中华危重病急救医学 2018 年 2 月第 30 卷第 2 期 Chin Crit Care Med, February 2018, Vol.30, No.2

·论著·

亚低温对复苏后猪心肌 β-肾上腺素能受体信号通路的影响

朱芳芳 季宪飞 钟霞 胡浩然 梁丽宁 陈吉彬 商德亚

250012 山东济南，山东大学附属省立医院急救中心（朱芳芳、季宪飞、钟霞、陈吉彬、商德亚）；256600 山东滨州，滨州医学院附属医院重症医学科（胡浩然）；252000 山东聊城，聊城市人民医院心内科（梁丽宁）

通讯作者：商德亚，Email：Sdslyysdy123@163.com

DOI：10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.02.008

【摘要】 目的 观察亚低温对心搏骤停（CA）猪心肺复苏（CPR）后心肌 β-肾上腺素能受体（β-AR）信号通路的影响，探讨其心肌保护作用的机制。**方法** 选择健康雄性长白猪复制 CA-CPR 模型（右心室致颤，8 min 后进行 CPR），并按随机数字表法分为两组（n=8）：亚低温组于自主循环恢复（ROSC）后 20 min 内使用亚低温治疗仪将动物血温诱导为 33 ℃并维持 6 h；对照组则用冷热毯将动物体温维持在（38.0±0.5）℃。实验过程中持续监测动物心率（HR）、平均动脉压（MAP）、左室内压上升或下降最大速率（±dp/dt max）；分别在 CA 前及 ROSC 后 0.5、1、3、6 h 用热稀释法测量心排血量（CO），并收集静脉血检测心肌肌钙蛋白 I（cTnI）水平；于 CA 前及 ROSC 后 6 h 用心脏超声测量左室射血分数（LVEF）。ROSC 后 6 h 处死动物并留取心肌组织标本，用实时荧光定量反转录-聚合酶链反应（RT-PCR）检测 β_1-AR mRNA 表达，用酶联免疫吸附试验（ELISA）检测腺苷酸环化酶（AC）、环磷酸腺苷（cAMP）含量，用蛋白质免疫印迹试验（Western Blot）检测 G 蛋白耦联受体激酶 2（GRK2）蛋白表达。**结果** 两组动物复苏后 HR 较基础值明显升高，CO、±dp/dt max 明显下降，MAP 无明显变化，血清 cTnI 水平明显升高。与对照组比较，亚低温组动物 ROSC 后 0.5、1、3 h HR 明显降低（次/min：142.80±12.83 比 176.88±15.14，115.80±11.48 比 147.88±18.53，112.60±7.40 比 138.50±12.02，均 P<0.01），ROSC 后 1 h 和 3 h CO 明显升高（L/min：3.97±0.40 比 3.02±0.32，4.00±0.11 比 3.11±0.59，均 P<0.01），ROSC 后 3 h 和 6 h ±dp/dt max 明显升高〔+dp/dt max（mmHg/s）：3 402.5±612.7 比 2 130.0±450.6，3 857.5±510.4 比 2 562.5±633.9；-dp/dt max（mmHg/s）：2 935.0±753.2 比 1 732.5±513.6，3 520.0±563.6 比 2 510.0±554.3，均 P<0.05〕，ROSC 后 3 h 和 6 h 血清 cTnI 水平明显下降（μg/L：1.39±0.40 比 3.24±0.78，1.46±0.35 比 3.78±0.93，均 P<0.01）。心脏超声显示，两组 ROSC 后 6 h LVEF 均较 CA 前明显降低，但亚低温组 LVEF 明显高于对照组（0.52±0.04 比 0.40±0.05，P<0.05）。ROSC 后 6 h，亚低温组心肌组织 β_1-AR mRNA 表达和 AC、cAMP 含量明显高于对照组〔β_1-AR mRNA（$2^{-\Delta\Delta CT}$）：1.18±0.39 比 0.55±0.17，AC（ng/L）：197.0±10.5 比 162.0±6.3，cAMP（nmol/L）：1 310.58±48.82 比 891.25±64.95，均 P<0.05〕，GRK2 蛋白表达明显低于对照组（GRK2/GAPDH：0.45±0.05 比 0.80±0.08，P<0.05）。**结论** 亚低温可以减轻 CA-CPR 猪复苏后心肌的损伤程度，其作用机制可能与减轻 β-AR 信号通路受损有关。

【关键词】 心搏骤停； 心肺复苏； 亚低温； β-肾上腺素能受体信号通路

基金项目：国家自然科学基金（81478133）；山东省济南市科技发展计划项目（201219007）

Effects of mild hypothermia on β-adrenergic signaling pathway in a cardiac arrest swine model *Zhu Fangfang, Ji Xianfei, Zhong Xia, Hu Haoran, Liang Lining, Chen Jibin, Shang Deya*

Department of Emergency, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250012, Shandong, China (Zhu FF, Ji XF, Zhong X, Chen JB, Shang DY); Department of Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256600, Shandong, China (Hu HR); Department of Cardiology, Liaocheng People's Hospital, Liaocheng 252000, Shandong, China (Liang LN)

Corresponding author: Shang Deya, Email: Sdslyysdy123@163.com

【Abstract】 Objective To observe the effect of mild hypothermia on myocardial β-adrenergic receptor (β-AR) signal pathway after cardiopulmonary resuscitation (CPR) in pigs with cardiac arrest (CA) and explore the mechanism of myocardial protection. **Methods** Healthy male Landraces were collected for reproducing the CA-CPR model (after 8-minute untreated ventricular fibrillation, CPR was implemented). The animals were divided into two groups according to random number table (n = 8). In the mild hypothermia group, the blood temperature of the animals was induced to 33 ℃ and maintained for 6 hours within 20 minutes after return of spontaneous circulation (ROSC) by using a hypothermia therapeutic apparatus. In the control group, the body temperature of the animals was maintained at (38.0±0.5)℃ with cold and warm blankets. The heart rate (HR), mean arterial pressure (MAP), the maximum rate of increase or decrease in left rentricular pressure (+dp/dt max)

were measured during the course of the experiment. The cardiac output (CO) was measured by heat dilution methods before CA (baseline), and 0.5, 1, 3, 6 hours after ROSC respectively, the venous blood was collected to detect the concentration of cTnI. Left ventricular ejection fraction (LVEF) was measured with cardiac ultrasound before CA and 6 hours after ROSC. Animals were sacrificed at 6 hours after ROSC and the myocardial tissue was harvested quickly, the mRNA expression of β_1-AR in myocardium was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), the contents of adenylate cyclase (AC) and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), the protein content of G protein-coupled receptor kinase 2 (GRK2) was detected by Western Blot. **Results** After successful resuscitation, the HR of both groups were significantly higher than the baseline values, CO, ±dp/dt max were significantly decreased, MAP were not significantly changed, serum cTnI levels were significantly increased. Compared with the control group, HR at 0.5, 1, 3 hours after ROSC were significantly decreased in mild hypothermia group (bpm: 142.80±12.83 vs. 176.88±15.14, 115.80±11.48 vs. 147.88±18.53, 112.60±7.40 vs. 138.50±12.02, all $P < 0.01$), CO was significantly increased at 1 hours and 3 hours after ROSC (L/min: 3.97±0.40 vs. 3.02±0.32, 4.00±0.11 vs. 3.11±0.59, both $P < 0.01$), +dp/dt max at 3 hours and 6 hours was also significantly increased after ROSC [+dp/dt max (mmHg/s): 3 402.5±612.7 vs. 2 130.0±450.6, 3 857.5±510.4 vs. 2 562.5±633.9; -dp/dt max (mmHg/s): 2 935.0±753.2 vs. 1 732.5±513.6, 3 520.0±563.6 vs. 2 510.0±554.3, all $P < 0.05$], the cTnI was significantly decreased at 3 hours and 6 hours afher ROSC (μg/L: 1.39±0.40 vs. 3.24±0.78, 1.46±0.35 vs. 3.78±0.93, both $P < 0.01$). The left at 6 hours after ROSC in both groups was decreased as compared with that before CA. The LVEF in the mild hypothermia group was higher than that in the control group (0.52±0.04 vs. 0.40±0.05, $P < 0.05$). The mRNA expression of β_1-AR, and concentrations of AC and cAMP in hypothermia group were significantly higher than those in control group [β_1-AR mRNA ($2^{-\Delta\Delta CT}$): 1.18±0.39 vs. 0.55±0.17, AC (ng/L): 197.0±10.5 vs. 162.0±6.3, cAMP (nmol/L): 1 310.58±48.82 vs. 891.25±64.95, all $P < 0.05$], GRK2 was lower than that in the control group (GRK2/GAPDH: 0.45±0.05 vs. 0.80±0.08, $P < 0.05$). **Conclusion** Mild hypothermia can reduce the degree of cardiac function injury after CPR, and its mechanism may be related to the reduction of impaired myocardial β-AR signaling after CPR.

【Key words】 Cardiac arrest; Cardiopulmonary resuscitation; Mild hypothermia; β-adrenergic signaling pathway

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81478133); The 19th Batch of Science and Technology Development Plan in Jinan City of Shandong Province (201219007)

心搏骤停(CA)是急诊常见的急危重症之一,近年来随着心肺复苏(CPR)技术的进步,高级生命支持手段的发展,使 CA 患者 CPR 后自主循环恢复(ROSC)率明显提高,但由于ROSC后器官功能障碍,总体存活率并未得到明显改善[1-3]。复苏后心功能障碍是患者常见并发症之一,有研究报道复苏后 23% 的患者死于心功能障碍[4]。因此,在复苏后早期阶段对复苏后心功能障碍进行干预非常关键。

心脏中 β-肾上腺素能受体(β-AR)介导的细胞信号转导系统在心脏规律的舒缩功能中起着重要作用。有研究表明,复苏后心肌 β-AR 信号通路明显受损,并且是复苏后心功能障碍的一个重要分子机制[5]。亚低温可以减轻复苏后心功能障碍[6-8],但其具体机制尚未明了。亚低温疗法能否减轻复苏后 β-AR 介导的信号转导系统的受损程度也是未知的。本研究中通过建立 8 min 心室纤颤(室颤)致 CA 猪模型,探讨亚低温对复苏后心肌 β-AR 信号通路的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物:实验用健康雄性长白猪,体重(30±2)kg,由山东省农科苑畜牧发展中心提供。术前禁食 12 h,可自由饮水。

1.2 CA-CPR 动物模型制备[9]:肌肉注射咪达唑仑 0.5 mg/kg 诱导麻醉动物,3% 戊巴比妥钠静脉注射 8 $mg \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$ 维持麻醉。将动物仰卧位固定于手术台上,经口置入 6.5F 气管导管接呼吸机,通气参数:同步间歇指令通气 + 压力支持通气(SIMV+PSV)模式,压力支持(PS)10 cmH_2O(1 cmH_2O=0.098 kPa),吸入氧浓度(FiO_2)0.21,潮气量(VT)10~15 mL/kg,通气频率 12~18 次 /min。调整通气频率及 VT 使呼气末二氧化碳分压($P_{ET}CO_2$)维持在 35~45 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)。备皮后连接心电监护,监测肢体导联心电图(ECG)。5F 鞘管置入右侧颈内静脉,用来诱导室颤并抽取静脉血;右侧股动脉置管,用来持续监测平均动脉压(MAP)和血液温度;将 Icy 导管经股静脉置入下腔静脉,用来诱导亚低温。手术完毕后 30 min,记录动物稳定状态下的基础水平。

将双极临时起搏电极通过右侧颈内静脉置管插入右心室,将临时起搏电极的导线连接到医用程控刺激仪,使用食道输出的 S1S2(300/200 ms)模式,设置为 8∶1 的比例,-10 ms 的步长给予右心室连续刺激,直到动物出现室颤:动脉压骤降,ECG 显示为室颤波形。持续室颤状态 8 min(室颤期间停止机械通气)后给予 CPR,其中按压与通气比为 30∶2,

胸外按压频率为 100 次 /min，按压深度为动物胸廓前后径的 1/4。2 min 后给予除颤仪双向波 150 J 电除颤 1 次。如果仍然显示为室颤，继续 CPR 2 min 后使用双向波 200 J 再次给予电除颤，直至出现 ROSC。ROSC 标志：MAP≥60 mmHg 持续 10 min。15 min 后若动物自主循环仍未恢复，则判定为死亡。

1.3 分组及处理：将复苏成功的动物按随机数字表法分为亚低温组和对照组，每组 8 只。亚低温组使用亚低温治疗仪在 ROSC 后 20 min 内将血温诱导为 33 ℃，并维持 6 h；在亚低温诱导与维持期间，持续给予维库溴铵 0.2 $mg \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$ 防止动物骨骼肌战栗。对照组则用冷热毯将动物体温维持在（38.0±0.5）℃。成功复苏后继续机械通气，参数调回室颤之前的设置。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 血流动力学监测：分别于 CA 前和 ROSC 后 0.5、1、3、6 h，用监护仪持续监测心率（HR）、MAP；连接左心室内压力感受器，用泰盟 BL-420F 型生物机能实验系统测定左室内压上升或下降最大速率（±dp/dt max）；用热稀释技术测量心排血量（CO）。

1.4.2 血清心肌肌钙蛋白 I（cTnI）水平检测：肌钙蛋白是心肌受损的标志物，能较早反映心肌组织损害[10]，分别于 CA 前和 ROSC 后 0.5、1、3、6 h 取颈内静脉血，采用 AQT90 FLEX 免疫分析仪检测特异性心肌损伤标志物 cTnI 水平。

1.4.3 心脏超声评估心功能：由同一位对实验双盲的心脏超声医师操作，分别于 CA 前和 ROSC 后 6 h 使用高分辨率心脏超声仪，在 M 型探头下测得左室射血分数（LVEF），测量 3 次取均值。

1.4.4 反转录-聚合酶链反应（RT-PCR）检测心肌组织 β_1-AR mRNA 表达：将心脏组织于液氮中研磨后加 TRIzol 提取总 RNA，测定 RNA 的浓度与纯度，反转录为 cDNA，避光条件下进行实时定量 PCR 反应。β_1-AR 引物由铂尚生物技术（上海）有限公司合成。反应条件：95 ℃ 预变性 3 min，95 ℃ 变性 5 s，56 ℃ 退火 10 s，72 ℃ 延伸 25 s，循环 39 次。3-磷酸甘油醛脱氢酶（GAPDH）作为内参。以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因的表达量。

1.4.5 酶联免疫吸附试验（ELISA）检测心肌细胞中腺苷酸环化酶（AC）、环磷酸腺苷（cAMP）水平：制备心肌组织匀浆液，离心后取上清液，按 ELISA 试剂盒（上海酶联生物科技有限公司）说明书步骤检测 AC、cAMP 水平。

1.4.6 蛋白质免疫印迹试验（Western Blot）检测心肌组织 G 蛋白耦联受体激酶 2（GRK2）蛋白表达：取出 -80 ℃冰冻心肌组织 100 mg，液氮中研磨至粉末状，充分裂解后于 4 ℃下离心 30 min，取 4 μL 上清液，BCA 法测定蛋白浓度。10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）、转膜，室温下 5% 牛奶封闭 1 h；与一抗 GRK2（GRK2/3 抗体，美国 millpore 公司，1∶1 000）、GAPDH（1∶1 000）结合，4 ℃ 摇床孵育 13 h，洗膜；加入二抗（1∶5 000），室温孵育 1 h，洗膜；显影液与定影液 1∶1 配比，每张膜用 200 μL，显影。以目的蛋白与内参的灰度值比值表示蛋白表达量。

1.5 统计学处理：采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，组间和组内时间点间比较用单因素方差分析，两组间比较采用 LSD-t 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结　果

2.1 血流动力学（表 1）：两组动物基础状态下血流动力学指标差异无统计学意义。两组 ROSC 后 HR 较基础值明显升高，CO、±dp/dt max 均明显下降（均 $P<0.05$）。与对照组比较，亚低温组 ROSC 后 0.5 h HR 即明显降低，ROSC 后 1 h 和 3 h CO 明显升高，ROSC 后 3 h 和 6 h ±dp/dt max 明显升高（均 $P<0.05$）。两组 MAP 均无明显变化（均 $P>0.05$）。

2.2 血清 cTnI（表 1）：两组 cTnI 基础值差异无统计学意义（$P>0.05$）。两组 ROSC 后 0.5、1、3、6 h 血清 cTnI 水平均较基础值显著升高（均 $P<0.05$），但亚低温组 ROSC 后 3 h 和 6 h cTnI 水平均明显低于对照组（均 $P<0.01$）。

2.3 心脏超声（表 2）：两组 LVEF 基础值差异无统计学意义（$P>0.05$）。与 CA 前比较，两组 ROSC 后 6 h LVEF 均明显降低（均 $P<0.01$），但亚低温组 ROSC 后 LVEF 较对照组明显升高（$P<0.05$）。

2.4 心肌组织 β_1-AR mRNA 表达（表 3）：ROSC 后 6 h，亚低温组 β_1-AR mRNA 表达明显高于对照组（$P<0.05$）。

2.5 心肌组织 AC、cAMP 含量（表 3）：ROSC 后 6 h，亚低温组 AC、cAMP 含量均明显高于对照组（均 $P<0.05$）。

2.6 心肌组织 GRK2 蛋白表达（表 3；图 1）：ROSC 后 6 h，亚低温组 GRK2 蛋白表达明显低于对照组（$P<0.05$）。

表 1 亚低温治疗对 CA–CPR 猪 ROSC 后血流动力学指标和血清 cTnI 的影响（$\bar{x} \pm s$）

组别	时间	动物数（只）	HR（次 /min）	MAP（mmHg）	CO（L/min）	+dp/dt max（mmHg/s）	–dp/dt max（mmHg/s）	cTnI（μg/L）
对照组	CA 前	8	128.13 ± 9.76	124.50 ± 18.75	4.42 ± 0.35	4 800.0 ± 578.3	4 460.0 ± 485.2	0.05 ± 0.01
	ROSC 后 0.5 h	8	176.88 ± 15.14 [a]	109.88 ± 12.89	3.71 ± 0.56 [a]	3 440.0 ± 468.7 [a]	2 652.5 ± 449.0 [a]	0.40 ± 0.11 [a]
	ROSC 后 1 h	8	147.88 ± 18.53 [a]	116.88 ± 15.47	3.02 ± 0.32 [a]	2 472.5 ± 520.0 [a]	2 100.0 ± 430.6 [a]	0.67 ± 0.20 [a]
	ROSC 后 3 h	8	138.50 ± 12.02	113.13 ± 13.08	3.11 ± 0.59 [a]	2 130.0 ± 450.6 [a]	1 732.5 ± 513.6 [a]	3.24 ± 0.78 [a]
	ROSC 后 6 h	8	127.88 ± 15.30	121.38 ± 15.38	3.58 ± 0.47 [a]	2 562.5 ± 633.9 [a]	2 510.0 ± 554.3 [a]	3.78 ± 0.93 [a]
亚低温组	CA 前	8	125.40 ± 14.64	115.20 ± 13.03	4.54 ± 0.35	4 740.0 ± 557.4	4 470.0 ± 296.3	0.04 ± 0.01
	ROSC 后 0.5 h	8	142.80 ± 12.83 [ab]	109.80 ± 10.33	3.60 ± 0.33 [a]	3 735.0 ± 529.1 [a]	2 730.0 ± 821.2 [a]	0.72 ± 0.24 [a]
	ROSC 后 1 h	8	115.80 ± 11.48 [b]	114.00 ± 12.59	3.97 ± 0.40 [ab]	3 287.5 ± 510.5 [a]	2 460.0 ± 410.9 [a]	1.46 ± 0.17 [ab]
	ROSC 后 3 h	8	112.60 ± 7.40 [b]	116.60 ± 7.40	4.00 ± 0.11 [ab]	3 402.5 ± 612.7 [ac]	2 935.0 ± 753.2 [ac]	1.39 ± 0.40 [ab]
	ROSC 后 6 h	8	118.20 ± 8.41	111.60 ± 15.36	4.07 ± 0.31 [a]	3 857.5 ± 510.4 [ac]	3 520.0 ± 563.6 [ac]	1.46 ± 0.35 [ab]

注：CA–CPR 为心搏骤停 – 心肺复苏，ROSC 为自主循环恢复，HR 为心率，MAP 为平均动脉压，CO 为心排血量，±dp/dt max 为左室内压上升或下降最大速率，cTnI 为心肌肌钙蛋白 I；1 mmHg=0.133 kPa；与本组 CA 前比较，[a]$P<0.05$；与对照组同期比较，[b]$P<0.01$，[c]$P<0.05$

表 2 亚低温治疗对 CA–CPR 猪 ROSC 后 LVEF 的影响（$\bar{x} \pm s$）

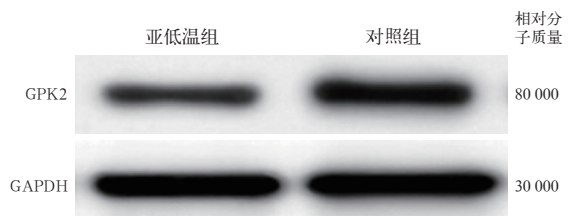
组别	动物数（只）	LVEF	
		CA 前	ROSC 后 6 h
对照组	8	0.70 ± 0.04	0.40 ± 0.05 [a]
亚低温组	8	0.69 ± 0.03	0.52 ± 0.04 [ab]

注：CA–CPR 为心搏骤停 – 心肺复苏，ROSC 为自主循环恢复，LVEF 为左室射血分数；与本组 CA 前比较，[a]$P<0.01$；与对照组比较，[b]$P<0.05$

表 3 亚低温治疗对 CA–CPR 猪 ROSC 后 6 h 心肌细胞膜中 β_1–AR mRNA 表达和 AC、cAMP 含量及 GRK2 蛋白表达的影响（$\bar{x} \pm s$）

组别	动物数（只）	β_1–AR mRNA（$2^{-\Delta\Delta CT}$）	AC 含量（ng/L）	cAMP 含量（nmol/L）	GRK2/GAPDH
对照组	8	0.55 ± 0.17	162.0 ± 6.3	891.25 ± 64.95	0.80 ± 0.08
亚低温组	8	1.18 ± 0.39 [a]	197.0 ± 10.5 [a]	1 310.58 ± 48.82 [a]	0.45 ± 0.05 [a]

注：CA–CPR 为心搏骤停 – 心肺复苏，ROSC 为自主循环恢复，β_1–AR 为 β_1– 肾上腺素能受体，AC 为腺苷酸环化酶，cAMP 为环磷酸腺苷，GRK2 为 G 蛋白耦联受体激酶 2，GAPDH 为 3– 磷酸甘油醛脱氢酶；与对照组比较，[a]$P<0.05$



CA–CPR 为心搏骤停 – 心肺复苏，ROSC 为自主循环恢复，GRK2 为 G 蛋白耦联受体激酶 2，GAPDH 为 3– 磷酸甘油醛脱氢酶

图 1 蛋白质免疫印迹试验（Western Blot）检测 CA–CPR 猪 ROSC 后 6 h 心肌组织 GRK2 蛋白表达

3 讨 论

尽管现代 CPR 经历了 50 多年，但目前无论是院外心搏骤停（OHCA）还是院内心搏骤停（IHCA），患者的存活率仍然很低[11]。复苏后心功能障碍是 CA 患者最初 ROSC 后未能存活出院的主要原因之一[12-13]，约 60%～70% 的 ROSC 患者仍在最初 72 h 内死亡[14]。因此，CA 患者的 ROSC 并不是复苏的终极目标，而是需要采取进一步措施来促进复苏后器官功能恢复和提高患者远期存活率。

已有研究证实，亚低温治疗是改善 CA 患者复苏后神经功能的有效方法[15]，且 2010 年美国心脏协会（AHA）CPR 指南明确将亚低温治疗作为成功复苏后昏迷患者的推荐治疗策略之一[16]。目前关于亚低温脑保护的机制比较成熟[17-18]，而对于心脏，只有数项研究结果表明，应用亚低温疗法可对 CA 后心功能有保护作用[19]。当然，体温过低会导致机体内环境紊乱，加重凝血系统、免疫系统、末梢微循环系统等异常变化[20]。本研究中通过对 8 min 室颤猪 ROSC 后使用 33 ℃的亚低温治疗，探讨其对 CPR 后心功能的影响，结果显示，ROSC 后 CO、±dp/dt max 均较基础水平明显降低，说明 CPR 后心功能明显受损；ROSC 后亚低温组 CO、±dp/dt max 明显高于对照组，说明亚低温治疗可减轻复苏后的心功能障碍，对复苏后损伤心肌具有保护作用，这与 Hsu 等[7]和 Yu 等[21]的研究结果一致。

β–AR 信号通路在心脏有节律的舒缩中发挥着至关重要的作用，心肌细胞中的 β–AR 是心脏交感神经递质的靶向受体。心肌中有 β_1–AR、β_2–AR、β_3–AR 3 种 β–AR，其中含量最多的为 β_1–AR，当 β_1–AR 被激动剂激活后会激活 AC，使 cAMP 水平增加，cAMP 进一步激活蛋白激酶 A（PKA），PKA 活化后引起下游靶蛋白如受磷蛋白（PLB）、兰尼碱受体（RYR2）、L– 型钙通道等的磷酸化，使肌浆网的 Ca^{2+} 回收与释放，从而增加心肌的舒缩功能[22]。心肌肌浆网的 Ca^{2+} 调控功能在心肌兴奋 – 收缩耦联中发挥重要作用[23]。有研究显示，CPR 后心肌细胞膜上的 β–AR 密度降低，AC、cAMP 含量下降，

证实了 CPR 后心脏中一个明显的改变就是 AR 信号通路明显受损[5]。本研究显示，亚低温组 β_1-AR mRNA 表达和 AC、cAMP 含量均较对照组明显增加，表明亚低温治疗改善了受损心肌的 β-AR 信号转导通路。

GRK2 又称为 β-肾上腺素能受体激酶 1，它在调节 β-AR 信号通路中发挥了非常重要的作用。GRK2 上调似乎是心肌损伤应激后心肌细胞首先发生改变的分子之一，这对于终止由交感神经的过度激活、儿茶酚胺代偿性增多所致的 β-AR 过度活化是很有必要的[24]。但是，GRK2 的过度上调会引起心肌膜上 β-AR 密度减少和残存受体的脱敏，使得变力储备丧失，进而导致心功能障碍[25-26]。GRK2 能特异性地磷酸化 β-AR，并导致其脱敏和下调，这一研究结果在体内和体外实验中均得到证实[27-28]。除此之外，Santulli 等[29]发现急性心肌梗死患者心肌细胞中 GRK2 水平明显升高，心肌缺血/再灌注损伤后降低 GRK2 表达将有利于心脏功能恢复，并且能够改善远期预后。一项关于兔冠状动脉结扎引起心力衰竭的研究表明，通过腺病毒抑制 GRK2 表达，可以明显改善左室功能并延缓心力衰竭的进展[30]。部分原因可能为：GRK2 与活化后的 G 蛋白中的 βγ 两个亚基（Gβγ）结合到一起被激活，进而使被激活的 AR 跨膜内侧的羧基端磷酸化，并介导其抑制蛋白与 β-AR 相结合，促使受体与 G 蛋白解耦联，从而阻止 G 蛋白的催化作用，最终导致心脏 β-AR 下调和脱敏[31]。本研究显示，亚低温组 GRK2 表达较对照组明显下降，表明亚低温治疗可以通过降低 GRK2 的表达，使其减少对 β-AR 的脱敏和下调，进而改善复苏后的心功能障碍。

综上，本研究表明，亚低温治疗可减轻复苏后的心功能损伤，其机制可能与减轻复苏后心肌 β-AR 信号通路的受损有关，从而为临床治疗复苏后综合征提供了理论依据。

参考文献

[1] Wissenberg M, Lippert FK, Folke F, et al. Association of national initiatives to improve cardiac arrest management with rates of bystander intervention and patient survival after out-of-hospital cardiac arrest [J]. JAMA, 2013, 310 (13): 1377-1384. DOI: 10.1001/jama.2013.278483.

[2] Gräsner JT, Lefering R, Koster RW, et al. EuReCa ONE-27 Nations, ONE Europe, ONE Registry: A prospective one month analysis of out-of-hospital cardiac arrest outcomes in 27 countries in Europe [J]. Resuscitation, 2016, 105: 188-195. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2016.06.004.

[3] 王立祥. 中国心肺复苏发展战略观 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (3): 161-163. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.03.001.
Wang LX. Development strategy of cardiopulmonary resuscitationin in China [J]. Chin Crit Care Med, 2015, 27 (3): 161-163. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.03.001.

[4] Laver S, Farrow C, Turner D, et al. Mode of death after admission to an intensive care unit following cardiac arrest [J]. Intensive Care Med, 2004, 30 (11): 2126-2128. DOI: 10.1007/s00134-004-2425-z.

[5] Ji XF, Wang S, Yang L, et al. Impaired β-adrenergic receptor signalling in post-resuscitation myocardial dysfunction [J]. Resuscitation, 2012, 83 (5): 640-644. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2011.11.014.

[6] Sun S, Tang W, Song F, et al. The effects of epinephrine on outcomes of normothermic and therapeutic hypothermic cardiopulmonary resuscitation [J]. Crit Care Med, 2010, 38 (11): 2175-2180. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181eedad6.

[7] Hsu CY, Huang CH, Chang WT, et al. Cardioprotective effect of therapeutic hypothermia for postresuscitation myocardial dysfunction [J]. Shock, 2009, 32 (2): 210-216. DOI: 10.1097/SHK.0b013e318196ee99.

[8] Tsai MS, Barbut D, Wang H, et al. Intra-arrest rapid head cooling improves postresuscitation myocardial function in comparison with delayed postresuscitation surface cooling [J]. Crit Care Med, 2008, 36 (11 Suppl): S434-439. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31818a88b6f.

[9] 文才，李恒，翟小竹，等. 长时程电诱发心室纤颤致心搏骤停与心肺复苏家猪模型的建立 [J]. 中华危重病急救医学, 2017, 29 (6): 536-541. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.06.012.
Wen C, Li H, Zhai XZ, et al. Establishment of porcine model of prolonged cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation electrically induced by ventricular fibrillation [J]. Chin Crit Care Med, 2017, 29 (6): 536-541. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.06.012.

[10] 辛增莲，徐菲莉. 急性冠脉综合征的临床诊断进展 [J]. 实用检验医师杂志, 2014, 6 (4): 248-250. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2014.04.016.
Xin ZL, Xu FL. Advances in clinical diagnosis of acute coronary syndromes [J]. Chin J Clin Pathol, 2014, 6 (4): 248-250. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2014.04.016.

[11] 徐胜勇，于学忠. 心肺复苏的研究热点和进展 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22 (3): 330-333. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.03.027.
Xu SY, Yu XZ. Research advances and hotspots in cardiopulmonary resuscitation [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2015, 22 (3): 330-333. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.03.027.

[12] Laurent I, Monchi M, Chiche JD, et al. Reversible myocardial dysfunction in survivors of out-of-hospital cardiac arrest [J]. J Am Coll Cardiol, 2002, 40 (12): 2110-2116. DOI: 10.1016/S0735-1097(02)02594-9.

[13] 朱英，黄淮，颜景华，等. 心肺复苏后多器官功能障碍综合征危险因素和预后分析 [J]. 中国医师杂志, 2006, 8 (8): 1048-1050. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2006.08.016.
Zhu Y, Huang H, Yan JH, et al. Analysis of risk factors and prognosis on the post-resuscitation multiple organ dysfunction syndrome after successful cardiopulmonary resuscitation [J]. J Chin Physician, 2006, 8 (8): 1048-1050. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2006.08.016.

[14] Brain Resuscitation Clinical Trial Ⅱ Study Group. A randomized clinical study of a calcium-entry blocker (lidoflazine) in the treatment of comatose survivors of cardiac arrest [J]. N Engl J Med, 1991, 324 (18): 1225-1231. DOI: 10.1056/NEJM199105023241801.

[15] 李壮丽，邵敏，李跃东. 亚低温治疗对心搏骤停心肺复苏后患者脑保护作用的研究进展 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2017, 24 (1): 101-103. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.01.031.
Li ZL, Shao M, Li YD. Research progress of effect of moderate hypothermia on cerebral protection in patients with cardiac arrest after cardiopulmonary resuscitation [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2017, 24 (1): 101-103. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.01.031.

[16] Field JM, Hazinski MF, Sayre MR, et al. Part 1: executive summary: 2010 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care [J]. Circulation, 2010, 122 (18 Suppl 3): S640-656. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.970889.

[17] 袁伟，李春盛. 亚低温治疗在心肺脑复苏中的应用与研究进展 [J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28 (12): 1165-1169. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.12.023.
Yuan W, Li CS. Application and research progress of mild hypothermia in cardiopulmonary cerebral resuscitation [J]. Chin

Crit Care Med, 2016, 28 (12): 1165–1169. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095–4352.2016.12.023.
[18] 赵明亮, 杨细平, 田竺, 等. 亚低温联合依达拉奉对重型颅脑创伤患者脑脊液肿瘤坏死因子–α 及白细胞介素–6 表达的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, 21 (4): 258–261. DOI: 10.3969/j.issn.1008–9691.2014.04.08.
Zhao ML, Yang XP, Tian Z, et al. Effects of mild hypothermia combined with edaravone on expressions of tumor necrosis factor–α and interleukin–6 in cerebrospinal fluid of patients with severe traumatic brain injury [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2014, 21 (4): 258–261. DOI: 10.3969/j.issn.1008–9691.2014.04.08.
[19] 李银平, 范振兴, 秦俭, 等. 不同时机轻度低温干预对心室纤颤兔复苏后心脏的影响 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (3): 185–189. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095–4352.2015.03.006.
Li YP, Fan ZX, Qin J, et al. Effect of pre–arrest and post–arrest mild hypothermia on myocardial function of ventricular fibrillation after restoration of spontaneous circulation in rabbits [J]. Chin Crit Care Med, 2015, 27 (3): 185–189. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095–4352.2015.03.006.
[20] 张海波, 孟旭, 韩杰, 等. 脑死亡器官捐献心脏移植供体保护性治疗与功能评价 [J/CD]. 实用器官移植电子杂志, 2016, 4 (5): 270–276. DOI: 10.3969/j.issn.2095–5332.2016.05.003.
Zhang HB, Meng X, Han J, et al. Protective treatment and functional evaluation of heart transplantation donator with brain death [J/CD]. Prac J Organ Transplant (Electronic Version), 2016, 4 (5): 270–276. DOI: 10.3969/j.issn.2095–5332.2016.05.003.
[21] Yu T, Yang Z, Li H, et al. Short Duration Combined Mild Hypothermia Improves Resuscitation Outcomes in a Porcine Model of Prolonged Cardiac Arrest [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 279192. DOI: 10.1155/2015/279192.
[22] Freedman NJ, Liggett SB, Drachman DE, et al. Phosphorylation and desensitization of the human beta 1–adrenergic receptor. Involvement of G protein–coupled receptor kinases and cAMP–dependent protein kinase [J]. J Biol Chem, 1995, 270 (30): 17953–17961. DOI: 10.1074/jbc.270.30.17953.
[23] 黄煜, 何庆. 心肺复苏后心功能障碍与心肌内质网 Ca^{2+} 调控蛋白表达关系的研究 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (10): 697–700. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095–4352.2014.10.003.
Huang Y, He Q. The relationship between sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} modulation proteins and postresuscitation myocardial dysfunction [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (10): 697–700. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095–4352.2014.10.003.
[24] 梁丽宁, 钟霞, 季宪飞, 等. 心力衰竭时心肌 β 肾上腺素信号通路的变化 [J]. 中华全科医学, 2016, 14 (8): 1389–1391. DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674–4152.2016.08.047.
Liang LN, Zhong X, Ji XF, et al. The changes of myocardial β–adrenergic signal pathway in heart failure [J]. Chin J Gen Pract, 2016, 14 (8): 1389–1391. DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674–4152.2016.08.047.
[25] Lymperopoulos A, Rengo G, Koch WJ. Adrenergic nervous system in heart failure: pathophysiology and therapy [J]. Circ Res, 2013, 113 (6): 739–753. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.113.300308.
[26] Woodall MC, Ciccarelli M, Woodall BP, et al. G protein–coupled receptor kinase 2: a link between myocardial contractile function and cardiac metabolism [J]. Circ Res, 2014, 114 (10): 1661–1670. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.114.300513.
[27] Völkers M, Weidenhammer C, Herzog N, et al. The inotropic peptide βARKct improves βAR responsiveness in normal and failing cardiomyocytes through $G_{\beta\gamma}$–mediated L–type calcium current disinhibition [J]. Circ Res, 2011, 108 (1): 27–39. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.110.225201.
[28] Eckhart AD, Duncan SJ, Penn RB, et al. Hybrid transgenic mice reveal in vivo specificity of G protein–coupled receptor kinases in the heart [J]. Circ Res, 2000, 86 (1): 43–50. DOI: 10.1161/01.RES.86.1.43.
[29] Santulli G, Trimarco B, Iaccarino G. G–protein–coupled receptor kinase 2 and hypertension: molecular insights and pathophysiological mechanisms [J]. High Blood Press Cardiovasc Prev, 2013, 20 (1): 5–12. DOI: 10.1007/s40292–013–0001–8.
[30] Huang ZM, Gao E, Chuprun JK, et al. GRK2 in the heart: a GPCR kinase and beyond [J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 21 (14): 2032–2043. DOI: 10.1089/ars.2014.5876.
[31] 苗也, 陈晖, 李敏, 等. β 肾上腺素受体激酶抑制剂对心肌梗死后心力衰竭大鼠 β 肾上腺素受体信号传导的影响 [J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2013, 7 (24): 11441–11445. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674–0785.2013.24.082.
Miao Y, Chen H, Li M, et al. Effect of β–adrenergic receptor kinase inhibitor on β–adrenergic receptor signal transduction of heart failure; rat after myocardial infarction [J/CD]. Chin J Clin (Electronic Edition), 2013, 7 (24): 11441–11445. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674–0785.2013.24.082.

（收稿日期：2017–08–09）

·读者·作者·编者·

本刊常用不需要标注中文的缩略语

心搏骤停（cardiac arrest，CA）
院内心搏骤停（in–hospital cardiac arrest，IHCA）
院外心搏骤停（out–of–hospital cardiac arrest，OHCA）
心肺复苏（cardiopulmonary resuscitation，CPR）
急性肺损伤（acute lung injury，ALI）
急性肾损伤（acute kidney injury，AKI）
机械通气（mechanical ventilation，MV）
氧合指数（oxygenation index，PaO_2/FiO_2）
水通道蛋白 4（aquaporin 4，AQP4）
创伤性脑损伤（traumatic brain injury，TBI）
B 型钠尿肽（B–type natriuretic peptide，BNP）
肠内营养（enteral nutrition，EN）
肠外营养（parenteral nutrition，PN）
微小 RNA–1（microRNA，miR–1）
小干扰 RNA（small interfering RNA，siRNA）
线粒体 DNA（mitochondrial DNA，mtDNA）
脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）
左室射血分数（left ventricular ejection fraction，LVEF）
急性呼吸窘迫综合征（acute respiratory distress syndrome，ARDS）
自主循环恢复（restoration of spontaneous circulation，ROSC）
急性生理学与慢性健康状况评分系统Ⅱ
（acute physiology and chronic health evaluation Ⅱ，APACHE Ⅱ）
Richmond 躁动–镇静评分（Richmond agitation–sedation score，RASS）
格拉斯哥–匹兹堡脑功能
（Glasgow–Pittsburgh cerebral performance categories，CPC）
无创正压通气（non–invasive positive pressure ventilation，NIPPV）
呼气末二氧化碳分压
（partial pressure of end–tidal carbon dioxide，$P_{ET}CO_2$）
腹部提压心肺复苏（active abdominal compression–decompression cardiopulmonary resuscitation，AACD–CPR）
丝裂素活化蛋白激酶激酶
（mitogen–activated protein kinase kinase，MEK）
细胞外信号调节激酶（extracellular regulated protein kinases，ERK）
腺苷酸活化蛋白激酶（AMP activated protein kinase，AMPK）
干扰素诱导蛋白–10（interferon–inducible protein–10，IP–10）
重症加强治疗病房/重症医学科（intensive care unit，ICU）