论著

文章编号:1000-5404(2005)08-0776-03

小儿体外循环围术期炎症因子释放规律及机制探讨

吴晓云[1],匡凤梧[1],吴 春[2],潘征夏[2],王 宏[3],彭明清[3] (重庆医科大学儿童医院:[1]重症监护室,[2]心胸外科,[3]麻醉科,重庆 400014)

提 要:目的 探讨体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)期间炎症因子的释放规律及机制。**方法** 对20例低温CPB下房间隔或室间隔缺损修补术患儿,在CPB预充液中均加入相应剂量的地塞米松及抑肽酶,通过放射免疫分析法检测在肝素化前、CPB开始至主动脉阻断时、CPB结束前、CPB结束后1 h及24 h血中IL-6、TNF-α、ET-1、TXB_2及6-Keto-$PGF_{1\alpha}$浓度。**结果** IL-6、TNF-α浓度在CPB期间及CPB结束后无明显变化($P>0.05$)。ET-1浓度在CPB结束后1 h有增高($P<0.05$)。TXB_2、6-Keto-$PGF_{1\alpha}$浓度在CPB期间明显增高($P<0.05$),TXB_2/6-Keto-$PGF_{1\alpha}$比值在CPB期间及CPB结束后无明显变化($P>0.05$)。**结论** CPB预充液中加入地塞米松及抑肽酶可明显抑制由CPB介导的IL-6、TNF-α的释放,但不能阻断CPB介导的ET-1、TXB_2、6-Keto-$PGF_{1\alpha}$的大量释放。

关键词: 体外循环;IL-6;TNF-α;ET-1;TXB_2;6-Keto-$PGF_{1\alpha}$

中图法分类号: R392.1; R726.541 **文献标识码:** A

Study on inflammatory factors releasing and mechanism during cardiopulmonary bypass in children

WU Xiao-yun[1], KUANG Feng-wu[1], WU Chun[2], PAN Zheng-xia[2], WANG Hong[3], PENG Ming-qing[3] ([1]Intensive Care Unit, [2]Department of Cardiothoracic Surgery, [3]Department of Anesthesiology, Children's Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400014, China)

Abstract: Objective To investigate the release of inflammatory factors and the mechanism during cardiopulmonary bypass (CPB). **Methods** Twenty ASD or VSD patients undergoing cardiac surgery with CBP were included. Dexamethasone (4 mg/kg) and aprotinin (5×10^4 U/kg) were added to the priming fluid for all patients. The serum IL-6, TNF-α, ET-1, TXB_2 and 6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ levels were determined by radio immunoassay at pre-heparinization, aorta pre-clamping, the end of CPB, 1 h and 24 h after CPB. **Results** No significant changes of IL-6 and TNF-α levels were found during and after CPB ($P>0.05$). The levels of ET-1 increased significantly in 1 h after CPB ($P<0.05$). The levels of TXB_2, 6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ were significantly increased at aorta pre-clamping and the end of CPB, and no significant changes of TXB_2/6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ ratio were found during and after CPB ($P>0.05$). **Conclusion** The priming fluid with dexamethasone and aprotinin could inhibit the CBP-induced IL-6, TNF-αreleasing, but have no such effects on ET-1, TXB_2 and 6-Keto-$PGF_{1\alpha}$.

Key words: cardiopulmonary bypass; IL-6; TNF-α; ET-1; TXB_2; 6-Keto-$PGF_{1\alpha}$

体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)时非生理状态的血液循环、体温改变、内毒素释放及缺血-再灌注损伤等因素可诱导补体活化、粘附分子表达、嗜中性粒细胞激活、细胞因子释放、脂类介质和内皮源性炎症因子产生、大量氧自由基生成。这些因素相互间形成非常复杂的网络,引起迅速放大的炎症级联反应,触动全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)的发生,严重者可导致多器官功能障碍(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)甚至多器官功能衰竭(multiple organ failure, MOF)。这些炎性因子存在多源性、多效性、多向性的特点,且其发生、发展规律仍不明确。本研究通过测定CPB围术期不同时

基金项目:重庆市科委基金资助项目(20015448)
Supported by the Sci & Tech Research Project Foundation of Scientific Committee of Chongqing (20015448)

作者简介:吴晓云(1966-),女,重庆市人,博士研究生,副主任医师,主要从事小儿多器官功能衰竭方面的研究。电话:(023)63632756-3483
通讯作者:匡凤梧,电话:(023)63632756-3481

收稿日期:2004-11-09;修回日期:2005-01-31

间段血中白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、内皮素-1(ET-1)、血栓素(TXB_2)及 6-酮-前列腺素 F1α(6-Keto-$PGF_{1\alpha}$)的浓度，旨在探讨 CPB 时致炎因子的释放规律及影响因素，以期为临床早期干预 SIRS 的发生、发展，减轻脏器损害，减少 SIRS 相关性术后并发症提供依据。

1　材料与方法

1.1　主要试剂及仪器

IL-6、TNF-α、ET-1、TXB_2 及 6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ 放射免疫分析药盒均购自解放军总医院科技开发中心放免研究所。样本采集和处理、测定方法、结果计算及试剂盒主要技术指标均按药盒说明书进行。Gc-911r 放射计数器、KDC-2044 低速冷冻离心机(中国科技大学科技实业总公司中佳光电仪器分公司)，-70 ℃低温冰箱(SANYO Japan)，CF15 高速冷冻离心机(HITACHI Japan)，STOCKERTSC 体外循环机(Germany)。

1.2　临床资料

2003 年 9－12 月我院住院房间隔或室间隔缺损手术患儿 20 例，其中男 12 例，女 8 例，年龄 4 个月至 13 岁 9 个月，体质量 4.5～30 kg，缺损直径 6～22 mm。所有病例均为术前彩色多普勒超声心动图确诊并获得手术证实的典型病例，手术方式为低温体外循环下房间隔或室间隔缺损修补术，体外循环时间 48～94 min，主动脉阻断时间 27～62 min。预充液配制条件相同，预充液中均加入地塞米松(4 mg/kg)及抑肽酶(5×10^4 U/kg)。

1.3　标本采集及分组

分别于肝素化前(组 1)、CPB 开始至主动脉阻断时(组 2)、CPB 结束时(组 3)、CPB 结束后 1 h(组 4)及 24 h(组 5)抽取静脉血 6 ml，均分成 3 份，1 份放入 3 ml 无抗凝剂的 EP 管中，勿震荡，静置 3～5 min，离心取血清做 IL-6 及 TNF 样本。1 份放入 3 ml 加抑肽酶 40 μl、EDTA 二钠 30 μl 的 EP 管中，震荡混匀，离心取血浆做 ET-1 样本。1 份放入 3 ml 加消炎痛 EDTA 二钠 0.2 ml 的 EP 管中，震荡混匀，离心取血浆做 TXB_2、6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ 样本。在 CF15 高速冷冻离心机 4 ℃、3 000 r/min 离心 15 min，取上清 70 ℃保存。测定前，样本置于冷水中复融，再次 4 ℃、3 000 r/min 离心 5 min，取上清成批测定。

1.4　统计学分析

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 SPSS 11.5 统计学软件进行多个样本均数比较的方差分析。

2　结果

2.1　IL-6、TNF-α、ET-1、TXB_2、6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ 浓度变化

CPB 肝素化前、CPB 开始至主动脉阻断时、CPB 结束时、CPB 结束后 1 h 及 24 h 的 IL-6、TNF-α、ET-1、TXB_2、6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ 浓度见表 1。经统计学处理 IL-6、TNF-α 各组间无显著性差异($P>0.05$)。ET-1 在 CPB 结束后 1 h 明显增高($P<0.05$)。TXB_2、6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ 在 CPB 开始至主动脉阻断时既明显增高持续至 CPB 结束($P<0.05$)，CPB 结束后 1 h 及 24 h 迅速下降恢复正常($P>0.05$)。

表 1　CPB 围术期不同时间段 IL-6、TNF-α、ET-1、TXB_2、6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ 的浓度变化($n=20$，$\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Serum levels of IL-6, TNF-α, ET-1, TXB_2, 6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ para-CPB period ($n=20$, $\bar{x}\pm s$)

	Group				
	1	2	3	4	5
IL-6 (pg/ml)	85.73±41.05	88.19±37.47	90.28±57.79	95.56±51.67	89.01±24.16
TNF-α (pg/ml)	0.64±0.44	0.75±0.43	0.70±0.27	0.77±0.30	0.67±0.26
ET-1 (pg/ml)	64.19±15.35*	57.55±14.83*	75.37±22.30*	98.47±26.84	77.98±20.87*
TXB_2 (pg/ml)	122.8±84.5	366.3±235.4△#▲	304.3±325.9△#▲	178.0±174.2	81.9±68.3
6-K-$PGF_{1\alpha}$ (pg/ml)	164.6±151.6	751.9±782.0△#▲	356.6±228.8△#▲	167.5±65.0	107.8±18.6

*：$P<0.05$，*vs* Group 4；△：$P<0.05$，*vs* Group 1；#：$P>0.05$，*vs* Group 4，▲：$P<0.05$，*vs* Group 5

2.2　TXB_2、6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ 比值的变化

CPB 肝素化前(组 1)、CPB 开始至主动脉阻断时(组 2)、CPB 结束时(组 3)、CPB 后 1 h(组 4)及 24 h(组 5)的 TXB_2、6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ 比值分别为(0.97±0.63)、(0.72±0.52)、(0.85±0.66)、(1.01±0.97)、(0.78±0.64)，经统计学处理各组间无显著性差异($P>0.05$)。

3　讨论

CPB 激发众多炎症因子失控性释放导致 SIRS 是产生术后并发症的主要病理生理基础之一，涉及到机体内分子、细胞及器官水平的功能紊乱。基础及临床资料显示炎症因子的大量释放与临床愈后密切相关[1]，CPB 术后并发症发生率约为 20%，其中 MODS 发生率约为 10%，一旦发生 MODS 死亡率高达 40%[2]。因此，CPB 时相关炎症因子如细胞因子、脂类炎症介质及内皮源性炎症因子等的释放机制及有效干预措施成为研究的热点。

相关研究表明 CPB 早期即有 IL-1β、IL-6、IL-8 和 TNF-α 等细胞因子的增高，这些细胞因子在 CPB 所致肺损伤、心肌功能和血流动力学紊乱中有一定的作用[3]。本实验检测了 CPB 围术期不同时间点 IL-6 和 TNF-α 的浓度，结果显示 IL-6 和 TNF-α 的浓度在 CPB 期间与 CPB 开始前及结束后比较无明显增高，我们认为该结果与本组病例 CPB 前预充液中加入了大剂量的地塞米松及抑肽酶有关。有报道提示肾上腺皮质激

素和蛋白酶抑制剂(如抑肽酶)可明显抑制 CPB 介导的细胞因子的释放[4],CPB 前使用小剂量的甲基强的松龙即可抑制致炎细胞因子和氧自由基的释放,减轻 CPB 期的炎症反应[5],Checchia 等[6]亦证实 CPB 前使用激素可抑制 IL-6、TNF-α 的释放,显著降低心肌损伤标志物 cTnI 的浓度,具有心肌保护的作用。与此相应,有研究表明大剂量的抑肽酶灌注可阻止补体活化、嗜中性粒细胞弹性蛋白酶释放和激肽释放酶的产生,促进缺血和再灌注损伤心肌的恢复,表现为更好的收缩力,更高的冠脉血流和低的 cTnI、CK-MB 释放[7]。本研究进一步证实了肾上腺皮质激素和蛋白酶抑制剂具有抑制 CPB 时致炎细胞因子释放的效应。

TXA_2 具有强烈的缩血管及促进血小板凝集效应,动物实验表明 CPB 时 TXA_2 的生成与心肌功能紊乱及肺动脉高压密切相关,阻断 TXA_2 受体或抑制其合成可减轻 CPB 后肺损伤及显著提高右心室功能[8]。PGI_2 具有引起血管舒张和抗凝、平衡 TXA_2 的作用,对心肺起保护作用,促进 CPB 后心肌的恢复和减轻肺高压的形成。因此,TXA_2/PGI_2 作为一对拮抗物质,生物学效应取决于两者间的平衡,其平衡失调可导致血栓形成、血管痉挛、微循环功能紊乱及组织器官灌注不良等一系列严重病理生理改变。本研究表明在 CPB 早期即有 TXB_2、6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ 释放的明显增加,但释放效应是短暂的,TXB_2/6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ 的比值在 CPB 期间未发生明显的变化。表明肾上腺皮质激素和蛋白酶抑制剂虽能抑制某些细胞因子的释放,但不能阻断脂类炎症介质的释放,这可能与 CPB 时内毒素释放、血液流变力增加、血液与大量的外源性异物表面接触、肝素化血液等因素导致磷脂酶的激活有关[9,10]。磷脂酶激活一方面使大量的脂类炎症介质的释放,另一方面可导致机体细胞的形态和功能破坏,是多种脏器功能损害的重要原因。虽 TXA_2/PGI_2 的比值在 CPB 期间无明显的平衡紊乱,与相关报道不尽一致,但其机制仍有待更深入的研究。

本研究还表明 CPB 结束 1 h 后有 ET-1 浓度的增高。ET-1 是目前发现的最强的缩血管物质,由血管内皮细胞合成,血管内皮损伤时增高,血管内皮系统通过释放 ET-1 及 NO 等可溶性介质动态地参与调节细胞和器官功能,对维持血管张力和心血管系统稳态起重要作用。有研究表明 CPB 可致血管内皮细胞激活和损伤,引起 ET-1 的产生和释放增加,导致术后左、右心室收缩功能降低,外周血管阻力增加,心输出量及心脏指数减低、直接损伤心脏传导系统及增加肺阻力引起肺动脉高压[11]。本实验表明 ET-1 的增高是在 TXB_2、6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ 大量释放之后,我们推测磷脂酶的激活、脂类炎症介质的释放可能在血管内皮系统的活化、损伤中起了重要的诱导作用,提示 ET-1 可作为血管内皮损伤的分子标志物。

参考文献:

[1] Holmes J H 4th, Connolly N C, Paull D L, *et al*. Magnitude of the inflammatory response to cardiopulmonary bypass and its relation to adverse clinical outcomes[J]. Inflamm Res, 2002, 51(12): 579 - 586.

[2] Grover F L. The Society of Thoracic Surgeons National Database: Current status and future directions[J]. Ann Thorac Surg, 1999, 68(2): 367 - 373.

[3] Harmon D, Coleman E, Marshall C, *et al*. The effect of clomethiazole on plasma concentrations of interleukin-6, -8, -1beta, tumor necrosis factor-alpha, and neutrophil adhesion molecule expression during experimental extracorporeal circulation[J]. Anesth Analg, 2003, 97(1): 13 - 18.

[4] Bourbon A, Vionnet M, Leprince P, *et al*. The effect of methylprednisolone treatment on the cardiopulmonary bypass-induced systemic inflammatory response[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2004, 26(5): 932 - 938.

[5] Celik J B, Gormus N, Okesli S, *et al*. Methylprednisolone prevents inflammatory reaction occurring during cardiopulmonary bypass: effects on TNF-alpha, IL-6, IL-8, IL-10[J]. Perfusion, 2004, 19(3): 185 - 191.

[6] Checchia P A, Backer C L, Bronicki R A, *et al*. Dexamethasone reduces postoperative troponin levels in children undergoing cardiopulmonary bypass [J]. Crit Care Med, 2003, 31(6): 1742 - 1745.

[7] Landis R C, Asimakopoulos G, Poullis M, *et al*. The antithrombotic and antiinflammatory mechanisms of action of aprotinin [J]. Ann Thorac Surg, 2001, 72(6): 2169 - 2175.

[8] Shi X, Xia Z, Fang J. Effects of Salvia miltiorrhiza compound injection on serum endothelin, Prostaglandin I_2/thromboxane A_2 ratio alteration following myocardial ischemia-reperfusion in patients undergoing intracardiac surgery[J]. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi, 2000, 20(12): 896 - 898.

[9] Gronroos J M, Kuttila K, Perttila J, *et al*. Phospholipases A_2 in the serum of patients after coronary artery bypass surgery [J]. Crit Care Med, 1996, 24(2): 259 - 262.

[10] Nakamura H, Kim D K, Philbin D M, *et al*. Heparin-enhanced plasma phospholipase A_2 activity and prostacyclin synthesis in patients undergoing cardiac surgery[J]. J Clin Invest, 1995, 95(3): 1062 - 1070.

[11] Ergul A, Joffs C, Walker A C, *et al*. Potential role of endothelin receptor antagonists in the setting of cardiopulmonary bypass: relevance to myocardial performance[J]. Heart Fail Rev, 2001, 6(4): 287 - 294.

(编辑 陈聪连)