

腺苷预处理对小儿体外循环肺损伤的保护作用

刘 勇 贺春熙

摘 要 目的 探讨腺苷预处理对小儿体外循环肺损伤的保护作用及其机制。**方法** 30 例无肺动脉高压室间隔缺损小儿随机分成腺苷组和对照组。腺苷组在麻醉诱导后经颈内静脉插管泵入腺苷,对照组同法注入等体积生理盐水。采桡动脉血测定围手术期中性粒细胞弹性蛋白酶(NE),丙二醛(MDA),白细胞介素-10(IL-10)水平;停体外循环后 30min 采右上肺组织分别做光镜和透射电镜组织学检查。**结果** 体外循环开始后 NE、MDA、IL-10 值显著升高,腺苷组 NE、MDA 低于对照组,而 IL-10 高于对照组;组织学上腺苷组肺损伤明显轻于对照组。**结论** 腺苷预处理可减轻小儿体外循环肺损伤。

关键词 腺苷 缺血预处理 体外循环 肺损伤

Protective Effect of Adenosine Preconditioning on Lung Ischemia Reperfusion Injury in Pediatric Patients Undergoing Cardiopulmonary Bypass Operation. Liu Yong, He Chunxi. Department of Cardiothoracic Surgery, The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325027, China

Abstract Objective To investigate the protective effect of adenosine preconditioning on ischemic reperfusion (I/R) induced lung injury in pediatric CPB. **Methods** Thirty pediatric patients undergoing remedy operation for VSD under CPB were preoperatively randomized into an adenosine group and a control group. Adenosine was infused into superior vena cava close to right atrium via internal jugular vein cannula by minipump; in the control group, the same amount of NS was infused instead of adenosine. In all patients, blood samples were taken from radial artery the blood to determine the serum concentrations of NE, MDA, and IL-10 at perioperative period. Totally 30 minutes after CPB, right lung biopsy was performed to observe the histological change under light microscope and transmission electron microscope. **Results** After CPB, the levels of NE, MDA in group Adenosine were significantly lower than those of control group; the level of NE IL-10 in group Adenosine were significantly higher than that of control group; Adenosine reduces the amount of histological lung injury. **Conclusion** Adenosine preconditioning can attenuate ischemic - reperfusion lung injury in pediatric patients undergoing cardiopulmonary bypass operation.

Key words Adenosine; Ischemia preconditioning; Lung injury; Cardiopulmonary bypass

缺血预处理(ischemia preconditioning, IPC)被认为是机体最强有力的内源性保护机制,目前普遍认为腺苷是 IPC 效应的重要启动介质。体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)前腺苷预处理通过激活腺苷受体模拟 IPC,对减轻心肌再灌注损伤的作用已经得到广泛肯定,但对 CPB 肺损伤的作用研究较少。本研究经静脉给药将腺苷用于 CPB 心脏直视术患儿,探讨腺苷预处理对临床 CPB 肺损伤的作用及其可能机制。

资料与方法

1. 病例选择和分组:选取笔者医院 2010 年 3~12 月,择期行 CPB 下室间隔缺损修补术 30 例患儿,所有患儿术前无肺动脉高压($P_p/P_s \leq 0.3$)以及其他合并症。随机分为腺苷组和对照组各 15 例,两组在年龄、性别、体重等方面无显著性差异,见表 1。

表 1 两组患儿一般临床资料比较($n=15, \bar{x} \pm s$)

变量	腺苷组	对照组
性别(男性/女性)	10/5	9/6
年龄(岁)	2.63 ± 1.40	2.80 ± 1.01
体重(kg)	12.97 ± 2.36	14.07 ± 3.51
主动脉阻断时间(min)	33.00 ± 12.90	30.00 ± 7.10
体外循环时间(min)	59.70 ± 18.50	50.10 ± 8.20

两组间比较, P 均 > 0.05

2. 手术方法:腺苷组在麻醉诱导后 CPB 前以微泵经颈内静脉插管直接注入上腔静脉,总量 1.5mg/kg,以每分钟 30~50μg/kg 注入,并根据血压调整速度;对照组同法泵入等体积生理盐水。注射结束 5min 后开始转流。浅低 CPB,预充液用复方林格液,并根据术前 HCT 加入适量红细胞、冷冻血浆或 20% 人体白蛋白,以及 10mg/kg 的甲泼尼龙;心肌保护采用 4:1 冷氧合血间断灌注。两组患儿 CPB 时间、升主动脉阻断时间等差异无统计学意义($P > 0.05$),一般临床资料见表 1。

3. 标本采集与检测:分别于麻醉诱导后 CPB 前(T1)、CPB 结束即刻(T2)、CPB 结束后 1h(T3)、CPB 结束后 4h(T4)、CPB 结束后 24h(T5)抽取桡动脉血 6ml,其中 1ml 检测红细胞

作者单位:325027 温州医学院附属第二医院心胸外科

压积,其余 5ml 离心处理分离出血清置于 -70°C 冰箱冷藏。标本复温后集中采用 ELISA 法检测中性粒细胞弹性蛋白酶 (NE),采用硫代巴比妥酸法检测丙二醛 (MDA);采用 ABC-HRP 法 (酶标法) 检测白细胞介素-10 (IL-10)。停 CPB30 分钟后采取右上肺组织做常规光镜和透射电镜组织学检查。对 CPB 血液稀释后数值进行矫正 (矫正值 = 实测值 $\times$ 转流前 HCT 值/实际 HCT 值)。

4. 统计学方法:各数据均以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组间数据比较采用 t 检验,组内比较采用方差分析;计数资料采用 χ^2 检验。所有数据采用 SPSS for windows 11.5 软件包处理,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两组 NE、MDA 及 IL-10 的测定结果:CPB

表 2 两组 NE、MDA 及 IL-10 的比较 ($n = 15, \bar{x} \pm s$)

时相	NE (ng/ml)		MDA ($\mu\text{mol/L}$)		IL-10 (pg/ml)	
	腺苷组	对照组	腺苷组	对照组	腺苷组	对照组
T1	46.0 ± 7.6	45.8 ± 8.7	2.56 ± 0.93	2.71 ± 0.96	7.63 ± 1.62	7.22 ± 1.91
T2	$215.9 \pm 78.9^{##**}$	$284.7 \pm 53.4^{**}$	$4.70 \pm 1.32^{##**}$	$6.37 \pm 1.20^{**}$	$44.87 \pm 11.81^{##**}$	$25.33 \pm 7.14^{**}$
T3	$288.0 \pm 74.6^{##**}$	$397.3 \pm 99.6^{**}$	$5.73 \pm 1.28^{##**}$	$7.55 \pm 1.48^{**}$	$36.73 \pm 8.73^{##**}$	$19.63 \pm 6.25^{**}$
T4	$155.3 \pm 63.2^{##**}$	$239.3 \pm 78.0^{**}$	$3.53 \pm 1.04^{##**}$	$5.46 \pm 1.68^{*}$	$24.40 \pm 5.75^{##**}$	$16.04 \pm 5.50^{**}$
T5	$55.5 \pm 25.1^{##}$	$140.7 \pm 39.2^{**}$	$2.43 \pm 0.80^{#}$	$3.09 \pm 1.60^{*}$	$16.30 \pm 6.63^{##**}$	$11.10 \pm 3.17^{**}$

与 CPB 前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 组间比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

2. 两组肺组织标本光镜及电镜下检查结果:对照组光镜下部分肺泡结构受到破坏并萎缩,肺泡腔及间质内大量 PMN 及红细胞聚集,肺泡内液体渗出 (图 1);电镜下肺泡 II 型细胞部分破坏,线粒体轻度肿胀空泡化,微绒毛减少,板层小体减少 (图 2)。腺苷组光镜下肺泡结构基本正常,炎性细胞少 (图 3);电镜下肺泡 II 型细胞形态良好,细胞内线粒体无明显肿胀,微绒毛丰富,板层小体丰富 (图 4)。

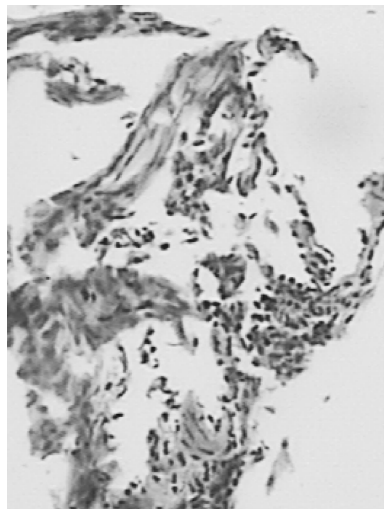


图 1 HE 染色光镜对照组 CPB 后肺组织学 ($\times 100$)
肺泡壁连接中断,肺泡腔内 PMN 聚集

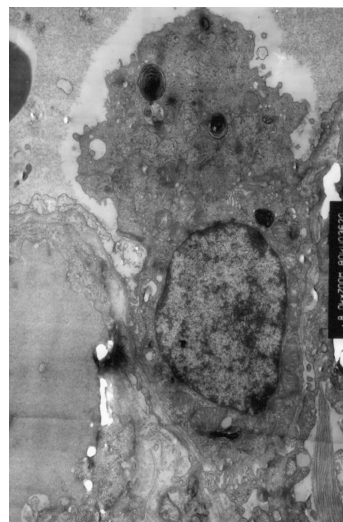


图 2 透射电镜下腺苷组 CPB 后肺组织学变化 ($\times 8000$)
毛细血管壁增厚, I 型肺泡细胞破坏,微绒毛减少,板层小体减少

讨 论

腺苷/腺苷受体途径的激活是机体 IPC 保护作用的重要机制之一,使用腺苷及其类似物在许多动物模型上已模拟成功了 IPC 效应。近几年来,对肺 I/R 动物模型的研究表明,缺血前预处理不同亚型腺苷受体的选择性受体激动剂激活相应腺苷受体均可减轻肺再灌注损伤,而且该效应可分别被各自的选择性受体

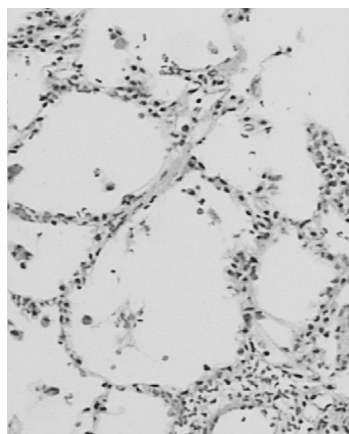


图 3 HE 染色光镜腺苷组 CPB 后肺组织学变化 ($\times 100$)
肺泡腔及间质内炎症细胞少、红细胞少

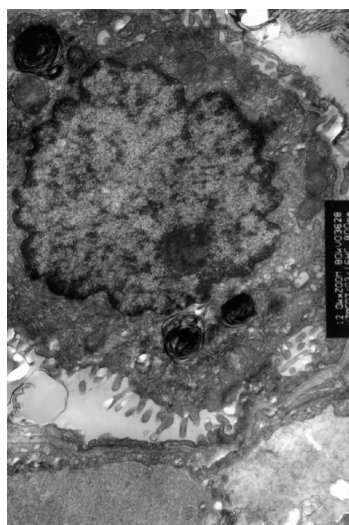


图 4 透射电镜下腺苷组 CPB 后肺组织学变化
II 型上皮细胞略增生,肺泡隔略增厚,
线粒体无水肿,微绒毛和板层小体丰富 ($\times 12000$)

拮抗剂所阻断^[1-5]。这些研究表明腺苷受体的激活直接参与了肺 IPC 的触发阶段。本研究表明 CPB 激发了体内的应激和炎症反应导致炎症因子增加的同时促进了抗炎因子 IL-10 产生和释放,而腺苷预处理促进了 CPB 开始后 IL-10 浓度升高,下调 NE 及 MDA 的产生,肯定了腺苷通过抑制炎症反应、减少炎症介质对肺组织的直接或间接损害,最终从形态学上减轻 CPB 肺组织学损伤程度。

根据本研究结果及相关文献报道,其机制可能表现为以下几方面:①强化 IPC 作用减轻再灌注损伤: A1 受体拮抗剂 DPCPX 可阻断 IPC 和腺苷预处理对再灌注肺的保护效应,可能与 A1 激活减轻钙超载及氧自由基释放等机制有关^[2];②抑制 PMN 介导的炎症反应: Gazoni 等^[5]证实兔肺缺血后利用腺苷或选

择性 A1、A2a 和 A3 受体激动剂均可显著减少肺组织 PMN 扣押,下调支气管灌洗液促炎症反应细胞活素、TNF- α 含量,并减轻肺水肿、降低肺动脉压,从而改善肺顺应性及肺功能;Lisle 等^[6]则在大鼠体外循环模型研究发现,预充液中加入腺苷 A2 受体激动剂 ATL313 可显著降低支气管肺泡灌洗液中 IL-1、IL-6 和 IFN- γ ,并降低肺组织 IL-6、TNF- α 和 IFN- γ ;③减少氧自由基、蛋白水解酶等毒性产物的释放:激活 A₂ 受体使白细胞产生的超氧阴离子减少而对氧自由基产生明显抑制作用^[7];④促进炎症物质的吸收:Eckle 等^[8]发现激活 A2b 受体可强化肺泡细胞内胞 cAMP 及激活 β 肾上腺素能受体,从而提高肺损伤后肺泡液体清除率 (alveolar fluid clearance, AFC),促进肺内渗出液的吸收;⑤抑制细胞凋亡:腺苷可抑制再灌注肺血管内皮细胞凋亡而减轻肺损伤,Rivo^[4]证实该机制与 A3 受体激活有关,并可被选择性 A3 受体拮抗剂 MRS-1191 所阻断。

进一步研究并阐明 IPC 效应腺苷受体激活途径对肺 I/R 损伤的保护作用及其可能机制,可为临床实践提供理论依据。

参考文献

- Hasko G, Xu DZ, Lu Q. Adenosine A2A receptor activation reduces lung injury in trauma/hemorrhagic shock [J]. Crit Care Med, 2006, 34 (4): 1119-1125
- Yildiz G, Demiryurek AT, Gumusel B. Ischemic preconditioning modulates ischemia-reperfusion injury in the rat lung: Role of adenosine receptors [J]. Eur J Pharmacol, 2007, 556 (1-3): 144-150
- Ashish K Sharma, Joel Linden, et al. Protection from pulmonary ischemia-reperfusion injury by adenosine A2A receptor activation [J]. Respiratory Research, 2009, 10: 58
- Rivo J, Zeira E, Galun E, Matot I. Activation of A3 adenosine receptor provides lung protection against ischemia-reperfusion injury associated with reduction in apoptosis [J]. Am J Transplant, 2004, 4 (12): 1941-1948
- Gazoni LM, Walters DM, et al. Activation of A1, A2A, or A3 adenosine receptors attenuates lung ischemia-reperfusion injury [J]. Thorac Cardiovasc Surg, 2010, 140 (2): 440-446
- Lisle TC, Gazoni LM, Fernandez LGJ, et al. Thorac Cardiovasc Surg [J]. 2008, 136 (5): 1280-1287. discussion 1287-1288. Epub 2008 Aug 30
- Hill M, Takano H, Tang XL, et al. Nitroglycerin induces late preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits despite development of nitrate tolerance [J]. Circulation, 2001, 104 (6): 694-699
- Eckle T, Grenz A, et al. A2B adenosine receptor signaling attenuates acute lung injury by enhancing alveolar fluid clearance in mice [J]. J Clin Invest, 2008, 118 (10): 3301-3315

(收稿: 2011-08-13)

(修回: 2011-09-14)