

乌司他丁对法洛四联症矫治术患儿 S100 β 蛋白和神经元特异性烯醇化酶的影响

石林玉 张莉 金恒芳 施晓华 钟治球 贾建 费建 莫绪明

【摘要】 目的 观察乌司他丁对患儿法洛四联症(tetralogy of Fallot, TOF)矫治术中血浆 S100 β 蛋白和神经元特异性烯醇化酶(NSE)浓度的影响。方法 选择择期行心肺转流(cardiopulmonary bypass, CPB)下一期矫治术的 TOF 患儿 40 例,男 25 例,女 15 例,3~12 月龄,采用密封随机分组信封法分为两组:乌司他丁组(U 组)和对照组(C 组),每组 20 例。两组麻醉诱导、维持及围术期用药相同,U 组麻醉诱导后静脉给予乌司他丁 10 000 U/kg,CPB 预充液中加入 20 000 U/kg;术后第 1 天开始应用乌司他丁 30 000 U \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹,直至出 ICU 时停药。记录患儿 CPB 时间,并于诱导时(T₁)、停 CPB(T₂)、术后 24 h(T₃)、术后 48 h(T₄)抽取静脉血 3 ml,采用 ELISA 法测定血浆 S100 β 蛋白和 NSE 浓度。**结果** T₁ 时两组 S100 β 蛋白及 NSE 浓度均在正常范围内。与 T₁ 时比较,T₂ 时两组 S100 β 蛋白和 NSE 浓度明显升高($P < 0.05$),且达到峰值;T₃—T₄ 时两组 S100 β 蛋白浓度明显下降($P < 0.05$);T₃ 时两组 NSE 浓度明显降低($P < 0.05$),T₄ 时基本恢复至 T₁ 时水平。**结论** 在 TOF 患儿 CPB 术中,乌司他丁可降低血浆中脑损伤标志物 S100 β 蛋白和 NSE 浓度,从而产生一定的脑保护作用。

【关键词】 患儿;法洛四联症;乌司他丁;S100 β 蛋白;神经元特异性烯醇化酶

Effect of ulinastatin on the expression of S100 β protein and neuron-specific enolase in infants undergoing corrective surgery for tetralogy of Fallot SHI Linyu, ZHANG Li, JIN Hengfang, SHI Xiaohua, ZHONG Zhiqiu, JIA Jian, FEI Jian, MO Xuming. Department of Anesthesiology, Children's Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210008, China

Corresponding author: ZHANG Li, Email: drzhangli@njmu.edu.cn

【Abstract】 **Objective** To observe the effect of ulinastatin on the expression of S100 β protein and neuron-specific enolase (NSE) in infants undergoing corrective surgery for tetralogy of Fallot (TOF). **Methods** Forty cases of TOF, 25 males and 15 females, undergoing elective corrective operations for cardiopulmonary bypass were randomly divided into two groups ($n = 20$ each): ulinastatin group (group U) and control group (group C). Routine general anesthesia procedures were administered to both groups while the group U was treated with ulinastatin. Ulinastatin 10 000 U/kg was given from the right internal jugular vein after anesthesia induction, and ulinastatin 20 000 U/kg was given to the extracorporeal circulation priming liquid. On the first day after the operation, ulinastatin was continued for 30 000 U \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹, until the infant met the conditions of the withdrawal from ICU. Venous blood samples 3 ml were extracted after induction (T₁), 30 min after CPB (T₂), 24 h after the end of the operation (T₃) and 48 h after the end of the operation (T₄). The blood plasma was centrifugated so that S100 β protein and NSE concentration was determined with ELISA. **Results** Serum S100 β protein and NSE concentration of the two groups of patients at T₁ was in normal level. The concentration of S100 β protein and NSE of both groups reached the peak value at T₂, and the difference was statistically significant compared with T₁ ($P < 0.05$), then the concentration of S100 β protein decreased slowly at T₃—T₄. The level of S100 β protein was statistically different between T₃—T₄ and T₁ while the level of NSE was statistically different between T₃ and T₁ ($P < 0.05$). The concentration of NSE returned to the preoperative level at T₄. **Conclusion** During the corrective operation for TOF in infant, increasing plasma S100 β protein and NSE concentration can be inhibited by ulinastatin which may result in a certain degree of brain protection effect.

【Key words】 Infant; Tetralogy of Fallot; Ulinastatin; S100 β protein; Neuron-specific enolase

DOI: 10.12089/jca.2018.10.011

基金项目:江苏省第 13 批“六大高峰人才”高层次人才项目(WSW-084)

作者单位:210008 南京医科大学附属儿童医院麻醉科(石林玉、张莉、金恒芳、施晓华、钟治球、贾建、费建),心胸外科(莫绪明)

通信作者:张莉,Email:drzhangli@njmu.edu.cn

近几年来,先天性心脏病(congenital heart disease, CHD)的手术治疗正朝着低龄化、复杂化的方向发展。而 1 岁以内婴儿中枢神经系统在形态与功能上均不成熟,与成年脑显著不同,更易受到影响^[1]。有报道称,心肺转流(cardiopulmonary bypass, CPB)后婴幼儿长期神经损伤发生率可高达 3%~5%^[2]。但如能早期发现并干预,则可逆性更强。乌司他丁是一种广谱蛋白酶抑制药,可抑制炎症因子的产生和释放,在 CPB 中对肺、心肌都有明显的保护作用^[3]。但其是否可以减轻婴儿复杂 CHD 行 CPB 术后的脑损伤,国内外研究甚少。本研究拟通过在 CPB 下行法洛四联症(tetralogy of Fallot, TOF)矫治术的患儿应用乌司他丁,检测 CPB 术后不同时点的血浆 S100 β 蛋白和神经元特异性烯醇化酶(NSE)等脑损伤生物学标志物水平的变化,探讨乌司他丁对患儿复杂 CHD 手术所致脑损伤的影响。

资料与方法

一般资料 本研究为前瞻性、非盲、随机对照临床研究,经南京市儿童医院伦理委员会批准(201412008-1),患儿家属签署知情同意书。选取本院 2016 年 1 月至 2017 年 1 月需行 CPB 心内直视下一期矫治术的 TOF 患儿,性别不限,3~12 月龄。剔除标准:合并唐氏综合征(Down syndrome)^[4]。由 SAS 统计软件用随机化法产生随机数字表,并制作最小区组数为 6 的随机数字表,确保每入选 6 个受试者中的两组平衡,制作密封随机分组信封,设置随机编号,并用客观指标作为研究的主要评价指标,以降低不设盲研究的主观随意性。根据随机结果将患儿分为两组:乌司他丁组(U 组)和对照组(C 组)。

麻醉方法 患儿入室后监测 ECG、BP、HR、SpO₂ 和肛温,采用静-吸复合麻醉,麻醉诱导静脉注射盐酸戊乙奎醚 0.01 mg/kg、咪达唑仑 0.1 mg/kg、芬太尼 5~10 μ g/kg、罗库溴铵 0.6 mg/kg。气管插管后行机械通气, V_T 8~10 ml/kg, RR 20~30 次/分,维持 P_{ET}CO₂ 在 35~45 mmHg。诱导后行动脉及右颈内静脉穿刺置管,在切皮前、CPB 开始前分别追加芬太尼 10~20 μ g/kg、咪达唑仑 0.1 mg/kg,持续泵注罗库溴铵 0.1 mg \cdot kg⁻¹ \cdot h⁻¹。采用低温 CPB,控制肛温 28~30 $^{\circ}$ C。心复跳后酌情使用血管活性药物。

术后入 ICU 行机械通气治疗:避免呼吸性酸中毒和碱中毒,呼吸机模式为 PCV 模式或 PRCV 模式,参数设置: V_T 6~8 ml/kg, RR 20~35 次/分, PEEP

3~6 cmH₂O,使 PaCO₂ 维持在 35~45 mmHg。ICU 留观期间监测体温,根据需要保温或降温;酌情使用血管活性药物;使用抗生素控制感染;两组均采用静脉术后镇痛。

两组患儿上述治疗与管理过程相同。U 组在右颈内静脉置管成功后,由右颈内静脉泵注乌司他丁 10 000 U/kg,泵注时间 20 min,CPB 预充液中加入乌司他丁 20 000 U/kg;术后第 1 天开始泵注乌司他丁 30 000 U \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹,直至患儿出 ICU 时停止用药。

观察指标 记录患儿 CPB 时间,于诱导时(T₁)、停 CPB(T₂)、术后 24 h(T₃)、术后 48 h(T₄)经中心静脉抽取 3 ml 血标本,离心后采用 ELISA 法测定血浆 S100 β 蛋白和 NSE 浓度。试验数据根据 Hct 值校正:校正值=测定值 \times (术前 Hct/测定时 Hct)。

统计分析 采用 SPSS 11.0 软件进行统计分析。正态分布计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用成组 *t* 检验,组内比较采用重复测量数据方差分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

本研究共纳入 40 例患儿,每组 20 例。两组患儿性别、月龄、体重和 CPB 时间差异无统计学意义(表 1)。

表 1 两组患儿一般情况的比较

组别	例数	男/女 (例)	月龄	体重 (kg)	CPB 时间 (min)
U 组	20	13/7	6.1 \pm 1.1	7.8 \pm 2.4	67.3 \pm 17.1
C 组	20	12/8	6.4 \pm 0.9	8.2 \pm 1.9	73.8 \pm 19.2

T₁ 时两组 S100 β 蛋白浓度处于正常水平。与 T₁ 时比较, T₂—T₄ 时两组 S100 β 蛋白浓度明显升高(*P* < 0.05),且 T₂ 时为峰值。与 T₂ 时比较, T₃、T₄ 时两组 S100 β 蛋白浓度下降。T₂ 时 C 组 S100 β 蛋白浓度明显高于 U 组(*P* < 0.05)。T₁ 时两组 NSE 浓度处于正常水平。T₂ 时 C 组 NSE 浓度明显高于 U 组(*P* < 0.05)。与 T₁ 时比较, T₂、T₃ 时两组 NSE 浓度明显升高(*P* < 0.05),且 T₂ 时为峰值。T₃ 时两组 NSE 浓度明显降低(*P* < 0.05), T₄ 时基本恢复至 T₁ 水平。两组不同时点 NSE 浓度差异无统计学意义(表 2)。

表 2 两组患儿不同时点血浆 S100β 蛋白和 NSE 浓度的比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	例数	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
S-100β (ng/L)	U 组	20	455.5±55.8	710.7±76.5 ^{ab}	649.4±64.7 ^a	570.8±90.1 ^a
	C 组	20	432.6±70.5	908.3±59.4 ^a	703.2±73.9 ^a	596.8±97.6 ^a
NSE (μg/L)	U 组	20	10.33±1.08	13.57±2.07 ^{ab}	12.53±1.75 ^a	10.49±1.31
	C 组	20	9.92±1.05	17.47±2.14 ^a	14.50±1.64 ^a	10.65±1.40

注:与 T₁ 比较,^aP<0.05;与 C 组比较,^bP<0.05

讨 论

本研究所有患儿术前血浆 S100β 蛋白浓度均处于正常水平,CPB 开始后迅速升高,C 组升高更为明显。两组在 CPB 结束后达到峰值,之后 S100β 蛋白浓度开始缓慢下降,在 CPB 结束后 24 h 乃至 48 h,两组 S100β 蛋白浓度仍高于正常水平,但是绝大多数患儿并无明显的中枢神经系统损害的临床表现。

乌司他丁是一种广谱蛋白酶抑制药,能明显抑制多种蛋白酶、糖和脂水解酶活性,能有效抑制炎症介质如 IL-6、IL-8、TNF-α 等的释放,清除氧自由基从而有效减少中性粒细胞过度激活。乌司他丁可缓解血栓形成的速度,有利于 CPB 中的止血作用^[5]。本研究团队前期发现,乌司他丁可抑制中性粒细胞在血管内皮细胞上粘附和迁移,减少细胞粘附分子的过度表达,有效地减轻脏器功能损伤^[6]。本研究结果显示,乌司他丁组患者在 CPB 结束时和术后 24 h 血浆 S100β 蛋白和 NSE 浓度明显低于 C 组,提示在婴幼儿 TOF 矫治术中,乌司他丁可降低脑损伤标注物 S100β 蛋白和 NSE 浓度,从而产生一定的脑保护作用。

CPB 是一种非生理性的循环方式,主动脉阻断与开放可导致缺血-再灌注过程,激活补体、凝血、纤溶和激肽系统及白细胞,引发全身炎症反应,从而对各脏器产生影响^[7]。CPB 与成人脑损伤的关系已逐渐被重视,但婴幼儿 CPB 后脑损伤,尤其是复杂 CHD 术后的脑损伤研究甚少。婴幼儿中枢神经系统在形态与功能上均不成熟,尤其复杂 CHD,血脑屏障功能尚未完善^[8]。所以儿童脑与成年脑显著不同,更易受到影响^[9]。而且有研究认为,CPB 术后脑损伤的原因多为局部或弥漫性的脑血管微小栓塞和/或血脑屏障通透性增加,并非由脑缺血、坏死导致的不可逆性损伤所致^[10]。所以,婴幼儿在发

育阶段,如能早期发现脑损伤并积极干预,则可逆性更强。

S100β 是一种大分子酸性钙结合蛋白,主要存在于神经系统的神经胶质细胞和神经膜细胞中,通常不能通过血脑屏障,出现在血浆中通常由于血脑屏障通透性的增加,预示脑损伤的发生^[11]。血浆中 S100β 蛋白浓度不受 CPB 中溶血、低温、肝素等药物的影响,因此血液及脑脊液中 S100β 蛋白的浓度对于脑损伤的评价具有特异性^[11],Liu 等^[12]已证实,血浆中 S100β 蛋白浓度越高,反映脑损伤的程度越严重,可作为脑损伤程度的定量指标,对脑损伤有很高的预测价值。Gazzolo 等^[13]研究认为,儿童 CHD 的 CPB 中,血浆中 S100β 蛋白浓度在术前均 <500 ng/L, >500 ng/L 可被认为是病理水平。

NSE 是一种特异存在于神经元和神经内分泌细胞的细胞内蛋白质^[14],神经胶质细胞和其他脑神经组织中不含 NSE,故 NSE 是神经元损伤的标志酶^[15]。正常情况下,血液中 NSE 的含量很低。在脑损伤时,由于神经元的坏死及神经髓鞘的崩解,使细胞内大量蛋白质迅速释放入细胞间隙,并通过损伤的血脑屏障释放至血浆中。血液中 NSE 浓度 >12.5 μg/L 被认为是病理状态^[16]。本研究所有患儿术前血浆 NSE 浓度均处于正常水平,CPB 开始后则迅速升高,在 CPB 结束时达峰值,C 组升高更为明显。之后 NSE 浓度开始缓慢下降,在 CPB 结束后 24 h,两组 NSE 浓度仍高于正常水平。但 CPB 后 48 h 基本恢复至术前水平,表明 CPB 心内直视术后脑损伤主要是由 CPB 本身造成,且大部分为可逆性脑损伤,主要是以亚临床状态的形式存在。

Herrmann 等^[17]报道称,1%的溶血即足以产生 5 ng/ml 的血清 NSE,因此 CPB 期间和 CPB 结束后短期内检测 NSE 可能受溶血程度的影响,在此期间根据 NSE 来判断是否存在脑损伤以及脑损伤的程度,必将受到一定的影响。本研究在 CPB 结束后

24 h 检测到 NSE 浓度随脑损伤程度的加重而增高,脑损伤越重,其值越高,持续时间越长,排除了溶血因素的影响。由于 NSE 和 S100 β 蛋白分布不同以及损伤后出现高峰期时间不同,两者结合可更好地反映脑组织中神经元和神经胶质细胞的损害。所以,为了早期判断 CPB 术后脑损伤,建议有条件者应联合检测血浆 S100 β 蛋白和 NSE,如不能联合检测则应检测 S100 β 蛋白。

综上所述,婴儿 TOF 矫治术中,乌司他丁可以降低血浆 S100 β 蛋白和 NSE 浓度,对由 CPB 引起的脑损伤有一定保护作用。其机制可能与乌司他丁降低 CPB 期间降低血脑屏障损伤,减少炎症因子的产生有关。S100 β 蛋白对判断神经细胞的损伤程度比 NSE 具有更高的特异性。但本研究选取的患儿病例数较少,而且 CPB 中造成脑损伤的影响因素也较多,不能全部加入到本研究的考量因素中,后期研究需要更多大样本及更多考量因素的支持,乌司他丁用于 CPB 保护脑功能的确切机制有待进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Dégeilh F, Eustache F, Guillery-Girard B. Cognitive and brain development of memory from infancy to early adulthood. *Biol Aujourd'hui*, 2015, 209(3): 249-260.
- [2] Cheng HH, Wypij D, Laussen PC, et al. Cerebral blood flow velocity and neurodevelopmental outcome in infants undergoing surgery for congenital heart disease. *Ann Thorac Surg*, 2014, 98(1): 125-132.
- [3] Xu CE, Zou CW, Zhang MY, et al. Effects of high-dose ulinastatin on inflammatory response and pulmonary function in patients with type-A aortic dissection after cardiopulmonary bypass under deep hypothermic circulatory arrest. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2013, 27(3): 479-484.
- [4] Lu J, Esposito G, Scuderi C, et al. S100B and APP promote a gliocentric shift and impaired neurogenesis in Down syndrome neural progenitors. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22126.
- [5] 唐帅, 齐振红, 刘硕, 等. 乌司他丁对双侧全膝关节置换术后凝血功能和下肢深静脉血栓形成的影响. *临床麻醉学杂志*, 2014, 30(4): 333-335.
- [6] 张莉, 顾海涛, 戚继荣, 等. 乌司他丁对婴儿体外循环中细胞粘附分子变化的影响. *南京医科大学学报*, 2008, 28(10): 1305-1308.
- [7] de Amorim CG, Malbouisson LM, da Silva FC Jr, et al. Leukocyte depletion during CPB: effects on inflammation and lung function. *Inflammation*, 2014, 37(1): 196-204.
- [8] Andropoulos DB, Brady KM, Easley RB, et al. Neuroprotection in pediatric cardiac surgery: what is on the horizon? *Prog Pediatr Cardiol*, 2010, 29(2): 113-122.
- [9] Creighton DE, Robertson CM, Sauve RS, et al. Neurocognitive, functional, and health outcomes at 5 years of age for children after complex cardiac surgery at 6 weeks of age or younger. *Pediatrics*, 2007, 120(3): e478-e486.
- [10] Su XW, Undar A. Brain protection during pediatric cardiopulmonary bypass. *Artif Organs*, 2010, 34(4): E91-E102.
- [11] Yuan SM. S100 and S100 β : biomarkers of cerebral damage in cardiac surgery with or without the use of cardiopulmonary bypass. *Rev Bras Cir Cardiovasc*, 2014, 29(4): 630-641.
- [12] Liu Y, Xu Y, Li DZ, et al. Comparison of S100B and NSE between cardiac surgery and interventional therapy for children. *Pediatr Cardiol*, 2009, 30(7): 893-897.
- [13] Gazzolo D, Vinesi P, Geloso MC, et al. S-100 blood concentration in children subjected to cardiopulmonary bypass. *Clin Chem*, 1998, 44(5): 1058-1060.
- [14] Isgro MA, Bottoni P, Scatena R. Neuron-specific enolase as a biomarker: biochemical and clinical aspects. *Adv Exp Med Biol*, 2015, 867: 125-143.
- [15] Jaber Z, Aouad P, Al Medawar M, et al. Role of systems biology in brain injury biomarker discovery: neuroproteomics application. *Methods Mol Biol*, 2016, 1462: 157-174.
- [16] Jones BO, Pepe S, Sheeran FL, et al. Remote ischemic preconditioning in cyanosed neonates undergoing cardiopulmonary bypass: a randomized controlled trial. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2013, 146(6): 1334-1340.
- [17] Herrmann M, Curio N, Jost S, et al. Release of biochemical markers of damage to neuronal and glial brain tissue is associated with short and long term neuropsychological outcome after traumatic brain injury. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2001, 70(1): 95-100.

(收稿日期:2018-05-31)