

文章编号:1000-5404(2012)05-0445-03

论著

## 异氟烷预处理对婴幼儿体外循环心脏直视手术中 S100 $\beta$ 蛋白和 NSE 浓度的影响

彭明清<sup>1</sup>, 李 远<sup>2</sup>, 龚 放<sup>1</sup>, 吴 春<sup>3</sup>, 杨杰先<sup>3</sup> (402160 重庆, 重庆医科大学附属永川医院: 麻醉科<sup>1</sup>, 中心实验室<sup>2</sup>; 400014 重庆, 重庆医科大学附属儿童医院心胸外科<sup>3</sup>)

**[摘要]** 目的 观察婴幼儿体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)心脏直视手术中异氟烷预处理对脑的保护作用。方法 42例年龄 $\leq 3$ 岁的先天性心脏病患儿分为异氟烷预处理组和对照组两组( $n=21$ ),行快速麻醉诱导插管后,异氟烷预处理组持续吸入1~1.5 MAC异氟烷,对照组不行异氟烷预处理。两组在术前(T1)、CPB开始5 min(T2)、阻断主动脉(T3)、CPB后30 min(T4)、CPB结束时(T5)、CPB结束后6 h(T6)、24 h(T7)分别采取血样,ELISA法检测血清中S100 $\beta$ 蛋白和神经特异性烯醇化酶(NSE)表达变化情况。结果 两组术前S100 $\beta$ 和NSE无统计学差异( $P>0.05$ );异氟烷预处理组S100 $\beta$ 蛋白和NSE从CPB开始到结束后24 h内各时间点与术前相比无显著差异( $P>0.05$ );对照组术前S100蛋白及NSE水平与T4、T5及T6时间点相比有明显差异( $P<0.05$ ),与T7时间点相比统计学意义不显著( $P>0.05$ )。S100 $\beta$ 蛋白在T5时间点达到最大值,NSE在T6时间点达到最大值。对照组在术后T4~T6时间点与异氟烷预处理组相比显著上升( $P<0.05$ )。对照组( $r=0.684$ )和异氟烷预处理组( $r=0.648$ )S100 $\beta$ 蛋白和NSE浓度的变化均呈明显的正相关性( $P<0.05$ )。结论 异氟烷预处理后能够显著降低婴幼儿CPB心脏直视手术中S100 $\beta$ 和NSE的含量。

**[关键词]** 体外循环;异氟烷;S100;NSE;脑保护

**[中图分类号]** R726.542; R971.2; R363.27

**[文献标志码]** A

## Effect of isoflurane pretreatment on serum S100 $\beta$ and NSE in infants during open-heart surgery under cardiopulmonary bypass

Peng Mingqing<sup>1</sup>, Li Yuan<sup>2</sup>, Gong Fang<sup>1</sup>, Wu Chun<sup>3</sup>, Yang Jiexian<sup>3</sup> (<sup>1</sup>Department of Anesthesiology, <sup>2</sup>Central Laboratory, Yongchuan Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 402160, <sup>3</sup>Department of Cardiothoracic Surgery, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400014, China)

**[Abstract]** **Objective** To determine the brain protective effects of isoflurane pretreatment in infants undergoing open-heart operation with cardiopulmonary bypass (CPB). **Methods** A total 42 infants (less than 3 years old) with congenital heart diseases who received surgical treatment in Yongchuan Hospital and Children's Hospital during December 2008 to December 2010 were prospectively and randomly divided into 2 matched groups, isoflurane pretreatment group ( $n=21$ ) and control group ( $n=21$ ). In isoflurane pretreatment group, all infants had been inhaled 1 to 1.5 MAC isoflurane continually for over 60 min after ventilation followed by conventional anesthesia, while control group received conventional anesthesia without pretreatment. Blood samples were taken before (T1) and in 5 min after CPB (T2), immediately after aortic crossclamping (T3), in 30 min after CPB (T4), end of CPB (T4), and in 6 and 24 h after the end of CPB (T6 and T7). Serum levels of S100 $\beta$  protein and neuron-specific enolase (NSE) were measured by ELISA. **Results** There was no significant difference in the serum levels of S100 $\beta$  protein and NSE between the 2 groups before operation. But, for the pretreatment group, their serum levels rose slowly but with no significant difference among all the time points before and after CPB ( $P>0.05$ ). In contrast, in the control group, there was significant differences in the serum levels at T3, T4 and T5 compared with at T1 ( $P<0.05$ ), though no difference was found when compared with T7 ( $P>0.05$ ). Their serum levels of S100 $\beta$  protein and NSE reached the peak at T5 and T7. The levels of S100 and NSE in control group at T4 to T6 were significant higher than those in pretreatment group ( $P<0.05$ ). The level of S100 $\beta$  was positively correlated with that of NSE in both groups ( $r=0.684$  and  $0.648$ ). **Conclusion** Isoflurane pretreatment significantly decreases the serum levels of S100 $\beta$  and NSE during open-heart operation in infants with cardiopulmonary bypass.

**[Key words]** cardiopulmonary bypass; S100; neuron-specific enolase; cerebral protection; isoflurane

Corresponding author: Gong Fang, E-mail: gflinda@163.com

[通信作者] 龚 放, E-mail: gflinda@163.com

体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)是进行小儿先天性心脏病心内直视手术的必备条件之一<sup>[1]</sup>。由于体外循环的非生理环境可引起机体生理性的多种改变,并导致机体重要器官(心、脑和肾等)的损伤<sup>[2]</sup>。目前,有研究认为异氟烷对动物缺血性脑损伤具有保护作用<sup>[3]</sup>,在体外循环下婴幼儿心内直视手术中异氟烷预处理能够减少心肌的缺血再灌注损伤<sup>[4]</sup>。但异氟烷预处理对体外循环下婴幼儿心内直视手术中的脑保护作用临床上尚缺乏足够证据。本研究以42例年龄≤3岁婴幼儿先心病CPB心脏手术为研究对象,以血清S100β蛋白和神经特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)视为脑损伤监测指标,研究吸入麻醉药异氟烷预处理对脑的保护作用,为临床异氟烷预处理应用于CPB脑保护提供临床依据。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

选取2008年12月至2010年12月期间到重庆医科大学附属永川医院及重庆医科大学附属儿童医院医治的先天性心脏病婴幼儿42例,所有病例无中枢神经系统疾病、外伤,无活动性感染、炎症、风湿热、血液系统疾病,无严重肝肾功能不全,术前没有使用激素、免疫抑制剂、抑肽酶等病史。实验在获得医院医学伦理委员会批准及患儿家长书面知情同意后开展。42例先心病婴幼儿患儿分成两组:异氟烷预处理组,21例(男性11例,女性10例),年龄(2.2±0.2)岁,体质量(6.5±0.7)kg,分别为房间隔缺损3例,室间隔缺损10例,法乐氏四联症4例,房室缺3例,完全房室通道1例;对照组,21例(男性11例,女性10例),年龄(2.4±0.3)岁,体质量(6.8±0.8)kg,分别为房间隔缺损2例,室间隔缺损9例,法洛四联症5例,房室缺4例,完全房室通道1例。两组之间性别比例、年龄、体质量及病例构成上无显著差异( $P>0.05$ )。

### 1.2 麻醉及CPB方法

所以患儿术前30 min肌注东莨菪碱0.01~0.02 mg/kg及鲁米那钠3~5 mg/kg。静脉注射咪达唑仑(江苏恩华制药10 mg/2 ml)0.1~0.2 mg/kg,维库溴铵(浙江仙居药业4 mg/支)0.2 mg/kg,芬太尼5~10 μg/kg行快速麻醉诱导插管。插管后连接DATEX OHMEDA S/5(ADU)麻醉机控制呼吸,使用PCV通气模式,压力据年龄调节在10~15 mmHg。异氟烷预处理组插管后持续吸入1~1.5 MAC异氟烷(美国雅培制药100 ml/瓶),吸入时间≥60 min,术中持续注射维库溴铵70~100 μg/kg保持肌肉松弛,间断辅以注射芬太尼10~15 μg/kg保持镇痛和减少应激反应;对照组不行异氟烷预处理,直接以维库溴铵和芬

太尼维持麻醉。CPB采用STOCKERT-SC型滚压泵人工心肺机(德国),机器预充胶体液以同型洗涤红细胞、血浆和白蛋白、琥珀明胶(血定安)注射液为主,晶体液有林格氏液、甘露醇、碳酸氢钠液和适量氯化钙、氯化钾溶液。常规建立CPB后主动脉根部灌注4℃高钾冷晶体心肌保护液,待心脏停搏后行先心病畸形矫正术。流转中应用α-稳态方法进行血气管理和电解质平衡管理。所有患儿在浅低温下完成手术。CPB时间(80.26±25.83)min,主动脉阻断时间为(50.58±20.49)min,预处理组和对对照组CPB及主动脉阻断时间无显著性差异( $P>0.05$ );术中补液量、出血量、输血量、尿量等一般指标预处理组与对照组之间无显著性差异( $P>0.05$ )。

### 1.3 标本采集和指标检测

分别于手术前(T1)、CPB开始5 min(T2)、阻断主动脉(T3)、CPB后30 min(T4)、CPB结束时(T5)、CPB结束6 h(T6)、CPB结束24 h(T7)7个时间点在桡动脉或股动脉采取3 ml血样,4 000~6 000 r/min离心10 min,取上清液置于-80℃低温冰箱保存待测。S100β和NSE用ELISA方法严格按照试剂盒说明书进行操作检测,试剂盒由北京鼎国昌盛生物技术有限公司提供。

### 1.4 统计学处理

采用统计软件SPSS 17.0,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较行t检验。

## 2 结果

### 2.1 两组不同时间点S100β蛋白、NSE变化情况

术前两组患者S100β蛋白及NSE水平差异无统计学意义( $P>0.05$ ),异氟烷预处理组从CPB开始到结束后24 h内各时间点与术前S100β蛋白和NSE相比差异无统计学意义( $P>0.05$ );对照组术前S100β蛋白及NSE水平与T4、T5及T6时间点相比有明显差异( $P<0.05$ ),与T7时间点相比统计学意义不显著( $P>0.05$ )。对照组在术后T4~T6时间点与异氟烷预处理组相比显著上升( $P<0.05$ ),S100β蛋白在T5时间点达到最大值,NSE在T6时间点达到最大值(表1)。

### 2.2 S100β蛋白和NSE的相关性分析

在CPB前后,对照组和实验组血清中S100β蛋白和NSE浓度的变化均有明显的相关性。其中,对照组NSE和S100β蛋白含量呈正相关( $r=0.684, P<0.05$ );异氟烷预处理组NSE和S100β蛋白含量也呈正相关( $r=0.648, P<0.05$ )。

### 2.3 两组术后并发症比较及与S100β蛋白和NSE变化情况

随访3个月,对照组术后3例死亡,其中2例为严重脑水肿、低心排、术后2~3 d死亡,1例手术后持续昏迷,家属放弃治疗死亡。对3例死者进行头颅CT检查,发现2例出现严重

表1 CPB前后各时间S100β和NSE浓度变化情况(μg/L, n=21,  $\bar{x} \pm s$ )

检测指标	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
S100β 预处理组	0.40±0.19	0.44±0.55	0.42±0.28	0.41±0.35 <sup>b</sup>	0.58±0.36 <sup>b</sup>	0.47±0.34 <sup>b</sup>	0.31±0.21
对照组	0.49±0.23	0.41±0.22	0.48±0.22	0.72±0.31 <sup>a</sup>	0.89±0.30 <sup>a</sup>	0.78±0.43 <sup>a</sup>	0.65±0.26
NSE 预处理组	4.68±3.80	3.58±0.93	4.25±0.67	3.23±1.34 <sup>b</sup>	5.68±1.59 <sup>b</sup>	2.23±1.25 <sup>b</sup>	2.28±0.83
对照组	4.65±4.40	2.60±1.59	4.77±3.27	7.11±2.65 <sup>a</sup>	7.68±3.90 <sup>a</sup>	9.44±4.67 <sup>a</sup>	4.16±2.17

a:  $P<0.05$ ,与T1比较; b:  $P<0.05$ ,与对照组比较

脑水肿,1例颅内出血,呈液化性坏死。对3例死亡患儿S100 $\beta$ 蛋白和NSE变化进行分析,发现死亡患儿S100 $\beta$ 蛋白和NSE在CPB中与未出现术后并发症患儿相比均显著升高( $P < 0.05$ ),且术后继续升高无下降趋势;对照组还有2例神经系统损伤,经过3个月治疗康复;异氟烷预处理组出现1例术后肌张力升高,运动功能降低,无脑损伤患儿出现。

### 3 讨论

CPB引起的脑损伤日益引起了人们重视,CPB可导致神经系统并发症,如癫痫、记忆及智力障碍等,尽管多数患者病情较轻,但少数患儿可因为严重脑缺氧缺血致残,甚至死亡<sup>[5]</sup>。本研究对21例患儿进行CPB,出现3例死亡病例,经CT检查发现,3例死亡患儿均出现脑损伤现象,但脑损伤是否是患儿死亡的主要原因还待进一步临床数据证实。因此CPB心脏手术中对脑保护尤其重要。药物预处理和缺血预处理为脑保护研究热点。缺血预处理是在脑缺血之前给予一次短暂缺血,由于该方法是一种伤害性应激过程,临床应用受到限制<sup>[6]</sup>;药物预处理是在缺血预处理基础上发展起来的,通过药物激发或模拟机体自身内源性保护物质而呈现脑保护作用,不损伤器官又能产生预处理效果<sup>[7]</sup>。

S100 $\beta$ 蛋白是神经元胞体膜破坏时释放并能通过受损血脑屏障达到血液,因此血液中的S100 $\beta$ 蛋白可以可靠判断CPB术后的脑损伤时间和程度。Kim等<sup>[8]</sup>认为S100 $\beta$ 蛋白是迄今最能反映脑损伤程度的特异性蛋白,在体外循环、脑卒中、蛛网膜下腔出血或脑外伤等均可导致血清中S100 $\beta$ 蛋白浓度升高,浓度超过0.5  $\mu\text{g/L}$ 时被认为具有病理意义。NSE主要分布于中枢神经元和神经内分泌细胞的细胞质中,占脑内可溶性蛋白1.5%。NSE与S100 $\beta$ 一样,可从受损神经元细胞质释放并进入外周血循环中,研究证实血清NSE升高程度与脑损伤轻重密切相关,因此NSE也是反映CPB手术后脑损伤的早期敏感标志物之一<sup>[9]</sup>。S100 $\beta$ 蛋白和NSE常联合用来早期检测CPB后脑损伤和预后判断<sup>[10-11]</sup>。本研究发现,两组婴幼儿患儿围CPB期间S100 $\beta$ 蛋白和NSE浓度都有升高,说明婴幼儿CPB下心脏直视手术引起了脑损伤;婴幼儿患者S100 $\beta$ 蛋白和NSE浓度的异常升高且术后不下降,可预示不良预后。

药物预处理是通过药物激发或模拟机体自身内源性保护物质而呈现脑保护作用,具有相对安全、方便、易于控制剂量等优点<sup>[12]</sup>。异氟烷可以模拟缺血预处理对脑保护,其保护机制包括<sup>[13]</sup>:①开放ATP敏感性钾通道,从而启动了机体的内源性神经保护机制;②降低CPB中的脑氧代谢率(CMRO),抑制代谢和扩张血管作用,减轻大脑缺血后因代谢产物乳酸堆积造成pH

降低而引起的应激反应;③抑制神经元细胞的死亡(凋亡)的调控亡;④保护性蛋白和调控凋亡相关基因的表达。本研究发现婴幼儿CPB前,采用异氟烷预处理能够降低血液中S100 $\beta$ 蛋白和NSE的表达,其保护机制可能和上述一种或几种有关。

本研究结果显示,在婴幼儿先心病体外循环中S100 $\beta$ 和NSE存在一过性升高,提示CPB中可能有脑损伤存在;但S100 $\beta$ 和NSE多在术后24h内可恢复术至前水平,和大多数患儿术后临床无明显神经系统损伤的表现一致,S100 $\beta$ 和NSE异常升高且术后不下降,将预示不良预后;异氟烷预处理能够显著降低血液中S100 $\beta$ 蛋白和NSE含量,说明对CPB术中能够在一定程度上保护大脑,并减少术后并发症;异氟烷预处理脑保护确切机制还待进一步临床研究。

### 参考文献:

- [1] 提运幸,潘征夏,吴春,等. 婴儿先天性心脏病体外循环术后肾损伤分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2011, 13(5): 385-387.
- [2] 提运幸,潘征夏. 小儿先天性心脏病体外循环术后肾功能损伤的研究进展[J]. 重庆医学, 2011, 40(10): 1028-1031.
- [3] Kapinya K J, Lowl D, Futterer C, et al. Tolerance against ischemic neuronal injury can be induced by volatile anesthetics and is inducible NO synthase dependent[J]. Stroke, 2002, 33(7): 1889-1898.
- [4] 顾春虎,王云雅,陈敏,等. 异氟烷预处理对婴幼儿体外循环后心肌的保护作用[J]. 心脏杂志, 2008, 20(4): 478-481.
- [5] 徐红珍,杨利群,叶茂,等. 5kg以下婴儿先天性心脏病体外循环管理[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(5): 478-480.
- [6] Jensen H A, Loukogeorgakis S, Yannopoulos F, et al. Remote ischemic preconditioning protects the brain against injury after hypothermic circulatory arrest[J]. Circulation, 2011, 123(7): 714-721.
- [7] Dirnagl U, Becker K, Meisel A. Preconditioning and tolerance against cerebral ischaemia: from experimental strategies to clinical use[J]. Lancet Neurol, 2009, 8(4): 398-412.
- [8] Kim J S, Yoon S S, Kim Y H, et al. Serial measurement of interleukin-6, transforming growth factor-beta, and S-100 protein in patients with acute stroke[J]. Stroke, 1996, 27(9): 1553-1557.
- [9] 侯博儒,任海军,高俊玮,等. 亚低温对重型颅脑损伤后血清NSE的影响及其临床意义[J]. 中国临床神经外科杂志, 2009, 14(3): 153-155.
- [10] 周建美,邹定全,常业恬. 体外循环心脏手术病人脑组织炎症性细胞因子与脑损伤的关系[J]. 中华麻醉学杂志, 2005, 25(12): 939-940.
- [11] Lu Z H, Bai X G, Xiong L Z, et al. Effect of electroacupuncture preconditioning on serum S100beta and NSE in patients undergoing craniocerebral tumor resection[J]. Chin J Integr Med, 2010, 16(3): 229-233.
- [12] 刘辉,王迪芬,付江泉. 异丙酚预处理离体大鼠脑皮质细胞对脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 贵阳医学院学报, 2009, 34(2): 133-136, 140.
- [13] 彭明清,夏佐中. 异氟烷预处理与脑保护[J]. 重庆医学, 2007, 36(14): 1436-1438.

(收稿:2011-09-13;修回:2011-12-20)

(编辑 王小寒)