

尼莫通对幼犬深低温低流量体外循环的脑保护

许 刚¹, 庄 建¹, 张镜芳¹, 林爱华², 陈欣欣¹, 陈寄梅¹, 岑坚正¹

(1. 广东省心血管病研究所心外科 广东 广州 510100; 2. 中山大学公共卫生学院统计教研室 广东 广州 510080)

摘 要: 【目的】探讨长时间深低温低流量体外循环对幼犬脑部的影响及综合运用尼莫通(nimotop)的脑保护作用。【方法】6个月健康杂种犬12只,随机分为两组:对照组,单纯进行2h深低温低流量体外循环;实验组,在深低温低流量基础上从颈动脉以15 μg/(kg·h)速度持续给予尼莫通。两组动物分别检测不同时点颈内静脉血的丙二醛(MDA)、总抗氧化能力(TAOC)、磷酸激酶同工酶(CK-BB)。【结果】每只动物不同时点颈内静脉血MDA、TAOC、CK-BB含量有差别($P < 0.01$);实验组动物不同时点颈内静脉血MDA、CK-BB含量和对照组有差别($P < 0.01$),实验组动物不同时点颈内静脉血TAOC活性和对照组有差别($P < 0.05$)。【结论】长时间深低温低流量体外循环会对幼犬脑部造成损害;在深低温低流量同时综合运用尼莫通可在幼犬中起到较好的脑保护作用,是一种有效的脑保护方法。

关键词:低温;人工;心肺分流术;脑;尼莫通;犬

中图分类号:R541.1

文献标识码:A

文章编号:1642-3554(2004)04-0334-04

Brain Protective Effect of Nimotop on Young Dog with Deep Hypothermic Low-Flow Cardiopulmonary Bypass

XU Gang¹, ZHUANG Jian¹, ZHANG Jing-fang¹, LIN Ai-hua², CHEN Xin-xin¹,
CHEN Ji-mei¹, CEN Jian-zheng¹

(1. Department of Cardiovascular Surgery, Guangdong Provincial Cardiovascular Institute, Guangzhou 510100, China;
2. Department of Medical Statistics, Public Health College, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the effects of long time deep hypothermic low-flow (DHLF) cardiopulmonary bypass on the central nervous system of young dogs, and the brain protective effects of nimotop during the course of deep hypothermic low-flow. 【Methods】Twelve healthy mongrel dogs aged < 6 months were assigned into two groups randomly. There were six dogs in each group. In the control group, cardiopulmonary bypass with deep hypothermic low-flow lasted for 2 hours. In the experimental group, the basic steps were the same, but before cardiopulmonary bypass, the intrajugular artery was punctured and nimotop was injected at the rate of 15 μg/(kg·h) through the whole experiment. The concentrations of monodialdehyde(MDA), total antioxidant capacity(TAOC), creative phosphokinase isoenzyme-BB (CK-BB) in blood sample from intrajugular vein at different time were examined after experiment. 【Results】The concentrations of MDA, TAOC, and CK-BB were remarkable different among different time points in the same dog ($P < 0.01$). The concentrations of MDA and CK-BB were different between the control group and the experimental group ($P < 0.01$), and the concentrations of TAOC were also different between the control group and the experimental group ($P < 0.05$). 【Conclusion】This experiment showed that long time deep hypothermic low-flow cardiopulmonary bypass can bring some degree of damage on the central nervous system of experimental dogs.

收稿日期:2004-01-04

基金项目:广东省医学科研基金资助项目(A2003061)

作者简介:许 刚(1972-),男,四川渠县人,硕士,主治医师. E-mail: xuganghjj@163.com

Nimotop has brain protective effects. It is an effective brain protective method to use nimotop during the course of deep hypothermic low-flow cardiopulmonary bypass.

Key words: hypothermia, induced; extracorporeal circulation; brain; nimotop; dog

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci)2004, 24(4) 334 - 337]

由于心脏手术常需要体外循环以及脑细胞对缺氧最敏感的缘故,心脏术后常合并脑损伤,并可能带来严重后果^[1],小儿、尤其是婴幼儿更为多见。如何在小儿心脏手术中进行有效的脑保护以减少脑部并发症,是临床和科研工作者迫切需要解决的问题。目前,常用的脑保护方法包括以下几种:深低温停循环和深低温低流量技术、脑部顺行或逆行灌注、体外循环时不同的血气管理方法、各种脑保护药物及脑保护液等,但哪一种方法确实有效尚无定论。我们用6个月龄犬建立实验动物模型,首次把深低温低流量(deep hypothermic low-flow, DHLF)技术和脑保护药物尼莫通(nimotop)结合起来运用,通过对比实验组和对照组动物各项指标的改变,判断综合运用这两种方法是否能在6月龄犬心脏手术中提供有效的脑保护,为临床应用研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型的制作

取中山大学实验动物中心提供的6个月龄健康杂种犬,模拟心脏手术,建立深低温低流量心肺分流术(cardiopulmonary bypass, CPB)实验动物模型,主要步骤包括:麻醉后气管插管,开胸后建立体外循环,降温后开始深低温低流量体外循环,高流量复温后结束手术。该实验动物模型是由本课题科研小组研究并设计的。

两组具体实验步骤如下,静脉麻醉后气管插管,开胸,施行体外循环手术,抽取第1组标本后开始体外循环,体外循环流量开始为100 mL/(kg·min),20 min后降温至鼻咽温20℃,抽取第2组标本后开始DHLF,体外循环流量减为20 mL/(kg·min),维持血pH值7.4左右,鼻咽温控制在20℃,在DHLF 1 h和DHLF 2 h时分别抽取第3、第4组标本,120 min后复温,体外循环流量恢复到100 mL/(kg·min),30 min至鼻咽温达37℃,抽取第5组标本后停机,结束手术,实验组:基本实验步骤同上,在建立CPB前,颈内动脉穿刺置管,通过恒速微泵持续匀速给予尼莫通15 μg/(kg·h)。尼莫通

采用德国拜耳公司50 mL尼莫同注射液,批号BXN10FR 1,稀释于生理盐水中,以15 μg/(kg·h)的速度均匀给药,对照组以相同速度给予同量的生理盐水。

1.2 实验分组及样本采集

6个月龄健康杂种犬12只,雌雄不限,体质量10~12 kg。随机分为对照组和实验组,每组6只,实验步骤如上。两组动物分别在以下时间点抽取颈内静脉血3 mL:①CPB前(第1组标本);②DHLF前(第2组标本);③DHLF 1 h(第3组标本);④DHLF 2 h(第4组标本);⑤复温,恢复CPB后30 min(第5组标本),各检测标本均在4℃温度下制备。

1.3 指标的检测

血标本在4℃温度下离心15 min(3 000 r/min, Beckman Gs-6R低温台式离心机,离心半径15 cm),取上清液进行检测。①化学比色法测定丙二醛(malondialdehyde, MDA)总抗氧化能力(total antioxidant capacity, TAOC),由南京建成生物工程研究所提供测定试剂盒;②用全自动生化分析仪(美国Beckman公司)测定颈内静脉血磷酸激酶同工酶(creative phosphokinase isoenzyme-BB, CK-BB)含量,由法国Sebia公司提供HYDRAGEL 7 ISO-CK试剂盒。

1.4 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS for windows 11.0处理数据。CPB前两组各指标用两独立样本 t 检验比较均衡性;采用随机区组设计资料的方差分析进行组内比较,进一步用Student-Newman-Keuls法作两两比较;用重复测量数据方差分析方法进行组间比较。

2 结果

2.1 颈内静脉血丙二醛(MDA)

两组动物CPB前颈内静脉血MDA含量比较($t = 0.094, P > 0.05$),对照组和实验组差异没有统计学意义,显示两组是均衡的;组内比较,实验过程中两组动物不同时点颈内静脉血MDA浓度有差

别 组间比较 两组各时间点颈内静脉血 MDA 含量总的差别有统计学意义 ($F = 22.368, P < 0.01$) (表 1)。

表 1 两组幼犬不同时点颈内静脉血 MDA 含量对比

Table 1 The comparison of the concentration of MDA in internal jugular vein from two groups of young dogs at different time points [$c_{MDA} / (mmol \cdot L^{-1})$]

Time point	Control group ($n = 6$)	Experimental group ($n = 6$)
Before CPB	5.2 ± 0.7	5.1 ± 0.6
Before DHLF	4.2 ± 0.3 ¹⁾	4.2 ± 0.7
DHLF for an hour	5.34 ± 0.64	4.3 ± 0.8
DHLF for two hours	7.1 ± 0.66 ²⁾	4.9 ± 0.9
30 min after CPA again	10.38 ± 1.21 ³⁾	6.2 ± 1.4 ⁴⁾
F	94.540	11.138
P	< 0.01	< 0.01

CPB: cardiopulmonary bypass; DHLF: deep hypothermic low-flow; MDA: alondialdenycele. Student-Newman-Keuls method, $q_1) = 4.196, q_2) = 7.708, q_3) = 10.379, q_4) = 6.227$, and 1), 2) 3) 4) Compared with the time before CPB, $P < 0.05$

2.2 颈内静脉血总抗氧化能力(TAOC)

两组动物 CPB 前颈内静脉血 TAOC 比较 ($t = 1.433, P > 0.05$), 对照组和实验组差异没有统计学意义, 即两组是均衡的; 组内比较, 实验过程中两组动物不同时点颈内静脉血 TAOC 有差别; 组间比较, 两组各时间点颈内静脉血 TAOC 总的差异有统计学意义 ($F = 2.684, P < 0.05$), 实验组动物颈内静脉血 TAOC 活性与对照组有差别(表 2)。

表 2 两组幼犬不同时点颈内静脉血 TAOC 对比

Table 2 The comparison of the concentration of TAOC in internal jugular vein from two groups of young dogs at different time points [$z_{TAOC} / (U \cdot mL^{-1})$]

Time point	Control group ($n = 6$)	Experimental group ($n = 6$)
Before CPB	7.7 ± 3.5	5.6 ± 0.7
Before DHLF	7.5 ± 1.9	9.1 ± 3.2
DHLF for an hour	8.5 ± 2.5	8.6 ± 1.7
DHLF for two hours	8.3 ± 2.4	12.9 ± 1.9 ²⁾
30 min after CPB again	12.4 ± 1.6 ¹⁾	16.0 ± 6.5 ³⁾
F	5.600	8.706
P	< 0.01	< 0.01

CPB: cardiopulmonary bypass; DHLF: deep hypothermic low-flow; TAOC: total antioxidant capacity. Student-Newman-Keuls method, $q_1) = 12.448, q_2) = 12.921, q_3) = 16.004$, and 1) 2) 3) Compared with the time before CPB, $P < 0.05$

2.3 颈内静脉血磷酸激酶同工酶(CKBB)

两组动物 CPB 前颈内静脉血 CKBB 含量比较, ($t = 2.185, P > 0.05$), 对照组和实验组差别没有统计学意义, 即两组是均衡的; 组内比较, 实验过程中两组动物不同时点颈内静脉血 MDA 浓度有差别; 组间比较, 两组各时间点颈内静脉血 CKBB 含量总的差别有统计学意义 ($F = 4.677, P < 0.01$), 实验组动物颈内静脉血 CKBB 浓度与对照组有差别(表 3)。

表 3 两组幼犬不同时点颈内静脉血 CK-BB 对比

Table 3 The comparison of the concentration of CK-BB in internal jugular vein from two groups of young dogs at different time points [$z_{CK-BB} / (U \cdot L^{-1})$]

Time point	Control group ($n = 6$)	Experimental group ($n = 6$)
Before CPB	189.03 ± 25.13	163.15 ± 14.50
Before DHLF	111.58 ± 34.93 ¹⁾	79.37 ± 33.36 ³⁾
DHLF for an hour	167.70 ± 29.93	83.58 ± 18.87 ⁴⁾
DHLF for two hours	217.50 ± 20.98	128.98 ± 24.53
30 min after CPB again	353.31 ± 27.74 ²⁾	149.64 ± 24.79
F	60.935	13.648
P	< 0.01	< 0.01

CK-BB: Creative phosphokinase isoenzyme-BB; CPB: Cardiopulmonary bypass; HLF: deep hypothermic low-flow. Student-Newman-Keuls method, $q_1) = 111.557, q_2) = 353.307, q_3) = 79.372, q_4) = 83.578$, and 1), 2) 3) 4) Compared with the time before CPB, $P < 0.05$

3 讨论

体外循环心脏手术会引起病人出现暂时性的脑水肿, 对中枢神经系统造成损害^[2]。小儿中枢神经系统发育尚未完善, 脑部损伤是小儿心脏手术后一种严重的并发症^[3], 复杂先天性心脏病手术操作复杂, 常规的体外循环方法难以满足手术操作的要求。因此, 在复杂先心病手术中, 常常会用到深低温停循环 (deep hypothermic circulatory arrest, DHCA) 和深低温低流量 (DHLF) 方法, 体外循环往往只能以较低的流量维持机体血脑循环。与 DHCA 相比, DHLF 能显著改善脑部氧代谢, 为手术提供较充分的时间。Bellinger 等^[4]研究也发现, DHLF 小儿心外科手术术后神经系统发生异常的危险性比单纯 DHCA 低。但 DHLF 也会对脑部代谢造成不良影

响。我们设想,在小儿复杂先心病手术矫治中综合运用脑保护药物和深低温低流量技术进行脑部保护,疗效可能比较理想。犬的寿命15~20年,6个月龄犬相当于3~6岁幼童。本实验用6个月龄犬建立动物模型,采用脑保护药物尼莫通,其活性成分是尼莫地平,它是第二代钙离子通道阻滞剂,可以在脑缺血缺氧时阻止钙离子大量内流,选择性扩张脑血管,增加缺血脑组织血流量,调整脑代谢,纠正细胞内酸中毒,恢复神经细胞线粒体功能,保障血脑屏障的完整性,从而减轻脑水肿,缩小脑梗死面积,减少神经递质的释放与毒性。

组织在缺血-再灌注时,会产生大量氧自由基,攻击生物膜中不饱和脂肪酸,引发脂质过氧化作用,形成MDA等脂质过氧化代谢产物和新的氧自由基。Abdul等^[5]发现主动脉开放再灌注时和CPB结束后,伴有MDA升高。因而,测试血中MDA含量常可反映机体内脂质过氧化程度,间接反映出细胞的损害程度。机体抗氧化防御体系可分为酶促与非酶促两类。总抗氧化能力的降低常导致各种疾病的产生。有研究表明,对机体总抗氧化能力的评估是早期诊断和预防氧自由基介导疾病的有效手段^[6]。Sofic等^[7]发现,血清中TAOC水平可作为多种神经系统疾病和原发性心肌病的发病机理和预后指标。在本实验中,不同时间实验犬颈内静脉血MDA浓度和TAOC活性有差别,说明了长时间DHLF会使动物脑内脂质过氧化产物MDA含量增加、TAOC活性改变;结果也显示,实验组在尼莫通的干预下,颈内静脉血MDA浓度和TAOC活性变化与对照组有明显的改善。提示,尼莫通对DHLF的脑组织有保护作用,包括减少有毒代谢产物的堆积,激活动物体内的防御体系,提升机体的总抗氧化能力等。

CK是一种重要的酶调节物,它在维持细胞能量动态平衡方面和细胞内能量转换方面起到至关重要的作用^[8]。CK-BB是CK同工酶之一,在脑细胞胞浆中占优势地位,在神经细胞ATP代谢中起到重要的调节作用^[9]。脑组织缺血缺氧性损害导致神经细胞膜通透性增高,胞浆内CK-BB会渗入脑脊液中。此时,血脑屏障通透性也增高,脑脊液中的CK-BB可通过受损的血脑屏障进入血液循环中。所以,血液中CK-BB升高代表着脑组织损伤。Kaukinen等^[10]研究发现,可以通过检测脑脊液中的CK-BB、NSE等作为判断CABG术后有无脑部并发症的指标。本实验结果表明,长时间DHLF损伤脑

细胞,使颈内静脉血CK-BB升高;而实验组的CK-BB升高的幅度明显降低,提示尼莫通具有稳定脑细胞膜通透性的作用。

综上所述,我们通过动物实验可以知道,长时间深低温低流量体外循环会对本文实验幼犬中枢神经系统造成损害,而深低温低流量综合运用尼莫通可在手术中起到较好的脑保护作用。

参考文献:

- [1] 熊迈,张希,姚尖平,等. 体外循环术后血清S-100蛋白浓度变化及其意义[J]. 中山医科大学学报, 2001, 22(4): 270-3.
- [2] Scholz M, Wimmer G G, Kleine P, *et al.* Cariporide (HOE642) limits S-100 β release during cardiac surgery[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2003, 41(3): 468-73.
- [3] Trittenwein G, Nardi A, Pansi H, *et al.* Early postoperative prediction of cerebral damage after pediatric cardiac surgery[J]. Ann Thorac Surg, 2003, 76(2): 576-80.
- [4] Bellinger D C, Jonas R A, Rappaport L A, *et al.* Developmental and neurologic status of children after heart surgery with hypothermic circulatory arrest or low-flow cardiopulmonary bypass[J]. N Engl J Med, 1995(332): 549-55.
- [5] Abdul K H, Blasig Z E, Baur M O, *et al.* Release of the cerebral protein S-100 into blood after reperfusion during cardiac operations in infants[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1999, 117(5): 1027-8.
- [6] Lesgards J F, Durand P, Lassarre M, *et al.* Assessment of lifestyle effects on the overall antioxidant capacity of healthy subjects[J]. Environ Health Perspect, 2002, 110(5): 479-86.
- [7] Sofic E, Rustembegovic A, Kroyer G, *et al.* Serum antioxidant capacity in neurological, psychiatric, renal diseases and cardiomyopathy[J]. J Neural Transm, 2002, 109(5-6): 711-9.
- [8] Jost C R, Vanderzee C E, Intzandt H J, *et al.* Creatine kinase B driven energy transfer in the brain is important for habituation and spatial learning behaviour, mossy fibre field size and determination of seizure susceptibility[J]. Eur J Neurosci, 2002, 15(10): 1692-706.
- [9] Aksenov M, Aksenova M, Butterfield D A, *et al.* Oxidative modification of creatine kinase BB in Alzheimer's disease brain[J]. J Neurochem, 2000, 74(6): 2520-7.
- [10] Kaukinen L, Porkkala H, Kaukinen S, *et al.* Release of brain specific enolase into cerebrospinal fluid after hypothermic and normothermic cardiopulmonary bypass in coronary artery surgery[J]. Ann Anaesthe Scand, 2000, 44(4): 361-8.

(编辑 张敏瑞)