

心脏瓣膜置换术患者围术期乌司他丁对基质金属蛋白酶 9 的影响

旷昕¹, 郭曲练², 李玉成¹, 胡啸玲¹, 郭立平¹, 李祥¹

(1. 南华大学附属第一医院麻醉科, 湖南省衡阳市 421001; 2. 中南大学湘雅医院麻醉科, 湖南省长沙市 410078)

[关键词] 外科学; 乌司他丁; 心肺转流术; 基质金属蛋白酶 9; 肺损伤

[摘要] 目的 观察乌司他丁对心脏瓣膜置换术患者围术期基质金属蛋白酶 9 的影响, 以了解乌司他丁对体外循环所致的肺损伤是否具有保护作用。方法 40 例择期心脏瓣膜置换术患者, 随机分为 2 组(每组 20 例)。乌司他丁组按 12 ku/kg 体重计算乌司他丁用量, 分别在麻醉诱导和心肺转流开始时按 6 ku/kg 静注乌司他丁共两次, 对照组用等量生理盐水替代, 用法同乌司他丁组。分别于麻醉诱导前, 心脏直视手术体外循环 10 min, 30 min, 心脏直视手术体外循环后 1 h, 3 h, 6 h 抽取桡动脉血, 用 ELISA 法测定血浆基质金属蛋白酶 9 的浓度。同时测定诱导前, 心脏直视手术体外循环后 1 h, 3 h, 6 h 等时间点的肺死亡率及血浆肺动脉血氧分压差。结果 两组患者年龄、体重、性别比、体表面积、血红蛋白、红细胞压积、术前心肺功能、病种、总转流时间、主动脉阻断时间、手术类别和手术时间的变化均无统计学意义。心脏直视手术体外循环 10 min 至循环后 6 h 两组基质金属蛋白酶 9 均较麻醉诱导前明显升高($P < 0.05$), 均在心脏直视手术体外循环达高峰。循环后 1 h 至 6 h 至两组肺死亡率, 肺动脉血氧分压差均较诱导前明显升高($P < 0.05$), 肺死亡率在体外循环后 1 h 达高峰, 肺动脉血氧分压差在体外循环后 3 h 达高峰。乌司他丁组体外循环 30 min 至体外循环后 6 h 时基质金属蛋白酶 9 和循环后 1 h 至 6 h 肺死亡率, 肺动脉血氧分压差均明显低于对照组($P < 0.05$)。结论 乌司他丁能明显减轻心脏瓣膜置换术患者围术期基质金属蛋白酶 9 的过度释放, 减轻术后早期肺死亡率和肺动脉血氧分压差, 对改善肺氧合保护肺功能有一定的作用。

[中图分类号] R6

[文献标识码] A

Effects of Ulinastatin on the Level of Matrix Metalloproteinase-9 in Patients Receiving Cardiac Valve Replacement Therapy

KUANG Xin¹, GUO Qu-Lian², LI Yu-Cheng¹, HU Xiao-Ling¹, GUO Li-Ping¹, and LI Xiang¹

(1. Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Department of Anesthesiology, Xiangya Hospital, Zhongnan University, Changsha, Hunan 410008, China)

[KEY WORDS] Ulinastatin; Cardiopulmonary Bypass; Matrix Metalloproteinase-9; Lung Injury

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effects of ulinastatin (UTI) on the level of matrix metalloproteinase-9 on plasma in patients receiving cardiac valve replacement therapy and to investigate the protective effects of Ulinastatin on lung injury. **Methods** 40 adult patients, ASA score Ⅱ~Ⅳ scheduled for elective cardiac valvular replacement, were randomly allocated into two groups, Ulinastatin group (group U, $n = 20$) and control group (group C, $n = 20$). Group U in which patients received a total of 12 ku/kg of ulinastatin. 6 ku/kg ulinastatin was given a IV bolus on introduction of anesthesia and before CPB. Group C received an equal amount of isotonic sodium chloride solution. Blood samples were taken from radial artery before introduction of anesthesia, 10 min after initiation of CPB, 30 min after initiation of CPB, 1 h, 3 h and 6 h after CPB for determination of plasma matrix metalloproteinase-9 concentrations. VD/VT and alveolar arterial oxygen A-aDO₂ were checked before introduction of anesthesia, 1 h, 3 h, 6 h after initiation of CPB studied after CPB. **Results** There was no significant difference between two groups in age, weight, operation time, CPB time, and aortic cross-clamping time. Compared with those before introduction of anesthesia, the concentrations of matrix metalloproteinase-9 increased significantly at 10 min after initiation of CPB to 6 h after initiation of CPB in two groups ($P < 0.05$). And no difference between two groups before introduction of anesthesia. The concentration of VD/VT at 1 h after initiation of CPB to 6 h after initiation of CPB increased significantly ($P < 0.05$). The concentrations of MMP-9 at 10 min after initiation of CPB to 6 h after initiation of CPB, VD/VT A-aDO₂ at 1 h after initiation of CPB to 6 h after initiation of CPB in ulinastatin group was lower than those in control group significantly ($P < 0.05$). **Conclusions** Ulinastatin suppressed the excessive release of matrix metalloproteinase-9 and protected lung injury in patients undergoing cardiopulmonary bypass.

[收稿日期] 2008-01-24 [修回日期] 2008-07-30

[基金项目] 湖南省衡阳市科委资助项目(2005-023)

[作者简介] 旷昕, 博士研究生, 副主任医师, 副教授, 研究方向为脑保护和心肌保护, 联系电话为 13007346516, E-mail 为 kx6924@126.com。通讯作者郭曲练, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为脑痛治疗和心肌保护, 联系电话为 137073158660。李玉成, 副主任医师, 副教授, 研究方向为心肺保护。

心脏直视手术体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)可诱发全身炎症反应。释放TNF- α 、IL-6、IL-8和IL-10等多种炎症介质,激活的中性粒细胞释放大量的蛋白酶,导致组织水肿,肺泡出血。基质金属蛋白酶是一组锌离子依赖性的蛋白水解酶家族,其主要功能是参与细胞外基质的降解,对于生理情况下细胞外基质动态平衡的维持有重要的作用。近年来,有关基质金属蛋白酶在CPB心肺再灌注损伤中的作用逐渐受到重视。CPB过程中中性粒细胞在肺部积聚,激活释放大量的基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)。乌司他丁(ulinastatin, UTI)是一种广谱蛋白水解酶抑制剂,具有抗休克、抗胰腺炎和防御手术刺激性伤害等作用。UTI对由于CPB导致的各种蛋白酶及炎症介质对机体的损伤有明显的抑制作用。本研究旨在观察乌司他丁对心脏瓣膜置换术患者围术期MMP-9的影响,来探讨其对CPB急性肺损伤是否具有保护作用。

1 对象与方法

1.1 试剂、药品与器械

注射用UTI(商品名为天普洛安,100 ku/支,粉针剂)由广东天普生物化学医药股份有限公司生产,批号03050704。血浆MMP-9含量采用酶联免疫吸附(ELISA)定量测定(试剂盒由晶美生物工程有限公司提供)。Drager麻醉机Fabius2000(德国Drager公司生产的电动电控型)。便携式血气试剂片,EG7+测血气血生化(美国雅培便携式血气生化仪)。

1.2 对象及分组

选择确诊为风湿性心脏瓣膜病行体外循环心脏瓣膜置换术患者40例作为研究对象。其中男18例,女22例,双瓣(主动脉瓣+二尖瓣)置换术12例,二尖瓣置换术24例,主动脉瓣置换术4例,年龄 43 ± 8 岁,体重 51 ± 10 kg,心功能Ⅲ~Ⅳ级,手术时间 220 ± 35 min,CPB时间 68 ± 23 min,升主动脉阻断时间 45 ± 20 min,心脏自动复跳12例,电除颤复跳8例。排除标准:术前有肝肾功能障碍,糖尿病,系统性红斑狼疮及其他内分泌系统疾病,长期使用激素史,慢性支气管炎,哮喘史,近期有肺部感染,体外循环时间短于30 min或长于150 min者。

以随机概率表随机分为UTI组和对照组,每组20例。UTI组按患者体重12 ku/kg计算总用量,用20 mL生理盐水稀释后,在颈内静脉插管成功后麻醉诱导时由颈内静脉缓慢推入总量的1/2,体外循环开始时即刻将剩余量1/2加入预充液中。相对应注

入等量的生理盐水作为对照组。

1.3 麻醉与体外循环方法

所有患者术前常规禁食10 h,禁饮8 h,麻醉前30 min肌注吗啡10 mg,长托宁1 mg。入室后开放静脉通路,麻醉诱导用咪唑安定80 μ g/kg,芬太尼15 μ g/kg。哌库溴铵80 μ g/kg,气管导管ID: 7.0~7.5,插入深度为至门齿21~23 cm,气管插管后接麻醉机行机械控制通气,吸入纯氧1.5 L/min,呼吸频率为12次/min,潮气量10 mL/kg,吸呼比=1:2,根据术中血气分析结果调整以上参数,维持PET CO₂为40 mmHg左右。行右颈内静脉穿刺置管,术中间断以咪唑安定(总量0.5 mg/kg)和芬太尼(总量50 μ g/kg)维持麻醉,哌库溴铵维持肌松。术中监测心电图、有创血压、中心静脉压(CVP)、血氧饱和度(SPO₂)、呼气末二氧化碳(PETCO₂)、尿量、ACT监测,维持ACT值480 s以上,肛温、鼻咽温,转流期间平均动脉压维持在50~80 mmHg,肝素化3 mg/kg,体外循环采用Sarns9000型人工心肺机,西京鼓泡式氧合器,灌流量为2.20~2.40 L/min/m²,浅低温(30~34℃),中度血液稀释(HCT 22%~28%),心脏停跳液采用4℃晶体高钾停跳液于主动脉根部灌注,使心电图呈等电位,心脏局部敷冰屑维持心肌局部深低温。停机后常规用鱼精蛋白1:1~1.2比例拮抗肝素,测谷丙转氨酶,必要时追加少量鱼精蛋白。心脏复跳上腔静脉开放后多巴胺及硝普钠维持循环稳定,平均动脉压控制在50~80 mmHg。

1.4 标本采集与指标测定

记录切皮至转流时间,转流的时间,主动脉转流的时间,手术时间,观察术后患者的预后等。分别在麻醉诱导前、CPB 10 min、CPB 30 min、CPB后1 h、3 h和6 h这6个时间点采集左桡动脉血2 mL,肝素抗凝,1 h内离心(3 kr/min, 3 min),吸取血浆0.5 mL,置于-20℃冰箱中待检。在麻醉诱导前、CPB后1 h、3 h和6 h等时间点采集左桡动脉血0.5 mL行血气分析,记录PaO₂、PaCO₂,红细胞压积,因血液稀释的影响,对MMP-9检测数值进行校正,校正值=实测值×转流前HCT值/实际HCT值。并收集以上各时点的吸入氧浓度(FiO₂)、平均气道压,根据下列公式计算肺泡动脉氧分压差(A-aDO₂, mmHg)=[FiO₂×(P大气压-P水蒸汽)-PaCO₂/呼吸商]-PaO₂(P大气压=760 mmHg;P水蒸汽=47 mmHg;呼吸商=0.8);肺死腔率(VD/VT)=PaCO₂-PETCO₂/PaCO₂。

1.5 统计学方法

所有计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组内不同时间

点结果比较采用重复测量的方差分析。组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 患者基本情况

两组患者年龄、体重、性别比、体表面积、血红蛋白、红细胞压积、术前心肺功能、病种、总转流时间、主动脉阻断时间、手术类别和手术时间差异均无显著性($P > 0.05$, 表 1)。两组患者术后均无严重感染及死亡。

表 1. 两组一般资料的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

参 数	对照组	UTI 组
年龄(岁)	44 ± 8	42 ± 9
性别(男/女)	8/12	10/10
体重(kg)	50 ± 10	51 ± 11
体表面积(m ²)	1.68 ± 0.1	1.65 ± 0.1
HCT	36.8% ± 3%	36.2% ± 3%
Hb(g/dL)	10.4 ± 2	9.8 ± 2
主动脉阻断时间(min)	45 ± 20	46 ± 19
总转流时间(min)	67 ± 23	68 ± 22
手术类别(双/二/主)	3/6/1	3/6/1
手术时间(min)	217 ± 35	228 ± 34

2.2 两组病例基质金属蛋白酶 9 的变化及比较

CPB 10 min 至 CPB 后 6 h 两组患者 MMP-9 浓度均较麻醉诱导前明显升高($P < 0.05$), 两组 MMP-9 浓度均在 CPB 30 min 时达高峰, 两组 MMP-9 浓度在麻醉诱导前差异无显著性。UTI 组 CPB 10 min 至 CPB 后 6 h MMP-9 的浓度均明显低于对照组($P < 0.05$, 表 2)。

表 2. 两组患者不同时点血浆基质金属蛋白酶 9 浓度($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

时 间	对照组(ng/L)	UTI 组(ng/L)
麻醉诱导前	51.2 ± 14.5	50.5 ± 14.7
CPB 10 min	186.6 ± 58.7 ^a	87.2 ± 29.6 ^a
CPB 30 min	416.7 ± 132.5 ^a	201.5 ± 68.8 ^a
CPB 后 1 h	332.2 ± 105.3 ^a	127.9 ± 42.1 ^{ab}
CPB 后 3 h	247.2 ± 76.3 ^a	90.4 ± 32.4 ^{ab}
CPB 后 6 h	158.5 ± 56.2 ^a	72.5 ± 23.6 ^{ab}

a 为 $P < 0.05$, 与麻醉诱导前比较, b 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.3 两组病例肺死腔率的变化及比较

CPB 后 1 h 至 CPB 后 6 h 两组肺死腔率均较麻醉诱导前时明显升高($P < 0.05$), 两组数值均在 CPB 后 1 h 时达高峰, 两组肺死腔率于麻醉诱导前时无统计学差异; UTI 组 CPB 后 1 h 至 CPB 后 6 h 的肺死腔率均明显低于对照组($P < 0.05$, 表 3)。

表 3. 两组患者在诱导前和心脏直视手术体外循环后不同时点肺死腔率比较($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

时 间	对照组	UTI 组
麻醉诱导前	0.39% ± 0.12%	0.41% ± 0.12%
CPB 后 1 h	0.69% ± 0.11% ^a	0.53% ± 0.15% ^{ab}
CPB 后 3 h	0.61% ± 0.15% ^a	0.52% ± 0.12% ^{ab}
CPB 后 6 h	0.56% ± 0.14% ^a	0.42% ± 0.11% ^{ab}

a 为 $P < 0.05$, 与麻醉诱导前比较, b 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.4 两组病例肺泡动脉血氧分压差的变化

CPB 后 1 h 至 CPB 后 6 h 两组肺泡动脉血氧分压差均较麻醉诱导前时明显升高($P < 0.05$), 两组数值均在 CPB 后 3 h 时达高峰, 两组肺泡动脉血氧分压差于麻醉诱导前时无统计学差异; UTI 组 CPB 后 1 h 至 CPB 后 6 h 的肺泡动脉血氧分压差均明显低于对照组($P < 0.05$, 表 4)。

表 4. 两组患者不同时点肺泡动脉血氧分压差比较($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

时 间	对照组(mmHg)	UTI 组(mmHg)
麻醉诱导前	51.58 ± 25.24	48.95 ± 25.46
CPB 后 1 h	132.78 ± 61.12 ^a	88.93 ± 44.95 ^{ab}
CPB 后 3 h	153.42 ± 51.23 ^a	112.57 ± 54.28 ^{ab}
CPB 后 6 h	113.27 ± 38.54 ^a	70.63 ± 36.15 ^{ab}

a 为 $P < 0.05$, 与麻醉诱导前比较, b 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

3 讨论

体外循环过程可诱发全身炎症反应^[1]。炎症反应早期对机体影响多表现为肺功能下降或急性肺损伤, 若进一步加重可能导致严重合并症而死亡^[2]。CPB 过程中中性粒细胞激活大量的生物活性物质(细胞因子、氧自由基和蛋白酶)是急性肺损伤发生发展的主要原因, 中性粒细胞蛋白酶尤其是 MMP-9 在肺损伤过程中起着重要的作用^[3]。

基质金属蛋白酶是一组锌离子依赖性的蛋白水解酶家族, 其主要功能是参与细胞外基质的降解, 对于生理情况下细胞外基质动态平衡的维持, 细胞凋亡和病理情况下的炎症反应, 肿瘤浸润和转移等有

重要的作用^[4]。在正常情况下, MMP-9 释放量很少^[5]。MMP-9 的主要底物 Ⅲ型胶原, 是毛细血管内皮和肺泡上皮细胞基底膜的主要成分, CPB 过程中中性粒细胞在肺部积聚, 激活释放大量的 MMP-9, 降解 Ⅲ型胶原, 破坏内皮基底膜, 导致肺组织水肿, 肺泡出血, 促进了急性肺损伤的发生和发展。在心肺转流中 MMP-9 的释放明显增加^[6]。Eichler^[7] 动物试验发现, CPB 开始后支气管肺泡灌洗液中 MMP-9 活性开始显著升高, 与此同时, 与肺组织含水量也明显增加, 表明 CPB 中伴随 MMP-9 活性的增高出现了明显的肺损伤。导致 MMP-9 表达增加的可能原因有:

缺血一再灌注损伤; ④细胞因子的释放; ④低温和复温; 内毒素的作用, 体外循环期间较低的平均动脉压和温度能引起内脏血液循环灌注不良, 胃肠黏膜屏障功能下降, 导致正常菌群移位或内毒素吸收入血引起内毒素血症^[8]。由内毒素刺激白细胞而导致 MMP-9 的释放增加。近来, Warner^[9] 在动物实验中发现, MMP-9 在体外循环后明显增加, 与体外循环后肺损伤存在正相关关系。本研究结果提示, CPB 10 min 至 CPB 后 6 h 两组患者 MMP-9 浓度均较麻醉诱导前明显升高, 两组均在 CPB 30 min 时达高峰, 说明 CPB 过程激活了大量的中性粒细胞的脱壳粒作用, 聚集在肺组织促进了大量的 MMP-9 的释放。

A-aDO₂ 与 VD/VT 反映血液从肺泡摄取氧的能力, 受通气/血流比、肺弥散功能及通气状况的影响, 其变化与肺功能状况明显相关, 是判断换气功能正常与否的一个重要指标, A-aDO₂ 与 VD/VT 增加, 说明换气功能障碍。本研究发现两组患者 CPB 后 1 h 至 CPB 后 6 h 各时间点 A-aDO₂、VD/VT 水平均较麻醉诱导前明显升高, 提示 CPB 过程导致了急性肺损伤, 影响肺功能。乌司他丁在临床上作为急性胰腺炎急性循环衰竭等的治疗用药而广泛应用。UTI 是一种来源于人尿的酸性糖蛋白, 属于广谱高效蛋白酶抑制剂。大量药理药效学研究和临床研究表明, UTI 具有抑制多种蛋白、糖和脂类的水解酶的活性, 抑制炎症介质的过度释放及改善微循环和组织灌注的药理作用, 从而在 CPB 中保护机体免受全身炎症反应的损伤^[10]。Miura^[11] 发现乌司他丁对由于 CPB 介入而导致的各种蛋白酶及炎症介质对机体的损伤有明显的抑制作用, 应用乌司他丁后能明显抑制肿

瘤坏死因子 α 的过度释放, 抑制中性粒细胞在肺内大量聚集, 从而抑制中性粒细胞脱壳粒作用, 减轻肺血管的炎性反应引起的组织水肿, 肺泡出血, 降低 A-aDO₂ 与 VD/VT 的值, 从而纠正肺的通气血流比例失调, 提高肺泡氧合功能, 保护 CPB 所致肺损伤。

本研究结果提示 UTI 组 CPB 10 min 至 CPB 后 3 h 时 MMP-9 的浓度均明显低于对照组, 说明乌司他丁在 CPB 过程中可明显抑制 MMP-9 的过度释放。本研究还发现 UTI 组在 CPB 后 1 h 至 CPB 后 6 h 各时间点 VD/VT 和 A-aDO₂ 均明显低于对照组, 与对照组比较差异有显著性, 提示应用乌司他丁可以纠正肺的通气血流比例失调, 提高肺泡氧合功能, 减轻肺损伤。

总之, 乌司他丁能明显减轻心脏瓣膜置换术患者围术期 MMP-9 的过度释放, 减轻体外循环所致的急性肺损伤, 降低肺泡动脉氧差, 对改善肺氧合有一定的作用。

[参考文献]

- [1] Davies SW, Duffy JP, Wicken DG, et al. Time-course of free radical activity during coronary artery operation with cardiopulmonary bypass [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1993, **105** (6): 979-987.
- [2] Hiyama A, Takeda J, Kotate Y, et al. A human urinary protease inhibitor (ulrinastatin) inhibits neutrophil extracellular release of elastase during cardiopulmonary bypass [J]. *J Cardiothorac Vase Anesth*, 1997, **11**: 580-584.
- [3] Eichler W, Bechtel JF, Schumacher J, et al. A rise of MMP-2 and MMP-9 in bronchoalveolar lavage fluid is associated with acute lung injury after cardiopulmonary bypass in a swine model [J]. *Perfusion*, 2003, **18** (2): 107-113.
- [4] Vu TH, Werb Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology [J]. *Genes Dev*, 2000, **14**: 2 123-133.
- [5] Lin TC, Li CY, Tsai CS, et al. Neutrophil-mediated secretion and activation of matrix metalloproteinase-9 during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass [J]. *Anesth Analg*, 2005, **100** (6): 1 554-560.
- [6] Wang SY, Zhang SH, Yao SL, et al. Gene expression and changes of plasma level of leukocyte matrix metalloproteinase-9 before and after cardiopulmonary bypass [J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2005, **85** (8): 566-568.
- [7] Eichler W, Bechtel JF, Schumacher J, et al. A rise of MMP-2 and MMP-9 in bronchoalveolar lavage fluid is associated with acute lung injury after cardiopulmonary bypass in a swine model [J]. *Perfusion*, 2003, **18** (2): 107-113.
- [8] Aydin NB, Gercekoglu H, Aksu B, et al. Endotoxemia in coronary artery bypass surgery: a comparison of the offpump technique and conventional cardiopulmonary bypass [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2003, **125**: 843-848.
- [9] Warner RL, Beltran L, Younkin EM, et al. Role of stromelysin and gelatinase B in experimental acute lung injury [J]. *Am J Respir Cell*, 2003, **22**: 305-310.
- [10] 徐康清, 陈秉学, 黄文起, 等. 乌司他丁对体外循环心脏手术患者肺炎症反应的影响 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2002, **22**: 325-328.
- [11] Miura M, Sugiura T, Aimi I. Effects of ulinastatin on PMNL and vascular endothelial injury in patients undergoing open heart surgery with CPB [J]. *Ma-sui*, 1998, **47**: 29-35.

(此文编辑 胡必利, 李小玲)