

不同程度的局部深低温对心肌 保护作用的观察

吴 树 明

(山东医学院手术学教研室)

指导 苏应衡

多次低温钾停搏液主动脉根部灌注,使两组动物的心肌温度分别维持在20℃和15℃,结果表明可对心肌有较好的保护,15℃组能保持左心室心内膜下心肌超微结构基本正常,或轻度损伤,20℃组左心室心内膜下出现少量重度不可逆性损伤。认为维持心肌温度在15℃左右对心肌超微结构的保护明显优于20℃。

在体外循环心脏直视手术中,良好的心肌保护是保证手术成功的一个重要环节。为此,许多学者做了大量研究工作,但至今尚未发现最理想的心肌保护方法。目前应用较广、效果较好的是低温钾停搏液多次升主动脉根部灌注法^{1,2}然而,此种方法所要求的最佳心肌保护温度意见尚不一致。无疑,温度过高会使心肌代谢率增高,加快高能磷酸化合物储备的消耗;温度过低(低于8℃)则可导致心肌冻伤。本实验旨在将升主动脉阻断2小时用钾停搏液升主动脉根部多次灌注,使心肌温度分别保持在20℃及15℃,观察对缺血心肌的保护作用。

材料和方法

杂种狗8只,不分性别年龄,体重14~22公斤,分为2组每组4只。

静脉注射硫贲妥钠快速诱导,气管插管控制呼吸,普鲁卡因静脉复合液维持麻醉。股静脉插管测中心静脉压,股动脉插管测动脉压。经第三肋间双侧开胸,以每公斤体重3毫克全身肝素化后,分别经右心房,右心耳插上、下腔静脉引流管。在右

心房内留一塑料管随时将停搏液吸出体外。左锁骨下动脉插供血管,另经心尖置左室引流管。将测温针插入室间隔,用热电偶温度计(丹麦GD-771型)连续监测心肌温度并记录。持续监测肢导联心电图。

用体外循环机鼓泡式氧合器(广州I型),机器预充以乳酸钠林格氏液并加甘露醇(1克/公斤),小苏打(4mEq/公斤),钾(2mEq/公斤),25%硫酸镁5—8ml,将血液稀释至血红蛋白8克%,行体外循环。全身温度降至20—25℃,维持平均动脉压55—100mmHg,升主动脉阻断2小时。2小时后开放升主动脉全身复温至37℃,若心脏不复跳则用10瓦/秒电击除颤,复跳后继续辅助循环。在开放主动脉辅助循环30分钟后停体外循环,观察血压、心率1小时。

实验分组: I组: 4只狗,阻断升主动脉后立即将4℃停搏液(表1)灌入升主动脉根部,压力80—120mmHg,心肌降温至19℃(约用停搏液250ml)。用小冰袋将心脏与胸壁隔开,每隔30分钟再灌

表1 停搏液成份

药物	克/L	mM/L
氯化钠	5.73	98
氯化钾	2.00	25
氯化钙	0.29	2
氯化镁	3.25	16
盐酸普鲁卡因	0.50	1.8
碳酸氢钠	2.40	28.5

总渗透压 362.6mOsm/L
pH 7.5

注停搏液一次(约100ml左右),维持心肌温度在19—21℃之间,若超过21℃则提前灌注或在心脏表面洒冰盐水辅助降温。

II组:4只狗,以同样方法灌注,首次约用停搏液350ml左右,维持心肌温度在14—16℃,超过16℃则提前灌注或心脏表面洒冰盐水。

用自制内径2.5mm的空心钻头以牙钻机起头,分别在阻断主动脉前、开放主动脉前、开放主动脉后,从左心室前壁钻全层心肌,约10mg。标本采取后立即从心内膜切两小块放入4℃的4%戊二醛中固定备用,余者留作测定心肌水份。

电镜观察 将以上标本用1%锇酸固定,系列酒精脱水,Epon812包埋,LKB3型超薄切片机切片,铂-铅双染法电子染色,然后进行透射电镜观察,作好记录,

表2 心肌超微结构损伤程度及水份增加百分数。

	超微结构损伤程度		心肌水份增加百分数%	
	开放主动脉前(a)	开放主动脉后30'(b)	开放主动脉前	开放主动脉后30'
I组 20℃	1	III	2.4	1
	2	III	1.1	0.5
	3	II	0.8	0.4
	4	II	0.9	-0.2
II组 15℃	1	I	0.1	-0.1
	2	II	1.6	0.8
	3	II	1.4	0
	4	I	0.5	0.5

并在不同视野拍2~3张照片,综合分析按IV级评定损伤程度。

0级 无损伤;超微结构基本正常。

I级 轻度损伤;线粒体轻度肿胀,颗粒性基质减少,但嵴完整,细胞内可有轻度水肿。

II级 中度损伤;线粒体明显肿胀,嵴断裂融合,偶见有空泡形成,核正常。

III级 重度损伤;几乎每个视野都可见到有空泡形成的线粒体,出现空白线粒体或线粒体膜破裂。核变清亮,染色质聚集成团块状,界线分明。在细胞外见到线粒体及细胞碎片(细胞破裂)。

心肌水份的测定 标本采取后立即用分析天平测湿重,然后放入110℃烘箱连续烘干5小时再测干重。心肌水份含量 = $(1 - \frac{\text{干重}}{\text{湿重}}) \times 100\%$ 。

结 果

两组中各有一只狗心脏自动复跳,其余均电击一次复跳,恢复窦性心律,心肌颜色红润,收缩有力。停体外循环后都能维持血压接近术前水平,除有3例动物用0.5克氯化钙以外未用任何其他强心或升压药物。

超微结构变化(表2):II组损伤程

度明显轻于I组。II组中8个标本有5个为轻度损伤，核正常，肌原纤维清晰，Z线和H带清晰可见，线粒体轻度肿胀，基质减少，嵴无断裂，糖元丰富。仅2个标本为中度损伤，部分线粒体嵴断裂，无或偶见空泡形成，核正常，有较多糖元颗粒（图1a），此等损伤均属可逆性。II组2号狗开放主动脉后30分钟所取之标本（图1b）示，肌原纤维清晰，排列整齐、靠

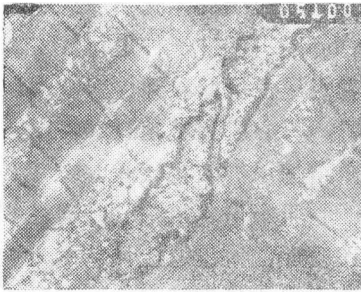


图1a II组，15°C，2号狗开放主动脉前左室心内膜下心肌。肌原纤维排列整齐，Z线、H带清晰可见，线粒体中度肿胀，颗粒性基质减少，偶见嵴断裂，细胞核正常，有较多糖元颗粒，损伤程度II级

10×10^3



图1b II组，15°C，2号狗开放主动脉后30'左室心内膜下心肌，肌原纤维排列整齐，清晰，Z线、H带清晰可见，线粒体膜及嵴均清晰完整，颗粒性基质均匀丰富，有较多糖元颗粒，损伤程度0级

15×10^3

近，线粒体膜清晰，可见到卷曲的嵴及其双层结构，颗粒性基质丰富均匀，有较多糖元颗粒，为基本正常的超微结构图象。

I组，8个标本中有3个为中度损伤，其余5个为重度损伤。且显示细胞内明显水肿，几乎每个视野都能见到有空泡形成的线粒体和少量空白线粒体及膜的破裂，无糖元颗粒或糖元颗粒很少，这种损伤是不可逆的（图2a、2b）。

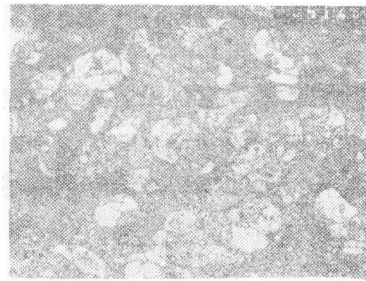


图2a I组，20°C 2号狗开放主动脉左室心内膜下心肌。线粒体明显肿胀，嵴断裂，有空泡形成，并可见到空白线粒体。损伤程度III级

10×10^3

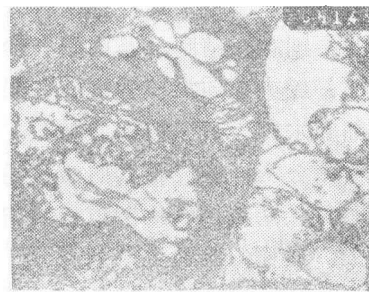


图2b I组，20°C，2号狗开放主动脉后30'左室心内膜下心肌。细胞内明显水肿，线粒体明显肿胀，有空白线粒体形成及线粒体膜破裂型，损伤程度III级

20×10^3

开放主动脉前心肌水份都有轻度增加（表2），开放主动脉后30分钟基本恢复正常。但I组1号狗开放主动脉前心肌水

份增加2.4%，同时电镜下见到心肌明显水肿（肌原纤维间隙加大，肌浆网扩张），说明此心脏损伤较重。但两组均数之间t测验 $P>0.05$ 无显著差异。

讨 论

一、低温钾停搏液灌注一方面可迅速中止心肌的电—机械活动。从而降低能量储备的消耗，降低组织代谢率，延长无氧代谢时间；另一方面，冠状侧枝以外的血流则冲走停搏液并促进心脏自动复温，使心肌出现微弱的活动而影响心肌保护效果。所以用一次低温停搏液灌注法保护心肌，主动脉阻断的安全时间仍受到限制。多次低温停搏液灌注，除能克服上述不足外，对心肌还有另外二方面的有利作用：

1、偏硷性的停搏液可缓解细胞内酸中毒，从而减轻对一系列糖酵解酶的抑制，有利于无氧代谢供给能量²。2、冲洗出二氧化碳、乳酸等有害于心肌的物质。

二、电子显微镜检是观察缺血性超微结构损伤的可靠方法。Stemmer³描述了狗心肌的正常图象及缺血性损伤改变。正常狗心肌，细胞核清晰，其内散在较均匀的染色质，无染色质沿核膜沉淀、集聚现象，无细胞水肿，有丰富的糖元颗粒。正常线粒体界限分明，膜完整其内被折卷曲的嵴清晰可见无断裂，嵴周围散在均匀的颗粒性基质。肌原纤维接近排列整齐，Z线、H带清晰。最早期的缺血性损伤是线粒体变化，表现为线粒体肿胀，基质减少及细胞内糖元减少。常温缺血15分钟即可见到上述改变。缺血时间继续延长改变则更明显，线粒体嵴断裂并出现空泡，肌浆网扩张I带增宽⁴。常温下缺血超过30分钟，核质变清亮染色质集聚成团块状，肌原纤维模糊断裂，线粒体破裂或成为空白线粒体，或有细胞破碎现象，为不可逆性损

伤^{5、6}。Schaper等认为这种损伤超过心肌的50%则不能存活。本实验I组中有5个标本可见少量这种改变，而II组中以轻度损伤占多数，无重度损伤，一个标本基本保持正常，2个标本为中度损伤。由此可见，在多次低温钾停搏液灌注对心肌的保护作用中，低温乃是首要的因素。据Copeland⁵等观察，中度损伤在心肌得到灌注后6小时内即可恢复，轻度损伤1小时内即可恢复。病变严重的线粒体晚期变为致密体（dense body）这是一种退行性变。本实验结果表明尽管用低温钾停搏液多次灌注保护心肌，若心肌温度超过20℃时，则对心肌超微结构保护效果较差。

三、心肌水份含量除受缺血性损伤影响外，还受灌注液渗透压，特别是胶渗压的影响。I组1号狗缺血2小时后心肌水份增加2.4%，电镜下也见到细胞明显水肿，此可能系损伤严重所致。其余动物水份增加都未超过2%且在开放主动脉后30分钟，基本恢复正常，两组之间无显著差异。

四、Conti¹等认为低温钾停搏液再次灌注的指征是（1）心肌温度超过19℃，（2）距前次灌注超过45分钟，（3）心肌活动。根据本组实验情况我们认为再次灌注停搏液的指征是（1）心肌温度超过16℃，（2）时间超过30分钟（3）出现心肌活动。

小 结

本实验在低温体外循环下阻断升主动脉2小时，多次低温钾停搏液主动脉根部灌注，使两组动物的心肌温度分别维持在20℃及15℃，观察缺血心肌的超微结构、水份含量和心脏复跳情况。结果表明，多次低温钾停搏液灌注对心肌超微结构有较好的保护作用。两组动物的心肌水份含量在开

放主动脉前大都未超过2%且在开放主动脉30分钟后基本恢复正常。心肌温度在15℃左右能够保持左心室心内膜下心肌超微结构基本正常,或轻度损伤,少数中度可逆性损伤;而心肌温度在20℃左右时,左心室心内膜下出现少量重度不可逆性损

伤。因此,多次低温钾停搏液主动脉根部灌注,维持心肌温度在15℃左右对心肌超微结构保护作用明显优于20℃。

(本实验承蒙高天祥副教授,孙鸿俄讲师等协助,特致谢意。)

主要参考文献

1. Conti V. V. et al: Cold Cardioplegia Versus Hypothermia for Myocardial Protection; Randomized clinical study. *J Thorac. Cardiovasc. Surg.* 76:577, 1978
2. Bucherberg G. D. et al: A Proposed "Solution" to the Cardioplegic Controversy. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 77:803, 1979
3. Edward A Stemmer et al: Preservation of Myocardial Ultrastructure. *J Cardiovasc. Surg.* 70:666, 1975
4. 陈敏海等:局部低温、冠状动脉灌注及辅助药物对缺血(血)氧心肌保护作用的电镜观察。中华心血管病杂志7:213, 1979
5. Jack Copeland B. A. et al: Early Functional and Ultrastructural Recovery of Canine Cadaver Hearts. *Circulation* 37. 38: Snppl. II—188, 1968
6. W. Schaper et al: Ischemia Tolerance Following Cardioplegic Arrest in Human Patients and in Experimental Animals. *J. Cardiovasc. Surg* 166:268, 1975

Protection of the Ischemic Cardium by Potassium Cardioplegia in Defferent Hypothermia

Wu Shu-ming Su Ying-heng

(Dept. of the Thoracic and Cardiovascular Surgery of Shandong Provincial Hospital)

The relative effectiveness of multidose potassium cardioplegia in conjunction with different myocardial deep hypothermia was evaluated in 8 mongrel dogs. Transmural biopsies from left ventricular free wall were obtained before and after a total 120 minutes of aortic cross-clamping and 30 minutes of reperfusion for electron microscopic examination and myocardial hydration measurement. The dogs were randomly divided into two groups with four in each. Group I, after the aorta was cross-clamped, 4℃ cold potassium cardioplegia was infused into aortic root immediately to lower the myocardial temperature to around 20℃. Thereafter every 30 minutes additive dose of cold potassium cardioplegia was infused to maintain the myocardial temperature at 20℃. Group II, the method of cardioplegia infusion was the same as described above, but with the myocardial temperature maintained at around 15℃. The ultrastructure injuries were mild or moderate in Group II, which were all reversible but in one specimen, it was entirely normal. In group I, the injuries were moderate in 3 and 5 in 8 biopsies were severe, which were irreversible. In one dog, myocardial water content was increased by 2.4%, corresponding to severe cellular swelling on electron microscopic examination. The increase rate in the rest specimens did not exceed 2% and the water content returned to normal after 30 minutes of reperfusion. There were no statistically significant difference between these two groups. The results of the present study indicated that the protection of myocardium with multidose cold potassium cardioplegia maintaining the myocardial temperature around 15℃ was much better than that around 20℃.