

## 甲泼尼龙琥珀酸钠对脑死亡供体心脏功能保护的研究

马利明, 王曦, 周云, 李旭, 杨立民, 杨绍军

(昆明医科大学第二附属医院心胸血管外科, 云南昆明 650101)

**[摘要]** **目的** 观察甲泼尼龙琥珀酸钠对猪脑死亡心脏供体的保护作用. **方法** 对 12 只健康版纳小耳猪随机分为 2 组, 对照组静脉输注林格液和低分子右旋糖酐, 激素组在对照组用药的基础上, 静脉输注甲泼尼龙琥珀酸钠. 行开颅手术, 颅内放置 Foley 气囊导管并行颅内缓慢加压建立脑死亡模型, 记录造模前、峰值、造模后 3 h、6 h、9 h 小耳猪平均动脉压 (MAP), 中心静脉压 (CVP), 左室射血分数 (LVEF). 同期各组做常规病理切片. **结果** 激素组左室射血分数 (LVEF), 平均动脉压 (MAP) 较对照组明显提高 ( $P < 0.05$ ); 激素组 T3、T4 浓度下降程度比对照组缓慢, 2 组间对比差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 心肌切片 HE 染色显示: 对照组心肌细胞不均匀肥大, 伸长, 胞浆和肌原纤维颜色变浅, 炎细胞浸润, 局部可见出血. 甲泼尼龙琥珀酸钠治疗组心肌细胞肥大、伸长, 胞浆和肌原纤维颜色变浅, 未见炎细胞浸润及局部出血. **结论** 甲泼尼龙琥珀酸钠治疗对于脑死亡供体心脏功能有着重要的保护作用, 可以改善脑死亡心脏血流动力学.

**[关键词]** 心脏移植; 脑死亡; 心肌保护; 甲泼尼龙琥珀酸钠

**[中图分类号]** R977.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 12 - 0018 - 04

## Protective Effect of Methylprednisolone on the Heart Function of Brain Death Donor

MA Li - ming, WANG Xi, ZHOU Yun, LI Xu, YANG Li - min, YANG Shao - jun

(Dept. of Thoracic and Cardiovascular Surgery, The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the protective effect of Methylprednisolone on the heart function of the brain dead pig donor. **Methods** We randomized 12 healthy Xishuangbanna Miniature pigs into two groups: control group and hormone group. Pigs in control group were given Ringer solution and Dextran-20, pigs in hormone group were given additional intravenous infusion of Methylprednisolone. We performed craniotomy and intracranially placed Foley balloon catheter by slowly increasing intracranial pressure intermittently to establish pig brain-death model. The data including heart rate, MAP, CVP, LVEF and total volume of urine (TVU) were recorded, and the pathological changes of myocardium were observed simultaneously. **Results** The LVEF and mean arterial pressure (MAP) of pigs significantly increased in the hormone group compared with the control group ( $P < 0.05$ ). The fall degree was significantly slower in the hormone group than the control group ( $P < 0.05$ ). The pathological section of myocardium (HE) showed uneven hypertrophy and elongation of cardiac muscle cells, oligochromasia of cytoplasm and muscle fibrils, infiltration of inflammatory cells and local hemorrhage in myocardia of pigs in the control group, and hypertrophy and elongation of cardiac muscle cells, oligochromasia of cytoplasm and muscle fibrils, no infiltration of inflammatory cells and local hemorrhage in myocardia of pigs in the hormone group. **Conclusion** Methylprednisolone plays an important role in the protection of the heart function of the brain dead pig donor and can improve cardiac hemodynamic of the brain death donor.

**[Key words]** Heart transplantation; Brain death; Myocardial protection; Methylprednisolone

**[基金项目]** 云南省科技厅 - 昆明医科大学联合专项基金资助项目 (2008CD026); 云南省卫生科技计划基金资助项目 (2009NS076)

**[作者简介]** 马利明 (1980~), 男, 内蒙古乌海市人, 医学硕士, 住院医师, 主要从事心胸血管外科工作.

**[通讯作者]** 杨绍军. E-mail: yangsj8@hotmail.com

目前, 心脏移植供体来源的最主要途径是脑死亡供者提供的心脏. 随着外科技术的进步及抗排斥反应药物在临床的应用, 移植的疗效及成功率有显著的提高, 但早期的并发症仍然非常突出, 特别是应用脑死亡供体心脏引起的早期原发性移植物功能衰竭, 严重影响心脏移植的疗效. 脑死亡是一种病理生理状态<sup>[1-4]</sup>, 急性脑死亡后机体处于一种应激状态, 体内的内分泌环境、循环系统、各器官的结构等都会受到一定程度的损害, 发生一系列的变化, 其中脑死亡对心脏的影响越来越受到国内外学者的关注. 已经证明急性脑死亡后, 心脏的功能明显损害, 心脏的超微结构发生变化, 移植后的近期和远期疗效都受到一定程度的影响. 脑死亡对心肌的损害可能有两种机制: 首先, 在脑死亡状态下血液动力学极不稳定, 交感神经过度兴奋, 引起冠状动脉痉挛, 冠脉血流减弱, 导致心肌形成收缩带, 心肌细胞溶解并产生局灶性坏死; 另一种心肌损害的主要机制是由于有氧代谢变为无氧代谢, 从而降低了心肌的能量储备, 同时导致循环中的激素, 特别是三碘甲状腺原氨酸 (T3) 明显下降, 可引起心血管系统血流动力学的改变, 心脏对交感-肾上腺素系统的敏感性下降. 脑死亡后的这些病理生理改变导致心功能障碍而不适于移植. 为了减少脑死亡相关的心功能障碍, 目前措施是应用甲基泼尼松龙、甲状腺激素及抗利尿激素联合激素替代疗法, 但临床效果存在争议. 本实验对单独应用糖皮质激素对猪脑死亡后心功能障碍的保护作用进行了研究.

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

健康版纳小耳猪 (15 ~ 20 kg, 雌雄不限), 由昆明医科大学动物实验中心提供; 甲泼尼龙琥珀酸钠购自比利时辉瑞 (Pfizer Manufacturing Belgium NV) 公司.

### 1.2 实验方法

**1.2.1 实验分组** 12 头健康版纳小耳猪随机分为 2 组, 对照组 6 头, 糖皮质激素治疗组 6 头, 脑死亡模型建立前半小时以 6 mg/kg 甲泼尼龙琥珀酸钠静脉注入治疗. 对照组给予林格液和低分子右旋糖酐.

**1.2.2 猪脑死亡模型的建立** 实验动物术前 12 h 禁食, 自由饮水; 戊巴比妥钠全身麻醉, 取仰卧位, 将猪四肢固定于手术台上, 将针形电极分别刺入四肢及头部皮下记录心电图及脑电图; 备皮消毒

后在颈前皮肤正中作一纵形切口, 分离颈前肌群和甲状腺两叶, 游离气管, 做气管切开并行呼吸机正压通气, 潮气量 8 ~ 12 mL/kg, 呼吸频率 30 次/min, 吸呼比 1:2.0; 分离颈内动静脉, 插管, 经换能器连接多导生理仪动态连续监测动脉血压、中心静脉压; 取胸部正中切口, 剪开胸骨, 骨腊封闭胸骨创缘, 减少术中出血, 剪开心包, 暴露主动脉根部, 放置超声探头, 测量各时段左室射血分数; 剪去右侧头顶部的头皮、颅骨外肌肉和骨膜, 在颅骨矢状线外侧 0.2 ~ 0.5 cm 处钻一个直径约 1 cm 的孔, 一根 Foley 18 F 气囊导管由此置入硬脑膜下腔内, 向气囊导管内 5 min 内注入 25 ~ 40 mL 生理盐水, 逐渐膨胀气囊, 增加颅内压, 直到出现脑干疝. 脑死亡模型建成后即停止麻醉, 维持各项生命体征平稳 10 h. 实验动物脑死亡判断标准: 反射消失、无自主呼吸、瞳孔固定散大.

**1.2.3 血流动力学测定评价心功能** 造模前、峰值、造模后 3 h、6 h、9 h 记录各组动物平均动脉压 (MAP), 中心静脉压 (CVP), 左室射血分数 (LVEF) 等血流动力学各项指标.

**1.2.4 血液中生化指标** 测定造模前、峰值、造模后 3 h、6 h、9 h 小耳猪外周血 T3, T4 水平.

**1.2.5 2 组心肌细胞的病理学检查** 在完成所需观察各项指标后, 取适量对照组和激素治疗组左室心肌组织, 做常规病理学切片染色, 形态学上观察 2 组心肌细胞的变化.

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 统计软件处理数据, 所得计量数据采用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 2 组间比较采用重复测量资料的方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义.

## 2 结果

### 2.1 血流动力学变化

激素组在用甲泼尼龙琥珀酸钠干预治疗后, 左室射血分数 (LVEF), 平均动脉压 (MAP) 较对照组明显提高 ( $P < 0.05$ ). 中心静脉压 (CVP), 较对照组明显降低 ( $P < 0.05$ ), 提示在甲泼尼龙琥珀酸钠作用下猪脑死亡后的心功能明显提高, 见表 1.

### 2.2 血液中生化指标

甲泼尼龙琥珀酸钠干预治疗组 T3、T4 浓度下降程度比对照组缓慢, 2 组间对比差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 1.

### 2.3 心肌切片 HE 染色显示

对照组心肌细胞不均匀肥大、伸长, 胞浆和肌

原纤维颜色变浅, 炎细胞浸润, 局部可见出血, 甲泼尼龙琥珀酸钠治疗组心肌细胞肥大, 伸长, 胞浆和肌原纤维颜色变浅, 未见炎细胞浸润, 及局部出血 (见图 2)。

表 1 2 组各时点 MAP、CVP、LVEF 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Comparison of MAP, CVP and LVEF at different time point between two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

时 间	MAP(mmHg)		CVP (cmH <sub>2</sub> O)		LVEF (%)	
	对照组	激素组	对照组	激素组	对照组	激素组
基础	130.2 ± 5.8	125.0 ± 6.2*	7.1 ± 0.9	7.5 ± 1.5*	61.8 ± 3.3	63.2 ± 3.3*
峰值	246.6 ± 9.6	242.7 ± 5.8*	10.3 ± 1.6	9.8 ± 2.6*	76.2 ± 4.5	79.6 ± 4.2*
3 h	101.4 ± 9.3	109.1 ± 6.3*	6.2 ± 1.6	7.8 ± 1.6*	60.2 ± 3.6	63.8 ± 3.4*
6 h	76.0 ± 4.5	96.5 ± 5.4*	10.1 ± 1.4	8.2 ± 1.7*	53.8 ± 4.2	55.7 ± 3.6*
9 h	57.9 ± 5.6	92.0 ± 9.5*	17.2 ± 2.1	9.6 ± 2.3*	39.3 ± 5.2	58.6 ± 5.0*

与对照组比较, \* $P < 0.05$ .

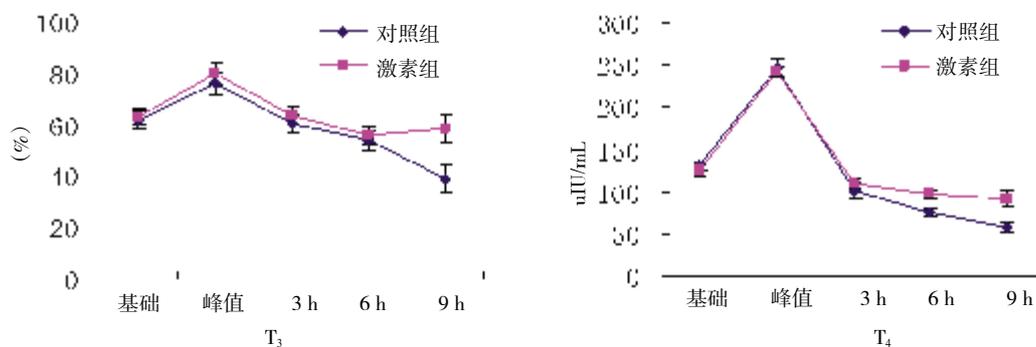


图 1 激素组与对照组不同时间段 T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> 变化趋势图

Fig. 1 The changing tendency of T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> at different time point in hormone group and control group

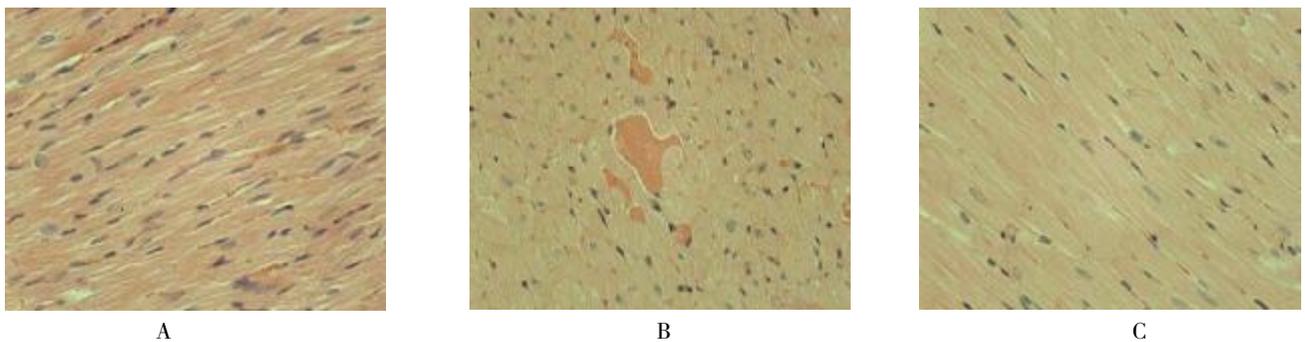


图 2 各组心肌细胞病理光镜图片 ( $\times 40$ )

Fig. 2 The pathological pictures of myocardia of pigs in each group

A: 正常猪心肌细胞; B: 猪脑死亡对照组心肌细胞; C: 猪脑死亡激素组心肌细胞.

### 3 讨论

关于糖皮质激素对血流动力学的影响的研究, 目前尚存在争议. 在本研究中, 笔者通过对健康版纳小耳猪静脉输注甲泼尼龙琥珀酸钠给予干预, 在此基础上行开颅手术, 颅内放置 Foley 气囊导管并行颅内缓慢加压建立脑死亡模型, 记录造模前、峰

值、造模后 3 h、6 h、9 h 版纳小耳猪 MAP, CVP, LVEF 等血流动力学指标, 心肌组织常规病理切片, 观察甲泼尼龙琥珀酸钠对脑死亡后心脏的保护作用. 结果发现激素组 LVEF, MAP 较对照组明显提高 ( $P < 0.05$ ), T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub> 浓度下降程度比对照组缓慢 ( $P < 0.05$ ); 心肌切片 HE 染色显示: 对照组心肌细胞不均匀肥大、伸长, 胞浆和肌原纤维

颜色变浅, 炎细胞浸润, 局部可见出血. 甲泼尼龙琥珀酸钠治疗组心肌细胞肥大、伸长, 胞浆和肌原纤维颜色变浅, 未见炎细胞浸润及局部出血. 这些结果表明, 甲泼尼龙琥珀酸钠治疗对于脑死亡供体心脏功能有着重要的保护作用, 可以改善脑死亡心脏血流动力学.

血流动力学是目前评价动物模型心功能的方法之一<sup>[5]</sup>. 血流动力学改善是心功能好转的标志之一. 本研究中激素组在用甲泼尼龙琥珀酸钠干预治疗后, LVEF、MAP 在同一时间段与对照组比较, 明显提高. 并且激素组与对照组比较, 心功能衰竭的程度及速度明显缓慢, 血流动力学较容易稳定. 提示在甲泼尼龙琥珀酸钠作用下猪脑死亡后的心功能明显提高. 以往有研究用主动脉瓣反流诱导兔子急性左心衰模型中, 一组静脉注射甲泼尼龙琥珀酸钠, 另一组注射生理盐水, 1 周后甲泼尼龙琥珀酸钠治疗后的兔子与不用甲泼尼龙琥珀酸钠治疗的兔子相比心输出量增加, 2 组左心室舒张末期压力没有统计学差异<sup>[6]</sup>. 笔者采用版纳小耳猪颅内缓慢加压建立脑死亡模型得出的结论和以往研究一致, 都说明甲泼尼龙琥珀酸钠可以改善脑死亡后心肌的血流动力学指标.

脑死亡后机体内环境紊乱, 体内各种激素水平也发生了剧烈变化, 特别是三碘甲状腺原氨酸 (T<sub>3</sub>) 明显下降, 而 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub> 在脑死亡 1 h 之内下降近 50%<sup>[7]</sup>. 这与笔者在实验中各时段所测得的 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub> 水平是相符合的, 而用甲泼尼龙琥珀酸钠干预治疗组 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub> 浓度下降程度比对照组缓慢, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 提示激素对脑死亡心肌的保护作用可能是通过调节 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub> 的水平而发挥作用的<sup>[8]</sup>. 已有大量实验室研究证实甲状腺激素有正性肌力、降低外周血管阻力、增强交感肾上腺系统兴奋性等作用, 对治疗各类病因引起的动物心功能不全有较好的疗效. 因此糖皮质激素不仅直接对脑死亡供体心脏有保护作用, 还有可能通过甲状腺激素间接对脑死亡供体心脏起到积极的作用. 而糖皮质激素与甲状腺素在保护脑死亡供体心脏功能方面是否有协同作用及二者之间的关系还有待进一步研究, 这也为笔者今后研究联合激素替代疗法在保护脑死亡供体心脏功能方面提

供一定的理论依据.

本研究通过测定血流动力学变化来反映猪脑死亡后心功能的变化, 在笔者今后的研究中可以从蛋白质、分子和基因水平研究脑死亡后心肌细胞受损机制并且可以反映脑死亡后心肌细胞受损程度. 还可以为进一步对脑死亡供体的研究提供依据, 有可能提供新的治疗原则, 更好地提高供体器官质量.

#### [参考文献]

- [1] KIRSCH M, BERTRAND S, LECERF L, et al. Brain death induced myocardial dysfunction [J]. *Transplanta Proc*, 1999, 31(3):1 713 - 1 714.
- [2] COOPER D K. Basker Physiologic changes following brain death [J]. *Transplanta Proc*, 1999, 31 (1-2): 1 001 - 1 002.
- [3] SZABO G, HACKERT T, SEBENING T, et al. Role of neural and humoral factors in hyperdynamic reaction and cardiac dysfunction following brain death [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2000, 19(7):683 - 693.
- [4] HALEJCIO DELOPHONT P, SIAGHY M, DEVAUX Y, et al. Consequences of brain death on coronary blood flow and myocardial metabolism [J]. *Transplanta Proc*, 1998, 30(6):2 840 - 2 841.
- [5] JOACHIM P S, CHRISTOPHER S, MICHAEL A, et al. Consequence of pressure overload on sarcomere protein mutation-induced hypertrophic cardiomyopathy [J]. *Circulation*, 2003, 108:1 133 - 1 138.
- [6] SELDON P M, STEVENS D A, ADCOCK I M, et al. Albuterol does not antagonize the inhibitory effect of dexamethasone on monocyte cytokine release [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998, 157(3Pt1):803 - 809.
- [7] WICOMB W N, COOPER D K C, LANZA R P, et al. The effects of brain death and 24 hours storage by hypothermic perfusion on donor heart function in the pig [J]. *Thorac Cardiovasc Surg*, 1986, 91(6):896 - 909.
- [8] MOLIJN G J, KOPER J W, VANUFFELEN C J, et al. Temperature induced down regulation of the glucocorticoid receptor in peripheral blood mononuclear leukocyte in patients with sepsis or septic shock [J]. *Clin Endocrinol*, 1995, 43(2):197 - 203.

(2012-08-14 收稿)