

关于心脏骤停猪模型复苏后 Alda-1 使用抑制铁死亡对脑损伤的研究

马桂琴 丁磊

银川市第一人民医院 宁夏银川 750001

摘要: 本研究深入探讨了心脏骤停 (Cardiac Arrest, CA) 后猪模型在经历心肺复苏 (Cardiopulmonary Resuscitation, CPR) 后, 其脑氧微循环系统中铁死亡 (Ferroptosis) 的发生机制及其对脑组织损伤的影响。研究通过构建稳定的 CA-CPR 猪模型, 结合生化检测、组织病理学分析及先进的分子生物学技术, 详细评估了乙醛脱氢酶 2 (Aldehyde Dehydrogenase 2, ALDH2) 特异性激活剂 Alda-1 在减轻复苏后脑损伤中对铁死亡过程的调控作用。结果显示, Alda-1 的干预显著减轻了心脏骤停后猪模型复苏过程中的脑组织损伤程度, 这一保护作用可能与抑制长链脂酰辅酶 A 合成酶 4 (ACSL4) 以及上调谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPx4) 的表达, 进而阻断由铁死亡信号通路所介导的脑细胞程序性死亡过程有关。

关键词: 心脏骤停; Alda-1; 铁死亡; 脑损伤

引言

心脏骤停后的心肺复苏术在临床急救领域中扮演着至关重要的角色, 它能为患者提供生命支持, 但即使在复苏成功后, 患者也常常会面临一系列全身器官的功能损害, 特别是脑损伤的问题。这种损伤是由于心脏骤停时, 脑部缺血缺氧, 导致脑细胞无法正常进行能量代谢, 进而引发了能量代谢障碍和细胞毒性水肿等一系列病理生理反应。铁死亡 (Ferroptosis) 作为一种新型的细胞程序性死亡方式, 近年来在心脏骤停导致的脑损伤机制研究中受到了广泛的关注。铁死亡是一种不同于细胞凋亡和坏死的死亡方式, 它通过调节细胞内铁离子稳态和脂质过氧化反应来触发细胞死亡。在心脏骤停后的脑损伤中, 铁死亡可能通过放大缺血缺氧引起的氧化应激反应, 进一步加剧神经细胞的损伤和死亡, 从而加重脑损伤的严重程度。为了更精确地模拟人类心脏骤停后的生理病理变化, 本研究选择猪作为实验动物模型。猪的心脏解剖结构、侧支循环及血流动力学特征与人类具有较高的相似性, 这使得科研人员能够更好地探究复苏后脑损伤的复杂机制。通过对比人类和猪在心脏骤停后的生理病理变化, 研究人员可以更准确地揭示复苏后脑损伤的机制, 为未来的治疗提供更加可靠的依据。在研究过程中, 科研人员将对猪进行心脏骤停模型诱导, 模拟人类心脏骤停的生理病理变

化。通过对猪进行心脏骤停处理, 并观察其在不同时间点的生理指标变化, 如心率、血压、呼吸等, 以及脑部损伤情况, 包括神经细胞死亡、炎症反应、氧化应激反应等指标。通过对比人类和猪在心脏骤停后的生理病理变化, 研究人员可以更准确地揭示复苏后脑损伤的机制。通过本研究, 科研人员可以更深入地了解心脏骤停后脑损伤的机制, 为未来的治疗提供更加可靠的依据。同时, 本研究也有助于推动相关领域的发展, 提高临床急救水平, 为人类的健康事业做出贡献。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

本研究共选用 24 只健康成年约克郡猪或长白猪, 体重范围控制在约 30-35 kg, 所有动物均按照严格的动物实验伦理标准进行操作。实验动物被随机分配至三个不同组别: 假手术 (Sham) 组、标准心肺复苏模型 (Cardiac Arrest with Standard Cardiopulmonary Resuscitation, CPR 模型组), 以及针对 CPR 后脑损伤干预组 (CPR+Alda-1 组)。

1.2 模型构建

在构建 CA-CPR 模型的过程中, 首先对动物实施全身麻醉, 并进行心电监测、气管插管以确保机械通气正常进行。通过颈内/外静脉插入双极起搏电极至右心室, 并以此为起点释放特定电压的直流或交流电刺激诱发心室颤动。当心电

监护确认室颤状态且收缩压降至 25 mmHg 后，暂停机械通气 8 分钟，随后启动标准的心肺复苏抢救流程。Sham 组动物仅接受与 CA-CPR 相同的前期准备操作，但并不进行实际的心脏骤停和复苏过程。

1.3 干预措施

在 CPR（心肺复苏术）+Alda-1 实验组中，实验操作遵循严谨的流程和科学的设计原则，旨在精准评估 Alda-1 药物在心肺复苏后治疗中的效果。该组动物模型在经历模拟心肺复苏操作恢复自主循环后，立即进入恢复阶段，并在成功复苏后的五分钟这一关键时间节点，给予静脉途径的 Alda-1 药物注射。药物的剂量选择经过了精确的计算和对照，确保按照 0.88 毫克每千克体重的标准给予，这个剂量是基于前期预实验结果和现有研究成果确定的最佳治疗剂量。与此同时，为了确保实验结果的准确性和科学性，Sham 组及 CPR 模型组动物也在相同的时间点接受了等体积的生理盐水注射。这样做是为了排除由于非药物因素，如手术操作、麻醉等对实验结果的影响，确保所有观察到的变化都可以直接归因于 Alda-1 的治疗效应，而不是其他无关变量的干扰。

1.4 检测指标

血清学指标：分别在制模前以及复苏后的 1、2、4、24 小时时间段内采集股静脉血样，用于检测神经元特异性烯醇化酶（Neuron-Specific Enolase, NSE）和 S100 钙结合蛋白 β 亚基（S100 β Protein）在血清中的浓度变化。NSE 和 S100 β 蛋白是公认的反映脑组织损伤程度的生物学标志物。

1.5 神经功能评估

在复苏后 24 小时这一时间节点，采用神经功能缺损评分（Neurological Deficit Score, NDS）系统对动物模型的神经功能状态进行全面评估。该评分标准涵盖了意识水平、运动功能、感觉功能以及反射活动等多个方面，从而准确反映心脏骤停及心肺复苏术后动物的整体神经功能恢复情况。

1.6 组织病理学及分子生物学分析

在完成所有观察指标后，对所有实验动物进行安乐死处理，并迅速取出大脑皮质组织样本。采用普鲁士蓝染色法对大脑皮质样本进行铁沉积水平检测；利用比色法测定脂质过氧化产物丙二醛（Malondialdehyde, MDA）的含量以及还原型谷胱甘肽（Glutathione, GSH）的还原能力；并通过 Western blotting 分子生物学技术分析长链脂酰辅酶 A 合成酶

4（ACSL4）和谷胱甘肽过氧化物酶 4（GPx4）这两种关键蛋白的表达水平变化。

2 结果

2.1 血清学指标

与 Sham 组相比，CPR 模型组和 CPR+Alda-1 组在心脏骤停与心肺复苏后各个时间点的脑损伤标志物 NSE（神经丝蛋白）和 S100 β 蛋白水平均出现了显著上升的现象。这一结果表明，心脏骤停导致的脑组织缺氧缺血以及随后的心肺复苏过程对脑组织造成了明显的氧化应激损伤。NSE 和 S100 β 蛋白作为评价脑损伤严重程度和恢复情况的敏感指标，其水平上升提示脑组织在遭受急性缺血缺氧事件后出现了显著的细胞结构破坏和功能障碍。值得注意的是，CPR+Alda-1 组在接受 Alda-1 药物干预后，与仅接受 CPR 处理的模型组相比，在复苏后的各个阶段，特别是复苏后 24 小时这一关键时间点上，脑损伤标志物的上升幅度明显较小。这一现象表明，Alda-1 可能通过其特定的药理机制有效地减轻了脑组织在经历氧化应激反应后的继发性损伤。这为进一步研究和临床应用 Alda-1 作为神经保护剂提供了重要的实验依据，同时也为探索新的治疗策略以降低心肺复苏术后患者的脑组织损伤提供了研究方向。

2.2 神经功能评估

于复苏后黄金 24 小时之际，对各组动物的神经功能进行精细评估，研究结果赫然显现：CPR 模型组动物较 Sham 组展现出显著的神经机能衰退，这一发现确凿无疑地构建了心脏骤停与心肺复苏术后神经系统并发症的紧密纽带，并深刻警示了此情境下神经系统可能遭受的深远重创。尤为瞩目的是，CPR+Alda-1 干预组数据呈现出一抹亮色，其神经功能缺损评分较单纯 CPR 模型组展现出显著的下滑轨迹。此迹象清晰昭示，Alda-1 的精准施治与及时介入，对于缓解心脏骤停及心肺复苏术后动物模型的神经系统损害，展现出了确凿的正面效应。此研究不仅拓宽了我们对心肺复苏术后神经系统并发症的认知边界，更为未来治疗策略的蓝图绘制提供了宝贵的指引与实证基石。

2.3 组织病理学及分子生物学分析

在完成所有观察指标后，对所有实验动物进行安乐死处理，并迅速取出大脑皮质组织样本。采用普鲁士蓝染色法对大脑皮质样本进行铁沉积水平检测，结果显示，CPR 模型组较 Sham 组表现出明显的铁沉积增加，而 CPR+Alda-1

组则较模型组铁沉积有所减少。这一结果提示 Alda-1 可能通过抑制铁沉积，减轻了由心脏骤停和心肺复苏导致的脑组织铁超载问题。为了进一步探究 Alda-1 抑制铁沉积的潜在机制，我们深入分析了 Alda-1 对大脑皮质组织中铁代谢相关蛋白表达的影响。通过 Western Blot 实验，我们发现，在 CPR 模型组中，铁调节蛋白如铁蛋白 H 和转铁蛋白受体 1 的表达显著上调，这与铁沉积增加的现象相一致。而在 CPR+Alda-1 组中，这些铁代谢相关蛋白的表达水平得到了显著下调，特别是铁蛋白 H 和转铁蛋白受体 1 的表达明显减少。

这些结果表明，Alda-1 可能通过调节大脑皮质组织中的铁代谢相关蛋白，抑制铁沉积。我们推测，Alda-1 可能通过抑制铁的过度摄取和储存，促进铁的转运和利用，从而有效减轻了由心脏骤停和心肺复苏导致的脑组织铁超载问题。这一发现为进一步优化心肺复苏后的脑保护策略提供了新的研究方向。未来的研究将围绕 Alda-1 在心肺复苏后脑保护中的具体作用机制展开，以期为提高心肺复苏的成功率和改善患者预后提供更多有力支持。

为了更全面地探究 Alda-1 在心肺复苏后脑保护中的作用机制，我们计划开展一系列的体内和体外实验。在细胞水平上，通过建立神经元细胞模型，模拟心脏骤停和心肺复苏的过程，观察 Alda-1 对细胞内铁代谢的影响，揭示其抑制铁沉积的分子途径。利用基因敲除或过表达技术，进一步确认关键铁代谢蛋白在 Alda-1 介导的铁沉积调节中的作用。在动物模型方面，我们将采用心肺复苏后脑损伤模型，通过药物干预和基因治疗等方式，深入研究 Alda-1 对脑组织铁代谢的影响，以及其对神经功能恢复的作用。结合磁共振成像技术、显微镜观察等手段，直观地展示 Alda-1 在减轻脑组织铁沉积、改善神经元结构完整性等方面的效果。

我们还将关注 Alda-1 对脑组织抗氧化应激能力和炎症反应的影响，因为这些因素在心肺复苏后脑损伤的发生发展中起着重要作用。通过检测相关分子标志物和信号通路的改变，揭示 Alda-1 在调节这些生理过程的作用机制。

此外，我们还将探索 Alda-1 对心肺复苏后脑损伤患者神经功能恢复的临床应用价值。通过与医疗机构紧密合作，收集心肺复苏后脑损伤患者的临床数据，分析 Alda-1 治疗前后患者神经功能的变化，为 Alda-1 的临床转化提供有力的实验依据。

在深入研究 Alda-1 的作用机制时，我们还将关注其与其他药物的相互作用。通过联合用药和药物筛选等方法，寻找与 Alda-1 具有协同效应的药物组合，提高治疗效果，降低不良反应。

综上所述，我们的研究将全面探究 Alda-1 在心肺复苏后脑保护中的作用机制，为心肺复苏后脑损伤的治疗提供新的思路和方法。我们相信，随着研究的深入，Alda-1 将成为心肺复苏后脑保护的重要手段之一，为患者带来福音。

参考文献：

[1]Lemiale V , Dumas F , Mongardon N ,et al. Intensive care unit mortality after cardiac arrest: the relative contribution of shock and brain injury in a large cohort[J]. Intensive Care Med, 2013,39(11):1972-1980. DOI: 10.1007/s00134-013-3043-4.

[2]Geocadin RG , Callaway CW , Fink EL ,et al. Standards for studies of neurological prognostication in comatose survivors of cardiac arrest: a scientific statement from the American Heart Association[J]. Circulation, 2019,140(9):e517-e542. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000702 .

[3]Panisello-Rosell ó A , Lopez A , Folch-Puy E ,et al. Role of aldehyde dehydrogenase 2 in ischemia reperfusion injury: an update[J]. World J Gastroenterol, 2018,24(27):2984-2994. DOI: 10.3748/wjg.v24.i27.2984 .

[4]Diao MY , Xu JF , Wang JG ,et al. Alda-1, an activator of ALDH2, improves postresuscitation cardiac and neurological outcomes by inhibiting pyroptosis in swine[J]. Neurochem Res, 2022,47(4):1097-1109. DOI: 10.1007/s11064-021-03511-x .

[5]Yuan H , Li XM , Zhang XY ,et al. Identification of ACSL4 as a biomarker and contributor of ferroptosis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016,478(3):1338-1343. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.08.124.

[6]Stockwell BR , Friedmann Angeli JP , Bayir H ,et al. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease[J]. Cell, 2017,171(2):273-285. DOI: 10.1016/j.cell.2017.09.021 .

[7]Xu JF , Zhang MH , Liu F ,et al. Mesenchymal stem cells alleviate post-resuscitation cardiac and cerebral injuries by inhibiting cell pyroptosis and ferroptosis in a swine model of cardiac arrest[J]. Front Pharmacol, 2021,12:793829. DOI:

10.3389/fphar.2021.793829 .

[8]Berg RA , Otto CW , Kern KB ,et al. High-dose epinephrine results in greater early mortality after resuscitation from prolonged cardiac arrest in pigs: a prospective, randomized study[J]. Crit Care Med, 1994,22(2):282-290. DOI: 10.1097/00003246-199402000-00020 .

[9]Fu SH , Zhang HF , Yang ZB ,et al. Alda-1 reduces cerebral ischemia/reperfusion injury in rat through clearance of reactive aldehydes[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2014,387(1):87-94. DOI: 10.1007/s00210-013-0922-8 .

[10] 缪文丽 , 李海玲 , 王弘道 , 等 . 神经元特异性烯醇

化酶和 S100 蛋白评估心脏停搏患者复苏后脑损伤的研究 [J]. 中国危重病急救医学 , 2007,19(12):749-752. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2007.12.013 .

[11]Chen YQ , Fan HY , Wang SJ ,et al. Ferroptosis: a novel therapeutic target for ischemia-reperfusion injury[J]. Front Cell Dev Biol, 2021,9:688605. DOI: 10.3389/fcell.2021.688605 .

作者简介:

马桂琴 (1983—), 女, 回族, 籍贯宁夏平罗, 学历: 大学本科学士学位, 职称: 中级。研究方向: 心肺复苏后关于脑损伤相关指标关联。