopulmonary resuscitation. *Intensive Care Med*, 2001, 27: 1194-1199.
- [3] 孙志扬,李光,孙庆文,等.亚低温对心肺复苏大鼠大脑海马神经元 N-甲基-D-天门冬氨酸受体 1 表达的影响. *中国危重病急救医学*, 2006, 18: 275-277.
- [4] Zeiner A, Holzer M, Sterz F, et al. Mild resuscitative hypothermia to improve neurological outcome after cardiac arrest: a clinical feasibility trial. *Stroke*, 2000, 31: 86-94.
- [5] 王胜奇,李春盛.提高平均动脉压对猪心肺复苏后脑功能及超微结构的影响. *中国危重病急救医学*, 2010, 22: 674-679.
- [6] Achleitner U, Wenzel V, Strohmenger HU, et al. The effects of repeated doses of vasopressin or epinephrine on ventricular fibrillation in a porcine model of prolonged cardiopulmonary resuscitation. *Anesth Analg*, 2000, 90: 1067-1075.
- [7] Nordmark J, Rubertsson S. Induction of mild hypothermia with infusion of cold (4℃) fluid during ongoing experimental CPR. *Resuscitation*, 2005, 66: 357-365.
- [8] Neumar RW, Nolan JP, Adrie C, et al. Post-cardiac arrest syndrome: epidemiology, pathophysiology, treatment, and prognosis. *Circulation*, 2008, 118: 2452-2483.
- [9] Polderman KH, Rijsburger ER, Peerdeman SM, et al. Induction of hypothermia in patients with various types of neurologic injury with use of large volumes of ice-cold intravenous fluid. *Crit Care Med*, 2005, 33: 2744-2751.
- [10] 王岚,马国营,王璞,等.亚低温联合生脉注射液在心肺脑复苏中的应用. *中国中西医结合急救杂志*, 2006, 13: 222-224.
- [11] Post H, Schmitto JD, Steendijk P, et al. Cardiac function during mild hypothermia in pigs: increased inotropy at the expense of diastolic dysfunction. *Acta Physiol (Oxf)*, 2010, 199: 43-52.
- [12] Broman M, Källskog O. The effects of hypothermia on renal function and haemodynamics in the rat. *Acta Physiol Scand*, 1995, 153: 179-184.
- [13] Hildebrand F, Giannoudis PV, van Griensven M, et al. Pathophysiologic changes and effects of hypothermia on outcome in elective surgery and trauma patients. *Am J Surg*, 2004, 187: 363-371.
- [14] Lauriat S, Linas SL. The role of neutrophils in acute renal failure. *Semin Nephrol*, 1998, 18: 498-504.

(收稿日期:2012-09-11)

(本文编辑:李银平)