

左西孟旦对心搏骤停-心肺复苏后大鼠心功能的保护作用*

郭建¹ 杨正飞² 凌钦² 杨倩¹ 陆晓晔¹ 朱长清¹

[摘要] 目的:通过建立大鼠心搏骤停和复苏模型,应用心脏超声技术,探讨左西孟旦对复苏后大鼠心功能的影响。方法:成年雄性 SD 大鼠 29 只,随机分为假手术组(5 只),药物组(12 只)和对照组(12 只)。药物组和对照组用窒息法制作心脏骤停模型,并及时行心肺复苏,复苏后观察 6 h。药物组大鼠在心肺复苏期间及复苏后予左西孟旦干预,假手术组和对照组同时予等剂量生理盐水处理,假手术组大鼠不进行心搏骤停诱导和复苏操作,与实验组和对照组一起于复苏后 1~6 h 采集血气和心超数据,比较各组间大鼠复苏后不同时间点心功能变化情况。结果:实验组复苏成功 11 只(91.7%),对照组复苏成功 9 只(75%),组间差异无统计学意义($P=0.590$),所有复苏大鼠存活时间都达到了 6 h。对照组和药物大鼠在复苏后心功能均明显受损,且随着时间延长,心功能呈下降趋势。复苏后 1 h 对照组大鼠射血分数(EF)由(77±4)%下降至(61±11)%,短轴收缩率(FS)由(40±7)%下降至(26±4)%,每搏输出量(SV)由(0.25±0.14) ml/min 下降至(0.17±0.05) ml/min,心输出量(CO)由(147±19) ml/min 下降至(83±25) ml/min。药物组大鼠复苏后 1 h EF 由(78±7)%下降至(71±13)%,FS 由(40±8)%下降至(38±7)%,SV 由(0.34±0.14) ml/min 下降至(0.25±0.04) ml/min,CO 由(146±19) ml/min 下降至(123±16) ml/min,对照组较药物组下降更为明显,且两组间差异有统计学意义($P<0.05$)。对照组大鼠复苏后心率较假手术组变化不明显,随着时间延长,药物组大鼠心率较对照组和假手术组大鼠相比似有下降趋势,但是组间差异无统计学意义。假手术组心功能指标在 6 h 观察期内未见明显变化。结论:在大鼠心脏骤停与复苏模型中,复苏期间及复苏后予左西孟旦治疗,能明显保护和改善大鼠心功能。

[关键词] 大鼠;心肺复苏;心功能;心脏超声;左西孟旦

doi: 10.13201/j.issn.1009-5918.2017.12.013

[中图分类号] R563 **[文献标志码]** A

The protective effects of levosimendan in post resuscitation rat cardiac function

GUO Jian¹ YANG Zhengfei² LING Qin²
YANG Qian¹ LU Xiaoye¹ ZHU Changqing¹

(¹Department of Emergency, Renji Hospital, Shanghai Jiaotong University, School of Medicine, Shanghai, 200120, China; ²Sun Yat-Sen Memorial Hospital, Sun Yat-Sen University)

Corresponding author: ZHU Changqing, E-mail: zhucq1965@126.com

Abstract Objective: To study the protective effects of levosimendan in post resuscitation rat cardiac function by establishing a rat cardiac arrest and resuscitation model with the help of echocardiography. **Method:** Twenty-nine healthy male SD rats were randomly divided into sham group ($n=5$), LEVO group ($n=12$) and control group ($n=12$). We established cardiac arrest model in control and LEVO groups. After 6 minutes untreated cardiac arrest, cardio-pulmonary resuscitation was given. We observed 6 hours. The LEVO group was treated with levosimendan during and after CPR, while the control and sham group were given equivalent volume of saline solution. The sham group was not induced into cardiac arrest, no resuscitation as well. They were used to offer baseline data for our study, together with LEVO and control group, gas analysis and echocardiography data were recorded per hour after resuscitation at 1~6 h. **Result:** Eleven rats were successfully resuscitated in LEVO group (91.7%), 9 rats were successfully resuscitated in control group, there was no significant differences in success rate of resuscitation ($P=0.590$). All resuscitated rats have survived 6 hours. The cardiac function has declined dramatically in both groups, and it was getting worse with time lasts. In control group, after resuscitated 1h, the ejection fraction has decreased from (77±4)% to (61±11)%, fraction shortening has decreased from (40±7)% to (26±4)%, stroke volume has decreased from (0.25±0.14) ml/min to (0.17±0.05) ml/min, and cardiac output has decreased from (147±

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(No:81671881);广东省“珠江人才计划”第四批引进领军人才项目(No:8100-4202004)

¹上海交通大学医学院附属仁济医院急诊科(上海,200120)

²中山大学孙逸仙纪念医院

通信作者:朱长清, E-mail: zhucq1965@126.com

19) ml/min to (83±25) ml/min. However, in LEVO group, the decline was not so obvious, with ejection fraction from (78±7)% to (71±13)% fraction Shortening from (40±8)% to (38±7)%, Stroke volume from (0.34±0.14) ml/min to (25±0.04) ml/min, and cardiac output from (146±19) ml/min to (123±16) ml/min, There was significant difference between two groups. The heart rate in control group after resuscitation did not change significantly compared with sham group, ($P>0.05$). Heart rate in LEVO appeared to be lower than control and sham groups, but no statistic difference. During observation period, cardiac function had no great change in sham group. **Conclusion:** We find that in our rat cardiac arrest and resuscitation model, treated with levosimendan will protect and improve the cardiac function.

Key words rat; cardio-pulmonary resuscitation; echocardiography; cardiac function; levosimendan

心脏骤停因其发生突然,病死率高,目前仍严重威胁着人类健康及生命^[1-2]。随着心肺复苏技术的普及和改进,自主循环恢复率得到进一步提高,可达近 50%,但最终中只有 13.7%~22.3%能够最终存活并出院^[3-5]。有相当一部分患者是死于复苏后心功能不全。左西孟旦作为一种新型钙离子增敏剂,临床常用来治疗心衰,其效果也得到认可和肯定^[6]。但是其对心肺复苏后心功能的影响鲜有报道,本实验拟建立大鼠心搏骤停与复苏的动物模型,研究左西孟旦对复苏后大鼠心功能的影响,探讨其是否能保护和改善复苏后大鼠的心脏功能。

1 材料和方法

1.1 实验动物

成年雄性 SD 大鼠 29 只,体重 500~550 g,由中山大学孙逸仙纪念医院唐万春危重症实验室提供,随机分为假手术组(5 例),对照组(12 例)和药物组(12 例)。各组大鼠间体重等基础生理指标均差异无统计学意义。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物准备 各组大鼠在实验前 12 h 禁食,但不禁水,称重后,100% CO₂ 诱导麻醉后立即予 3% 的戊巴比妥按 45 mg/kg 腹腔注射麻醉,术中继续予 10 mg·kg⁻¹·h⁻¹ 间断麻醉维持。大鼠麻醉后,仰卧位固定于手术台上,行气管插管,保持呼吸道通畅。分离右侧股血管,于股动脉和股静脉各置入一根 PE50 管(Becton-Dickinson, Franklin Lake, 美国),静脉用以给药及补液,动脉监测大鼠血压。肛温表监测体温,使体温维持在(37±0.5)℃,心电电极刺于皮下,监测术中电情况。实验中大鼠心电、呼气末二氧化碳、血压等指标由 WINDAQ 系统(Windaq 数据采集系统及分析软件,DATAQ 公司,美国)实时记录。

1.2.2 心搏骤停模型建立及心肺复苏 待大鼠麻醉苏醒,平均动脉压恢复至 120 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)以上时,夹闭气管导管建立大鼠心脏骤停模型^[7]。夹管前先予大鼠 5 min 呼吸机通气,潮气量设置 0.6 ml/100 g 体重,氧浓度 FiO₂ 21%,呼吸机频率 100 次/min^[8]。通气结束后,夹闭气管导管,待大鼠 MAP≤20 mmHg,记作心搏骤停,并再

重新计时 6 min^[9]。大鼠心搏骤停 5 min 30 s 时,呼吸机通气,通气频率 200 次/min,氧浓度 100%。药物组予左西孟旦 12 μg/kg 静脉快速推注,对照组和假手术组静推等量生理盐水。6 min 时,立即予胸外按压,按压频率 200 次/min,按压深度 1 cm,按压部位剑突上 2.8 cm。按压过程中维持冠脉关注压(22±2) mmHg。复苏后平均动脉压维持在 60 mmHg 以上 5 min 视为自主循环恢复(restoration of spontaneous circulation, ROSC)^[7-8]。持续按压 20 min,仍不能恢复自主心率者,视为复苏失败。复苏后药物组大鼠予持续静脉 0.3 μg/kg/min 左西孟旦维持 3 h,对照组和假手术组予等量生理盐水^[10-11]。

1.3 二维及 M 型超声心动图

探头置于大鼠胸骨前,二维超声显示左室短轴切面,应用 M 型超声记录左心室运动曲线,测量左室舒张末期和收缩末期内径计算左室射血分数(EF)、短轴收缩率(FS)、每搏输出(SV)和心输出量(CO)。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 22.0 进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用重复测量分析和方差分析。复苏成功率两组间比较采用四格表确切率法检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组大鼠基础值

3 组大鼠体重和基础心功能数据如表 1 所示,各组间均差异无统计学意义。

2.2 两组间大鼠复苏成功率

实验组大鼠 11 只复苏成功,复苏成功率为 91.7%,对照组有 9 只大鼠复苏成功,复苏成功率为 75%,两组间差异无统计学意义。

2.3 大鼠左室 M 型超声

小动物超声仪可清晰显示左心室结构,并获得满意的 M 型超声左室运动曲线,见图 1。

2.4 复苏后大鼠心功能指标

大鼠复苏后,每小时行心脏彩超评价心功能。大鼠经历 6 min 心脏骤停后,药物组和对照组大鼠心功能均较基础值明显下降($P<0.05$)。对照组较药物组下降更为明显,尤以复苏后第 1 小时最为明

表 1 各组大鼠体重和基础心功能数据

项目	假手术组	对照组	药物组
体重/g	515±21	516±17	520±13
PH	7.45±0.02	7.49±0.05	7.51±0.03
心率/(次·min ⁻¹)	353±13	361±22	336±22
乳酸/(mmol·L ⁻¹)	1.0±0.2	1.1±0.4	0.9±0.1
EF/%	0.79±0.08	0.77±0.04	0.78±0.07
平均动脉压/mmHg	136±7	138±11	135±8
SV/(ml·min ⁻¹)	0.27±0.08	0.25±0.14	0.34±0.14
FS/%	0.41±0.08	0.40±0.08	0.40±0.08
CO/(ml·min ⁻¹)	140.60±23.12	147.61±19.53	146.41±19.25

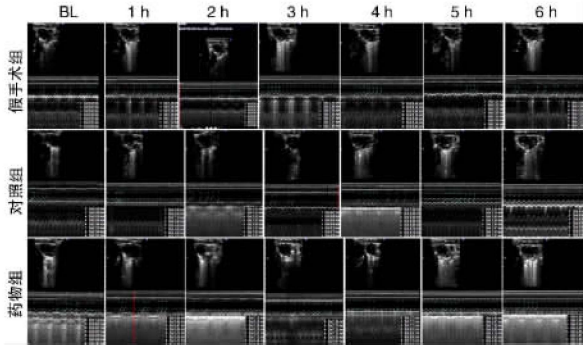


图 1 3 组大鼠不同时间点 M 型超声示意图

显。方差分析之后,对药物组和对照组不同时间点 Bonferroni 检验显示两组间差异有统计学意义。复苏后 1 h,对照组大鼠 EF 由(77±4)%下降至(61±11)%,药物组 EF 由(78±7)%下降至(71±13)%,药物组明显高于对照($P<0.05$)。对照组

FS 由(40±7)%下降至(26±4)%,药物组由(40±8)%下降至(38±7)%($P<0.01$)。对照组 SV 由(0.25±0.14) ml/min 下降至(0.17±0.05) ml/min,药物组由(0.34±0.14) ml/min 下降至(0.25±0.04) ml/min($P<0.01$)。对照组 CO 由(147±19) ml/min 下降至(83±25) ml/min 药物组 CO 由(146±19) ml/min 下降至(123±16) ml/min($P<0.01$)。

实验发现,随着时间延长,EF、FS、SV、CO 也呈现进行性下降,两组间差异在逐渐减小,如图 2 所示。复苏后 4 h,两组大鼠 EF、FS 均较基础值明显下降,药物组略好于对照组,但两组间统计分析差异无统计学意义。对照组和药物组大鼠心率较同时期假手术组大鼠均呈下降趋势,药物组下降更明显,但是药物组和对照组组间差异无统计学意义。各组大鼠复苏后不同时间点心功能指标数据见表 2~6。

表 2 各组大鼠复苏后 EF 不同时间点变化情况

EF	假手术组	对照组	实验组	P 值方差分析	P 值 Bonferroni 对照 VS 药物
1 h	0.83±0.01	0.61±0.07	0.71±0.13	0.001	0.032
2 h	0.81±0.01	0.63±0.08	0.74±0.10	0.004	0.029
3 h	0.76±0.04	0.56±0.12	0.59±0.12	0.037	0.180
4 h	0.82±0.03	0.57±0.10	0.59±0.18	0.034	0.500
5 h	0.79±0.06	0.58±0.09	0.64±0.12	0.012	0.620
6 h	0.84±0.03	0.65±0.12	0.69±0.08	0.023	0.800

表 3 各组大鼠复苏后 FS 不同时间点变化情况

FS	假手术组	对照组	实验组	P 值方差分析	P 值 Bonferroni 对照 VS 药物
1 h	0.45±0.01	0.26±0.04	0.38±0.07	0.004	0.001
2 h	0.43±0.01	0.28±0.06	0.33±0.08	0.009	0.330
3 h	0.38±0.04	0.23±0.05	0.30±0.07	0.002	0.050
4 h	0.43±0.03	0.25±0.06	0.31±0.09	0.003	0.260
5 h	0.41±0.06	0.26±0.06	0.30±0.08	0.008	0.510
6 h	0.46±0.04	0.30±0.08	0.27±0.07	0.003	0.800

表 4 各组大鼠复苏后 SV 量不同时间点变化情况

SV	假手术组	对照组	实验组	P 值方差分析	P 值 Bonferroni 对照 VS 药物
1 h	0.31±0.11	0.17±0.05	0.25±0.04	0.008	0.006
2 h	0.32±0.16	0.21±0.05	0.27±0.06	0.100	0.104
3 h	0.32±0.11	0.20±0.07	0.26±0.05	0.023	0.020
4 h	0.32±0.15	0.20±0.05	0.25±0.05	0.038	0.030
5 h	0.31±0.16	0.19±0.08	0.23±0.10	0.092	0.090
6 h	0.26±0.15	0.20±0.08	0.26±0.03	0.395	0.650

表 5 各组大鼠复苏后心率不同时间点变化情况

HR	假手术组	对照组	实验组	P 值方差分析	P 值 Bonferroni 对照 VS 药物
1 h	355±4	348±31	317±14	0.017	0.131
2 h	365±13	356±13	313±22	0	0.101
3 h	356±6	339±36	320±28	0.203	0.579
4 h	355±7	353±15	317±26	0.001	0.102
5 h	353±14	344±15	331±19	0.096	0.561
6 h	366±6	349±20	328±29	0.051	0.214

表 6 各组大鼠复苏后 CO 不同时间点变化情况

CO	假手术组	对照组	实验组	P 值方差分析	P 值 Bonferroni 对照 VS 药物
1 h	125±17	83±25	123±16	0.001	0.001
2 h	131±20	97±22	116±6	0.006	0.004
3 h	130±25	86±34	100±7	0.012	0.010
4 h	135±19	88±23	104±4	0	0.002
5 h	138±17	87±37	100±10	0.004	0.030
6 h	113±47	94±33	113±11	0.494	0.830

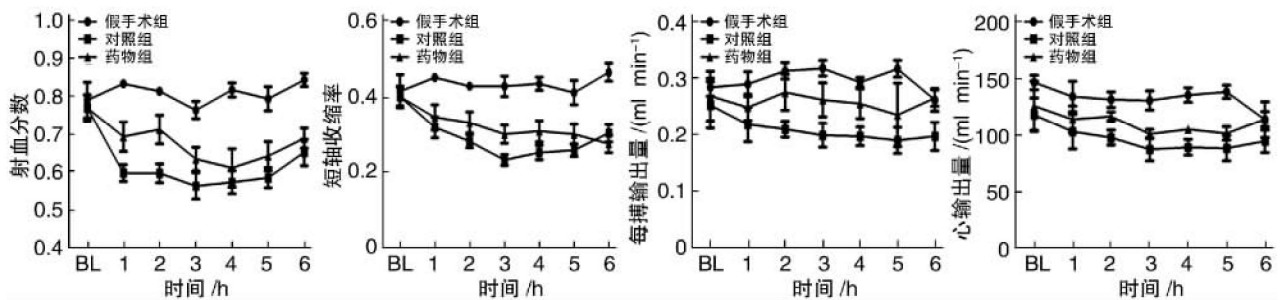


图 2 各组大鼠复苏后心功能指标在不同时间点变化情况

3 讨论

本实验建立了心脏骤停-复苏的实验大鼠模型,观察左西孟旦对大鼠心脏停搏的复苏效应。EF、FS、SV、CO 等都在临床常用。因此我们选定这几个指标评级大鼠心功能。实验发现在大鼠复苏期间及复苏后予以左西孟旦干预,可以改善复苏后心功能,表现为药物组大鼠 CO、EF、SV、FS 等指标均较对照组明显提高。

6 min 的心搏骤停已经对大鼠心功能产生很大

影响,对照组大鼠 EF 由基础状态的(79±10)% 迅速下降至复苏后 1 h 的(62±8)% (P<0.05),而且随着时间延长,两组大鼠 EF、FS、CO、SV 均呈现出一种下降趋势,提示复苏后大鼠存在心功能不全。

左西孟旦作为一种新型的钙离子增敏剂,临床上用来治疗心衰、心功能不全,其效果得到了广泛认可。它可以增强心肌收缩力却不增加氧耗,没有其他正性肌力药物的相关不良反应,而且不增加发生恶性心律失常风险^[12]。左西孟旦的作用机制,目

前认为有以下几种:①钙离子增敏作用,左西孟旦不升高细胞内的钙离子浓度,而是提高细胞内心肌收缩蛋白对 Ca^{2+} 的敏感性^[13-14]。②激活血管平滑肌强力扩血管,研究发现,左西孟旦可以通过激活 KATP 通道来扩张血管,包括冠状动脉、肺、和脑血管等^[11,15]。另外,也有研究提示,左西孟旦可以抗炎,抗氧化^[16]。心搏骤停后,全身处于急性缺血缺氧状态,随着复苏后自主循环建立,心脏会再次经历一次严重的缺血再灌注损伤^[17]。左西孟旦能改善和提高药物组大鼠心功能,应该与其增加心肌收缩力、抗炎等机制有关。

总之,心搏骤停-复苏后,心肌经历缺血再灌注损伤,临床医生应该力争把这些损伤降到最低以改善心功能。在本研究中,左西孟旦可以显著改善复苏后心功能,为今后临床用药提供了新的选择。

参考文献

- [1] Rea T D. Community approaches to improve resuscitation after out-of-hospital sudden cardiac arrest[J]. *Circulation*,2010,121:1134-1140.
- [2] Adabag A S, Roger V L, Gersh B J. Sudden cardiac death:epidemiology and risk factors[J]. *Nature revR Cardiology*,2010,7:216-225.
- [3] Girotra S. Trends in survival after in-hospital cardiac arrest[J]. *N Engl J Med*,2012,367:1912-1920.
- [4] Goldberger Z D. Duration of resuscitation efforts and survival after in-hospital cardiac arrest: an observational study[J]. *Lancet*,2012,380:1473-1481.
- [5] Nichol G. Regional variation in out-of-hospital cardiac arrest incidence and outcome[J]. *JAMA*,2008,300:1423-1431.
- [6] Landoni G, Alvaro G. Levosimendan for hemodynamic support after cardiac surgery[J]. *New Eng J Med*,2017,376:2021-2031.
- [7] Lee J H, Kim K, Jo Y H, et al. You Hwan Jo Effect of valproic acid on survival and neurologic outcomes in an asphyxial cardiac arrest model of rats[J]. *Resuscitation*,2013,83:1443-1449.
- [8] Jie Q, Yang Z F, Jena C. Post-resuscitation intestinal microcirculation: Its relationship with sublingual microcirculation and the severity of post-resuscitation syndrome[J]. *Resuscitation*,2014,85:833-839.
- [9] Lee J H, Kim K, Jo Y H, et al. Effect of valproic acid combined with therapeutic hypothermia on neurologic outcome in asphyxial cardiac arrest model of rats[J]. *Am J Emerg Med*,2015,33:1773-1779.
- [10] Kelm R F. Effects of levosimendan on hemodynamics, local cerebral blood flow, neuronal injury, and neuroinflammation after asphyctic cardiac arrest in rats[J]. *Crit Care Med*,2014,42:e410-419.
- [11] Huang L, Wei M H, Sun S, et al. Levosimendan improves postresuscitation outcomes in a rat model of CPR[J]. *J Lab Clin Med*,2005,146:256-261.
- [12] Nieminen M S. The role of levosimendan in acute heart failure complicating acute coronary syndrome: A review and expert consensus opinion[J]. *Int J Cardiol*,2016,218:150-157.
- [13] Rognoni A, Lazzeri M. Levosimendan: from basic science to clinical trials[J]. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov*,2011,6:9-15.
- [14] Szilágyi S, Levijoki J. The effects of levosimendan and OR-1896 on isolated hearts, myocyte-sized preparations and phosphodiesterase enzymes of the guinea pig[J]. *Euro J Pharmacol*,2004,486:67-74.
- [15] Papp Z, Fruhwald S G, De Hert M, et al. Levosimendan: molecular mechanisms and clinical implications: consensus of experts on the mechanisms of action of levosimendan[J]. *Int J Cardiol*,2012,159:82-87.
- [16] Parissis J T, Bistola V. Novel biologic mechanisms of levosimendan and its effect on the failing heart[J]. *Expert Opin Investig Drugs*,2008,17:1143-1150.
- [17] Adrie C, Laurent I Successful cardiopulmonary resuscitation after cardiac arrest as a "sepsis-like" syndrome[J]. *Circulation*,2002,106:562-568.

(收稿日期:2017-10-31)