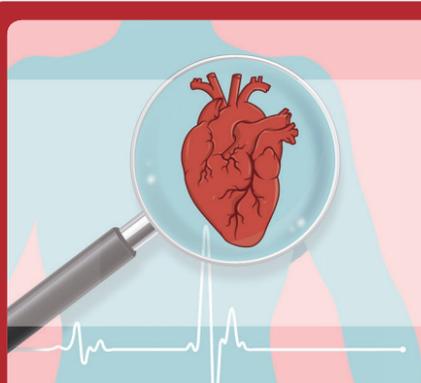


医学参考报

心肺复苏学专刊 Cardiopulmonary Resuscitation

第六期 NO.06



心脏骤停综合征的免疫学

【据《Resuscitation》2022年10月报道】题：心脏骤停综合征的免疫学（梅奥诊所研究生医学教育学院 作者 Cody A Cunningham 等）

院外心脏骤停（OHCA）每年影响美国约35万成年人。尽管在心脏骤停的早期识别、旁观者心肺复苏（CPR）、早期除颤和医院骤停后护理的“生存链”方面有所改善，但大约10.5%的OHCA患者存活到出院。即使CPR成功并实现了自主循环（ROSC）的恢复，在心脏骤停后的最初几天内，由于神经系统预后不良而停止生命维持治疗（WSLT），多器官功能障碍和心血管不稳定也会导致高病死率。

在心脏骤停期间，向前的动脉血流停止，向组织输送的氧气降至零。这一病理过程导致全身缺血和代谢衰竭，只有部分被CPR抵消，产生约25%的停搏前心排出量。在实现ROSC的患者中，血流恢复，但再灌注导致活性氧（ROS）激增和无菌炎症。虽然再灌注损伤始于ROSC，但由于多系统和组织水平紊乱，包括心源性休克、微血栓形成和内皮损伤，组织缺血可在ROSC后持续存在。

弗拉基米尔·尼戈夫斯

基（Vladimir Negovsky）将其描述为“复苏后疾病”，心脏骤停综合征（PCAS）的概念于2008年正式确立。该综合征是在心脏骤停后达到ROSC的患者中观察到的一系列生理紊乱。PCAS通常被定义为心脏骤停后脑损伤、心肌功能障碍、全身缺血-再灌注损伤及导致心脏骤停的未解决的病理过程。

心脏骤停患者的重症监护仍然是支持性的，包括解决心脏骤停的潜在病因，血流动力学支持，肺保护性机械通气，避免高氧和缺氧，以及如果存在感染的治疗。在一些临床试验中，心脏骤停后的体温控制已被证明可以改善结果，但并非全部。观察性研究表明，温度控制的效果可能取决于脑损伤的严重程度，然而，最近的荟萃分析并没有支持这一观点。许多治疗药物正在进行评估，但没有一种在大型试验中显示出以患者为中心的结果的改善。考虑到与该综合征相关的发病率和死亡率，更好地理解PCAS和开发减少器官功能障碍和继发性脑损伤的治疗策略至关重要。新的证据表明免疫系统参与了PCAS的病理生理。在这篇综述中，本研究将讨论心脏骤停后发生的失调免疫反应，以及它是如何导致器官损伤和感染易感性的。本研究还将重点介绍心脏骤停后免疫调节的最新临床试验和心脏骤停后控制免疫系统的新兴治疗途径。

一、方法

本研究在PubMed上用“心脏骤停”“心脏骤停后综合征”“免疫反应”“免疫”和“炎症”进行了文献搜索。结果仅限于英语，但没有按年份过滤。所有作者评估了文章与本综述

的相关性。此外，本研究还包括了通过文献检索找到的文章引用的相关出版物。文献检索截止到2022年5月1日。

缺血再灌注损伤

心脏骤停期间的缺血损伤程度与无流量/低流量状态的持续时间成正比，而再灌注损伤是由快速产生ROS和循环恢复后促炎免疫细胞的招募引发的。缺血组织通过释放先天免疫系统识别的危险相关分子模式，直接启动心脏骤停后的炎症级联反应。其他触发因素包括脂多糖（LPS）通过缺血性肠黏膜转位进入血液及代谢衰竭和高氧引起的ROS。

Adrie及其同事的研究发现，与健康志愿者相比，从OHCA中复苏的患者血清细胞因子肿瘤坏死因子（TNF）- α 、白介素（IL）-6、IL-8和IL-10水平升高。有趣的是，他们发现死亡患者的IL-6、IL-8和IL-10水平高于存活患者。最近，IL-6水平已被证明与24小时内多器官功能障碍的程度成正比，即使在校正了其他停搏严重程度的指标后也是如此。停搏后发生的全身性缺血-再灌注损伤也会引发白细胞增多，从而进一步加剧全身炎症反应。

补体系统涉及炎症的多个方面，包括增加血管通透性和细胞趋化性。各种缺血-再灌注损伤模型表明，补体系统通过经典途径被激活，因为缺乏补体蛋白C4的动物被保护免受损伤。缺乏IgM或B1a B细胞的小鼠也受到保护，这表明在骨骼肌和肠缺血-再灌注损伤模型中触发补体激活的抗体是“天然IgM”抗体。在心脏骤停期间发生的全身缺血-再灌注损伤也会激活补体。发生心脏

骤停的患者在入院时和骤停后第3天血清补体蛋白C3bc和sC5b-9水平显著升高。神经功能恢复良好（脑功能分类（CPC）1~2）的患者在入院当天C3bc和sC5b-9较低，提示补体激活程度可能影响神经功能恢复。

脑损伤

心脏骤停后的脑损伤往往是毁灭性的，大多数死亡是在心脏骤停72小时后发生的。最近的数据显示，免疫系统在心脏骤停后脑损伤中起着重要作用。在心脏骤停的大鼠模型中，大脑的实质细胞，特别是纹状体，早在骤停后3小时就产生促炎细胞因子TNF- α 和IL-1b。TNF- α 染色与纹状体中胶质纤维酸性蛋白阳性细胞共定位，提示损伤神经元释放的TNF- α 是局部炎症级联的启动剂。事实上，在心脏骤停的小鼠模型中，免疫系统的细胞在心脏骤停72小时后被招募到大脑中，可能会放大局部炎症反应。

T淋巴细胞在心脏骤停后脑损伤中起重要的早期作用。在各种心脏骤停模型中，在ROSC后，CD4⁺和CD8⁺T淋巴细胞在动物大脑中积聚，尽管尚不清楚这些细胞是否穿过血脑屏障或仍然黏附在血管内皮上。在所有模型中一致的是，T淋巴细胞在ROSC后20分钟就被招募，并维持至少72小时。通过T细胞受体b链下调和TNF- α 和IFN- γ 的产生，发现招募到大脑的T淋巴细胞被激活。有趣的是，与对照动物相比，T细胞敲除小鼠在ROSC后72小时的缺血性CA1神经元显著减少。在心脏骤停的小鼠模型中，发现B细胞在ROSC后72小时积聚在大脑中，但它们在骤停后脑损

伤中的作用尚不清楚。这些临床前研究表明，在心脏骤停后，T细胞会迅速进入大脑，通过产生包括TNF- α 和IFN- γ 在内的促炎细胞因子，导致脑损伤。

早期干预，防止淋巴细胞在大脑中积聚或抑制细胞因子的产生，可能会减少心脏骤停后发生的脑损伤。这种方法在急性缺血性卒中发生的局灶性缺血-再灌注损伤的设置中显示出了希望。在这种情况下，IL-1受体拮抗剂可减少梗死体积38.2%，并可能改善3个月的预后。另外的研究表明，接受TNF- α 拮抗剂英夫利昔单抗的小鼠梗死面积减小。总之，这些数据提供了一个合理的生物机制，如果及时给予免疫调节，可能会减少心脏骤停后的脑损伤（图1A）。

心血管功能异常

心脏骤停后心肌功能障碍在ROSC后很常见，表现为心脏指数（CI）降低、左室射血分数（LVEF）降低和舒张功能障碍。这种现象伴随着由于毛细血管渗漏而引起的血管舒张状态。机制上，心脏骤停后心肌功能障碍是由缺血-再灌注损伤、儿茶酚胺诱导的心肌损伤和细胞因子诱导的心血管功能障碍共同发生的。多种细胞因子与停搏后心功能障碍有关。入院时IL-6水平高的患者通常需要血管加压药物支持，并有循环休克（图1B）。在猪心脏骤停模型中，TNF- α 抑制剂英夫利昔单抗治疗与左室卒中工作的短暂改善和复苏后平均动脉压（MAP）的持续改善有关。在一项小型随机对照试验中，研究了通过高容量血液滤过（HF）去除循环促炎介质的方法。在该试验中，与

下转第2版

导读

窒息与心室颤动引起的大鼠心脏骤停后大脑、心脏和血清中细胞因子水平的早期变化具有可比性

4版

炎症反应与院外心脏骤停后循环衰竭相关：一项前瞻性队列研究

7版

上接第1版

对照组相比，心衰患者在心脏骤停后死于休克的可能性较小。然而，治疗组间循环介质(IL-6、C3a和TCC)水平无差异，提示HF的作用可能与炎症反应无关。

免疫调节在减轻非ST段抬高型心肌梗死(NSTEMI)和ST段抬高型心肌梗死(STEMI)局灶性缺血-再灌注损伤时发生的心功能障碍方面也显示出前景。在NSTEMI患者中，使用IL-6R拮抗剂托珠单抗可减少炎症和心肌损伤。对于STEMI患者，心肌梗死后3天和7天，托珠单抗增加了心脏磁共振成像的心肌挽救。在STEMI患者中，通过CRP检测，IL-1受体拮抗剂anakinra减少了炎症反应，然而，还需要进一步的研究来确定其对心功能的影响。这些数据表明，免疫调节是逆转停搏后心功能障碍的一种有前途的途径。

心脏骤停引发的缺血-再灌注损伤也会引起血管内皮的严重损伤，表现为低系统血管阻力(SVR)和毛细血管渗漏。心脏骤停后患者的循环内皮细胞和内皮微粒水平明显高于健康对照组或冠状动脉疾病患者。心肺复苏术持续时间与内皮损伤程度之间似乎有直接关系。此外，IL-6测量的缺血再灌注损伤引起的炎症程度与内皮损伤水平成正比，表明组织损伤程度和由此产生的炎症反应具有机制联系(图1C)。事实上，IL-6已被证明直接在血管内皮细胞上发出信号，通过测量syndecan-1，心脏骤停也诱导内皮细胞糖萼脱落。在本研究中，血清syndecan-1与CPR持续时间更长和死亡率更高相关。因此，免疫调

节可能能够逆转心脏骤停后发生的低SVR和毛细血管渗漏，但还需要进一步的研究。

免疫抑制

心脏骤停后常见感染性并发症。一项研究发现，67%的心脏骤停复苏患者经历了感染并发症，肺部是最常见的感染部位。肺对感染的易感可能源于在停搏前后失去气道保护和误吸。心脏骤停后发生的严重炎症反应往往伴有免疫抑制或免疫麻痹，最早在心脏骤停后24小时出现。最近的研究已经开始阐明心脏骤停后免疫抑制的机制。尽管从心脏骤停复苏的患者血清细胞因子水平升高，但当受到LPS刺激时，他们的白细胞显示TNF- α 和IL-6的产生受损。此外，在心脏骤停复苏的患者中，刺激后淋巴细胞IFN- γ 和IL-10的生成比健康人显著减

少。由心脏骤停和白细胞功能缺陷叠加引发的促炎细胞因子反应让人联想到感染性休克，因此，PCAS常被描述为“脓毒症样”综合征。

淋巴细胞减少在停搏后患者中很常见，并与预后相关，与幸存者相比，死者的淋巴细胞计数较低。有趣的是，神经状态良好的幸存者(CPC 1-2)比预后不良的幸存者(CPC 3-5)有更高的淋巴细胞计数。因此，尽管淋巴细胞有助于炎症环境，但它们也可能在停搏后发挥保护作用。小鼠窒息性心脏骤停模型显示，心脏骤停后淋巴细胞生成功能受损。机制上，心脏骤停导致下丘脑产生促炎细胞因子TNF- α 和IL-1b，导致下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴的激活。用糖皮质激素受体拮抗剂RU486抑制HPA轴可降低心脏骤停

后淋巴细胞减少的严重程度。这些数据表明，心脏骤停后调节HPA轴可以改善淋巴细胞计数，进而降低心脏骤停后感染的易感性。

激活后，CD4⁺T淋巴细胞可以转化为几种不同的辅助性T细胞(TH)谱系，每一种都产生独特的细胞因子。与健康对照组相比，停止循环后产生IFN- γ 的TH1细胞相对于总CD4⁺T细胞的比例下降，而产生IL-4的TH2细胞增加。在心脏骤停复苏患者与健康对照组之间，产生IL-17的TH17细胞比例差异无统计学意义。同样，在心脏骤停的小鼠模型中，相对于对照组，TNF- α 和IFN- γ 产生CD8⁺T淋巴细胞的百分比降低。

调节性T细胞(Tregs)是CD4⁺T淋巴细胞的一个子集，通过抑制受体的表达和抗炎细胞因子的产生发挥免疫抑制

功能。虽然OHCA后淋巴细胞计数下降，但Treg的比例(与CD4⁺T淋巴细胞总数相比)在心脏骤停后第1天至第3天上升。此外，与健康对照组的Treg相比，心脏骤停患者的Treg中表达抑制性受体程序性死亡1和人白细胞抗原DR的比例更高。这些数据表明，虽然OHCA后淋巴细胞、TH1和TH2计数减少，但Treg功能得到保留或增强，使系统向“免疫瘫痪”方向发展。

与T淋巴细胞一样，观察性研究表明，循环B淋巴细胞的数量早在ROSC后12小时就会减少。在心脏骤停的小鼠模型中，通过抗体产生测量，与对照动物相比，原发B细胞反应保持不变。然而，与对照动物相比，记忆B细胞反应略有降低。总而言之，心脏骤停后，B淋巴细胞数量减少，功能受损，可能导致这些患者易受感染(图1D)。目前正在探索骤停后控制免疫易感性的策略。一项试验发现，与安慰剂相比，对从OHCA复苏且可除颤心律的患者预防性阿莫西林-克拉维酸降低了早期呼吸机相关肺炎的发生率，但对无呼吸机天数或病死率没有影响。目前正在进行的第二项试验，通过对无论心律如何的OHCA复苏患者进行头孢曲松和安慰剂的比较，来扩展这些结果。迫切需要进一步的研究来设计策略，以增强免疫反应的有益方面(根除感染)，同时不增强心脏骤停后免疫反应的有害影响。

PCAS中免疫调节的临床研究

临床前和观察性人体研

下转第3版

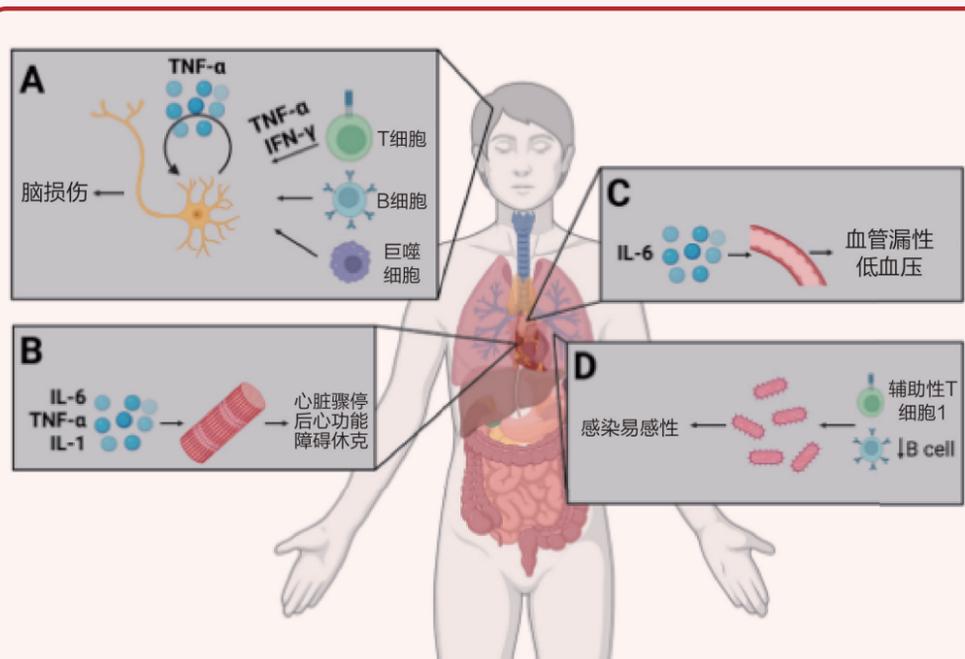


图1 心脏骤停综合征的免疫学

临床前和临床研究表明，免疫反应影响心脏骤停综合征的许多方面，包括脑损伤(A)、心功能障碍(B)和血管功能障碍(C)。淋巴细胞计数和功能的改变也可能是在心脏骤停复苏患者中观察到(D)。PAMD，心脏骤停后心功能障碍

医学参考报

心肺复苏学专刊

理事长兼总编辑：巴德年
副理事长兼副总编辑：曹雪涛等
理事会秘书长：周赞

社长：魏海明
副社长：吕春雷
副社长：周赞

社址：北京市西城区红莲南路30号红莲大厦
B0403
邮编：100055
总机：010-63265066
网址：www.yxckb.com

名誉主编：宋尔卫 刘中民
顾问：付小兵 王正国
主编：王立祥
主审：黄子通 陈祥新
执行主编：余涛 刘亚华

副主编：(按姓氏笔画排序)

方邦江 吕军 米玉红 李静 李银平 杨思进 宋维
张玉想 张思森 孟庆义 祝益民 魏捷

专家编委：(按姓氏笔画排序)

丁栗 于晓均 王佳一 王贵强 王洪武 王晓梅 毛富吉
田晶 史继学 朱海燕 刘斌 刘全利 刘全和 刘海波
闫丙川 许士波 阮海林 孙飞 孙延庆 孙国刚 孙悍军
阳世雄 严莲珍 苏红 李波 李瑛 李磊 李小刚

李桂花 李海山 李雪梅 李银平 李新宇 杨静 杨长春
杨秀林 杨明施 杨蓉佳 肖力屏 吴志强 邱泽武 何忠杰
何春来 邹圣强 汪茜 沈密 沈志奇 宋祖军 张红
张玮 张玲 张斌 张文武 张在其 张志鸿 张利远
张重阳 陈彦 陈建荣 陈秋霞 范西真 岳茂兴 周飞虎
周满红 郑江 单毅 宗建平 屈纪富 柳培雨 姜笃银
姜素文 贾群林 顾彩虹 高红梅 高志仁 郭树彬 唐芹
唐艳 唐子人 营向东 崔明武 董谢平 蒋龙元 韩小彤
韩文斌 蒲燕 路晓光 蔺佩鸿 谭社勋 暴继敏 潘文
魏强

编辑部主任：杨正飞

编辑：(按姓氏笔画排序)

马文君 王娇 王希希 王曦娇 史宇 刘澍宣 李鑫
张加廷 侯旭凤 郭成成 窦薇薇

◀ 上接第2版

究积累的证据表明,免疫系统有助于PCAS的发病机制。临床前研究结果表明,在CPR开始时给予环孢素的动物更有可能实现ROSC,并改善了短期生存。在复苏后2小时,经肌钙蛋白、肌酐、乳酸脱氢酶和AST测定,给予环孢素的动物表现出更少的多器官功能障碍。重要的是,使用环孢素治疗的动物在复苏后表现出改善的神经功能。这些结果促成了CYRUS试验,这是一项随机试验,纳入了非可除颤心律OHCA(心脏停止或PEA)患者,与单独ACLS患者相比,在ACLS发作时接受单次静脉注射环孢素。该研究的主要终点,即停搏后24小时的器官衰竭评估(SOFA)评分。环孢素组与常规护理组在生存至住院、生存至出院或神经系统预后方面无差异。存在几种可能来解释环孢素在临床前研究中与非休克性OHCA之间的差异。首先,临床前模型采用窒息性心脏骤停。然而,在CYRUS试验中,只有23.2%的OHCA病例是呼吸源性的。其次,防止线粒体通透性过渡孔(mPTP)开放被认为是低温保护的关键保护机制。由于mPTP在CPR开始时开始开放,因此心肺复苏开始和ACLS团队使用环孢素之间的延迟可能降低了这种保护作用。

虽然环孢素似乎没有改变不可除颤的OHCA后的总生存率,但后续的CYRUS试验分析表明,环孢素可能在PCAS的特定方面发挥重要作用。与对照组患者相比,使用环孢素治疗的患者在停搏24小时后淋巴细胞减少较轻(1.3 vs 0.8 g/L)。此外,使用环孢素治疗的患者在停搏后发生急性呼吸衰竭的可能性显著降低(29.8% vs 54.8%)。即使在调整了诸如既往存在的呼吸道疾病或OHCA的呼吸道原因等变量后,这种关联仍然显著。有趣的是,IL-6和TNF- α 的水平在治疗组之间没有显著差异,这表明环孢素的免疫调节作用是由于抑制mPTP和潜在保护淋巴细胞数量。需要进一步的工作来充分阐明环孢素在PCAS中的作用。

多项临床前和观察性人类研究表明IL-6与PCAS的发病机制有关。因此,针对IL-6信号通路的试验已经进行。

IMICA试验是一项随机对照试验,招募持续OHCA的患者接受单剂量IL-6受体拮抗剂托珠单抗或安慰剂。主要结果,在停搏后1~3天炎症标志物CRP的降低是阳性的,因为托珠单抗与安慰剂相比有统计学意义的降低(1~3天分别减少84%、94%和96%)。值得注意的是,通过检测血清CK-MB、肌钙蛋白T和NT-pro-BNP水平,托珠单抗与安慰剂相比减少了心脏损伤。此外,与安慰剂相比,接受托珠单抗治疗的患者在第3天(但不是第1天或第2天)的心脏SOFA评分较低。这些数据表明托珠单抗可降低停搏后第3天的心血管功能障碍。然而,在第0天和第1天,两组间心排血量和肺毛细血管楔压均无变化,说明心脏SOFA的改善可能与血管功能的改变有关。

在IMICA试验中,30天的生存率或神经认知功能没有差异,然而,该试验无法检测到这种结果。重要的是,托珠单抗耐受性良好,在接受预防性抗生素治疗的患者群体中,感染率没有产生统计学意义上的显著增加。需要一项大型多中心试验来确定托珠单抗是否能影响心脏骤停后以患者为中心的结局。

糖皮质激素补充剂已被证明可以改变细胞代谢,促进内源性儿茶酚胺的产生,并发挥抗炎作用。在心脏骤停大鼠模型中,氢化可的松抑制IL-6和TNF- α 的产生并减少线粒体损伤。因此,糖皮质激素已经成为几次心脏骤停试验的主题。Mentzelopoulos及其同事招募了IHCA患者,在每轮CPR期间接受单剂量甲泼尼龙+抗利尿激素。对于达到ROSC并有循环休克证据的患者,在复苏的两个阶段继续使用氢化可的松,而安慰剂组则使用生理盐水。干预组患者ROSC(81% vs 52%)更高,多器官功能障碍更少,60天生存率更高(18.7% vs 4.3%)。有趣的是,治疗组患者在随机分组后6小时血清TNF- α 降低,复苏后7天IL-6持续降低。一项后续试验发现,使用相同方案,治疗组神经良好(CPC 1~2)生存率增加(21.1% vs 8.2%)。一项小型临床试验也探讨了仅在复苏后阶段使用类固醇的效果。心脏骤停复苏并经历休克的患者随机接受氢化可的松或安慰剂治疗7天或直到休克逆

转。在本试验中,两组间在休克逆转或到出院的生存期方面没有观察到差异。

这些结果促使一项关于皮质类固醇治疗心脏骤停的大规模随机对照试验。VAMI-IHCA试验是一项多中心、双盲、安慰剂对照研究,纳入了IHCA患者。与之前的试验不同,VAMI-IHCA在ROSC后阶段没有给予氢化可的松治疗。干预组患者ROSC较高(42% vs 33%),但未观察到总生存期或良好的神经状态差异。因此,皮质类固醇可能在心肺复苏活跃期(ROSC率增加)和停搏后阶段(抗炎和激素作用)都发挥有益作用。由于在VAMI-IHCA试验中未报告细胞因子水平,目前尚不清楚两种治疗方案与促炎细胞因子水平的比较情况。

二、未来方向

在了解心脏骤停后发生的错乱免疫反应及其对PCAS的贡献方面已经取得了重大进展,然而,关键问题仍然存在。全身炎症是发生在心脏骤停期间和之后的严重损伤的原因还是后果?事实上,IL-6水平与缺血严重程度的标志物相关,如复苏时给予的肾上腺素剂量、ROSC时间和送到医院时的乳酸水平。重要的是,IL-6水平预测了PCAS的严重程度,即使在控制了与停搏后多器官功能障碍相关的其他因素(包括较长的ROSC时间和较高的乳酸水平)后也是如此。这些数据表明,心脏骤停后发生的免疫反应失调与PCAS严重程度和多器官功能障碍有关。

IMICA试验显示,托珠单抗可有效减轻心脏骤停后的炎症。重要的是,该试验表明托珠单抗可降低心血管功能障碍(至少在第3天)。心脏骤停后需要进行更大规模的托珠单抗试验,并将休克/多器官功能障碍与脑损伤/WLST的病死率分开,因为托珠单抗可能改善心肌功能障碍,但不能改善脑损伤。沿着这些线索,托珠单抗在ICHA复苏患者中的试验将是有益的,因为大多数IHCA复苏后的死亡都是由多器官功能障碍引起的。

另一个尚未回答的问题是,是否所有或只有一部分心脏骤停后患者将受益于免疫调节。最近在ARDS方面

的研究表明存在低炎症和高炎症表型,每种表型都有不同的病死率和对药物干预的反应。当在心脏骤停中进行更大规模的免疫调节试验时,应考虑基于共病、骤停原因、基线免疫抑制和入院时炎症标志物水平的预先指定的分析。这些试验可能最终导致一种基于精确医学的心脏骤停后护理方法。

鉴于IL-6与PCAS休克和死亡的相关性,IL-6获得了许多研究兴趣。靶向不同细胞因子在其他缺血-再灌注损伤模型中显示出前景。在缺血性中风、脑出血(NCT04834388)和STEMI的情况下,已经探索了用Anakinra阻断IL-1的方法,需要在心脏骤停的情况下进行Anakinra的探索性试验,以观察该药物是否有效减轻炎症和器官功能障碍。此外,TNF- α 早在停搏后1小时就被诱导。在临床前模型中,在ROSC后给予TNF- α 抑制可增加MAP和短期生存。因此,使用英夫利昔单抗或依那西普等药物抑制TNF- α 信号通路可能有助于PCAS的管理。

考虑到免疫系统中存在的功能冗余,更广泛地抑制细胞因子信号可能会产生单独靶向IL-6、IL-1或TNF- α 时

未见的重要结果。氢化可的松对多种细胞因子信号通路的抑制已显示出前景,然而,还需要进一步的工作来确定类固醇在实现ROSC中的相对重要性及其在停搏后护理中的作用。JAK/STAT通路在包括IL-6R在内的众多细胞因子受体下游的信号转导中起着重要作用。JAK1/2抑制剂baricitinib在改善Covid-19患者的生存率方面显示出有希望的结果,即使在接受类固醇治疗的患者中也是如此。baricitinib在PCAS中的临床前研究是有必要的。

三、结论

在了解心脏骤停后发生的失调免疫反应方面已经取得了重大进展。这些临床前和观察性研究已经确定了许多治疗靶点,但基本的机制问题仍然存在。未来的研究将需要明确确定免疫系统在PCAS发病机制中的作用。尽管如此,像IMICA这样的试验已经表明,调节心脏骤停后的免疫反应是可行的,然而,还需要进行大规模的研究,以确定免疫调节对以患者为中心的结果(如神经完整的生存率)的影响。

(中山大学孙逸仙纪念医院
王鹏 编译)

公益广告



科学佩戴口罩是预防呼吸道传染病的重要措施之一,养成随身携带口罩的习惯,有需要时及时正确佩戴。

中宣部宣教局、国家卫生健康委宣传司 指导
中国健康教育中心 制作

窒息与心室颤动引起的大鼠心脏骤停后大脑、心脏和血清中细胞因子水平的早期变化具有可比性

【据《J Am Heart Assoc》2021年2月报道】题:窒息与心室颤动引起的大鼠心脏骤停后大脑、心脏和血清中细胞因子水平的早期变化具有可比性(美国匹兹堡大学医学院 Thomas Uray 等)

长时间心脏骤停(CA)成功心肺复苏后,患者可能发展为“脓毒症样”综合征,伴有全身细胞因子反应,导致心肌和脑功能障碍、内皮破坏和血脑屏障通透性增加。这种对全身缺血再灌注有害的、夸张的全身炎症反应类似于感染相关败血症常见的病理生理过程。这种复杂得多器官功能障碍被称为后CA综合征。

在复苏成功后,脑再灌注虽然对恢复能量储存至关重要且有效,但会引发有害的生化级联反应,其中神经炎症被认为起着关键作用。各种炎症细胞因子被认为是脑和脑外器官缺血/再灌注损伤的重要介质。

目前对CA幸存者的复苏后护理并不能解释CA的原因。然而,窒息性CA(ACA)与室颤性CA(VFCA)的病理生理特征和结局存在显著差异。之前报道过ACA会导致更糟糕的神经结果和更大的大脑氧化应激,而相同时间无血流的VFCA会导致更严重的心脏损伤。本研究假设ACA和VFCA之间脑损伤差异的机制解释可能是ACA后更高的脑细胞因子水平,而VFCA后血清和心脏的幅度更高。本研究的目标是确定早期复苏后阶段炎症反应,为未来的治疗发现特异性目标。为此,本研究了ACA与VFCA后3小时大鼠心脏、血清和大脑4个选择性脆弱区域(即皮层、纹状体、海马和小脑)细胞因子浓度的变化。

一、方法

心脏骤停和复苏

实验分为4组:①naïve大鼠;②假手术组;③ACA大鼠;④VFCA大鼠。Naïve大鼠用异氟醚深度麻醉,插管,经心静脉灌注250 ml冰镇肝素化生理盐水。假手术组大鼠如上所述进行麻醉和固定,但未进行CA,且未使用复苏药物。实验全程维持异氟醚麻醉。实验期间保持正常温度状态。

在ACA大鼠中,用顺阿曲库铵(1 mg/kg; AbbVie, North

Chicago, IL), 停止机械通气,并断开大鼠与呼吸机的连接,这逐渐导致无脉搏的无血流。无血流定义为MAP < 10 mmHg。ACA(全损伤)10分钟后,开始手动胸外按压,速率≈360/min,同时100%氧气机械通气。给予肾上腺素(0.01 mg/kg; Abbott, Abbott Park, IL)和碳酸氢钠(1 mEq/kg; Abbott)。

在接受VFCA的大鼠中,12 V/50 Hz交流电的2分钟脉冲诱导无血流,并通过ECG读数和MAP < 10 mmHg的降低来确保。然后取出起搏导管,结扎颈静脉。未经处理的VFCA 10分钟后,开始手动胸外按压,速度≈360次/分钟,同时100%氧气机械通气。肾上腺素(0.01 mg/kg; 雅培)在开始按压时给予。在复苏时间(RT)1分钟时给予额外的肾上腺素(0.005 mg/kg)。碳酸氢钠(1 mEq/kg)是在复苏开始时使用的。复苏开始后2分钟(RT 2分钟),尝试用双相10 J脉冲除颤(Zoll M系列除颤器; Zoll, 切姆斯福德, 马萨诸塞州)。如果不成功,则每30秒进行一次后续电击,在4分钟的复苏时间内最多尝试5次。自主循环恢复(ROSC)定义为持续的室上节律,MAP为> 50 mmHg。

细胞因子检测

使用大鼠特异性试剂盒(Millipore, Billerica, MA)处理组织进行细胞因子评估,使用Luminex-200多路分析仪(Luminex, Austin, TX)同时测量10种细胞因子(肿瘤坏死因子-α [TNF-α], 白介素1a [IL-1a], 白介素1b [IL-1b], 白介素2 [IL-2], 白介素4 [IL-4], 白介素6 [IL-6], 白介素10 [IL-10], 白介素12 [IL-12], 干扰素γ和粒细胞-巨噬细胞集中性刺激因子[GM-CSF])。所有的值都校正了蛋白质浓度。组织在PBS中均质,用Dounce均质器均质20次。匀浆超声3次,每次超声10 s,间隔20 s,16 000 xg离心30分钟。上清液用于细胞因子分析。使用BCA蛋白试剂盒(赛默飞世尔科学公司,罗克福德,IL)测定上清液中的蛋白质水平。超出标准范围的值由Luminex软件从校准曲线自动推断出来。细胞因子浓度被解读为“超出以下范围”,名义上被指定为校准刻度上最低水平的百分之一。

器官损伤标志物

根据制造商说明,使用ELISA试剂盒(MyBioSource目录编号分别为MBS028924和MBS046922)评估神经元损伤(神经元特异性烯醇化酶[NSE])和胶质损伤(S100b)的生物标志物。心肌损伤采用大鼠特异性肌钙蛋白-T ELISA试剂盒(MyBioSource目录No.MBS269369)。

二、结果

窒息导致约(6±1)分钟无血流。心室颤动导致即刻CA和10分钟无血流(图1)。ACA组中有3只大鼠未达到ROSC, VFCA组中有2只大鼠未达到ROSC, 1只大鼠在RT小时计划安乐死前未能存活。这些大鼠因未达到研究方案而被排除在进一步分析之外。与VFCA

相比,ACA后ROSC较早实现(42±18)vs(105±22) s; P < 0.001)。与基线值相比,ACA和VFCA均导致显著的代谢紊乱。与ACA相比,VFCA后代谢性酸中毒更明显,乳酸水平更高。随着时间的推移,这些紊乱逐渐得到纠正。与ACA相比,VFCA后早期的心率和MAP较低。维持MAP > 65 mmHg所需的肾上腺素总剂量ACA组为(160±200) μg, VFCA组为(190±160) μg (P > 0.05)。

脑

一般来说,naïve大鼠的脑细胞因子低或无法检测到。假对照中异氟醚、麻醉和(或)器械对选择的细胞因子有适度影响。ACA和VFCA均导致特定细胞因子的强劲增长。然而,在两种CA模型之间,细胞因子的增加幅度没有显著差异。

皮质

CA导致主要促炎细胞因子TNF-α (P=0.04)、IL-1a (P < 0.001)、IL-6 (P=0.001)和IL-12 (P=0.002)以及抗炎IL-10 (P=0.01)显著升高。相比之下,与naïve或假手术对照组相比,CA后干扰素-γ水平降低(P < 0.001)(图2)。

海马

CA后IL-1a (P < 0.001)、IL-6 (P=0.002)和IL-10 (P=0.004)水平升高,干扰素-γ (P < 0.001)再次显著降低。令人惊讶的是,与naïve受试者相比,CA后TNF-α (P=0.969)没有增加,IL-1b (P=0.019)水平下降,各组间IL-12水平略有升高(P=0.013),但无统计学意义。在任何组中均未检测到GM-CSF(图3)。

纹状体

CA后纹状体的促炎反应最为明显,TNF-α (P=0.001)、IL-1a (P < 0.001)、IL-6 (P=0.002)和IL-12 (P=0.002)升高。ACA后IL-10水平也显著(P=0.002)。与naïve或假手术相比,CA后干扰素-γ水平显著降低(P < 0.001)(图4)。

小脑

CA后IL-1a (P < 0.001)水平升高,TNF-α (P=0.083)和IL-1b (P=0.277)水平升高。IL-6 (P=0.001)、IL-10 (P=0.005)和IL-12 (P=0.001)水平升高,仅在VFCA后与naïve和(或)假手术对照相比具有统计学意义。CA后干扰素-γ降低(P=0.001)。未检测到GM-CSF(图5)。

血清

与单纯和(或)假手术对照相比,CA后大多数细胞因子的血清水平升高。TNF-α、IL-1a、IL-1b、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-12浓度组间差异均有统计学意义(均P < 0.001)。与脑组织相比,CA后未检测到干扰素-γ,但GM-CSF水平高于假对照组(组间P=0.002)(图6)。

心脏

CA后促炎和抗炎细胞因子水平均升高(GM-CSF和干扰素-γ除外,仅在naïve大鼠中检测到)。TNF-α (P=0.007)、IL-1b (P=0.014)、IL-6 (P=0.002)、IL-10 (P=0.005)、IL-12 (P=0.017)。在IL-1a浓

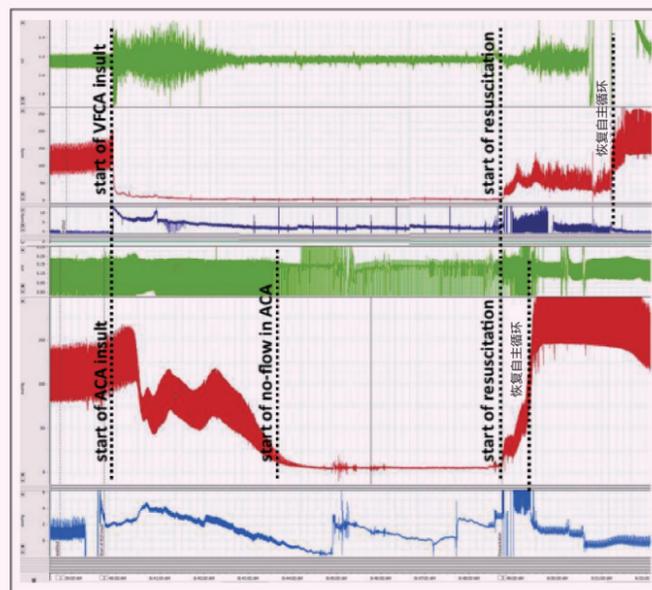


图1 室颤性心脏骤停(VFCA;上部)和窒息性心脏骤停(ACA;底部)模型的ECG(绿色)、动脉压和(红色)静脉压(蓝色)变化

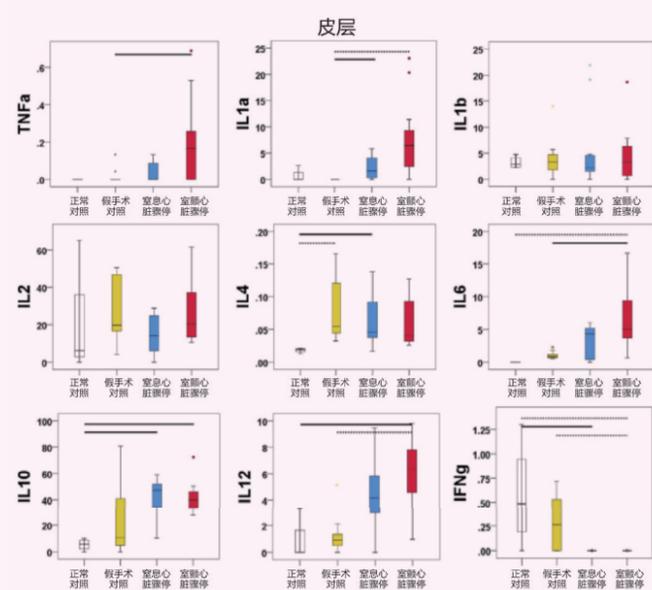


图2 窒息性心脏骤停(ACA)或室颤性心脏骤停(VFCA)后3小时皮层区域细胞因子变化

上接第4版

度的分析中发现了一个强烈的趋势 ($P=0.051$) (图7)。

器官特异性损伤的生物标记

NSE ($P < 0.001$) 和 S100b ($P=0.009$) 的中枢神经系统 (CNS) 损伤血清生物标志物组间差异显著, 心肌损伤血清生物标志物肌钙蛋白 T ($P=0.003$) 组间差异显著, 与 naïve 大鼠和 (或) 假对照组相比, CA 后肌钙蛋白 T 水平更高。

CA 反应中细胞因子变化幅度的区域差异

到目前为止, 本研究的测量结果并没有显示两种 CA 模型中细胞因子水平的显著差异。然而, 大脑对 CA 的反应幅度似乎存在区域差异。通过对比 4 个大脑区域细胞因子浓度的变化 (即与假手术对照的差异) 进一步检验了这一点 (图 8, 9)。细胞因子水平相对 (与假手术对照) 变化的图表可以分析区域特异性和跨区域效应。这些分析揭示了干扰素- γ 水平的区域差异 (主效应的 $P < 0.001$), 与皮质和小脑相比, ACA 和 VFCA 后纹状体中干扰素- γ 的下降幅度更大, 与海马相比, 皮质中干扰素- γ 的损失较小 (图 8A)。IL-1a、IL-1b、IL-2、IL-4 和 IL-6 对 CA 的反应无区域差异 (图 8A ~ 8F)。在 ACA 而非 VFCA 动物中, 纹状体中 IL-10 水平的增加高于小脑 (主效应 $P=0.021$; 图 8g)。ACA 和 VFCA 后, 纹状体中 TNF- α 水平的变化幅度高于海马 (主效应 $P < 0.001$; 图 8i)。损伤类型对任何脑区均无主要影响, 证实 ACA 和 VFCA 诱导的脑细胞因子水平变化相当。同样, 两种损伤类型的血清或心脏没有差异, 除了 IL-10 反应的大小, 因为与 ACA 相比, VFCA 后血清和心脏组织中的 IL-10 增加到更高的水平 (图 8J 和 8K)。跨器官细胞因子反应的综合显示揭示了与大脑相比, 血清和心脏中的细胞因子反应增大, 也突出显示了变化最剧烈的大脑区域 (纹状体和海马, 图 9) 对比。

三、讨论

本研究的目的是在实验和临床环境中探索两种具有不同神经系统结果的 CA 后的全身、心肌和区域神经炎症细胞因子特征。Naïve 大鼠和麻醉后的假手术鼠作为稳健性对照。一

般来说, naïve 大鼠的大脑细胞因子低到无法检测到。异氟醚麻醉和假手术对照组器械对选定的细胞因子有明显但轻微的影响。ACA 和 VFCA 均导致脑、心脏和血清中选定的细胞因子浓度的显著增加, 同时伴有末端器官损伤的血清生物标志物的增加。意想不到的是, 在 2 个 CA 模型之间, 没有观察到明显的脑细胞因子差异。在 ACA 模型中, 无流时间较短 (即: ≈ 6 分钟 vs VFCA 模型中 10 分钟), 尽管考虑到 ACA 模型中无血流前的低氧间隔, 总的损伤时间是相等的。这一观察结果表明, ACA 模型中无血流前的低氧灌注在很大程度上导致了由此产生的全身损伤和复苏后关键靶器官 (如心脏和大脑) 的损伤。考虑到 VFCA 组的复苏期比 ACA 组更长, ACA 模型中无血流前的低氧灌注的贡献也变得重要。因此, 较短的 ACA 持续时间似乎比 VFCA 产生更大的脑损伤。之前在复苏后 24 小时内检查 NSE 和 S100b 的工作表明 ACA 组的 NSE 和 S100b 水平较高。与先前的观察相似, VFCA 导致更

大的早期休克, 因为心肌功能障碍, 产生代谢中毒增加和 MAP 降低, 但根据肌钙蛋白水平, 没有心肌组织损伤。然而, 本研究没有发现 CA 组之间中枢神经系统或心肌损伤的生物标志物有任何差异。

CA 后炎症因子的作用机制仍有争议。细胞因子可能是被视为与 CA 结果相关的应激反应性生物标志物, 也被视为修饰组织损伤、修复和恢复的治疗靶点。此外, 根据细胞环境和细胞外环境的不同, 大多数细胞因子似乎扮演着多效性的角色, 既充当退行性因子, 又充当营养因子。单个细胞因子通常被归类为“促炎” (如 TNF- α , IL-1 或 IL-6), 而其他细胞因子通常被视为“抗炎” (如 IL-10)。然而, 这种二元观点很可能过于简化了, 因为没有考虑到诸如组织浓度和细胞环境等因素, 以及基于初始损伤后出现时间的可能差异影响。例如, 低水平的 TNF- α 促进神经元分化并改善肌细胞功能, 但较高水平的 TNF- α 在损伤后有害。这种非线性浓度依赖性反应因 TNF- α 与 2

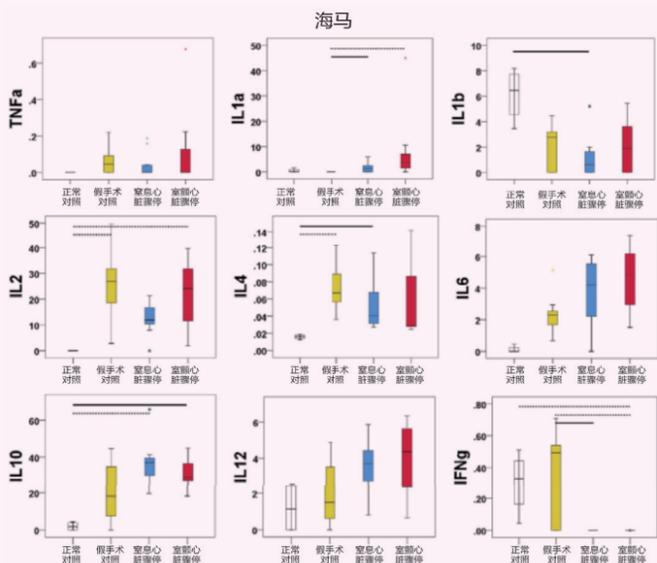


图3 室息性心脏骤停 (ACA) 或室颤性心脏骤停 (VFCA) 后 3 小时海马区域细胞因子的变化

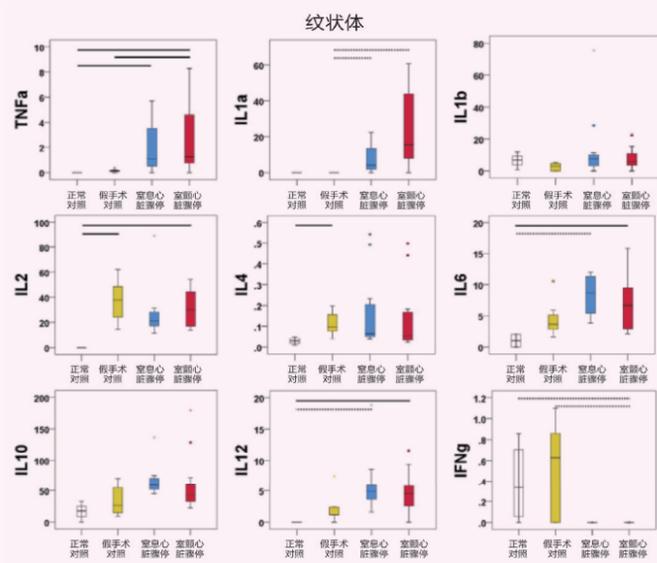


图4 室息性心脏骤停 (ACA) 或室颤性心脏骤停 (VFCA) 后 3 小时纹状体区域细胞因子的变化

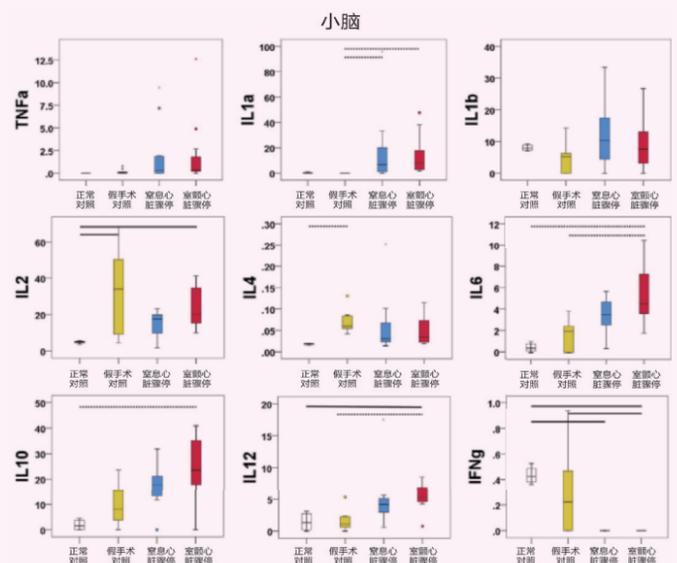


图5 室息性心脏骤停 (ACA) 或室颤性心脏骤停 (VFCA) 后 3 小时小脑区域细胞因子的变化

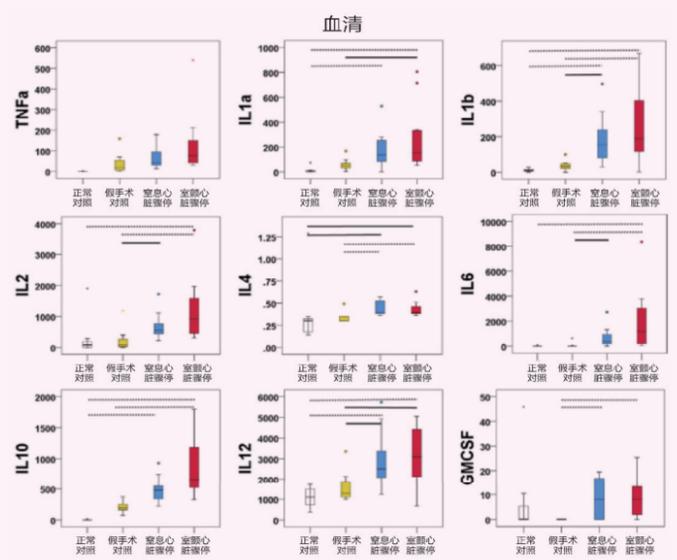


图6 室息性心脏骤停 (ACA) 或室颤性心脏骤停 (VFCA) 后 3 小时血清细胞因子的变化

个细胞受体 (肿瘤坏死因子受体 1 或肿瘤坏死因子受体 2) 的结合而进一步复杂化。细胞死亡信号通路是由肿瘤坏死因子受体 1 介导的核因子 κ B 活化和 (或) 其他几种非死亡信号通路启动的。相反, TNF- α 与肿瘤坏死因子受体 2 结合形成抑制炎症反应的复合物。传统上, TNF- α 被认为是一种“初级”细胞因子, 可以刺激其他细胞因子 (如 IL-1) 的产生, 但该序列也可以被逆转和 (或) 被其他促炎因子 (如干扰素- γ) 促进。除了这些微妙的生物学策略外, 多个中枢神经系统驻留细胞能够产生细胞因子, 中枢神经系统与受到全身和器官特异性炎症影响的脑外器官进行交叉对话。由于这些原因, CA 后的全身炎症和神经炎症仍然是复苏科学中活跃的研究领域。因此, 本研究在 2 个已建立的代表临床中定义了 CA 的神经元和全身炎症反应。

在本研究中, CA 后大多数细胞因子浓度较高, 无论是

促炎还是抗炎。此外, 本研究还证明了不同脆弱区域之间的显著空间差异, 其中纹状体在干扰素- γ 和 TNF- α 中显示出最深刻的变化。另一方面, 尽管不相等的无流动时间, 两种 CA 模型的细胞因子反应振幅相似。类似的 NSE、S100b 和肌钙蛋白 T 水平进一步支持了这些损伤的严重程度。先前的研究表明, 在较短持续时间 (6 分钟和 8 分钟 VFCA) 的 VFCA 模型中, 大脑存在区域特异性细胞因子反应。本研究将无流动时间延长到 10 分钟, 以最大限度提高细胞因子的反应, 因为影响似乎是剂量依赖性的。在本文中, 复制了 VFCA 后独特的细胞因子特征, 令人惊讶的是, 本研究发现不同 CA 表型之间缺乏强大的差异。类似的模式也在体外心肺复苏抢救的 CA 模型中观察到。正如之前所显示的, 与类似持续时间的 VFCA 相比, ACA 导致组织损伤增加; CA 早期观察到的较低水平的细胞因子可能先于后期细胞死亡导致的细

下转第 6 版

上接第5版

胞因子上升。

naïve 大鼠的脑细胞因子水平除干扰素 γ 和 IL-1b 外均较低或低于检出限。本研究还纳入了假手术组,因为先前的研究表明,长期暴露于麻醉和(或)手术可诱导全身和脑特异性细胞因子反应。在假手术大鼠中,所有大脑区域的细胞因子水平(即 IL-2 和 IL-4)均高于 naïve 大鼠,这可能是手术或延长麻醉时间的影响。

CA 使纹状体 TNF- α 水平显著升高,这与本研究实验室先前的研究结果一致,证明了 CA 后早期该大脑区域存在独特且可重复的神经炎症反应。相反,海马 TNF- α 水平仍然较低。尽管纹状体和海马体分别拥有高度脆弱的中棘神经元和 CA1 神经元,但它们表现出明显不同的复苏后早期 TNF- α 特征。其他显著的促炎细胞因子 IL-1a 和 IL-6 在 CA 后所有区域都有所增加。抗炎细胞因子 IL-10 也在 CA 后多区域升高,提示促炎和抗炎级联同时起作用。令人惊讶的是,在本研究的两个模型中,IL-1b 没有受到 CA 的影响。脑缺血后大脑皮层、纹状体和小脑中 IL-12 水平升高,而海马中 IL-12 水平不升高。干扰素 γ 水平在单纯和假手术组中都很低。在本研究之前对 VFCA 大鼠的研究中,IL-12 水平在 3 ~ 6 h 内从 ≈ 5 下降到 1 ~ 2.5 pg/mg。在 3 ~ 6 h 内,干扰素 γ 水平保持在 ≈ 0.5 pg/mg 蛋白水平。实验之间的技术差异(即动物模型和实验室技术)可能发挥了作用。

IL-12 是 Th1 型细胞中干扰素 γ 产生的最有效的调节因子之一。在 CA 诱导的全局性脑缺血模型中,血脑屏障似乎没有被破坏,与局灶性脑缺血模型中的情况形成对比,在局灶性脑缺血模型中,Th1 型细胞侵入病变,并可能负责细胞因子的产生,包括 IL-12 和干扰素 γ 。在目前的研究中,没有试图确定细胞因子的细胞来源。CNS-源性细胞因子可能表现出独特的时间过程,可能与脑外源性细胞因子的全身细胞因子反应无关。这可能需要在未来的研究中进行评估。

在一项院外 CA 后全身炎症反应综合征的临床研究中,IL-12 和干扰素 γ 均与任何时间点(入院时或 24、48 或 72 小时)的病死亡率无关。似乎 IL-12 和干扰素 γ 都不是在早期恢复阶段决定 CA 预后的关键

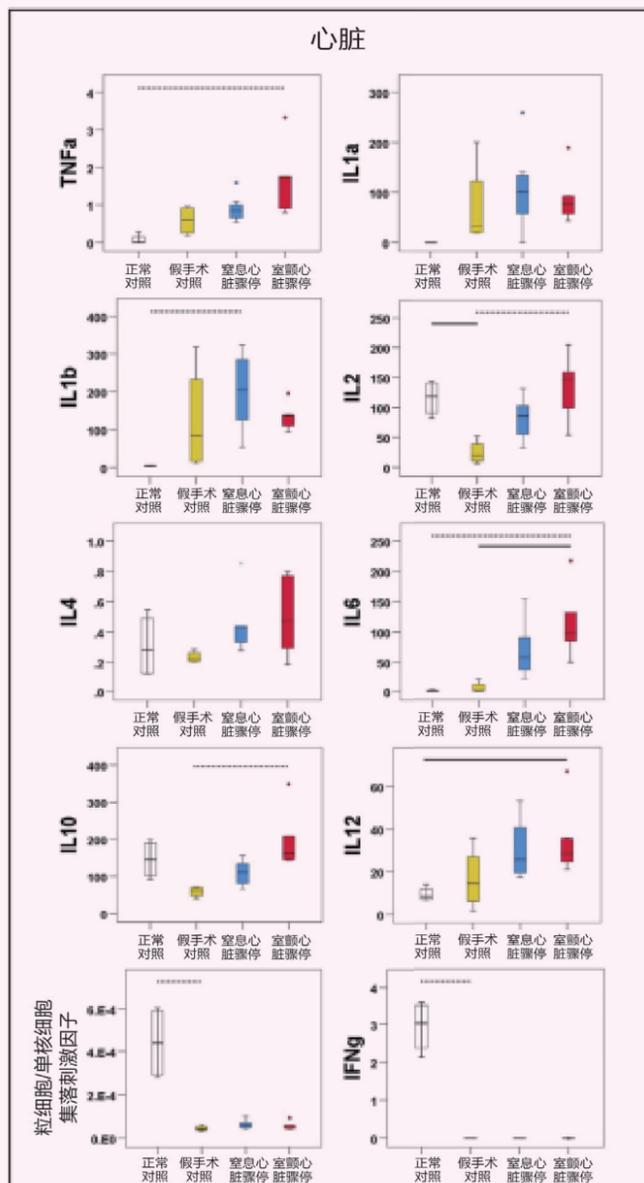


图7 室息性心脏骤停(ACA)或室颤性心脏骤停(VFCA)后3小时心脏细胞因子的变化

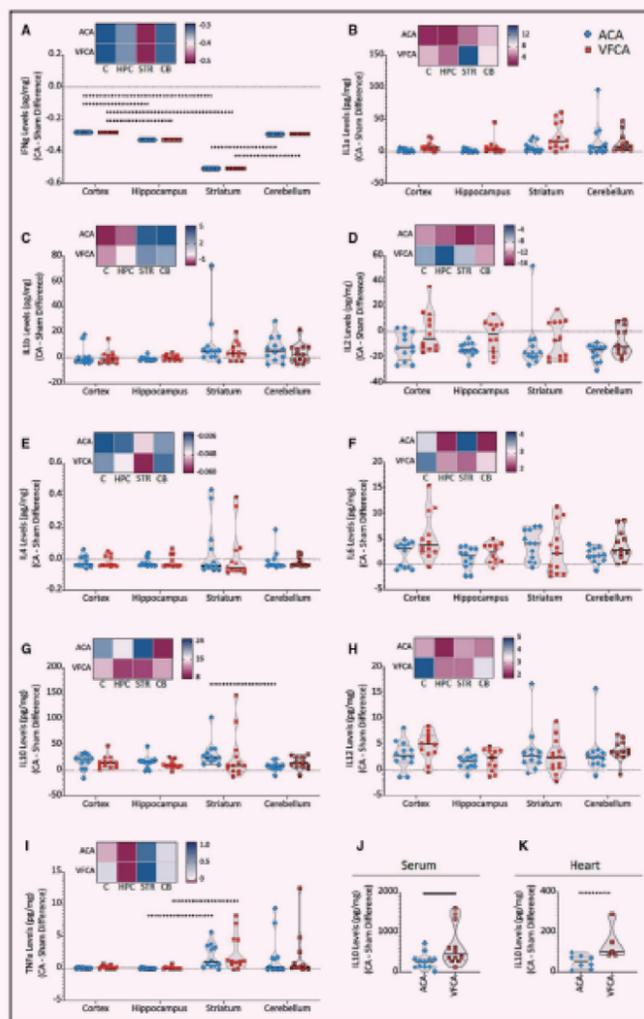


图8 室息性心脏骤停(ACA)或室颤性心脏骤停(VFCA)后3小时细胞因子的区域差异

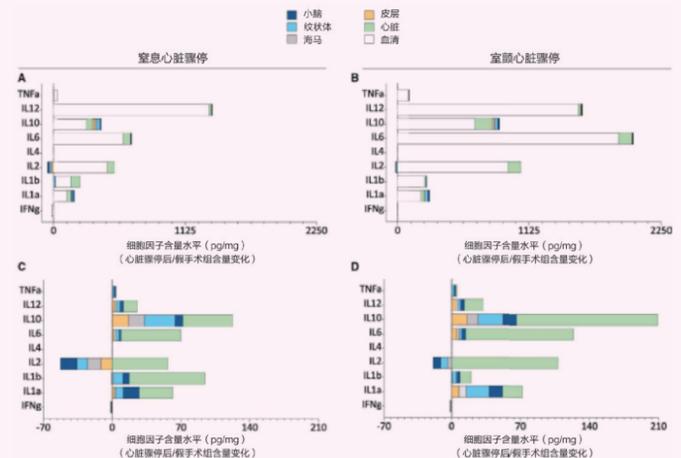


图9 室息性心脏骤停(ACA)或室颤性心脏骤停(VFCA)后3小时跨器官细胞因子反应的堆叠柱状图

因素。相比之下,IL-6 在非存活者中更高。IL-6 是否作为末端器官损伤的生物标志物,或者它是否代表一种可能影响结果的治疗靶点,仍有待确定。

有限数量的研究探索了 CA 模型中的脑组织细胞因子,并产生了相互矛盾的结果。在 CA 的啮齿动物模型中,脑脊液中 TNF- α 或 IL-6 的水平无法检测到。在 VFCA 猪模型中,血清 TNF- α 水平与脑脊液水平无关,这与神经系统的免疫特权概念一致。Saito 等人报道了沙鼠短暂全脑缺血后,“主要”促炎细胞因子 TNF- α 、IL-1b 和 IL-6 在脑内早期升高。Yasuda 等人在大鼠中使用 4 根血管闭塞隔离的全脑缺血模型,报道了最全面的长期脑细胞因子谱。大多数细胞因子在延迟期(7 ~ 21 天)升高,但在 6 小时时没有,更早的时间点没有被研究。综上所述,CA 后细胞因子调节可能存在两个不同的治疗窗口,一个针对再灌注后的早期反应,另一个针对幸存者的延迟神经炎症和(或)再生。

小胶质细胞被认为是主要的中枢神经系统免疫活性细胞。然而,之前报道过 VFCA 后早期 TNF- α 增加的细胞来源是神经元,而 IL-1a 和 IL-12 与星形胶质细胞标志物共定位。因此,在早期 CA 模型中,小胶质细胞可能不是脑细胞因子的主要来源。其他中枢神经系统常驻细胞可能在神经炎症的延迟期产生细胞因子。

系统性地缺血-再灌注对白细胞有强烈的刺激作用,白细胞迅速产生大量细胞因子,对脑外器官和血管内皮产生负面影响,导致 CA 后综合征器官功能障碍和血管通透性增加。本研究观察到在 2 个 CA 模型中测定的血清细胞因子显著增加。这种细胞因子反应是独特的,因为之前的研究得出了不同的结果。在 VFCA 猪模型中,再灌注后早期(15 分钟后)检

测到系统性 TNF- α , 其峰值水平与心肌抑制程度最大一致。TNF- α 水平在 3 小时后恢复到基线水平。IL-6 在 6 小时内保持不变。相反,在最近一项关于猪 VFCA 的研究中,TNF- α 和 IL-6 水平在 RT 5 分钟时均升高,并在 6 小时内持续升高。本研究目前的结果显示,与 naïve 对照相比,TNF- α 水平在 3 小时内升高。然而,本研究不能排除 TNF- α 达到峰值的时间更早,而且其水平已经在下降。

多种细胞因子被认为在 CA 后综合征中介导心功能障碍。单个细胞因子对心脏的确切作用机制尚未被充分探索。TNF- α 诱导的 Ca^{2+} 紊乱,通过诱导 NO 合成酶诱导的 NO 过量产生,以及 β 受体的脱敏都与心血管功能障碍和心肌细胞凋亡有关。IL-1a 直接从坏死的心肌细胞释放,而 IL-1b 由活化的白细胞释放,两者都有助于心脏功能障碍。本研究已经记录了 ACA 和 VFCA 后心脏组织内几种细胞因子的增加,包括 TNF- α 和 IL-1b。两种 CA 模型中细胞因子或肌钙蛋白 T 均无差异。在 ROSC 后的前 5 ~ 60 分钟,VFCA 观察到的心肌功能障碍和休克超过 ACA,但到细胞因子检测时已消失,这可能解释了两者的相似性。

总之,本研究已经证明 ACA 和 VFCA 引起大脑中类似的早期全身和区域特异性细胞因子反应。尽管 ACA 模型的无血流持续时间比 VFCA 模型短,但也观察到类似的生物标志物损伤情况。本研究结果表明,干预这些细胞因子的治疗策略可能在这两种 CA 表型中具有相似的优点。由于大多数有 CA 的患者在几天内死亡,主要是急性神经损伤,早期细胞因子风暴可能在发病和死亡中发挥重要作用,是 ACA 和 VFCA 的有效治疗靶点。

(中山大学孙逸仙纪念医院
王鹏 编译)

炎症反应与院外心脏骤停后循环衰竭相关：一项前瞻性队列研究

【据《Resuscitation》2022年11月报道】题：炎症反应与院外心脏骤停后循环衰竭相关：一项前瞻性队列研究（挪威特隆赫姆圣奥拉夫大学医院麻醉科和重症监护室作者 Halvor Langeland 等）

院外心脏骤停（OHCA）后的炎症反应与败血症有许多共同特征，因此被描述为“脓毒症样综合征”。全身缺血和随后的再灌注损伤导致全身炎症，与缺氧脑损伤和心肌功能障碍一起，是心脏骤停后综合征（PCAS）的主要因素。

促炎和抗炎细胞因子信号之间的平衡对于免疫系统对器官衰竭发展的影响是重要的。因此，一些研究探索了细胞因子作为脓毒症严重程度、器官衰竭风险和死亡率的生物标志物的作用。相比之下，很少有研究评估PCAS中的补体和细胞因子反应，大多数证据来自一项关于心脏骤停后靶向温度管理的大型试验。迄今为止的研究结果表明，高水平的白细胞介素6（IL-6）和补体因子3与死亡相关，而高水平的IL-6和IL-10与器官衰竭相关。

PCAS的特点是呼吸、神经和循环衰竭，但对肝脏、凝血和肾脏有轻微影响。目前认为PCAS的循环衰竭是两阶段的；首先是急性心肌顿抑，随后是叠加性血管扩张。在一项关于内皮和炎症反应如何影响PCAS血流动力学的研究中，只有IL-6与血管升压支持有关。其他研究观察到，高水平的血栓调节蛋白（内皮功能障碍的标志）与PCAS中的多器官衰竭有关。然而，其中一些研究排除了入院时出现循环性休克的患者，一些研究没有详细检查循环变量。因此，本研究的调查包括循环休克患者，并提供了循环支持和中心血流动力学变量的详细信息，是有必要的。

本研究的目的是调查OHCA后的炎症反应，包括补体激活、细胞因子释放和内皮生物标志物，及其与PCAS循环衰竭的关系。

一、方法

实验设计

这是一项预先计划地对50例OHCA后恢复自主循环（ROSC）入院患者的前瞻性研

究性研究地分析。患者入选时间为2016年1月至2017年11月。

入选和排除标准

圣奥拉夫大学医院位于挪威特隆赫姆，是一家拥有938张床位的三级医院，服务人口为70万。经OHCA评估合格后，入住ICU并获得ROSC的昏迷和清醒成年人。排除标准为年龄 <18 岁、怀孕、假定因感染性或过敏性原因导致心脏骤停、从其他医院转院、决定在到达ICU时限制维持生命治疗、急性心胸外科手术、在到达ICU前进行体外膜氧合（ECMO）或心室辅助装置（VAD）干预。

研究流程

患者从入院之日起及接下来的5天，或直到发生以下事件之一：患者死亡；开始ECMO或VAD治疗；急性心胸外科；延长生命的疗法被搁置；患者被转到普通病房或另一家医院。入院当天（第0天）的长度取决于纳入时间，而第一天开始于第二天早上06:00。

所有昏迷患者，无禁忌证，均接受肺动脉导管进行持续中心血流动力学测量。所有循环变量和药物剂量均来自电子重症监护信息系统。对于循环变量，本研究计算了每次血液样本采集前30分钟至采集后30分钟期间的平均值。从院前报告和住院记录中，本研究获得了基于Utstein模式心脏骤停的数据，Charlson共病指数和临床资料的评估和治疗。

本研究每天计算改良的临床肺炎感染评分（mCPIS）和顺序器官衰竭评估（SOFA）评分。30天后，本研究从病历中获得生命状况。

炎症生物标志物

血液取样和血浆制备：入组时抽取血样，ICU期间每天早上抽取血样。温和混合后，血液样本在室温下垂直放置30分钟，然后在2200g下离心10分钟。血浆在取样后1小时内冷冻至 -80°C 。C反应蛋白（CRP）、触珠蛋白与ICU常规血样一起检测。

补体的激活：补体激活，包括初始C3激活产物（C3b）和末端C5b-9补体复合物（TCC），采用补体国际标准，ELISA检测。

细胞因子：使用Bio-Plex

ProTM人体细胞因子27-plex检测（Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA）分析以下炎症细胞因子的水平，包括白细胞介素、干扰素、趋化因子和生长因子：肿瘤坏死因子（TNF），干扰素 $-\gamma$ （IFN $-\gamma$ ），白介素1受体拮抗剂（IL-1ra），IL-6，IL-8，IL-10，干扰素诱导蛋白10（IP-10），eotaxin，巨噬细胞炎症蛋白1 β （MIP-1b），活化正常T细胞表达和分泌（RANTES），碱性成纤维细胞生长因子（BFGF）和血小板衍生生长因子-bb（PDGF-BB）。

内皮和血小板标志物：血浆内皮和血小板生物标志物水平；细胞间黏附分子1（ICAM-1），血管细胞黏附分子1（VCAM-1），syndecan-1，血管内皮（VE）钙黏蛋白，颗粒选择素和血管性血友病因子（vWF），使用商业上可用的抗体（R&D Systems和Agilent, Minneapolis, MN）以384格式进行酶免疫测定，使用CyBi-SELMA移液机器人（Analytik Jena, Germany）和自动洗涤-分配器（BioTek, Winooski, VT）的组合。使用ELISA平板阅读器（BioTek）在450 nm

处读取吸收，波长校正设置为540 nm。所有酶免疫分析的分析内和分析间变异系数均 $<10\%$ 。检测下限的测量值设为0.01。

心脏骤停后护理和心血管支持

昏迷患者按医院标准程序冷却（ 36°C ）24小时。如有指征，行经皮冠状动脉介入。在出现低血压和组织低灌注的临床体征时，根据该部门的循环支持指南，通过液体和血管升压药物来优化循环。这项研究中心心脏骤停后护理的详细描述已经发表。

统计

为了描述OHCA后由炎症反应介导的循环效应和死亡风险，本研究将分析分为三个步骤。首先，应用线性回归模型评估Utstein变量和生物标志物之间的关系。其次，采用线性回归模型评估入院时和第2天生物标志物浓度与循环变量[去甲肾上腺素剂量、输液、心排量（CO）、全身血管阻力（SVR）和平均动脉血压（MAP）]之间的关系。在这两项分析中，在第0天（即入院）和第2天（35~40小

时后）评估了相关性，以捕捉心脏骤停后立即和延迟的炎症反应和循环影响。最后，本研究使用入院时生物标志物的逻辑回归来估计30天病死率的比值比。

所有生物标志物均为二进制对数（log2）变换得到正态分布。在多变量回归模型中，只有在日常单变量分析与循环变量一致相关的生物标志物（超过2次测量 $P < 0.1$ ）才被纳入逆向选择变量。本研究使用决定系数（R²）来评估模型的解释能力。在异方差的情况下，使用具有稳健标准误差的回归模型，并从分析中省略强共线预测因子。

为了描述生物标志物随时间的变化，本研究根据研究人群在第5天是否死亡（“状态1”）、仍在ICU（“状态2”）或转移到病情稳定的病房（“状态3”）将研究人群分为三组。首先，本研究展示了所有日子里生物标志物浓度的分层图。然后，本研究使用单向方差分析和Tukey方法来确定各组之间的生物标志物浓度在第0天和第2天是否有显著差异。

用Matlab软件（Mathworks Inc., Natick, MA）提取数据，用Stata 16.1（StataCorp LCC, Collage Station, TX）进行统计分析。

样本大小

这是一项描述性研究，因此没有进行正式的样本量计算。

伦理

挪威中部卫生区医学和卫生研究伦理区域委员会（REK Midt, 2015/1807号）批准了这项研究。参与者或其代理人提供书面同意。

二、结果

研究人群

在连续评估的65例患者中，15例患者被排除在外（7例患者因立即停用生命维持系统，2例患者因脓毒性病因，2例患者不需要入住ICU，3例患者接受了VAD或ECMO，1例患者立即接受了手术），50例患者被纳入研究。142例患者入院时昏迷，44例患者接受了旁观者心肺复苏，37例患者的初始节律为心室颤动（表1）。中位反应时间为9.5 min（Q1~Q3：5~13.5）。从紧急呼

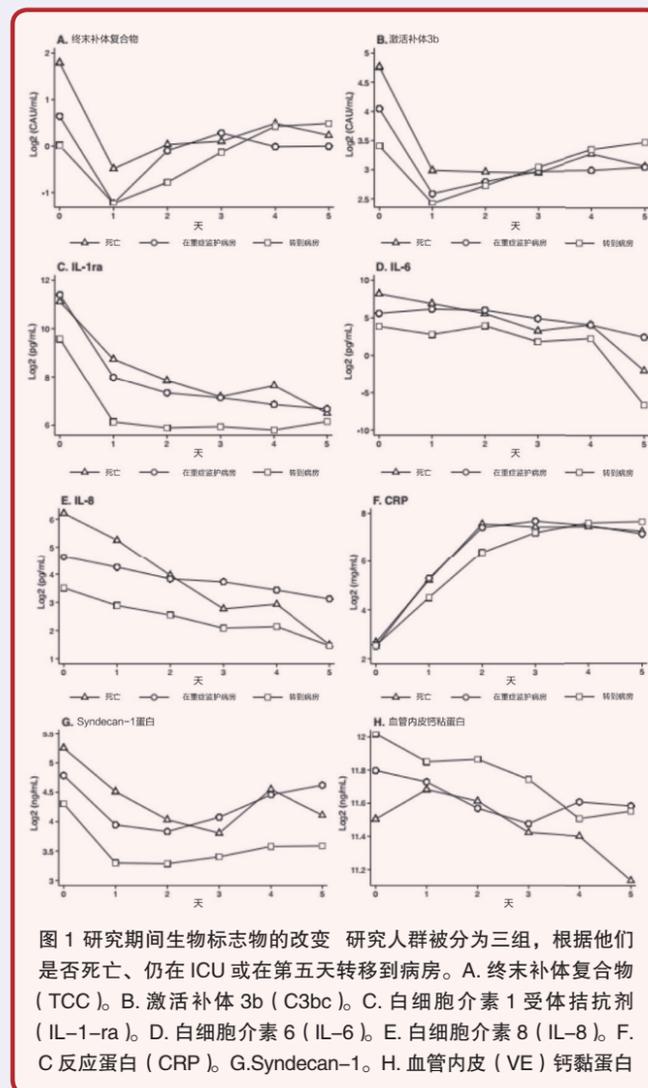


图1 研究期间生物标志物的改变 研究人群被分为三组，根据他们是否死亡、仍在ICU或在第五天转移到病房。A. 终末补体复合物（TCC）。B. 激活补体3b（C3b）。C. 白细胞介素1受体拮抗剂（IL-1ra）。D. 白细胞介素6（IL-6）。E. 白细胞介素8（IL-8）。F. C反应蛋白（CRP）。G. Syndecan-1。H. 血管内皮（VE）钙黏蛋白

上接第7版

叫时间起,中位数为24分钟(Q1~Q3:14~32)后达到ROSC。到第五天结束时,12例患者死亡(状态1),22例仍在ICU(状态2),16例转病区循环稳定(状态3)。状态2患者3例,状态3患者1例,30天内死亡。人口统计结果见表1。平均日零长度为11h(标准差;5h)。在ICU住院期间,mCPIS评分中位数在第4天达到峰值,27例患者中有12例评分 ≥ 6 ,27例患者中有26例接受了抗生素治疗。

血清标志物

补体活化产物TCC和C3bc、细胞因子IL-1ra、IL-8和RANTES及内皮细胞标志物syndecan-1和VE-cadherin的血浆浓度在入院时最高,随后逐渐下降(图1),而IL-6在研究期间保持升高(图1)。CRP从入院到第2天升高(图1),而vWF则表现出更加混合的模式。除VE-cadherin和RANTES外,状态1(第5天死亡)的患者所有生物标志物的浓度最高,状态3(第5天转移到病房)的浓度最低(图1)。

TNF、IFN- γ 、IL-10、IP-10、eotaxin、MIP-1b、BFGF、PDGF-BB、ICAM-1、VCAM-1和p-选择素升高,但与结局不一致,因此省略进一步分析。

心脏骤停和炎症之间的关系

在多变量线性回归分析中,到达ROSC的时间和乳酸盐浓度与入院时较高的TCC、C3bc、IL-1ra、IL-6、IL-8和syndecan-1水平及较低的VE-cadherin水平显著相关。一般来说,该模型中的临床变量预测了生物标志物变异性的很大一部分。第2天,在多变量分析中,只有TCC和syndecan-1与Utstein变量相关。

炎症和循环之间的联系

对入院时和第2天生物标志物浓度与循环变量和器官衰竭(SOFA评分)之间进行线性回归分析。一致的发现是,较高水平的C3bc、IL-6、IL-8和syndecan-1,以及较低水平的VE-cadherin,与较高的去甲肾上腺素剂量、较高的SOFA评分和增加的液体支持相关。该模型表明循环变异性的很大一部分可以用生物标志物浓度来解释。

炎症和病死率之间的关系
在入院生物标志物的多变量

表1 所有患者和亚组的人口统计学

患者特点	所有 n=50 (100%)	状态1 n=12 (24%)	状态2 n=22 (44%)	状态3 n=32 (32%)
年龄(sd)	63 (15)	63 (19)	65 (13)	59 (16)
男性占比(%)	40 (80)	6 (50)	21 (95)	13 (81)
体重指数,平均值(sd)	28 (6.6)	29 (12)	28 (4.3)	26 (3.5)
Charlson共病指数中位数(Q1-Q3)	3 (2~4)	3 (1.5~5)	4 (3~4)	2 (1.5~4)
目睹心脏骤停(%)	42 (84)	8 (66)	19 (86)	15 (93)
旁观者CPR(%)	44 (88)	11 (91)	19 (86)	14 (87)
到ACLS的时间,中位数(Q1-Q3)	9.5 (5~14)	14 (7~23)	10 (5~13)	6 (4~10)
可除颤初始心律(%)	39 (78)	3 (25)	22 (100)	14 (87)
除颤次数,中位数(Q1-Q3)	2 (1~4)	0 (0~2)	3 (1~7)	2 (1~2.5)
到ROSC的时间,中位数(Q1-Q3)	24 (14~32)	27.5 (20~37)	25.5 (18~36)	14 (8~28)
假设是心脏原因(%)	42 (84)	6 (50)	21 (95)	15 (93)
急诊室出现循环性休克(%)	18 (36)	7 (58)	9 (40)	2 (12)
入院时昏迷(%)	42 (84)	12 (100)	22 (100)	8 (50)
一定的肺误吸(%)	9 (18)	5 (41)	2 (9)	2 (12)
初始pH值,平均值(sd)	7.18 (0.14)	7.0 (0.13)	7.19 (0.14)	7.27 (0.09)
初始碱过量,mmol/L,平均值(sd)	9.4 (7.4)	16.2 (4.9)	9.29 (5.4)	7.1 (4.7)
初始乳酸水平,mmol/L,平均值(sd)	6.7 (4.2)	11.4 (3.3)	5.5 (3.5)	4.8 (3.2)
简化急性生理评分II,平均值(sd)	62 (19)	72 (14)	68 (11)	44 (18)
30天死亡率	16 (32)	12 (100)	3 (13)	1 (6)

量logistic回归分析中,血浆TCC和IL-6浓度每增加2倍,入院后30天内病死率的优势比分别为1.86和2.01(表2)。

三、讨论

本研究发现心脏骤停后患者有明显而广泛的炎症反应,这与临床结果有很大关系。进入ROSC的时间较长,乳酸含量较高与补体激活、细胞因子释放和内皮糖萼损伤显著相关。这反过来又与血液循环障碍和ICU循环支持需求增加显著相关。最后,入院时TCC和IL-6与30天病死率显著相关。

因为与生化模式和典型的循环衰竭相似,即血管扩张和毛细血管渗漏,OHCA后的炎症先前与败血症进行了比较。败血症的循环衰竭被认为是由内皮屏障功能障碍引起的,其中内皮糖萼是一个中心成分。炎症本身和治疗性体积扩张可能导致内皮糖萼脱落,导致毛细血管渗漏和促炎和促凝蛋白的暴露,从而放大免疫反应。

在本研究中,到达ROSC的时间和初始乳酸水平与补体激活(TCC和C3bc)、促炎细胞因子(IL-6和IL-8)和糖花

萼脱落标记(syndecan-1)相关。这些生物标志物与循环变量之间的关联具有时间依赖性模式:补体激活与较低的MAP、CO和SVR及循环支持需求的增加有关,而促炎细胞因子表现出一致的相关性,而内皮生物标志物与相同的循环模式具有延迟相关性。这与先前的研究结果一致,即IL-6始终与血管升压支持相关,而血栓调节蛋白和syndecan-1表现出延迟模式。

出乎意料的是,在状态3的患者中,内皮损伤的标志物VE-cadherin的浓度较高,但也与循环变量水平的改善和SOFA评分的降低有关,本研究无法解释这种违反直觉的关系。

然而,不同的生物标志物在临床环境中的作用应谨慎解释。首先,炎症生物标志物的作用不能一致地分为促炎或抗炎。其次,单个生物标志物的作用取决于时间和环境,不同的生物标志物也作为复杂网络和级联的一部分协同工作。最后,由于治疗是为了维持器官功能和生命,在任何伦理上可接受的人体研究中都没有观察到未经治疗的效果。这可能会导致一些不合逻辑的关系。例如,如果一种生物标志物与

低MAP和CO相关,并且给予血管增压剂使MAP正常化,则与MAP的关联将被掩盖,并与计算出的高SVR发生虚假关联。

70% ICU患者在第2天接受了抗生素治疗,这表明怀疑是细菌感染。与此同时,27%患者的mCPIS评分超过5分,表明患有肺炎。在OHCA期间,胃内容物误吸是常见的,可引起无菌炎症,随后可能发展为细菌性肺炎。由此可见,本研究观察到的炎症反应是缺血再灌注损伤、吸入性肺炎和感染的组合。然而,Oppert和同事们发现,心脏骤停后急性期蛋白的突然升高在感染和未感染的患者中是相似的。Bro-Jeppesen及其同事对心脏骤停后促炎细胞因子水平升高得出了类似的结论。因此,仅使用生物标志物诊断OHCA后的肺炎可能会产生误导。

补体激活产物(C3bc)反映了所有初始通路的激活,而末端补体复合物(TCC)反映了末端通路的完全激活。TCC存在两种形式:本研究在血浆中测量的可溶性形式(sC5b-9)和膜形式(膜攻击复合物)。低水平的补体调节蛋白MAp19,高水平的补体C3bc和TCC,以及IL-6先前已被

证明与OHCA后的病死率相关。本研究发现入院时TCC和IL-6水平每增加2倍,30天内死亡的比值比几乎翻倍。

不幸的是,治疗性低温尚未被证明能改变炎症反应,目前还没有针对PCAS的特异性治疗方法。此外,到目前为止,抗炎药物并没有改善危重疾病的结局。然而,最近一项关于使用IL-6受体阻断剂tocilizumab减轻OHCA后炎症和心肌损伤的研究发现,对生物标志物释放有很好的效果,但在检测死亡率变化方面不足。补体抑制在未来也可能成为一种替代治疗方法。治疗性补体抑制剂的临床应用,最近得到了广泛的综述,似乎很有前景。

优点和不足

本研究的优势在于,所有患者都在一个中心接受治疗,遵循一种方案,这使得循环支持的使用具有可比性。此外,所有患者在ICU入院后立即抽血,此后每天抽血,并按照严格的方案制备和保存,以反映体内补体激活和细胞因子释放的程度。此外,对大多数患者使用Swan-Ganz导管进行循环监测,该导管可提供比常规获得的更详细的血流动力学测量。本研究承认有几个限制。首先,可推广性可能受到规模和单中心研究设计的限制。其次,本研究的队列反映了病因的混合,因此反映了正常的ICU人群,但这也可能使结果的解释比同质病因队列更困难。第三,病情最严重的患者更容易发生误吸和肺炎,这可能会影响观察到的生物标志物浓度差异。第四,本研究选择使用浓度增加2倍作为所有生物标志物的乘数。然而,反映生理反应的不同生物标志物的变化幅度可能是可变的。

结论

入院时长时间的ROSC和高乳酸水平与入院时血浆中促炎生物标志物水平升高有关,包括补体活化(TCC和C3bc)、细胞因子(IL-6、IL-8)和内皮损伤(syndecan-1)。这些生物标志物与较低的MAP、CO和SVR及循环支持需求增加有关。入院时TCC和IL-6水平高的患者30天病死率增加。因此,这项研究表明,全身炎症反应,包括补体激活、细胞因子释放和内皮糖萼损伤,与心脏骤停和循环衰竭有关。

(中山大学孙逸仙纪念医院

王鹏 编译)

表2 入院时生物标志物与30天内死亡的关系

生物标志物浓度	单因素分析	多因素分析
	优势比(95%CI)	优势比(95%CI)
TCC, per 2倍增加	1.87 (1.21-2.89)	1.86 (1.02-3.40)
C3bc, per 2倍增加	2.23 (1.27-3.89)	-
IL-1ra, per 2倍增加	1.23 (0.93-1.63)	-
IL-6, per 2倍增加	1.67 (1.20-2.32)	2.01 (1.20-3.37)
IL-8, per 2倍增加	2.35 (1.41-3.92)	-
RANTES, per 2倍增加	0.67 (0.26-1.75)	-
CRP, per 2倍增加	1.28 (0.56-2.93)	-
Syndecan-1, per 2倍增加	1.43 (0.91-2.27)	0.39 (0.15-1.00)
VE-cadherin, per 2倍增加	0.22 (0.05-0.90)	-
vWF, per 2倍增加	1.38 (0.76-2.53)	-
		Pseudo R ² = 0.24