

• 临床研究 •

乌司他丁对心肺转流患者血浆血栓调节蛋白、血管性假血友病因子、内皮素-1 和一氧化氮水平的影响

陈 春¹, 龚 园², 汤和青¹, 侯 俊¹, 方 为², 冯雪刚¹, 孙德海¹

(1. 三峡大学第一临床医学院麻醉科, 湖北宜昌 443003; 2. 湖北省宜昌市中心人民医院麻醉科 443003)

摘 要:目的 探讨乌司他丁对心肺转流(CPB)患者全身性血管内皮细胞(VEC)的急性损伤的保护作用。方法 将 30 例心血管择期手术患者(瓣膜置换术)随机分为两组, 观察组 CPB 过程中给予乌司他丁, 对照组 CPB 过程中给予生理盐水, 每组 15 例。分别于术前、转流前、转流后 30 min、停转流、手术结束、术后 1 d 和术后 3 d 动态监测两组患者血浆可溶性血栓调节蛋白(sTM)、血管性假血友病因子(vWF)、内皮素-1(ET-1)和一氧化氮(NO)的变化。结果 两组患者血浆 sTM、vWF 和 ET-1 在 CPB 期间和术后 1 d 均显著增高, NO 在 CPB 期间和术后 1 d 均显著下降; 观察组的指标术后 3 d 恢复到术前水平。对照组未能恢复。观察组患者 CPB 期间至术后 3 d 的血浆 sTM、vWF 和 ET-1 均低于对照组, NO 指标均高于对照组。结论 CPB 可导致全身性 VEC 的急性损伤, 乌司他丁可以减轻 CPB 导致的 VEC 损伤。

关键词: 乌司他丁; 可溶性血栓调节蛋白; 血管性假血友病因子; 内皮素-1; 一氧化氮; 心肺转流**中图分类号:** R654.1; R977.3**文献标识码:** A**文章编号:** 1671-8348(2010)08-0949-02

Effects of ulinastatin on serum sTM, vWF, ET-1 and NO in patients undergoing cardiopulmonary bypass

CHEN Chun¹, GONG Yuan², TANG He-qing¹, et al.

(1. Department of Anesthesia, the First College of Clinical Medical Science, Three Gorges University, Yichang, Hubei 443003, China; 2. Department of Anesthesia, Center Hospital of Yichang, Yichang, Hubei 443003, China)

Abstract: Objective To study the protective effect of ulinastatin on the vascular endothelial cell acute injury in the patients undergoing cardiopulmonary(CPB). **Methods** Thirty patients scheduled for cardiac valvular replacement under CPB were divided into two groups with 15 cases each, the patients in the test group were infused intravenously after the induction of anesthesia and during CPB, respectively. Each infusion time was about 1 h. In the control group, normal saline was given instead of UTI. Blood samples were withdrawn before skin incision, before CPB, at 30 min after CPB, the end of CPB, at the end of operation, on the first and the third postoperative day for detecting the levels of soluble thrombomodulin(sTM), von Willebrand factor(vWF), endothelin-1(ET-1), nitric oxide(NO). **Results** The levels of sTM, vWF and ET-1 significantly elevated during CPB and on the first postoperative day in the two groups, and NO was lower compared with that before operation ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The level of sTM, vWF and ET-1 in the test group returned to the level before operation, but the levels of sTM, vWF and ET-1 in the control group did not, and were significantly higher in the control group than those in the test group in the period ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and NO were lower in group test than in group control. **Conclusion** CPB can induce extensive acute vascular endothelial cells damage, and ulinastatin can relieve the damage.

Key words: ulinastatin; soluble thrombomodulin; von Willebrand factor; endothelin-1; nitric oxide; cardiopulmonary bypass

血管内皮细胞是覆盖于心血管内壁的一层多功能细胞, 在血管通透性屏障、免疫防御及炎症反应中起重要作用。William 和 Aird^[1]认为血管内皮细胞作为器官系统而存在。心肺转流(cardiopulmonary bypass, CPB)能引起全身广泛的急性血管内皮细胞损伤/活化^[2]。本实验观察乌司他丁对心脏手术患者血浆血栓调节蛋白(soluble thrombomodulin, sTM)、血管性假血友病因子(von Willebrand factor, vWF)、内皮素-1(endothelin-1, ET-1)和一氧化氮(nitric oxide, NO)水平的影响, 以观察其对患者血管内皮细胞的保护作用。

1 临床资料

1.1 一般资料 选择 2007 年 9 月至 2009 年 6 月两院收治实施心脏手术患者 30 例, 其中二尖瓣置换术 12 例, 主动脉瓣置换术 14 例, 双瓣置换术 4 例。心功能 I ~ II 级 21 例, III ~ IV 级 9 例将患者随机分为观察组(麻醉后和转机时分别静脉泵注乌司他丁 1×10^4 u/kg)和对照组(给予生理盐水泵注), 泵注时间均为 1 h。

1.2 麻醉方法 在全麻低温心肺转流下手术。麻醉诱导采用咪唑安定 0.1 mg/kg、芬太尼 0.02 mg/kg、丙泊酚(静安, 北京费森尤斯公司提供, 产品批号 J20070039)1.5 mg/kg、维库溴铵 0.1 mg/kg。麻醉维持采用间断推注咪唑安定和芬太尼, 直至 CPB 开始暂停用药, 开放后重启直至手术结束。全部患者

均采用 STOCKERT-III 型心肺转流机, 西京膜式氧合器, 无血预充, 4 : 1 氧合血冷晶体停搏液间断灌注。CPB 过程中所有患者肝素用量为 3 mg/kg, 预充液中为 10 mg/L, 激活凝血时间(ACT)维持在 480 ~ 600 s, 转流完毕用鱼精蛋白中和体内残余肝素, 比例为 1 : 1.2。

1.3 监测指标 所有患者在 CPB 前, CPB 30 min, 停机, 术后 6、24、72 h 分别采集颈内静脉血 3.6 mL 置入含枸橼酸钠的抗凝管中, 于 4 000 r/min 离心 10 min, 然后置于 -80 °C 超低温冰箱中保存待检测。vWF、sTM 标本的测定采用 ELISA 法, 试剂盒均为上海太阳生物技术公司提供。ET-1 测定采用放射免疫法, 试剂盒由北京东亚免疫技术研究所提供, NO 采用硝酸还原酶法, 试剂盒由北京中国军事医学科学院提供。心肺转流期间血液稀释对测定值的影响采用 Talor 公式校正, 校正值 = 测定值 \times 术前红细胞压积(HCT)/取样时 HCT。

1.4 统计学方法 所有数值均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 SPSS10.0 统计软件进行统计学处理, 采用 t 检验和 F 检验。

2 结 果

2.1 一般情况 观察组 15 例男 7 例, 女 8 例, 年龄为 (30.5 \pm 5.7) 岁, 体质量为 (45.7 \pm 8.6) kg, CPB 时间 (90.5 \pm 47.8) min, 升主动脉阻断时间 (58.6 \pm 23.3) min。对照组 15 例男 6 例, 女 9 例, 年龄为 (33.0 \pm 7.3) 岁, 体质量为 (48.4 \pm 5.6) kg, CPB 时

表 1 两组患者血浆 sTM、vWF、ET-1 和 NO 水平变化($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

检测指标	组别	术前	CPB 前	CPB 30 min	停 CPB	手术结束	术后 1 d	术后 3 d
sTM(ng/mL)	观察组	3.8±0.8	4.3±1.5	5.1±1.0 $\Delta\Delta^{**}$	5.4±1.2 $\Delta\Delta^{**}$	7.2±1.3 $\Delta\Delta^{**}$	4.6±0.9 Δ^*	3.1±1.1 Δ^*
	对照组	3.6±1.0	4.5±1.3	7.6±0.9 **	8.8±1.4 **	9.6±0.8 **	7.2±1.5 **	4.9±1.1 *
vWF(%)	观察组	86.0±12	90.0±14	156.0±18 $\Delta\Delta^{**}$	168.0±12 $\Delta\Delta^*$	172.0±13 $\Delta\Delta^{**}$	121.0±19 $\Delta\Delta^{**}$	91.0±11 Δ^*
	对照组	90.0±14	92.0±18	196.0±19 **	206.0±14 **	232.0±18 **	159.0±18 **	113.0±12 *
ET-1(ng/L)	观察组	95.0±5	101.0±5	128.0±8 $\Delta\Delta^{**}$	140.0±15 $\Delta\Delta^{**}$	134.0±4 $\Delta\Delta^{**}$	113.0±7 $\Delta\Delta^{**}$	101.0±7 Δ^*
	对照组	106.0±6	121.0±6	145.0±6 **	163.0±3 **	151.0±3 **	133.0±6 **	122.0±7 *
NO(μ mol/L)	观察组	57.0±6	54.0±6	46.0±3 $\Delta\Delta^{**}$	40.0±6 $\Delta\Delta^{**}$	34.0±5 $\Delta\Delta^{**}$	47.0±8 $\Delta\Delta^{**}$	56.0±6
	对照组	60.0±7	59.0±5	42.0±7 **	30.0±5 **	27.0±7 **	31.0±8 **	47.0±10 *

与术前比较, * : $P<0.05$, ** : $P<0.01$; 与对照组比较, Δ : $P<0.05$, $\Delta\Delta$: $P<0.01$ 。

间(85.7±42.9)min,升主动脉阻断时间(61.9±20.1)min。两组患者在年龄、性别、体质量、CPB 时间等方面差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 两组患者血浆 sTM、vWF 和 ET-1 水平变化 各指标于 CPB 开始至术后 24 h 均升高,但观察组明显低于对照组($P<0.05$)。两组患者 NO 在 CPB 开始后逐渐下降,在停 CPB 后 4 h 降至最低点,术后逐渐恢复。ET-1 在术后 72 h 回到并超过 CPB 前水平,而 NO 只是恢复到术前水平(表 1)。

3 讨 论

目前已知血管内皮细胞具有重要的内分泌功能,由内皮细胞所分泌的活性分子物质主要用于维持血管扩张与收缩功能的平衡、血凝与抗血凝的平衡、促炎症与抗炎症的平衡、过氧化与抗氧化状态的平衡,这些平衡状态的打破被称之为内皮功能的损伤^[3-4]。

CPB 致血管内皮细胞全身性损伤,CPB 导致的继发因素如补体的激活及激活的白细胞释放的自由基等继续损伤血管内皮细胞,进而可参与诱发全身炎症反应。这可能是 CPB 患者术后出血、全身炎症反应综合征(SIRS)和多器官功能不全综合征(MODS)等并发症的基本病理机制之一。在目前反映血管内皮损伤的分子标志物,如内皮素、vWF、组织因子及 sTM 中,sTM 因其测定方法相对简便,而且与临床病情有较好的相关性而被公认为是反映血管内皮损伤的最敏感的指标之一。血中 vWF 水平可以反映血管内皮细胞激活或损伤的程度^[5]。本研究结果显示,两组 sTM 和 vWF 水平变化趋势一致,CPB 30 min 至术后 1 d 均显著升高($P<0.01$),术后 3 d 仍未恢复到术前水平。

ET-1 为目前所知的最强的缩血管物质^[6]。正常的血管内皮细胞表达内皮细胞型 NO 合酶(eNOS),是强有力的血管松弛剂。血管内皮细胞损伤/活化可下调 eNOS 的基因表达,使 NO 合成减少,而 CPB 所致的炎症递质和内毒素可引起 NO 的释放增加。两组患者 CPB 期间血浆 NO 水平均有下降趋势。但术后 ET-1 恢复速度明显快于 NO 恢复速度。可能与 eNOS 表达下调和 NOS 激活程度不平衡相关。本研究结果显示,两组患者 CPB 期间血浆 ET-1 和 NO 的变化趋势一致,均表现为血浆 ET-1 增加而 NO 减少,这提示内皮细胞依赖缩血管物质和扩血管物质的比例失调可能是导致患者术后血管一直处于收缩状态的原因之一。

CPB 中 sTM、vWF 较 CPB 前明显升高,并持续至停 CPB 后 72 h 才恢复到术前水平,提示 CPB 中由于血液同 CPB 管道及氧合器等非生理表面的接触、外科手术创伤、术中温度的变化、血流方式改变和组织缺血/再灌注损伤过程及其触发的某些继发性损伤因素导致血管内皮细胞的损伤,并导致 CPB 中及术后的 ET/NO 平衡失调,甚至多器官功能障碍。

乌司他丁是一种从健康成年男性尿液中分离纯化的尿胰

蛋白酶抑制剂(ulinary trypsin inhibitor, UTI),能够同时抑制蛋白酶、磷脂酶 A₂、透明质酸酶、弹性蛋白酶等多种水解酶的活性。

本研究发现在 CPB 期间观察组 sTM 和 vWF 较对照组明显下降,提示乌司他丁在 CPB 期间可减少血浆中的 sTM 和 vWF 的含量,对血管内皮细胞有保护作用。观察组 ET/NO 较对照组明显升高,提示乌司他丁可减轻 CPB 导致的 ET/NO 平衡失调。可能机制包括:乌司他丁减轻全身炎症反应的机制可能与其抑制多种蛋白酶,稳定溶酶体膜,抑制溶酶体酶的释放,清除自由基及抑制炎症介质的释放^[7-9],减少白细胞与血管内皮细胞黏附、聚集,减轻内皮细胞损伤,改善微循环^[10]及增强抗炎因子水平等有关。

参考文献:

- [1] William C. Aird MD. Endothelium as an organ system[J]. Crit Care Med, 2004, 32(1): 271.
- [2] 陈力勇,葛衡江,刘怀琼.心肺转流对血管内皮细胞损伤/活化的临床研究[J]. 中华麻醉学杂志, 2000, 20(3): 325.
- [3] Michiels C. Endothelial cell functions[J]. J Cell Physiol, 2003, 196(3): 430.
- [4] 葛敏. 内皮功能障碍与常见心血管疾病[J]. 交通医学, 2006, 20(4): 487.
- [5] 向道康,孙宗全,赵长全,等. 微温心肺转流对因子及血栓调节蛋白的影响[J]. 心脏杂志, 2002, 14(3): 312.
- [6] 宋浩明,罗明,邓兵. 不同剂量培哚普利对慢性心力衰竭患者血浆 ET 和 NO 水平的影响[J]. 心脏杂志, 2005, 17(1): 46.
- [7] Yano T, Anraku S, Nakayama R, et al. Neurop roective effect of urinary trypsin inhibitor against focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. Anesthesiology, 2003, 98: 465.
- [8] 杨雁灵,徐小平,窦科峰,等. 乌司他丁对大鼠胰性脑病的保护作用的实验研究[J]. 西北国防医学杂志, 2004, 5(1): 19.
- [9] 薛庆华,昌克勤,程卫平,等. 乌司他丁对体外循环患者肺灌洗液中炎性因子和肺功能的影响[J]. 中国循环杂志, 2006, 21(3): 297.
- [10] Komori M, Takada K, Tomizawa Y, et al. Urinary trypsin inhibitor improves peripheral microcirculation and bronchospasm associated with system anaphylaxis in rabbits in vivo[J]. Shock, 2003, 20(2): 189.

(收稿日期:2009-09-10 修回日期:2009-10-10)