

冠状静脉逆灌注对犬缺血心肌的保护作用

张成喜¹, 潘思年², 符永玫¹, 刘旭辉¹, 刘金来³, 张书刚³

(中山医科大学附属第三医院 1. 急诊科; 2. 儿科; 3. 心内科, 广东 广州 510630)

摘要: 【目的】探索一种简便的冠状静脉逆灌注方法, 了解其有效性和安全性。【方法】健康成年犬 13 条, 随机分为逆灌注组 ($n=7$) 和对照组 ($n=6$)。开胸结扎左冠状动脉前降支(LADA), 逆灌注导管经右颈外静脉送入冠状静脉窦并进一步插至心大静脉(GCV)远端, 动脉血由左颈总动脉引出, 以自身动脉血压为动力进行持续逆灌注。逆灌注组于 LADA 结扎后 5 min 开始持续逆灌注, 共 6 h; 对照组同样进行插管但不灌注。观察血流动力学、心电图、血清生化及形态学改变。【结果】逆灌注组血流动力学较稳定 ($P<0.05\sim0.01$)。LADA 结扎后两组缺血中心区心外膜心电图 ST 段均明显抬高, 30 min 后逐渐回降, 逆灌注组回降速度较快 ($P<0.01$)。与逆灌注组相比, 对照组血清肌酸激酶-MB(CK-MB)明显升高, 一氧化氮(NO)水平明显下降 ($P<0.05\sim0.01$)。对照组和逆灌注组缺血心肌发生梗死的面积分别占(76.2±4.7)%和(38.8±7.3)% ($P<0.01$)。光镜下, 逆灌注组前室间静脉(LADV)及其小属支内膜结构完整, 无明显损伤; 两组均未见到出血性梗死。【结论】采用简便的冠状静脉逆灌注方法可明显减轻心肌的缺血性损伤, 减小心肌梗死面积, 稳定血流动力学, 且对冠状静脉系统及心肌组织无明显损伤。

关键词: 心肌缺血; 冠状血管; 血液灌注/方法; 狗

中图分类号: R542.22; R540.46 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2001)02-0111-05

The Protective Effects of Coronary Venous Retroperfusion on Ischemic Myocardium in Dogs

ZHANG Cheng-xi¹, PAN Si-nian², FU Yong-mei¹, LIU Xu-hui¹, LIU Jin-lai³, ZHANG Shu-gang³

(1. Department of Emergency Medicine; 2. Department of Pediatrics; 3. Department of Cardiology, Third Affiliated Hospital Sun Yat-sen University of Medical Sciences Guangzhou 510630, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the efficacy and safety of a simplified coronary venous retroperfusion method. 【Methods】Thirteen adult mongrel dogs were allocated randomly into retroperfusion group ($n=7$) and control group ($n=6$). All dogs underwent six hours of ischemia imposed by ligating the proximal part of the left anterior descending coronary artery (LADA). Retroperfusion catheter was inserted through the right external jugular vein until its tip was at the distal part of the great cardiac vein (GCV). Arterial blood was drained from the left carotid artery. In the retroperfusion group, retroperfusion began 5 min after the ligation of LADA and persisted throughout the six-hour experiment. In the control group, the retroperfusion catheter was inserted the same as in the retroperfusion group but without retroperfusion. Hemodynamics, electrocardiographs, serum biochemistry and morphologic changes were observed. 【Results】The hemodynamics were more stable in the retroperfusion group than in the control group ($P<0.05\sim0.01$). Soon after the LADA ligation epicardial ST segments were greatly elevated in both groups and 30 min later it began to drop gradually, but the drop in the retroperfusion group was faster ($P<0.01$). During the experiments the value of creatine kinase MB(CK-MB) elevated and nitric oxide (NO) dropped more obviously in the control group than in the retroperfusion group ($P<0.05\sim0.01$). The infarction area, expressed as percentage of the ischemic area, was (76.2±4.7)% in the

收稿日期: 2000-10-23

基金项目: 广东省卫生厅基金资助项目(A1999177)

作者简介: 张成喜(1969-), 男, 河南新乡人, 硕士, 主治医师

control group and $(38.8 \pm 7.3)\%$ in the retroperfusion group, ($P < 0.01$). The structures of the intima of left anterior descending coronary vein (LADV) and its subordinating veins had no obvious injuries under light microscope and in both groups there were no hemorrhagic infarctions. 【Conclusion】 Simplified coronary venous retroperfusion can lessen ischemic injuries, reduce myocardial infarction size, stabilize hemodynamics and made no obvious damages to coronary veins and myocardia.

Key words: myocardial ischemia; hemoperfusion/methods; coronary vessels; dogs

冠状静脉逆灌注 (coronary vein retroperfusion, CVRP) 的基本思路是当某支冠状动脉狭窄或闭塞时, 通过相应的冠状静脉逆向向缺血区供血, 维持心肌的功能。近年来, 人们主要将 CVRP 作为急性心肌缺血时提供暂时保护、逆行局部输注药物或在心脏手术时逆行灌注停搏液的一种手段^[1]。目前主要的 CVRP 方法有同步冠状静脉逆灌注 (synchronized retroperfusion of coronary veins, SRP)、压力控制间歇性冠状静脉窦阻塞 (pressure-controlled intermitted coronary sinus obstruction, PICSO) 及选择性冠状静脉抽吸与逆灌注技术 (selective suction and retroinfusion of coronary veins, SSRP) 等^[1~3]。这些方法所需设备较复杂, 临床应用受到限制。本实验采用一种简便的冠状静脉逆灌注方法, 即不阻塞冠状静脉, 以自身动脉压力为动力进行持续逆灌注, 观察其对犬急性缺血心肌的保护作用及其安全性, 初步探讨其作用机制, 为临床应用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物与分组

健康成年杂种犬 13 只, 雌雄不拘, 体质量 (12.5 ± 2.5) kg, 用随机数字法随机分为逆灌注组 ($n=7$) 和对照组 ($n=6$)。

1.2 导管制备和试剂来源

逆灌注导管由 7F 球囊导管剪去球囊部分后改制而成, 长 70 cm, 中央管直径 1 mm, 用于逆灌注, 侧管用于监测冠状静脉压力。NO 用硝酸还原酶法测定, 试剂盒购于北京晶美生物工程有限公司, 按说明书操作。CK-MB 由本院检验科测定。硝基四氮唑蓝 (NBT) 粉剂为上海前进试剂厂产品, 批号 990123, 配成 5 g/L NBT 磷酸盐缓冲液 (pH7.2) 备用。

1.3 手术方法

30 g/L 戊巴比妥钠 1 mL/kg 腹腔注射麻醉。

气管插管, 接呼吸机, 呼吸机参数: 频率 20 次/min, 潮气量 20 mL/kg, 通空气。游离右股静脉, 插 6F Arrow 双腔输液管, 经侧孔补液及抽血, 端孔测中心静脉压 (p_{cv})。游离右颈外静脉、左颈总动脉、右股动脉。逆灌注导管经右颈外静脉通过 8F 血管鞘送入右心房。左颈总动脉插 8F 动脉血管鞘, 其侧管用来提供逆灌注动脉血。经右股动脉插漂浮导管 (气囊不充气) 至左心室, 端孔测左室压, 侧孔测主动脉压。左第 4 肋间开胸, 剪开并吊起心包, 于主动脉根部接 12 Φ 电磁流量计探头测心输出量 (V_{CO})。手法引导下将逆灌注导管经冠状静脉窦 (CS) 口送入心大静脉 (GCV) 近左前降静脉 (LADV) 位置。在第 1 对角支下仔细游离并结扎左前降动脉 (LADA), 注意勿损伤静脉。肝素 300 IU/kg 静脉注射, 以后每 2 h 100 IU/kg。逆灌注组结扎 LADA 5 min 后, 接通逆灌注导管与左颈总动脉鞘管的侧管 (二者之间连接 3 Φ 电磁流量计探头测定逆灌注流量), 开始逆灌注。对照组同样结扎 LADA 及行冠状静脉插管, 但不做逆灌注。实验持续 6 h。

1.4 实验观察

记录 LADA 结扎前、结扎后 5 min、30 min 及每小时的血流动力学指标 [逆灌注流量、GCV 压力、心率、主动脉压、左心室压、左心室压上升的最大速率 ($+dp/dt_{max}$)、左心室压下降的最大速率 ($-dp/dt_{max}$)、 V_{CO} 、 p_{cv} 等] 和心外膜心电图 ST 段变化。测压导管经压力换能器接多导生理记录仪, 流量从流量计上直接读数。结扎 LADA 时根据心肌紫绀的范围确定缺血中心区, 采用棉线手持接触法记录该部位心外膜心电图, 以 QRS 波群后 0.04 s 处距等电线的距离作为 ST 段的偏移程度。实验过程中持续监测肢体导联心电图。LADA 结扎前及结扎后每小时抽血 7 mL, 血液即刻离心 2000 r/min, $r=20$ cm, 10 min, -20°C 冰箱保存血清, 备测 CK-MB 和 NO。

实验结束时, 将 10 mL 60 g/L 美蓝快速注入

左心室以测心肌缺血面积。静脉注射 10% KCl 15 mL 处死动物,取出心脏,分出左心室。垂直左心室长轴连续切片(1 cm 厚),将透明塑料纸贴在切片的心底面,描记左心室及未染色区(心肌缺血区)轮廓。然后进行 NBT 染色:切片在清水下冲洗后,放入 5 g/L NBT 磷酸盐缓冲液中,37 °C 孵育 15 min,然后在透明塑料纸上描记左心室及未染色区(心肌梗死区)轮廓。应用图象分析系统测定透明塑料纸上描记的左心室、缺血区域及梗死区域面积。切取小块心肌组织(在左室后壁及 LADA 供血区含 LADV),甲醛固定,备做石蜡切片,常规 HE 染色,普通光镜观察。

1.5 数据处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较用独立样本 t 检验,两变量相关分析用 Pearson 相关系数及假设检验, $P < 0.05$ 为有统计学差异。采用 SPSS 统计软件处理。

2 结果

2.1 逆灌注流量和冠状静脉压力

逆灌注刚开始时的流量为(20.2 ± 3.8) mL/min,以后逐渐降低,至逆灌注 6 h 实验结束时,降至(8.1 ± 2.9) mL/min。经相关分析,逆灌注流量与主动脉收缩压高度相关($r = 0.91$, $P < 0.01$)。逆灌注开始前,对照组和逆灌注组 GCV 处的压力分别为(17.8 ± 1.9)/(13.9 ± 1.5) mmHg 和(17.7 ± 2.6)/(13.7 ± 2.1) mmHg。逆灌注开始后,逆灌注组 GCV 的收缩期和舒张期的压力稍有升高;对照组保持不变。两组差异未达到统计学显著性。

2.2 LADA 结扎前后两组血流动力学比较

2.2.1 心率 LADA 结扎前,对照组和逆灌注组的心率分别为(139.3 ± 9.5) min⁻¹和(140.6 ± 18.2) min⁻¹($P > 0.05$)。LADA 结扎后,两组心率未见明显变化。

2.2.2 主动脉压 LADA 结扎前,对照组和逆灌注组主动脉收缩压分别为(142.3 ± 10.3) mmHg 和(143.6 ± 9.0) mmHg($P > 0.05$);LADA 结扎后,两组均有下降趋势,但对照组下降更明显,3 h 后两组出现显著性差异($P < 0.05$)。对照组和逆灌注组 LADA 结扎前主动脉舒张压分别为(66.5 ± 13.2) mmHg 和(65.6 ± 11.4) mmHg($P > 0.05$),结扎后两组均无明显变化。

2.2.3 左心室压 LADA 结扎前,对照组和逆灌注组的左心室峰收缩压分别为(142.5 ± 13.3) mmHg 和(143.4 ± 8.7) mmHg($P > 0.05$);结扎后,两组均逐渐降低,对照组降低更明显($P < 0.05$)。两组结扎前左心室舒张末压分别为(6.2 ± 1.8) mmHg 和(5.9 ± 1.1) mmHg($P > 0.05$);结扎后逆灌注组基本保持不变,而对照组则逐渐升高,在结扎后 1 h 至第 6 小时末实验结束时,两组间有显著性差异($P < 0.05 \sim 0.01$)。

2.2.4 左心室收缩及舒张性 LADA 结扎前,对照组和逆灌注组左心室收缩期室内压上升的最大速率(+dp/dt_{max})分别为(1178 ± 59) mmHg/s 和(1216 ± 51) mmHg/s($P > 0.05$);结扎后两组均逐渐降低,对照组下降更明显,结扎后 3h 至实验结束时,两组出现显著性差异($P < 0.05 \sim 0.01$)。LADA 结扎后两组左心室舒张期室内压下降最大速率(-dp/dt_{max})也逐渐降低,结扎后 30 min 至第 6 小时实验结束时,逆灌注组始终高于对照组($P < 0.05 \sim 0.01$)。

2.2.5 中心静脉压 LADA 结扎后,基本保持在结扎前水平,两组间无显著性差异。

2.2.6 心输出量 LADA 结扎前,对照组和逆灌注组心输出量分别为(2.33 ± 0.38) L/min 和(2.38 ± 0.40) L/min($P > 0.05$);结扎后两组均有下降,对照组下降幅度更大,结扎后 1 小时至第 6 小时,两组间有极显著性差异($P < 0.01$)。实验结束时两组心输出量分别下降 46%和 28%。

2.3 心电图变化

2.3.1 心室颤动发生率 对照组心室颤动的发生率为 67%(4/6),逆灌注组为 43%(3/7),均除颤成功(12J)。

2.3.2 ST 段变化 LAD 结扎后 5 min 两组缺血中心区 ST 段即呈严重抬高。结扎 30 min 后,ST 段开始回降,逆灌注组回降速度较对照组明显加快,两组间有显著性差异($P < 0.05 \sim 0.01$)。

2.4 血液生化变化

本实验对照组(CTR)与逆灌注组(CRP)血清 CK-MB 及 NO 水平的变化见表 1,可见逆灌注组 CK-MB 在 3 h 后显著低于对照组,NO 在 2 h 后显著高于对照组。

2.5 形态学观察

美蓝染色显示正常供血区域染成淡蓝色,缺血区域未染色。对照组和逆灌注组缺血区面积分别

表 1 两组血清 CK-MB 和 NO 水平变化

Table 1 Changes of serum CK-MB and NO levels in the two groups ($\bar{x} \pm s$)

	n	Before LADA ligation	After LADA ligation					
			1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
$L(\text{CK-MB})/(\text{U} \cdot \text{L}^{-1})$								
CTR	6	17.8±1.2	23.2±3.0	28.3±1.8	39.3±5.9	45.0±5.6	62.7±6.4	73.7±4.0
CRP	7	17.2±2.2	21.9±2.8	26.9±1.1	28.6±1.5 ²⁾	34.6±4.1 ²⁾	39.4±4.2 ²⁾	42.5±2.9 ²⁾
$c(\text{NO})/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$								
CTR	6	70.6±3.7	59.7±7.9	58.0±2.7	56.1±4.9	61.6±7.0	65.0±6.1	64.0±2.8
CRP	7	71.4±4.5	63.8±4.2	68.1±6.4 ²⁾	70.9±4.4 ²⁾	73.0±6.0 ¹⁾	75.8±4.9 ²⁾	76.0±3.1 ¹⁾

CTR, control group; CRP, coronary retroperfusion group; compared to CTR group 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$

占左心室总面积的(28.7±0.9)%和(29.1±3.1)%($P > 0.05$)。NBT染色显示正常心肌染成深紫蓝色,坏死心肌未染色或呈淡蓝色。两组梗死区面积分别占左心室总面积的(21.6±1.0)%和(11.3±2.1)%($P < 0.01$);梗死区面积分别占缺血区面积的(76.2±4.7)%和(38.8±7.3)%($P < 0.01$)。与对照组相比,逆灌注组心肌梗死面积减少49.1%。

光镜检查梗死区及左心室后壁心肌未见间质出血。LADV内膜完整,无撕裂、血栓形成,内皮细胞无肿胀、变性坏死等改变;逆灌注区小静脉也未见明显病变。

3 讨论

3.1 简单冠状静脉逆灌注的有效性

早期的CVRP的方法是采用主动脉到冠状静脉窦或某一冠状静脉的“搭桥”手术,同时完全或部分结扎相应的冠状静脉以防止逆灌的动脉血倒流。由于该手术的并发症较严重,目前已基本被放弃。近年来随着冠心病介入治疗的广泛开展,高危病例增多,发生紧急情况(“bail out” situation)的可能增大,CVRP作为一种临时的心肌保护措施重新受到重视^[4]。其实施是将带球囊的导管插入相应的冠状静脉,并有心电图同步和泵血装置。主要的CVRP方法有SRP、PICSO及SSRP等^[1~3]。SRP是在心脏舒张期充盈球囊阻断冠状静脉,同时主动逆灌注动脉血,心脏收缩期放松球囊使血液回流;PICSO并非真正的逆灌注,而是通过间歇地充放球囊,使冠状静脉系统压力升高,从而为缺血心肌提供潮汐样的静脉血;SSRP在SRP的基础上增加收缩期主动抽吸装置,使逆灌注动脉血面临一个“抽

空”的冠状静脉,减少了死腔,以增加效能。这些方法所需设备较复杂,需要反复充放球囊及泵血装置,临床应用受到限制。本实验采用的简单CVRP不阻塞冠状静脉,依靠自身动脉压力驱动进行逆灌注,大大简化了CVRP的设备要求,便于推广应用。多数作者^[2,3,5]在SRP时的流量为30~50 mL/min,也有作者^[6]采用低流量(7 mL/min)CVRP同样有效。本实验过程中逆灌注流量为(20.2±3.8) mL/min至(8.1±2.9) mL/min,与对照组相比,逆灌注组血流动力学和心脏电生理稳定,心肌损伤轻,心肌梗死面积减小,表明该方法能够保护缺血心肌。然而,本实验也表明,这种保护作用并不完全,逆灌注组的血流动力学指标也有恶化趋势。同时,由于本法以自身动脉压为驱动力,血压过低显然不能产生有效血流。因此,该方法尚不能根本解决心肌供血问题,但有可能为进一步的更为有效的干预措施赢得时间。

3.2 逆灌注的安全性

冠状静脉逆灌注是一种非生理性措施,潜在一些危险性。首先,冠状静脉压力升高,有可能造成静脉壁的损伤以及心肌细胞水肿、出血^[1]。其次,逆灌注对冠状动脉水平的侧枝循环以及正常供血区域的前向血流可能有不利的影响^[3,5]。这些副作用主要与冠状静脉回流受阻、压力升高有关^[1,5]。本实验采用7F(外径2.33 mm)的不带球囊的逆灌注导管,冠状静脉未完全阻塞;同时逆灌注流量较低,对收缩期的回流影响不大。实验中压力监测表明逆灌注组GCV压力无明显升高。术后光镜观察,相应的冠状静脉及其属支内膜完整,内皮细胞无肿胀、断裂等损伤;心肌间质无明显渗出、出血。因此,本方法较为安全。

3.3 逆灌注的作用机制

目前认为逆灌注的作用机制主要是:①为缺血心肌提供营养作用;②冲洗局部有毒的代谢废物,减轻其对心肌的损伤^[1,2]。然而,关于逆灌注的作用机制,尤其是其对微循环水平的影响仍不清楚^[1]。本实验中,我们测定了血清 NO 水平。在 LAD 结扎后,对照组血清 NO 水平进行性下降,而逆灌注组无明显变化。有研究表明,急性心肌梗塞时,血清 NO 水平下降,且与缺血区域一氧化氮合酶(NOS)mRNA 的表达水平有平行关系,提示 NO 水平下降可能参与了心肌缺血性损伤的发生和发展过程^[7,8]。NO 水平下降表明在缺血缺氧时,血管内皮功能受损^[7]。另一方面,在心肌缺血时,一般认为 NO 是一个保护性因子,可以减轻心肌缺血性损伤^[8]。因此,冠状静脉逆灌注可能通过维持血清 NO 水平,从而介导其心肌保护效应。

参考文献:

- [1] Kar S, Nordlander R. Coronary veins; an alternate route to ischemic myocardium[J]. Heart Lung 1992, 21(2): 148.
- [2] Boekstegers P, Giehl W, vo Degenfeld G, et al. Selective suction and pressure-regulated retroinfusion: an effective and safe approach to retrograde protection against my-

- ocardial ischemia in patients undergoing normal and high risk percutaneous transluminal coronary angioplasty [J]. JACC, 1998, 31(7): 1525.
- [3] Matsuhashi H, Hasebe N, Kawamura Y, et al. The effect of intermittent coronary sinus occlusion on coronary sinus pressure dynamics and coronary arterial flow [J]. JPN Circ J 1992, 56(3): 272.
- [4] Leung W H. Coronary and circulatory support strategies for percutaneous transluminal coronary angioplasty in high-risk patients [J]. Am Heart J, 1993, 125(6): 1727.
- [5] Mitsugi M, Saito T, Saitoh S, et al. Effects of synchronized retroperfusion on the coronary arterial pressure-flow relationship [J]. Cardiovasc Res 1996, 32(2): 335.
- [6] Katircioglu S F, Yucl D, Saritas Z, et al. Simplified retroperfusion system preserves the myocardial function during acute coronary artery occlusion [J]. Thorac Cardiovasc Surg 1998, 46(1): 1.
- [7] Ma X, Weyrich A S, Lefer D J, et al. Diminished basal nitric oxide release after myocardial ischemia and reperfusion promotes neutrophil adherence to coronary endothelium [J]. Circ Res 1993, 72(2): 403.
- [8] 雷燕,钟蓓,史大卓,等.犬急性缺血时循环内皮素和一氧化氮的变化及其相关酶的基因表达[J].中国循环杂志, 1997, 12(5): 357.

(编辑 刘清海)

·新成果·

原位肝移植术后管理

课题负责人 管向东

(中山医科大学附属第一医院, 广东 广州 510080)

完善而系统的原位肝移植术(OLT)手术后管理是 OLT 成败的重要条件。该研究系列对原位肝移植后管理问题作了系统、科学、全面的研究和总结;在国内外首先将最新的抢救危重病人的最优化氧输送指数的概念应用于原位肝移植术后的早期管理中,提高了 OLT 成功率。在国内首先提出用 UW 液保存供肝时,热血时间最长不应超过 5 min,冷保存时间不应超过 8 h 的观点;总结了避免胆道术后并发症的成熟的技术措施和系统的 OLT 术后监护护理,术后肝动脉栓塞和肝肾联合移植的术后护理经验。该研究系列资料完整、论据充分、结论可靠,具有创新性,处于国内领先水平。对器官移植工作有临床指导意义,对我国肝移植事业的发展有良好的借鉴作用,而且在推广应用过程中取得了较好的社会和经济效益。该成果于 2000 年获广东省科学技术进步三等奖。

(陈丽芳)