

乌司他丁对体外循环下犬心肌 ICAM-1 表达的影响

阳世雄, 刘庆远, 曾建业, 韦涌初, 黄思光, 卢 苇, 潘小明

基金项目: 广西科技开发项目(编号:桂科攻 0015034)

作者单位: 530031 南宁, 广西医科大学第三附属医院心胸外科

作者简介: 阳世雄(1971-), 男, 医学硕士, 副主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 心胸外科临床研究。E-mail: yangjx450103@163.com

通讯作者: 曾建业(1955-), 男, 医学硕士, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 心胸外科临床研究。E-mail: zjy4811633@163.com

[摘要] **目的** 研究乌司他丁应用于体外循环(CPB)中对犬心肌组织中细胞间黏附分子-1(ICAM-1)表达的影响及其对心肌的保护作用。**方法** 试验用杂种犬 20 只, 随机平均分为乌司他丁实验组(U 组)和对照组(C 组), 每组各 10 只。U 组在 CPB 预充液中加入 1 万 U/kg 乌司他丁, 并于 CPB 转机开始前即经静脉再给 1 万 U/kg 乌司他丁持续滴注。C 组常规建立 CPB 并转机。分别于 CPB 转机前 10 min(A 时点)和 CPB 转机后 60 min(B 时点)两个时点, 切取犬心肌右心耳组织, 检测心肌组织 ICAM-1 表达量; 记录 CPB 建立时间、主动脉阻断时间、主动脉灌注时间、CPB 转机时间、心脏复跳情况。**结果** 两组实验犬心肌组织中, ICAM-1 的表达量在 B 时点较 A 时点均明显增高, 但在 B 时点 U 组 ICAM-1 表达量低于 C 组($P < 0.05$)。**结论** CPB 时, 心肌组织的缺血-再灌注损伤可引起心肌组织 ICAM-1 表达上调, 乌司他丁可减轻心肌的炎症反应, 进而保护心肌组织。

[关键词] 乌司他丁; 体外循环; 心肌保护; 细胞间黏附分子-1

[中图分类号] R 654.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2011)05-0407-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2011.05.06

Effects of ulinastatin on the expression of intercellular adhesion molecule-1 in canine myocardial injury during cardiopulmonary bypass YANG Shi-xiong, LIU Qing-yuan, ZENG Jian-ye, et al. Department of Cardiac Surgery, the Third Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530031, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of ulinastatin on the expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in canine myocardium during the CPB, evaluate whether ulinastatin could influence the expression of ICAM-1 and its protective effect on myocardium. **Methods** Twenty dogs were randomly divided into two groups: ulinastatin group and control group. In ulinastatin group ($n = 10$) dogs received ulinastatin $20\,000\text{ unit} \cdot \text{kg}^{-1}$, half was added into the CPB priming fluid, and another half was given by intravenous injection before CPB running. In control group ($n = 10$) dogs received CPB conventionally, the same volume of saline instead of ulinastatin. Right atrial appendage of the dog was obtained at 10 minutes before CPB running (point A) and at 60 minutes after CPB running (point B). The expression of ICAM-1 in cardiac myocytes was measured. And the establishment and running time of CPB, aortic cross-clamp time, aortic perfusion time and heart re-beat were recorded. **Results** The expression of ICAM-1 in myocardial tissue after CPB in both groups increased and it was higher in control group than that in ulinastatin group ($P < 0.05$). **Conclusion** Myocardial ischemic reperfusion injury can cause the up-regulation of expression of ICAM-1 in myocardium, ulinastatin can restrain the expression of the ICAM-1, thus protecting the myocardial tissue by inhibiting the myocardial inflammation.

[Key words] Ulinastatin; Cardiopulmonary bypass; Myocardial preservation; Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)

本动物实验通过模拟临床心外科常用的体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)心脏停搏下进行心

内直视手术的操作, 建立起心肌缺血再灌注损伤的动物实验模型。研究乌司他丁应用于 CPB 中对犬

心肌组织中细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 表达的影响及其对心肌的保护作用。

1 材料与方法

1.1 试验对象及分组方法 健康成年雄性杂种犬 20 只随机平均分为两组:乌司他丁组(U 组)和对照组(C 组),每组各 10 只,每只体重为 8~12.5 kg,由广西医科大学实验动物中心提供。U 组在 CPB 预充液中加 1 万 U/kg 乌司他丁,并于 CPB 转机开始前即经静脉再给 1 万 U/kg 持续滴注;C 组为常规预充液并行 CPB。

1.2 手术所用仪器 (1)CPB 系统:动静脉灌注引流导管、导引钢丝、扩张管特制插管、WD-89 型人工心肺机、滚压泵、西京-87 鼓泡肺、动脉滤器、泵管经消毒后备用。实验前预冲排气,预冲液为晶体液:胶体液=1:1,其中乳酸钠林格氏液与羟乙基淀粉(706 代血浆)各 500 ml、碳酸氢钠注射液 250 ml 混合,按 50 ml/kg 预充,加入地塞米松注射液 0.5 mg/kg。(2)其他实验仪器:西门子 300A 呼吸机、Spacelabs 多功能监护仪、日立 7170A 生化仪、ABL-5 血气分析仪、Bexen Reanibex-5 除颤仪、平均动脉压检测表等。

1.3 手术监测指标 中心静脉压(central venous pressure, CVP)、平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、CPB 建立时间、主动脉阻断时间、主动脉灌注时间、CPB 转机时间、心脏复跳情况、血气分析、电解质、持续心电图及末梢血氧饱和度(SpO_2)监测。

1.4 手术操作步骤

1.4.1 每只实验用犬在实验前均禁食 12 h,禁饮 4 h。实验开始前予以氯胺酮注射液 3 ml/kg 臀部肌肉注射,待麻醉后将动物仰卧固定于实验台上,颈、胸部皮肤备皮,接心电图监护仪持续监测心电图及 SpO_2 ,行气管切开,置入 6.5~7.5 号气管导管,连接呼吸机,模式设定为控制性通气模式(CMV),潮气量 10 ml/kg,呼吸频率 12 次/min,吸入氧浓度 40%。

1.4.2 经左侧颈动脉置入测压管监测 MAP,经左侧颈静脉置入深静脉管接三通管监测 CVP 并予静脉输液,妥善固定各管。深静脉置管后予 0.9% 氯化钠注射液维持静滴。行膀胱造瘘每 20 min 记录尿量。实验过程中,通过静脉注射氯胺酮及咪达唑仑维持麻醉效果,肌松药应用注射用阿曲库铵,气管插管时用量为 0.1 mg/kg,辅助麻醉维持用量为 0.05 mg/kg。(1)C 组:实验开始,行右侧颈动、静脉

及右侧股静脉切开,分别将静脉引流导管置入右侧颈静脉及右侧股静脉,将动脉灌注导管置入右侧颈动脉,完成 CPB 连接并妥善固定,待转机。取胸正中切口常规开胸,显露纵隔组织,切开心包并悬吊,游离主动脉,根据静脉肝素化的程度,于主动脉根部插灌注管(ACT > 480 s)连接 4℃ 冷停跳液(冰 0.9% 氯化钠注射液 500 ml + 氯化钾注射液 7.5 ml + 硫酸镁注射液 4 ml + 普鲁卡因注射液 5 ml),经左心耳置放左心引流管,于转机前 10 min(A 时点)切取右心耳组织待检测,CPB 转机开始,调整导管使转机流量平稳后,阻断升主动脉,按照 20 ml/kg 剂量快速(加压)顺行灌注冷停跳液 1 次致心脏停搏,并同时置放冰屑于心肌组织周围使局部降温,维持常温下转机平稳,待心脏复跳时,开放升主动脉,并辅助应用心内按摩和肾上腺素、多巴胺、利多卡因等药物,促进心脏复跳,维持心律。心脏复跳期间并行 CPB 辅助支持循环,待转机后 60 min(B 时点)切取右心耳组织待检测。实验完毕,动物放血处死。A、B 时点切取的右心耳组织用 1.5 ml EP 管保存于液氮罐中待检测用。(2)U 组:在 CPB 预充液中加 1 万 U/kg 乌司他丁(广东天普生化医药股份有限公司),并于 CPB 转机开始前即经静脉再给 1 万 U/kg 乌司他丁维持滴注。其余操作完全同 C 组。

1.4.3 为防止血液凝集,须在动静脉插管前于体内和 CPB 机内肝素化,体内首次用量肝素为 3 mg/kg,肝素化后 10、30、50 min 分别测 ACT 值,使其保持在 500 s 左右。经皮心肺辅助法(percutaneous cardiopulmonary support, PCPS)灌注流量为 50~125 ml·kg⁻¹·min⁻¹,维持 MAP 在 60 mmHg 以上,预充晶体液加肝素钠用量为 2 mg/100 ml。

1.5 检测方法 RT-PCR 方法测定心肌组织 ICAM-1 在 mRNA 水平上的表达量,电泳结果应用凝胶成像系统半定量分析。

1.6 统计学方法 应用 SPSS15.0 软件包对实验数据进行整理分析,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两组间比较采用 *t* 检验,不同时点数据的比较采用重复测量数据两因素两水平的方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CPB 建立时间 C 组为 7.4~11.8(9.23±1.36)min;U 组为 7.5~11.2(9.31±1.12)min。两组 CPB 建立时间比较差异无统计学意义($t = 1.925, P > 0.05$)。

2.2 主动脉阻断时间 C 组为 19.0~24.5(21.0±

1. 19)min;U 组为 19.0~24.0(21.4±1.69)min。两组在灌注停跳液 1 次后心脏复跳时间比较差异无统计学意义($t=1.702,P>0.05$)。实验过程中,20 只实验犬均可心脏复跳。

2.3 ICAM-1 表达量 (RT-PCR 方法半定量测定 ICAM-1/ β -actin) 两组动物中,ICAM-1 的表达量在 B 时点较 A 时点均明显增高($P<0.05$),但在 B 时点 U 组 ICAM-1 表达量低于 C 组($P<0.05$)。见图 1,表 1。

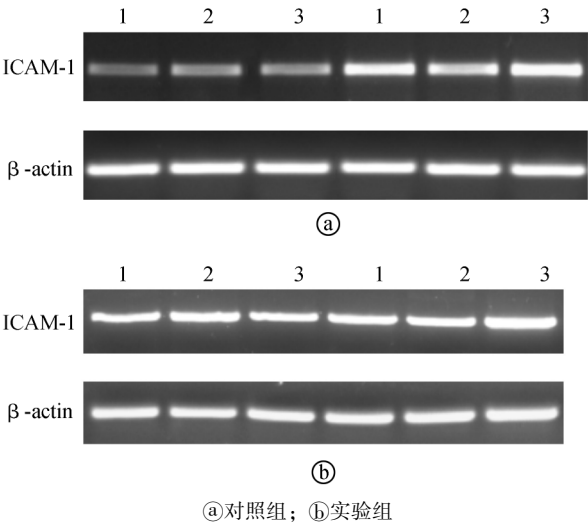


图 1 心肌 ICAM-1 RT-PCR 电泳图

表 1 两组 ICAM-1 表达量比较

组 别	A 时点	B 时点
C 组	0.608±0.083	0.980±0.089*
U 组	0.598±0.064	0.652±0.130* [△]
<i>F</i>	$F_A=5.37, F_B=6.81, F_{A\times B}=5.94$	
<i>P</i>	$P_A=0.039, P_B=0.026, P_{A\times B}=0.032$	

注:与 A 时点比较,* $P<0.05$;与 U 组比较, $^{\Delta}P<0.05$

3 讨论

3.1 乌司他丁是由 Beuer 和 Reich 于 1909 年在人类尿液中发现的一种蛋白酶抑制剂^[1]。1985 年由日本首先开发上市,并在日本作为急性循环衰竭、急性胰腺炎等的治疗药物在临床上广泛应用。在临床上乌司他丁目前已被广泛用做 CPB、围手术期、烧伤、休克、重症胰腺炎、急性重症创伤、系统性炎症反应综合征(SIRS)及多器官功能障碍综合征(MODS)等危急重症、外科手术及其他相关领域^[2~4]。

3.2 国内外大量实验证明缺血-再灌注可加重心肌损伤,是影响 CPB 心肌保护效果的一个重要因素。目前已知的缺血-再灌注损伤机理^[5]包括:(1)氧自由基(oxygen free radical)与缺血-再灌注损伤;(2)

钙超载(calcium overload)与缺血-再灌注损伤;(3)内皮细胞(endothelial cell,EC)与缺血-再灌注损伤;(4)细胞黏附分子(cell adhesion molecule,CAM)与缺血-再灌注损伤。

3.3 CAM 是一类介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质间黏附作用的膜表面糖蛋白。主要功能是促进细胞与细胞及组织基质间的黏附,其对循环血中白细胞黏附、游出及浸润起主要作用^[6]。参与 CPB 炎症过程的 CAM 有白细胞上的 leu-CAM、VLA-4、LAM-1 和血管内皮细胞上的 5 种黏附分子,即 ICAM-1、ICAM-2、VCAM-1、ECAM-1 和 GMP-140。ICAM-1 作为黏附分子中免疫球蛋白超家族的主要成员,其作用主要是介导白细胞紧紧黏附内皮细胞。正常情况下内皮细胞表面的 ICAM-1 表达很低,而炎症介质、细胞因子等能迅速诱导 ICAM-1 表达的上调,促进白细胞与内皮细胞的紧密黏附。Tabbutt^[7]的研究提示黏附分子-内皮细胞作用与后心肌损伤和肺功能损伤密切相关。张炳东等^[8]研究观察到心内直视手术患者停机时心肌细胞和血管内皮细胞上 ICAM-1 的表达均较转机前高,但 U 组明显低于 C 组,说明 ICAM-1 参与了 CPB 时心肌的炎症反应,则能通过抑制 CPB 期间心肌细胞和血管内皮细胞 ICAM-1 的表达减少全身炎症性反应。

3.4 本实验研究结果表明,当心肌经历缺血-再灌注后,C 组犬心肌细胞 ICAM-1 的表达量明显上调,而这些增加表达的 ICAM-1 必然为中性粒细胞(PMN)的黏附、浸润提供物质基础,ICAM-1 增多引起 PMN 的聚集增加,一方面 PMN 的聚集可阻塞毛细血管,形成无复流现象,加重局部缺血缺氧;另一方面,PMN 游出至组织间隙,分泌细胞毒性产物如氧自由基、蛋白水解酶等造成组织损害,最终导致心肌损伤。据大量研究表明 ICAM-1 的表达量决定了 PMN 的浸润程度^[9]。而在 U 组,应用了乌司他丁这种蛋白酶抑制剂之后,ICAM-1 在 PCPS 转机之后的表达上扬水平被抑制,相应的就减少了 PMN 的渗出,降低了心肌炎症性反应的程度,一定程度上保护了心肌组织。

3.5 通过该实验研究总结得出,应用乌司他丁注射液于 CPB 中,可在一定程度上抑制心肌组织 ICAM-1 表达上调,减轻炎症性反应,从而在一定程度上起到保护心肌的作用。

参考文献

1 覃建明. 乌司他丁的药理作用及临床应用进展[J]. 中国医药导

- 报,2008,5(11):19-20.
- 2 仲吉英,杨承祥,肖平. 乌司他丁在体外循环心脏手术中对细胞免疫功能的影响[J]. 第四军医大学学报,2007,28(1):51-53.
- 3 向强,杨小文,董爱萍,等. 乌司他丁对成人先天性心脏病手术炎症反应的影响[J]. 中国体外循环杂志,2007,5(1):17-19.
- 4 Ito K, Mizutani A, Kira S, et al. Effect of Ulinastatin, a human urinary trypsin inhibitor, on the oleic acid-induced acute lung injury in rats via the inhibition of activated leukocytes[J]. Injury, 2005, 36(3): 387-394.
- 5 Tonnesen MG, Anderson DC, Springer TA, et al. Adherence of neutrophils to cultured human microvascular endothelial cells. Stimulation by chemotactic peptides and lipid mediators and dependence upon the Mac-1, LFA-1, p150,95 glycoprotein family[J]. J Clin Invest 1989,83(2):637-646.
- 6 Kilgore KS, Lucchesi BR. Reperfusion injury after myocardial infarction: the role of free radicals and the inflammatory response[J]. Clin Biochem, 1993, 26(5): 359-370.
- 7 Tabbutt S, Newburger JW, Hickey PR, et al. Time course of early induction of intracellular adhesion molecule-1 messenger RNA during reperfusion, following cardiopulmonary bypass with hypothermic circulatory arrest in lambs[J]. Pediatr Crit Care Med, 2003, 4(1): 83-88.
- 8 张炳东,秦科,黄海清,等. 乌司他丁对瓣膜置换术患者心肌炎性反应的影响[J]. 中国体外循环杂志,2006,4(1):18-22.
- 9 Hall RI, Smith MS, Rocker G. The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations[J]. Anesth Analg, 1997, 85(4): 766-782.
- [收稿日期 2011-02-23][本文编辑 宋卓孙 韦颖]

课题研究·论著

自体真皮移植法和疝环充填式法与 Bassini 法 三种疝修补术式的临床效果比较

廖文伦, 邱福奎, 朱丽娟

基金项目: 广西贺州市科技局自然科学基金计划资助项目(编号:0807003Y)

作者单位: 542800 广西,贺州市人民医院修复外科

作者简介: 廖文伦(1968-),男,研究生学历,医学学士,副主任医师,研究方向:创面修复。E-mail:liao wenlun@tom.com

[摘要] 目的 研究 Bassini 法、疝环充填式法和自体真皮移植法三种疝修补术式在治疗成人腹股沟斜疝中的临床效果。方法 将 60 例成年腹股沟斜疝患者随机分为三组,分别行 Bassini 法、疝环充填式法和自体真皮移植法疝修补术,对手术五项指标进行比较。结果 自体真皮移植疝修补术手术时间、下床时间和住院时间相对较短,医疗费用少,术后复发率低。结论 自体真皮移植疝修补术是一种简单有效而且医疗费用低的腹股沟斜疝修补的术式。

[关键词] 腹股沟疝修补术; 自体真皮移植

[中图分类号] R 656.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2011)05-0410-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2011.05.07

Comparison of clinical effects among auto-dermal transplantation, mesh plug filling and Bassinis for hernia repair LIAO Wen-lun, QIU Fu-kui, ZHU Li-juan. Department of Repair Surgery, Hezhou City People's Hospital, Guangxi 542800, China

[Abstract] **Objective** To evaluate the therapeutic effects of auto-dermal transplantation, mesh plug filling and Bassinis for hernia repair of adult inguinal hernia. **Methods** A prospective randomized clinical trial was carried out from January 2007 to January 2010, comparing the clinical effects among these three groups. **Results** In auto-dermal transplantation group operation time, bed time, hospital stay were shorter and relapse rate was lower. **Conclusion** Auto-dermal transplantation is a simple and effective hernia repair method for adult inguinal hernia, and reduces the cost of hospitalization obviously.

[Key words] Inguinal hernia repair; Auto-dermal transplantation