



含血心脏停搏液对未成熟心肌保护作用的研究

刘连波 张爱华

【摘要】 目的 探讨婴幼儿体外循环中不同比例含血心脏停搏液与 STH、HTK 心脏停搏液对未成熟心肌的保护作用,为完善婴幼儿先天性心脏病围手术期的心肌保护提供临床依据。 **方法** 选择 100 例先天性心脏病心内直视手术病例,年龄 2 个月至 3 岁。随机分为 4:1 含血停搏液组(A 组)、1:4 含血停搏液组(B 组)、STH 停搏液组(C 组)及 HTK 停搏液组(D 组),每组各 25 例。四组患者分别于体外循环前(t1)、体外循环结束时(t2)、主动脉阻断开放后 24 h(t3)、主动脉开放后 72 h(t4)采集中心静脉血,测定血浆中 BNP、CK、CK-MB、cTnT 的含量。 **结果** 同一组患者在各时间点心肌损伤指标各不相同,差异有统计学意义($P < 0.05$);同一时间点四组患者于体外循环前组间 BNP、CK、CK-MB、cTnT 血浆含量,差异无统计学意义($P > 0.05$)。在主动脉开放、心肌再灌注后,各组患者在不同时间点心肌损伤指标比较,C 组均高于其他三组,差异有统计学意义($P < 0.05$);A 组、B 组、D 组之间心肌损伤指标血浆含量差异无统计学意义($P > 0.05$)。 **结论** 两种含血心脏停搏液和 HTK 液对未成熟心肌的保护效果均优于 STH 液。对于简单先天性心脏病而言,体外循环时间短,含血心脏停搏液和 HTK 液对未成熟心肌损伤的保护作用无明显差异。1:4 含血心脏停搏液,灌注操作简单方便,更易被临床医生接受,为婴幼儿未成熟心肌的保护提供了新的临床思路。

【关键词】 心肌;心脏病/先天性;体外循环;心脏停搏

The protective effect of blood cardioplegia on immature myocardium. LIU Lian-bo, ZHANG Ai-hua. Department of Pediatric Thoracic-Cardiovascular Surgery, The Women and Children Health Care Hospital of Taian, Taian 271000, China

【Abstract】 Objective To assess the protective effects of the STH solution, HTK solution and different proportion cold blood solution on infants myocardium. **Methods** 100 patients (2 months ~ 3 years) with open-heart surgery of congenital heart disease were randomized into four groups. Group A was perfused with 4:1 cold blood solution, group B with 1:4 cold blood solution, group C with STH solution, group D with HTK solution. Each group was given the corresponding cardioplegic solution. Plasma levels of b-type brain natriuretic peptide, creatine kinase, creatine kinase MB, plasma cardiac troponin were respectively measured before cardiopulmonary bypass(t1), at the end of cardiopulmonary bypass(t2), 24 hours after aorta declamped (t3) and 72 hours after aorta declamped(t4). **Results** The index of myocardial injury at each time point in the same group are not identical and the difference had statistically significant ($P < 0.05$). There is no statistically significant difference between each groups in terms of the levels of BNP, CK, CK-MB, cTnT in plasma($P > 0.05$) at the same time point among the four groups before cardiopulmonary bypass. After aorta declamped and myocardial reperfusion, myocardial injury index in each groups at different time points were different, and those index in group C were higher than in other three groups, the difference had statistical significance ($P < 0.05$); there was no statistically significant difference in the myocardial injury index among group A, B and D ($P > 0.05$). **Conclusions** Two cold blood solution and HTK solution on immature myocardial protection effect is superior to STH. For simple congenital heart disease, the extracorporeal circulation time is short, there is no significant difference between cold blood solution and HTK solution in protecting immature myocardial. The 1:4 cold blood solution is more convenient and easier accepted by clinical physicians. Through this research, we provides a new clinical thought for young child immature myocardial protection.

【Key words】 Myocardium; Heart Diseases/CN; Extracorporeal Circulation; Heart Arrest

先天性心脏病 (Congenital heart diseases, CHD) 是小儿时期最常见的出生缺陷疾病, 发病率约占出生婴儿的 0.7%~0.8%。近年来, 小儿先天性心脏病的纠治向危重、复杂和低龄化方向发展。良好的心肌保护是心脏手术成功的重要前提。而心脏停搏液的选择是提供良好心肌保护效果的关键因素。有研究表明, 术中心肌保护不够完善, 是导致婴幼儿先天性心脏病术后心功能不全和病死率较高的主要原因^[1]。目前, 国内外对心脏停搏液的研究仍在进行中。现在临床上常用的各种停搏液, 都存在优势与不足。含血心脏停搏液近年来在成人成熟心肌保护方面已得到充分认可, 临床应用效果显著。但是否同样适用于婴幼儿未成熟心肌, 还需大量临床实验进行研究和探索。

材料与方法

一、临床资料

选择 2013 年 1 月至 2014 年 8 月泰安市妇幼保健院心外科收治的先天性心脏病患儿 100 例, 均于全麻体外循环下行心内直视手术, 均通过泰安市妇幼保健院伦理委员会论证, 且与家属签订知情同意书。其中室间隔缺损患者 62 例, 房间隔缺损患者 38 例。

1. 病例入选标准: 确诊为简单先天性心脏病患者, 即室间隔缺损 (VSD)、房间隔缺损 (ASD), 心功能Ⅲ级 (包括Ⅲ级) 以上, 年龄 2 个月至 3 岁, 体重 4~15 kg, 无手术禁忌。

2. 病例排除标准: 经手术探查发现合并其他复杂心脏畸形者, 术中二次停跳者, 主动脉开放后不能顺利复跳及需电击除颤者, 患儿监护人不接受抽血检测方案, 资料不全, 影响疗效或安全性判断者, 追踪随访过程中患儿监护人不配合者。

3. 病例分组: 每个研究对象所接受的治疗方案由随机分配序列产生, 并被放入按顺序、密封、不透光的信封中。4 组不同的心脏停搏液方案, 每组 25 例, 共 100 个信封。受试对象同意进入试验后, 随机抽取信封, 接受信封内相应的心肌保护方案。A 组: 4:1 含血停搏液组; B 组: 1:4 含血停搏液组; C 组: STH 停搏液组; D 组: HTK 停搏液组。

二、手术方法、麻醉和体外循环

均采用胸骨正中切口。ASD 直接切开右心房进行修补; 干下型 VSD 经主肺动脉切口进行修补; 膜周型 VSD 通过右房切口, 经三尖瓣修补。均采用静脉吸入复合维持麻醉并辅以肌肉松弛剂的方法。

体外循环采用同一台德国 JOSTRA 人工心肺机及其变温水箱, 统一的 Dideco 膜式氧合器、血液浓缩器及婴儿型管道、动脉微栓过滤器及心脏停搏液灌注器。预充液成份: 胶体为悬浮红细胞、血浆、白蛋白; 晶体预充为复方林格氏液。全流量时保持 $100 \sim 150 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的灌注。温度控制在浅低温。停搏期间: 持续左心吸引, 常规超滤及平衡超滤。统一停机标准, 停机后进行改良超滤。四组停搏液均采用顺行灌注。A 组: 使用配套的灌注装置, 从氧合器引出动脉血, 按 4:1 (血: 晶) 比例于主动脉根部顺行灌注停搏液, 首次剂量为 30 mL/kg 。B 组: 于主动脉根部按照 1:4 (血: 晶) 比例, 用 60 mL 针管抽取氧合血与晶体停搏液混合。阻断后, 用 60 mL 针管直接经主动脉根部顺行灌注。首次灌注剂量为 20 mL/kg 。C 组: 主动脉根部连接灌注管道, 经管道顺行灌注停搏液, 首次剂量为 20 mL/kg 。D 组: 主动脉根部连接灌注管道, 经管道顺行灌注停搏液, 首次剂量为 30 mL/kg 。

三、标本采集方法

分别于体外循环前 (t_1)、体外循环结束时 (t_2)、主动脉阻断开放后 24 h (t_3)、主动脉开放后 72 h (t_4), 共 4 个时间点, 采集中心静脉血 6 mL。取其中 1 mL 静脉血, 用于血气分析检测 HCT。另外 5 mL 中心静脉血用于监测 CK、CK-MB、cTnT、BNP 的含量。血浆 BNP 应用荧光免疫分析仪进行测定。血浆 CK、CK-MB、cTnT 在 7060 全自动生化分析仪上进行测定。检测标本时, 可根据 Taylor 公式对所测数据校正血液稀释对测定结果的影响。Taylor 公式为: 稀释后物质含量的校正值 = (实测值 × 基础 HCT 值) / 取样时 HCT 值。

四、统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件包进行数据处理。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用方差分析或重复测量方差分析 (ANOVA for the repeated measurement); 计数资料采用行 × 列 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、一般情况

共 100 例患者入选, 后根据标准剔除 6 例。全部病例术后均顺利康复出院。6 例剔除病例中, 有 2 例二次灌注停跳, 有 5 例复跳后出现室颤给予除颤治疗, 有 3 例合并其他复杂畸形。四组间患者人口

统计学资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。时间、最低温度比较差异无统计学意义($P>0.05$),四组间患者病种、病情、体外循环时间、主动脉阻断 详见表 1~4)。

表 1 四组患者一般情况比较表($\bar{x}\pm s$,例)

组别	A 组(23 例)	B 组(25 例)	C 组(22 例)	D 组(24 例)
年龄(月)	20.1±9.1	19.6±9.2	22.0±8.9	21.3±9.2 *
性别(男/女)	12/11	12/13	11/11	13/11 **
体重(kg)	11.35±2.51	11.40±2.63	10.98±2.62	11.13±2.53 ***

注:患者年龄、性别、体重在四组中的分布差异无统计学意义(P 值均 >0.05),分布均衡,* $F=1.86,P=0.11$;** $\chi^2=2.36,P=0.46$;*** $F=1.47,P=0.22$ 。

表 2 四组患者不同病种的组间比较表(例)

组别(例)	A 组	B 组	C 组	D 组
继发孔型房间隔缺损	10	12	10	11
室间隔缺损(干下型)	2	3	3	2
室间隔缺损(膜周部型)	11	10	9	11

注:不同病种患者在四组中的分布差异无统计学意义(P 值均 >0.05),分布均衡, $\chi^2=1.76,P=0.86$ 。

表 3 四组患者病情比较表($\bar{x}\pm s$,例)

组别	A 组	B 组	C 组	D 组
术前心功能分级	4/Ⅱ,5/Ⅲ	5/Ⅱ,6/Ⅲ	6/Ⅱ,5/Ⅲ	6/Ⅱ,6/Ⅲ2 *
心胸比率	0.46±0.06	0.56±0.08	0.52±0.06	0.53±0.082 **
重度肺动脉高压	4/23	5/25	3/22	4/242 ***

注:四组患者病情差异无统计学意义(P 值均 >0.05),分布均衡,* $\chi^2=4.16,P=0.28$;** $F=2.96,P=0.09$;*** $\chi^2=3.87,P=0.25$ 。

表 4 四组患者体外循环一般情况比较表($\bar{x}\pm s$)

组别	体外循环时间(min)	主动脉阻断时间(min)	最低温度(鼻咽温/肛温)
A 组	70±18.3	22±9.2	30.5±2.5℃/29.7±2.1℃
B 组	66±19.6	20±8.7	31.2±2.2℃/29.5±2.1℃
C 组	69±18.9	20±8.9	30.8±2.1℃/30.2±2.0℃
D 组	73±16.7	21±8.5	30.7±2.3℃/30.1±1.9℃

注:四组患者体外循环一般情况差异无统计学意义(P 值均 >0.05),分布均衡。

二、血液样本实验室检测结果比较

1. 同一组患者各时间点(t1、t2、t3、t4)比较,心肌损伤指标各不相同,差异有统计学意义($P<0.05$)。
2. 同一时间点4组患者组间比较:体外循环前(t1)4组间BNP(B型脑钠肽)、CK(血浆肌酸激酶)、CK-MB(肌酸激酶同工酶)、cTnT(血浆心肌肌

钙蛋白)血浆含量,组间差异无统计学意义($P>0.05$)。主动脉开放、心肌再灌注后,各组患者不同时间点(t2、t3、t4)心肌损伤指标血浆含量不同,C组均高于其他三组,差异均有统计学意义($P<0.05$);A组、B组、D组之间心肌损伤指标血浆含量比较,差异无统计学意义($P>0.05$);4组不同停搏液和测量时间均无交互作用($P>0.05$),见表5。

表 5 血液样本实验室检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	CK				CK-MB		
	t1	t2	t3	t4	t1	t2	t3
A 组	107.08±92.20	1 301.06±208.39	922.36±233.7	336.47±120.22	25.06±5.48	76.38±39.42	64.01±24.38
B 组	100.26±76.27	1 236.42±201.22	953.34±246.41	381.57±135.71	26.32±6.78	81.24±47.21	58.32±18.96
C 组	97.90±71.23	1 726.20±496.76	1 237.62±274.81	783.62±227.41	25.27±7.16	130.26±56.23	100.47±30.26
D 组	130.03±128.7	1 176.18±304.12	727.29±196.35	299.41±140.27	24.7±10.12	70.85±26.62	50.39±21.25

续表 5 血液样本实验室检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

CK-MB		c-TnT				BNP			
t4	t1	t2	t3	t4	t1	t2	t3	t4	
43.62 ± 19.25	0	0.806 ± 0.232	0.623 ± 0.196	0.646 ± 0.253	18 ± 8.2	22 ± 7.8	24 ± 8.1	23 ± 8.2	
47.82 ± 20.16	0	0.831 ± 0.273	0.588 ± 0.213	0.583 ± 0.261	16 ± 8.8	20 ± 7.6	27 ± 6.3	26 ± 7.6	
82.36 ± 25.93	0	1.187 ± 0.743	1.003 ± 0.674	0.827 ± 0.278	18 ± 9.3	29 ± 8.2	37 ± 11	38 ± 10.3	
38.36 ± 13.74	0	0.792 ± 0.211	0.546 ± 0.202	0.518 ± 0.217	17 ± 7.9	21 ± 8.3	25 ± 9.1	24 ± 8.2	

注:四组患者体外循环前(t1)血浆各心肌损伤指标含量差异无统计学意义(P 值均 >0.05);主动脉阻断后患者在不同时间点(t2、t3、t4)血浆中各心肌损伤指标含量差异有统计学意义(P 值均 <0.05);在同一时间点,使用不同停搏液的患者其血浆中心肌损伤指标含量,A、B、D组均与C组差异有统计学意义(P 值 <0.05);A、B、D组之间血浆心肌损伤指标含量比较差异无统计学意义(P 值 >0.05);不同停搏液和测量时间无交互作用(P 值 >0.01)。

讨 论

未成熟心肌与成熟心肌之间存在结构、功能和代谢等方面的生理学差异^[2-5]。这些差异,对于停跳期间心肌缺血的损伤和复跳的缺血再灌注损伤易感性存在影响。虽然有研究表明,未成熟心肌缺血缺氧的耐受性优于成熟心肌。但事实上婴幼儿先天性心脏病患者术前常存在缺氧、心肌肥厚和酸中毒等情况,这些因素都会影响到心肌对缺血的耐受程度。婴幼儿心肌处于逐渐成熟的过程中,心肌保护技术的制定仍应根据病人年龄来决定。早期应用的停搏液是含血的,可由于库存血中枸橼酸含量过高造成心肌损伤而使得晶体停搏液在临床上得到了广泛应用。

现在越来越多的临床灌注师意识到含血停搏液的好处,其特点有:①心脏停搏于有氧环境,可以为心脏提供能量;②有利于偿还停搏灌注期间的氧债;③含有大量能为心肌代谢提供能量的葡萄糖、游离脂肪酸等物质^[6];④含有丰富的缓冲物质,可减轻组织细胞的酸中毒;⑤增加了胶体渗透压,使其更接近生理,同时还能减轻心肌细胞水肿;⑥含有大量红细胞,可改善心肌微循环,清除自由基。大量研究表明,含血心脏停搏液优于晶体心脏停搏液,并且前者已在成人体外循环心脏手术中得到广泛应用^[7,8]。Amark 等^[9]在对临床婴幼儿心脏手术的研究中认为,氧合血停搏液对灌注心肌组织代谢和功能的保护效果优于晶体停搏液。有研究表明,在婴幼儿心脏手术中应用成人高钾心脏停搏液的心肌保护效果并不满意^[10]。

本研究之所以选择 CK、CK-MB、cTnT、BNP 作为心肌损伤的血清指标,是因为这四种心肌生化标志物与心肌损伤情况有着较为良好的平行关系。体外循环前(t1)各组患者各心肌损伤指标无明显差别

($P>0.05$),随着 CPB 的开始,各组心肌损伤指标含量逐渐升高($P<0.05$),表示心肌发生了缺血再灌注损伤。由于传统的 STH 液不能为未成熟心肌提供氧和丰富的营养物质,所以 C 组患者各损伤指标较其他三组明显增高($P<0.05$)^[11]。手术期间心肌处于停搏状态,但其心肌代谢过程并未停止,仍需要消耗能量。本研究中,含血停搏液灌注组(A、B组)在 CPB 中及 CPB 后的 CK、CK-MB、cTnT、BNP 含量低于 STH 组(C组)。其可能的原因有:含血停搏液中含有丰富的葡萄糖、游离脂肪酸等,还可以为心肌细胞代谢提供营养物质;含血停搏液因含有氧合血,使心肌停搏在有氧的环境中,使得心肌细胞在停搏期间仍可以进行有氧氧化,从而减轻酸中毒程度;另外,因停搏液中含有血红蛋白、血浆等成份可提高胶体渗透压,停搏液更接近于生理状态,避免了使用大量晶体停搏液造成的心肌细胞水肿,并有利于维持身体内环境的稳定。许多研究表明含血心脏停搏液的心肌保护效果优于晶体心脏停搏液,目前氧合血心脏停搏液已被广泛应用于成人体外循环心脏手术中^[12,13]。

通常含血心脏停搏液中血与晶体比例为 4:1,所以在实验过程中,氧合血心脏停搏液组用血量明显高于 STH 液组和 HTK 液组。而在本研究所采用的 1:4 含血心脏停搏液完全避免了这种情况的发生。另外,4:1 含血心脏停搏液灌注过程中,还需要特殊的灌注装置,且灌注过程温度不易控制,难以使停搏液充分降温。为达到这一目的需要充分延长灌注管的长度,使保护液与冰水之间充分接触,同样导致血液稀释、预充血量增加。应用 4:1 含血心脏停搏液的心脏直视手术,如果主动脉阻断时间长,需要反复多次灌注的情况下,由于停搏液中钾离子浓度较高,容易导致高血钾,不利于手术中主动脉开放后心脏复跳^[14]。相对来说,1:4 含血心脏停搏液避免了高血钾的发生,且在灌注 1:4 含血心脏停搏

液过程中,无需特殊装置,可以使用 60 mL 空针从灌注针处抽取氧合血,并直接进行灌注,操作简便可行。双手推注时虽然不能精确灌注压,但可以充分感受整个灌注过程中灌注针的通畅程度,避免灌注液外渗和灌注压力过高。HTK 液被认为是目前国内最好的晶体心肌保护液^[15]。本研究显示,HTK 液对未成熟心肌的保护程度明显优于 STH 液,减轻了心脏停搏过程中和复跳后对未成熟心肌的缺血及再灌注损伤。考虑主要原因有:HTK 液中 K^+ 浓度仅 9 mmol/L,明显低于 STH 液,从而避免了高 K^+ 引起的冠状动脉内皮损伤,利于维持组织器官毛细血管和细胞外间隙的平衡^[16,17]。另外,HTK 液灌注 1 次可以使心肌有效停搏 180 min,无需多次灌注,说明 HTK 停搏液中含有丰富的营养物质,能够充分供应心脏停搏期间心肌细胞的能量代谢需要。

本研究结果提示,在相同的体外循环管理策略和温度控制下,4:1 含血心脏停搏液组、1:4 含血心脏停搏液组及 HTK 停搏液组的心肌保护效果均优于 STH 停搏液组,而 4:1 含血心脏停搏液组、1:4 含血心脏停搏液组及 HTK 停搏液组三组之间没有明显的差别。关于这三组之间心肌损伤程度区别不大的原因,考虑为本次选择病例均为单纯先天性心脏病,且病情相对平稳,手术操作简单,心脏停搏时间短,体外循环在浅低温环境中进行等因素有关。

综上所述,婴幼儿先天性心脏病心内直视手术体外循环后,均可造成未成熟心肌损伤。含血心脏停搏液和 HTK 液对未成熟心肌的保护效果均优于 STH 液。对于简单先天性心脏病病人,含血心脏停搏液和 HTK 液对未成熟心肌损伤的保护作用无明显差异。1:4(血:晶)含血心脏停搏液,灌注操作方便简单,更适宜在临床推广。

参考文献

- 1 Ihnken K. Myocardial protection in hypoxic immature hearts [J]. Thorac Cardiovasc Surg, 200, 48(1): 46.
- 2 Olivetti G, Anversa P, Loud AV. Morphometric study of early postnatal development in the left and right ventricular myocardium of the rat [J]. Circ Res, 1980, 46: 503-512.
- 3 Sheldon CA, Friendman WF, Sybers HD. Scanning electron microscopy of fetal and neonatal lamb cardiac cells [J]. J Mol Cell Cardiol, 1976, 8: 853-862.
- 4 Legato MJ. Cellular mechanisms of normal growth in the mammalian heart. II. A quantitative and qualitative comparison between the right and left ventricular myocytes in the dog from birth to five months of age [J]. Circ Res, 1979, 44: 263-279.
- 5 Page E, Early J, Power B. Normal growth of ultrastructures in rat left ventricular myocardial cells [J]. Cir Res, 1974, 34/35: II 12.
- 6 Toyoda Y, Yamaguchi M, Yoshimura N, et al. Cardioprotective effects and the mechanisms of teminal warm blood cardioplegia in pediatric cardiac surgery [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2003, 125(6): 1242-1251.
- 7 Amark K, Berggren H, Björk K, et al. Myocardial metabolism is better preserved after blood cardioplegia in infants [J]. Ann Thorac Surg, 2006, 82(1): 172-178.
- 8 Zhu DM, Wang W, Xu ZW, et al. Seven years' experience of pedi-atric cardiopulmonary bypass: 8685 cases in Shanghai Children's Medical Center [J]. ASAIO J, 2006, 52(5): 556-558.
- 9 Amark K, Berggren H, Björk K, et al. Blood cardioplegia provides superior protection in infant cardiac surgery [J]. Ann Thorac Surg, 2005, 80(3): 989-994.
- 10 Ferreira R, Fraga C, Carrasquedo F, et al. Comparison between warm blood and crystalloid cardioplegia during open heart surgery [J]. Int J Cardiol, 2003, 90(2-3): 253-60.
- 11 Gottlieb RA, Gruol DL, Zhu JY, et al. Preconditioning rabbit cardiomyocytes role of PH, vascular protection ATPase and apoptosis [J]. JCI in Invest, 1996, 97(4): 2391-2398.
- 12 Amark K, Berggren H, Björk K, et al. Myocardial metabolism is better preserved after blood cardioplegia in infants [J]. Ann Thorac Surg, 2006, 82(1): 172-178.
- 13 Zhu DM, Wang W, Xu ZW, et al. Seven years' experience of pediatric cardiopulmonary bypass: 8685 cases in Shanghai Children's Medical Center [J]. ASAIO J, 2006, 52(2): 556-558.
- 14 李培杰, 宋作瑞, 王春祥, 等. 自体冷氧合血含钾停搏液在心内直视手术中的应用 [J]. 山东医药, 1996, 36(7): 11-12.
- 15 Garbade J, Krautz C, Aupperle H, et al. Functional, metabolic, and morphological aspects of continuous, normothermic heart preservation: effects of different preparation and perfusion techniques [J]. Tissue Eng Part C Methods, 2009, 15(2): 275-283.
- 16 Jellinek M, Standeven JW, Menz LJ, et al. Cold blood potassium cardioplegiai effects of increasing concentrations of potassium [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1981, 82(1): 262.
- 17 杨盛春, 孙善权, 崔虎军, 等. 手术治疗新生儿重症先天性心脏病 28 例 [J]. 临床小儿外科杂志, 2010, 9(06): 435.

(收稿日期: 2015-01-27)