

右旋糖酐 40 缓解犬体外循环实验模型中的炎症反应

刘培生, 陈 鑫*, 庄 瑜

(南京医科大学附属南京医院胸心血管外科, 江苏 南京 210006)

[摘要] 目的: 建立犬体外循环的模型, 研究右旋糖酐 40 在体外循环后炎症反应中的作用及其对心脏术后心房纤颤的影响。方法: 成年杂种犬随机分为两组, 常规建立体外循环, 分别予以右旋糖酐 40 及生理盐水静脉滴注。在体外循环转流前、转流开始后 20 min、结束后 4、24、48 h 分别采血检测 C 反应蛋白(CRP)、白细胞介素(IL)-6、IL-8、IL-10、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、肌钙蛋白 I(TnI), 同时记录心率、血压、心指数、射血分数(EF)值。术后对两组动物采用超速起搏诱导心房纤颤。结果: 右旋糖酐 40 组的炎症因子 CRP、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、TnI 表达水平低于对照组。两组房颤诱导率、血压、心率无差异, 但右旋糖酐 40 组体外循环后 24 h 的 EF 值及心指数优于对照组。结论: 右旋糖酐 40 可以缓解体外循环中的炎症反应并保护心功能。

[关键词] 右旋糖酐; 炎症反应; 心房纤颤; 体外循环

[中图分类号] R654.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2012)09-1215-04

Dextran-40 reducing the inflammation during cardiopulmonary bypass of the mongrel dog

LIU Pei-sheng, CHEN Xin*, ZHUANG Yu

(Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Nanjing Hospital Affiliated to NJMU, Nanjing 210006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the extracorporeal circulation model of the mongrel dog and to investigate the effect of dextran-40 on inflammation and atrial fibrillation after extracorporeal circulation. **Methods:** Twelve male mongrel dogs underwent cardiac bypass. Two groups were formed. In experimental group ($n = 6$), dextran-40 infusion was administered at a dose of 7.5 ml/kg before the initiation of cardiopulmonary bypass and at a dose of 12.5 ml/kg after the cessation of cardiopulmonary bypass. Identical amounts of saline was administered in control group ($n = 6$). Blood samples were taken from the coronary artery and coronary sinus before bypass, 20 min after beginning of bypass, and 4 h, 24 h, and 48 h after termination of bypass and initiation of reperfusion. Plasma interleukin (IL)-6, IL-8, IL-10, tumor necrosis factor (TNF)- α , C reactive protein (CRP), troponin I (TnI) were measured in these samples. And heart rate, mean blood pressure, ejection fraction (EF) and cardiac index (CI) were measured at the same time point. Pacing-induced atrial fibrillation was compared between two groups. The t test, χ^2 test and ANOVA were used for statistical analysis. **Results:** In experimental group, lower peak plasma levels of IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , CRP and TnI were found. There was no significant difference in heart rate and mean blood pressure between two groups. Higher figures of the cardiac index and ejection fraction were noted in experimental group. **Conclusion:** Dextran-40 reduces the systemic inflammatory response, cardiac troponin I release, protects cardiac function and may relieve atrial fibrillation following cardiopulmonary bypass.

[Key words] dextran; inflammation; atrial fibrillation; cardiopulmonary bypass

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(9): 1215-1218]

随着心脏外科的发展, 体外循环技术也得到了广泛的应用与发展, 但是仍然有许多问题需要不断

完善和探索。其中最重要也是最不可避免的就是体外循环对全身炎症反应的激活, 体外循环导致机体炎性反应的程度与术后并发症有着密切关系, 严重者将引起多器官功能障碍和衰竭, 给患者的恢复带来非常不利的影响。如何减轻体外循环对机体炎症反应的激活已成为众多外科医师必须面对的问题。

[基金项目] 南京市医学科技发展青年科技人才启动项目 (QYK10136)

*通讯作者, E-mail: stevecx@sina.com

中分子右旋糖酐能够抑制体外循环后炎症介质的释放^[1],从而减轻炎症反应对机体的不利影响;低分子右旋糖酐能否抑制体外循环后的炎症反应从而保护心肌细胞尚未有研究。本实验通过对杂种犬建立体外循环模型,探讨低分子右旋糖酐对体外循环后炎症反应的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

雄性健康成年杂种犬 12 只,体重 10~13 kg。随机分为实验组($n = 6$)及对照组($n = 6$)。实验组予以右旋糖酐 40 静脉滴注,对照组予以等量生理盐水滴注。所有动物均进行右旋糖酐过敏试验,皮试方法如下:取低分子右旋糖酐原液 0.1 ml 右前肢皮内注射,观察方法按青霉素过敏试验方法,未见过敏动物。

1.2 方法

1.2.1 手术过程

动物以戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉后,仰卧位固定在手术台上,气管插管、呼吸机支持呼吸。正中开胸,主动脉、上下腔静脉插管建立体外循环,两组均采用等量的乳酸钠林格氏液进行预充。体外循环转流前予以 7.5 ml/kg 右旋糖酐 40 静脉滴注,持续 30 min,对照组给予等量的生理盐水。体外循环开始后阻断主动脉,灌注 2 号 St.Thomas 冷晶体心脏停跳液(15~20 ml/kg)至心电活动停止;30 min 后再灌注 1 次半钾停跳液。维持心脏停跳 60 min 后复灌一次,开放主动脉,心脏复跳。维持体外循环 80 min。体外循环结束后于右心耳和低位右心房缝置起搏导线,关胸。予以 12.5 ml/kg 右旋糖酐 40 静脉滴注持续 14 h,对照组给予等量的生理盐水。行心电监测,及时发现并记录心律失常。24 h 后进行心房程序起搏,记录房颤诱发情况。体外循环转流前、开始 20 min 后、结束后 4、24、48 h 分别采血 10 ml,检测 C 反应蛋白(CRP)、白细胞介素(IL)-6、IL-8、IL-10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、肌钙蛋白 I(TnI);同时记录心率、BP98E 无创血压计测量犬尾部血压、SONOS 5500 超声心动图机测量计算心脏指数、射血分数(EF)值。

1.2.2 因子检测

血液采取后以 1 000 g 离心 15 min,保存在-80℃冰箱中。采用 ELISA 法(美国 Biosource 生物公司试剂盒)检测 IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 。采用免疫比浊法测定 CRP (美国 Array 360 system 特种蛋白分析

仪)。放射免疫法测定 TnI(美国 Beckman 公司)。采用红细胞压积(Hct)校正血液稀释的影响:校正水平=实测水平 \times (稀释前 Hct/稀释后 Hct)。

1.2.3 房颤诱导

首先以 S1S2 扫描刺激法测量心房有效不应期(effective refractory period,ERP)。随后在基础周长分别为 400 ms 和 300 ms 下,予以程序起搏,直至引入 S4 刺激。诱发房颤时 S1-S1 间期固定在 ERP+30 ms;若不能引出房颤则引入 S3,S2-S3 间期从基础周长的 80%开始,步长 10 ms 反扫;若仍不能诱发房颤则引入 S4,方法同上;如果此时仍无法引出房颤,则引入猝发刺激(burst pacing),基础周长 100 ms,持续 20~30 s。

1.3 统计学方法

计数资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计量资料以率表示;采用 χ^2 检验和随机混合线性效应模型方差分析,并在此基础上采用 SNK 法进行两两分析。采用 Stata10.0 进行统计, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组动物炎症因子及 TnI 的表达

两组动物的各项炎症指标在体外循环开始前均处于较低水平,在体外循环后开始升高,达到峰值后逐渐下降,体外循环结束 48 h 后仍高于基础水平;各指标达峰时间并不一致。其中 IL-10、IL-8 最早达到峰值,CRP 达峰最晚。TnI 于体外循环结束后开始升高,24 h 达到高峰。实验组术后各项指标升高值低于对照组(表 1)。

2.2 两组动物诱导房颤结果

两组房颤诱导率无差别(实验组 vs.对照组 0% vs. 16.7%, $P = 0.296$)。

2.3 两组动物血流动力学结果

两组动物的心率、血压并无明显差异,体外循环后两组 EF 值与心指数均较术前基础值下降,但体外循环停止 24 h 后实验组 EF 值与心脏指数优于对照组(表 2)。

3 讨论

右旋糖酐是一种葡聚糖,它是某些细菌产生的一种胞外多糖,具有强烈的右旋性,故称为右旋糖酐。由于聚合的葡萄糖分子数目不同而产生不同分子量的产品,有高分子右旋糖酐(平均分子量 10 万~20 万)、中分子右旋糖酐(平均分子量 6 万~8

表 1 两组炎症因子及 TnI 的表达

Table 1 Expression of inflammatory factors and TnI in two groups

		T1	T2	T3	T4	T5
IL-6(pg/ml)	实验组	3.31 ± 0.32	57.42 ± 3.42 ^{**}	132.37 ± 7.33 ^{**}	63.62 ± 2.71 ^{**}	28.18 ± 1.47 ^{**}
	对照组	2.93 ± 0.47	48.17 ± 2.34 [#]	147.29 ± 6.82 [#]	79.68 ± 3.52 [#]	35.32 ± 2.73 [#]
IL-8(pg/ml)	实验组	3.98 ± 0.23	42.63 ± 3.84 ^{**}	16.14 ± 1.63 ^{**}	11.32 ± 1.17 ^{**}	6.28 ± 0.75 ^{**}
	对照组	4.21 ± 0.35	63.25 ± 4.55 [#]	27.93 ± 2.86 [#]	14.61 ± 0.93 [#]	8.34 ± 0.73 [#]
IL-10(pg/ml)	实验组	2.12 ± 1.64	58.37 ± 3.56 ^{**}	31.14 ± 1.89 ^{**}	20.46 ± 1.12 ^{**}	9.37 ± 1.57 ^{**}
	对照组	2.53 ± 1.42	236.74 ± 6.82 [#]	69.28 ± 2.97 [#]	43.37 ± 1.53 [#]	21.14 ± 1.46 [#]
TNF-α(pg/ml)	实验组	3.14 ± 0.53	687.41 ± 18.42 ^{**}	839.32 ± 26.71 ^{**}	130.74 ± 12.73 ^{**}	36.32 ± 4.72 ^{**}
	对照组	3.75 ± 0.66	732.82 ± 21.36 [#]	959.37 ± 23.58 [#]	163.45 ± 12.56 [#]	51.63 ± 3.81 [#]
CRP(mg/L)	实验组	3.63 ± 0.42	78.38 ± 4.52 [#]	96.33 ± 5.82 ^{**}	104.36 ± 4.62 ^{**}	167.53 ± 6.48 ^{**}
	对照组	2.82 ± 0.38	83.37 ± 5.73 [#]	115.36 ± 4.16 [#]	138.83 ± 7.27 [#]	182.47 ± 7.34 [#]
TnI(ng/ml)	实验组	0.016 ± 0.004	0.016 ± 0.007	0.537 ± 0.046 ^{**}	0.849 ± 0.084 ^{**}	0.426 ± 0.040 ^{**}
	对照组	0.020 ± 0.003	0.022 ± 0.004	0.682 ± 0.062 [#]	1.214 ± 0.116 [#]	0.632 ± 0.072 [#]

与对照组比较, **P* < 0.05; 与同组 T1 比较, #*P* < 0.001。T1: 体外循环转流前; T2: 体外循环开始 20 min 后; T3: 体外循环结束后 4 h; T4: 体外循环结束后 24 h; T5: 体外循环结束后 48 h。

表 2 两组动物血流动力学指标的比较

Table 2 Comparison of animal hemodynamic index between two groups

		T1	T3	T4	T5
心率(次/min)	实验组	124 ± 11	135 ± 9	133 ± 11	135 ± 10
	对照组	128 ± 9	136 ± 8	137 ± 12	142 ± 13
射血分数(%)	实验组	58.2 ± 2.1	54.3 ± 2.7 [#]	55.7 ± 1.3 ^{**}	56.5 ± 1.9 [*]
	对照组	59.6 ± 1.8	53.8 ± 1.4 ^{##}	53.2 ± 2.0 ^{###}	54.1 ± 1.8 ^{###}
心脏指数[L/(min·kg)]	实验组	0.18 ± 0.01	0.15 ± 0.01 ^{###}	0.16 ± 0.01 ^{**###}	0.16 ± 0.01 ^{**###}
	对照组	0.17 ± 0.01	0.14 ± 0.01 ^{###}	0.13 ± 0.01 ^{###}	0.14 ± 0.01 ^{###}
平均血压(mmHg)	实验组	121.6 ± 22.3	127.4 ± 24.2	124.1 ± 19.5	126.7 ± 20.8
	对照组	118.3 ± 21.8	126.6 ± 21.4	125.2 ± 20.6	131.5 ± 21.4

与对照组比较, **P* < 0.05; 与同组 T1 比较, #*P* < 0.05; ##*P* < 0.01。T1: 体外循环转流前; T3: 体外循环结束后 4 h; T4: 体外循环结束后 24 h; T5: 体外循环结束后 48 h。

万)、低分子右旋糖酐(平均分子量 2 万~4 万)、小分子右旋糖酐(平均分子量 1 万~2 万)。右旋糖酐 40 是低分子右旋糖酐,能改善微循环,预防或消除血管内红细胞聚集和血栓形成等,也有扩充血容量作用,但作用较中分子右旋糖酐短暂;目前临床多用于各种休克所致的微循环障碍、弥漫性血管内凝血、心绞痛、急性心肌梗死及其他周围血管疾病等。作为大分子物质,右旋糖酐可能有过敏、肾衰、出血及干扰血糖、血沉等不良反应,本研究中未见相关不良反应。

Dreyer 等^[2]的研究发现在体外循环后 3~6 h IL-6 的 RNA 表达明显升高,而且通过原位杂交证明 IL-6 mRNA 来源于心肌细胞。Gombocz 等^[1]研究表明体外循环后 IL-8 的表达增加,而中分子右旋糖酐能够抑制 IL-8 的表达,从而缓解体外循环后的炎症反应。糖皮质激素能够促进 IL-10 的表达而造成免疫抑制^[3],而本研究发现 IL-10 的表达与 IL-8 一致,这

表明机体内抗炎反应与促炎反应相平衡,同时也提示右旋糖酐对炎症反应的影响途径与糖皮质激素不同。体外循环后 CRP 的表达较基础水平相比有明显升高;但与对照组相比,静脉滴入右旋糖酐后降低,表明右旋糖酐能够缓解体外循环后的炎症反应。各炎症因子的达峰时间并不一致,提示各炎症因子的产生可能存在相互诱导的机制。TNF 是炎症反应网络中的重要一环,多项研究表明,全身炎症反应综合征(SIRS)时 TNF-α 可以激活凝血和补体系统的共同途径,减少控制凝血系统的血栓调节蛋白在内皮的表达^[4],不断增强的炎症、凝血过程导致大量的炎性细胞和内皮细胞凋亡,同时引起花生四烯酸代谢产物、氧自由基、一氧化氮等二级炎症介质的大量释放,引起多种脏器的功能障碍^[5]。本研究发现体外循环后 TNF-α 的表达受到右旋糖酐的抑制。TnI 在体外循环后明显升高,表明体外循环对心肌细胞具有损伤作用,而静滴低分子右旋糖酐后 TnI 低于对照

组,也表明低分子右旋糖酐对心肌损伤具有保护作用。总体来看,体外循环开始后,各炎性指标即开始升高,由于各指标本身特点的不同,达峰时间并不一致,但直至 48 h 后仍未恢复正常,这也提示体外循环对机体具有不良影响。给予低分子右旋糖酐后,虽各指标与术前正常值相比有增高,但同一时间均较未处理者降低,提示低分子右旋糖酐能缓解体外循环诱发的炎症反应,给机体带来益处。

体外循环后 EF 值及心脏指数明显下降,表明体外循环对心脏功能有损伤作用,但两组动物体外循环后的心率与血压并无差异,能维持循环稳定;这表明体外循环对心肌的损伤作用处于可以接受的范围内。而体外循环 24 h 后实验组的 EF 值及心脏指数逐渐恢复,优于对照组,48 h 后 EF 值已与体外循环前无差别;表明通过低分子右旋糖酐的保护作用,心肌损伤可以得到更快的恢复。Gombocz 等^[1]的研究也发现应用中分子右旋糖酐的患者术后每搏指数、心脏指数及体循环阻力均优于对照组。提示低分子和中分子右旋糖酐均可以有效地保护心功能,有利于患者术后的康复。

多项研究表明炎症反应与房颤之间存在较强的联系。最近的研究更是认为 CRP 水平是房颤发生^[6]及消融后复发^[7-8]的预测指标。通过糖皮质激素抑制炎症反应能够减少房颤的发生,同时 CRP 的水平也明显下降^[9]。CRP 的上游炎症因子 IL-6 和 TNF- α 也与房颤有关^[10],IL-6 更是房颤患者中风及死亡的独立预测因子^[11]。本研究发现在对照组中动物的 IL-6、TNF- α 以及 CRP 水平均高于实验组,尽管两组房颤诱导率没有差异,但对照组动物有 1 例诱导出房颤,而实验组动物没有诱导出房颤,提示炎症反应与房颤之间可能存在关系;而右旋糖酐在缓解炎症反应的同时对房颤的发生也可能有一定的预防作用,需要增加样本量做进一步的研究。

杂种犬系较为高等的哺乳动物,为体外循环模型理想的动物材料,我们通过不断完善实验模型的建立,为以后进一步研究打下实验基础。

[参考文献]

[1] Gombocz K, Beledi A, Alotti N, et al. Influence of dex-

tran-70 on systemic inflammatory response and myocardial ischaemia-reperfusion following cardiac operations [J]. *Crit Care*, 2007, 11(4):R87

- [2] Dreyer WJ, Phillips SC, Lindsey ML, et al. Interleukin 6 induction in the canine myocardium after cardiopulmonary bypass [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2000, 120(2):256-263
- [3] Gal J, Smith A, Riedel B, et al. Preservation and protection of myocardial function [J]. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2000, 3 (Suppl 1):22-36
- [4] Pentylala S, Moller D, Chowdhury A, et al. Effects of inhalational anesthetics on alpha2-adrenergic signaling in isolated platelets [J]. *Toxicol Lett*, 1998, 100-101:115-120
- [5] Hirakata H, Nakamura K, Sai S, et al. Platelet aggregation is impaired during anaesthesia with sevoflurane but not with isoflurane [J]. *Can J Anaesth*, 1997, 44(11):1157-1161
- [6] Schnabel RB, Larson MG, Yamamoto JF, et al. Relations of biomarkers of distinct pathophysiological pathways and atrial fibrillation incidence in the community [J]. *Circulation*, 2010, 121(2):200-207
- [7] Letsas KP, Weber R, Bürkle G, et al. Pre-ablative predictors of atrial fibrillation recurrence following pulmonary vein isolation; the potential role of inflammation [J]. *Europace*, 2009, 11(2):158-163
- [8] Lin YJ, Tsao HM, Chang SL, et al. Prognostic implications of the high-sensitive C-reactive protein in the catheter ablation of atrial fibrillation [J]. *Am J Cardiol*, 2010, 105(4):495-501
- [9] Prasongsukarn K, Abel JG, Jamieson WR, et al. The effects of steroids on the occurrence of postoperative atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting surgery: a prospective randomized trial [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005, 130(1):93-98
- [10] Marcus GM, Smith LM, Ordoval K, et al. Intracardiac and extracardiac markers of inflammation during atrial fibrillation [J]. *Heart Rhythm*, 2010, 7(2):149-154
- [11] Conway DS, Buggins P, Hughes E, et al. Prognostic significance of raised plasma levels of interleukin-6 and C-reactive protein in atrial fibrillation [J]. *Am Heart J*, 2004, 148(3):462-466

[收稿日期] 2012-03-29