

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

計畫編號：NSC 88-2314-B-002-308

執行期限：87年8月1日至88年10月31日

主持人：王明鉅 執行機構：台大醫學院麻醉學科

一、中文計畫摘要：

在開心手術體外循環中，由於補體、白血球以及血小板的激活，常會造成手術後全身發炎反應。同時可能伴隨有細胞素的產生以及內皮細胞甚至組織與重要器官的傷害。而在先天性心臟病手術後，由於兒童病人各器官系統仍未完全成熟，也可能產生手術後的微血管滲透與組織與器官水腫。如何減少這些在開心手術後所可能產生的併發症，是臨床上之重要課題。兒童先天性心臟病手術後內皮細胞傷害的研究，文獻上並未多加探討。本研究除試圖釐清在小兒開心手術中內皮細胞傷害是否產生以及肺動脈血流量的多寡對於此傷害的可能影響之外，本研究也將評估改良式血液濾清術是否可能減少體外循環中內皮細胞的傷害，並研究此一治療方式對於體外循環之後細胞素與白血球及血小板激活，以及器官傷害的影響。本研究之目的為1)研究先天性心臟病開心手術前後之內皮細胞傷害。2)探討內皮細胞傷害程度與細胞素的產生與釋出以及肺動脈高血壓的可能效果。

本研究以60位五歲以下罹患先天性心臟病之兒童病人進行研究。並為避免先天性心臟病複雜程度不一狀況，將只選取心室中隔缺損及法絡氏四合症等兩種先天性心臟病病人，並依改良式血液濾清術之是否使用分成兩組。並將於手術前後的數個時間點抽血，血液檢體則將測定血中之von Willebrand因子、soluble E-selectin等內皮細胞傷害指標。並收

集各項臨床數據，以分析探討肺動脈血流狀態及改良式血液濾清術對於先天性心臟病開心手術後內皮細胞傷害之影響。本研究之成果將有助於了解在先天性心臟病手術中，內皮細胞傷害產生的機制、可能的影響因素並有助於發展適合的及時治療方式。

關鍵詞：先天性心臟病，體外循環，肺動脈壓，改良式血液濾清術

Abstract

Systemic inflammatory syndrome was one of the major complications after cardiopulmonary bypass. The complement system was activated with production of inflammatory cytokines, which in combination with neutrophils and platelets may produce organ injuries after cardiopulmonary bypass. It was suggested that there was endothelial injuries, revealed by increased von Willebrand factors level, after cardiopulmonary bypass. However, these studies were largely performed in the adult cardiac surgical patient, in whom the confounding factors for evaluation of the extent of endothelial injuries existed. The current project aimed to study the extent and mechanisms of endothelial injury after cardiopulmonary bypass in pediatric patients underwent corrective surgery for congenital cardiac

defects and to evaluate the possible beneficial effect of modified ultrafiltration in reducing the severity of these injuries.

Sixty patients with ventricular septal defect and tetralogy of Fallot were enrolled in this study. The plasma level of von Willebrand factor, soluble E-selectin, nitrite/nitrate total concentration, leukocyte elastase and soluble P-selectin and soluble L-selectin and metabolite of complement activation were determined from blood samples obtained at several time points during operation. The correlation between the endothelial injury and the operative variables and the laboratory findings was analyzed to study the possible mechanisms of the endothelial injury. The significance of preoperative cyanosis, state of pulmonary blood flow, pulmonary hypertension studied by multiple regression to find out their roles in the development of postoperative endothelial injury and organ damage.

Keywords: pediatric cardiac operations, pulmonary blood flow, modified ultrafiltration

計畫簡介 (Introduction)

在開心手術中，由於血液與體外循環管路與氧合器的接觸，會造成白血球的活化與血小板的活化[1-4]，同時也會產生所謂的全身發炎反應 (Systemic inflammatory syndrome) [5]而造成血中發炎介質活化與濃度增加。例如補體的活化[6-9]以及細胞素的濃度大量增加[10-14]。除了這些發炎反應之外，在體外循環之後內皮細

胞也可能受到或多或少的傷害，在以 von Willebrand 因子作為內皮細胞傷害指標的研究即發現，在體外循環之後 von Willebrand 因子的濃度會升高 [15-17]，在以先天性心臟病幼兒的相關研究也發現在開心手術後，血漿中的 von Willebrand 因子濃度會增加 [16]。雖然這些研究已經指出在開心手術與體外循環中，內皮細胞可能受到傷害，但是對於造成內皮細胞傷害的可能機轉，在這些研究中卻並無深入研究。

同時如果考慮到這些研究多數是在成人的開心手術中進行，而目前已經知道這些研究所提出的內皮細胞傷害指標的 von Willebrand 因子，可能會受到包括肥胖、吸煙、糖尿病等許多因素的影響[18-21]。而且在治療小兒先天性心臟病的開心手術中，病人的肺動脈血流量或者過少(例如法絡氏四合症)，或者過多(例如大的心室中隔缺損)，對於血管內皮細胞傷害是否產生影響，也仍然是疑問。因此上述數據是否可以完全適用於幼兒，實在不無疑問。同時在先天性心臟病手術中，由於病人體重輕，各器官系統的發展未臻成熟，因此在手術之後常會產生在較嚴重的微血管滲透與組織水腫等問題[22, 23]，除了內皮細胞所釋出的 von Willebrand 因子之外，近年來血漿中的 E-selectin 也被認為是內皮細胞所產生的內皮細胞特異的物質 [24]，同時細胞素(cytokine)在血管傷害中所扮演的角色也逐漸為人所重視，研究指出在以細胞素刺激的培養內皮細胞的表面上會有與白血球產生交互作用的接合分子(adhesion molecules)的產生[25]，這代表細胞素與內皮細胞之間的關係，可能造成內皮細胞容易與激活的白血球與血小板產生交互作用，而造成內皮細胞以及組織甚至器官的傷害，而某些細胞素(例如腫瘤壞死因子- α 以及介白質-1 β)本身就正被認為與開心手術後以及敗

血症中的器官傷害密切相關[13, 26-28]。

本研究除了試圖釐清在小兒開心手術中內皮細胞傷害是否產生以及肺動脈血流量的多寡對於此傷害的可能影響之外，本研究也將評估改良式血液濾清術是否可能減少體外循環中內皮細胞的傷害，並研究此一治療方式對於體外循環之後細胞素與白血球及血小板激活，以及器官傷害的影響。本研究之目的為1)研究先天性心臟病開心手術前後之內皮細胞傷害。2)探討內皮細胞傷害程度與細胞素的產生與釋出以及肺動脈高血壓的可能效果。

材料及方法(Subjects and Methods)

一)病人:

本研究將以三歲以下，預定將接受先天性心臟病完全矯正手術(total correction) 兒童與嬰兒為研究對象。預定將研究的病人人數為 60 位，並為減少各種複雜先天性心臟病的對於研究結果之可能影響，將只選取診斷為心室中隔缺損(ventricular septal defect)與法絡式四合症(tetralogy of Fallot)為研究對象。紀錄所有病人的手術前心導管與血行動力學資料，包括是否有發紺、手術前的血紅素、是否有肺動脈高壓等。同時在 60 位病人中依照隨機方式分成使用改良式血液濾清術與未使用改良式血液濾清術兩組病人，以比較使用改良式血液濾清術之治療效果。

二)開心手術麻醉與體外循環:

所有的病人均以 ketamine 2 mg/kg 進行麻醉誘導，並以 pancuronium 0.15 mg/kg 及 fentanyl 50 µg/kg 維持麻醉深度。每位病人均於橈動脈置入導管測量

動脈血壓，並於右內頸靜脈置入中心靜脈導管。麻醉後所有的病人均將進行正常之低溫體外循環(hypothermic cardiopulmonary bypass)，體外循環中所使用之排氣溶液成分均相同，依照病人的體重計算，如病人在體外循環開始之後血比容會下降至 18%以下時，將在體外循環管路中將加入 0.5 至 1 單位的紅血球濃厚液。病人全部將使用膜式氧合器(membrane oxygenator)，並均將使用肝素(heparin) 300 IU/kg 進行抗凝血作用。心臟停搏液(cardioplegic solution)之使用方式則將利用前灌流式(antegrade cardioplegia)之低溫含血心臟停搏液。

三)實驗方法:

所有的病人均將於手術前後的下列時間點抽血 5ml:

1)麻醉後尚未劃刀前。 2)體外循環結束後。 3)手術後 12 小時。 4)手術後 36 小時。 5)手術後 48 小時。抽血後將血液於三十分鐘離心，並將血漿分離後保存於-80 冰箱中，於二個月內進行各項實驗物質之定量。

體外循環前後之內皮細胞傷害程度與內皮細胞功能變化評估:

內皮細胞傷害程度將以測定動脈血中內皮細胞特異如 von Willebrand 因子以及 soluble E-selectin 來評估。測定之方法均將利用已有商業生產之 ELISA(Quantakine, R&D System, USA) 方法進行測定。von Willebrand 因子以及 soluble E-selectin 兩種物質均為內皮細胞所產生之具有內皮細胞特異性之物質[24]。

臨床上器官傷害之評估:

肺與呼吸功能:病人離開體外循環時的動脈氣體分析以及手術後之 lactate 值，因為 lactate 值在幾項研究中，都顯示與病人預後有密切相關[29]。並計算肺泡-動脈血氧氣分壓差

(Alveolar-arterial difference)以及需要插管的時間、在加護病房中之胸部併發症。心臟功能:每天的平均動脈血壓，中心靜脈壓以及是否使用高劑量強心藥物，並記錄病人是否死亡

二位因手術後因各項原因進行時間過長之體外循環或體外維生器(ECMO)因此由實驗中移出。五十七位病人中有十九位病人進行極低溫循環休止，有三十八位病人進行適度低溫體外循環如Table 1。兩組病人手術前後血中 von Willebrand factor及soluble E selectin濃度數據請見Table 2及Table 3。

結果(Results)

本研究收集之六十位病人中，有

Table 1

	Patients with high PA flow	Patients with low PA flow
Number of patients	36	22
Diagnosis		
VSD repair	20	
ToF repair		12
Arterial switch	8	
Total caval pulmonary connection		10
TAPVR repair	8	

Table 2

Alterations of soluble E selectin in pediatric cardiac operations

	Moderate hypothermic CPB		Deep hypothermic circulatory arrest	
	Mean	Std. Deviation	Mean	Std. Deviation
Preoperative (ng/ml)	87.46774	45.16600	72.68789	59.94386
End of Op (ng/ml)	40.85909	26.68365	39.61874	38.33102
Postop day 1 (ng/ml)	68.33351	36.45305	65.09099	32.94583
Postop day 2 (ng/ml)	58.92618	39.65715	55.84219	23.09974

Table 2

Alterations of von Willebrand factor level in pediatric cardiac operations

	Patients with high PA flow		Patients with low PA flow	
	Mean	Std. Deviation	Mean	Std. Deviation
Preoperative (mU/ml)	488.02851	358.60990	410.66810	191.01937
End of Op (mU/ml)	386.85819	258.35433	399.22316	194.27844
Postop day 1 (mU/ml)	484.96865	416.14628	383.73587	209.48706
Postop day 2 (mU/ml)	519.58027	515.77263	366.52380	280.86396

比較兩組病人，手術前後之數據顯示不論是否進行deep hypothermic circulatory arrest，在兩組病人間von Willebrand factor或是soluble E selectin濃度均無明顯差別。

討論(Discussion)

本研究結果顯示在先天性心臟病

開心手術中，低溫體外循環的使用，並沒有明顯增加手術後血管內皮細胞

傷害。血管內皮細胞的傷害評估，雖然有各種方式，但利用von Willebrand

factor作為血管內皮細胞傷害指標，是最常為學者使用的方法。本研究結果顯示此在小兒開心手術中，溫體外循環在肺動脈血流增加或是減少的兩組病人中，沒有明顯增加手術後血管內皮細胞傷害。至於此兩組病人手術後的預後比較，由於在先天性心臟病中影響預後之因素包括手術之複雜性等，因此雖然在肺動脈血流減少這一組病人之預後較差，但不能因此說明內皮細胞傷害與預後之間之關聯。雖然在小兒病人中沒有明顯差異，但在成人開心手術中是否也有類似的狀況則有待進一步之研究。

五、參考文獻(References)

1. Butler J, Parker D, Pillai R, Westaby S, Shale DJ, Rocker GM. Effect of cardiopulmonary bypass on systemic release of neutrophil elastase and tumor necrosis factor. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 105:25-30.
2. el Habbal MH, Carter H, Smith LJ, Elliott MJ, Strobel S. Neutrophil activation in paediatric extracorporeal circuits: effect of circulation and temperature variation. *Cardiovasc Res* 1995; 29:102-7.
3. Faymonville Me, Pincemail J, Duchateau J, et al. Myeloperoxidase and elastase as markers of leukocyte activation during cardiopulmonary bypass in humans. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102:309-17.
4. Finn A, Naik S, Klein N, Levinsky Rj, Strobel S, Elliott M. Interleukin-8 release and neutrophil degranulation after pediatric cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 105:234-41.
5. Butler J, Rocker GM, Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993; 55:552-9.
6. Aslan R, Tunerir B, Dernek S, et al. The factors effecting complement activation in open heart surgery. *Journal of Cardiovascular Surgery* 1992; 33:754-60.
7. Saatvedt K, Lindberg H, Geiran Or, et al. Complement activation and release of tumour necrosis factor alpha, interleukin-2, interleukin-6 and soluble tumour necrosis factor and interleukin-2 receptors during and after cardiopulmonary bypass in children. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 1995; 55:79-86.
8. Steinberg Jb, Kapelanski Dp, Olson Jd, Weiler Jm. Cytokine and complement levels in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106:1008-16.
9. Gillinov AM, Redmond JM, Winkelstein JA, et al. Complement and neutrophil activation during cardiopulmonary bypass: a study in the complement-deficient dog. *Ann Thorac Surg* 1994; 57:345-52.
10. Butler J, Chong GI, Baigrie Rj, Pillai R, Westaby S, Rocker Gm. Cytokine responses to cardiopulmonary bypass with membrane and bubble oxygenation. *Ann Thorac Surg* 1992; 53:833-8.
11. Kawamura T, Wakusawa R, Okada K, Inada S. Elevation of cytokines during open heart surgery with cardiopulmonary bypass: participation of interleukin 8 and 6 in reperfusion injury [see comments]. *Can J Anaesth* 1993; 40:1016-21.
12. Millar AB, Armstrong L, van der Linden J, et al. Cytokine production and hemofiltration in children undergoing cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993; 56:1499-502.
13. Frering B, Philip I, Dehoux M, Rolland C, Langlois Jm, Desmonts Jm. Circulating cytokines in patients undergoing normothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108:636-41.
14. Journois D, Pouard P, Greeley Wj, Mauriat P, Vouhe P, Safran D. Hemofiltration during cardiopulmonary bypass in pediatric cardiac surgery. Effects on hemostasis, cytokines, and complement components. *Anesthesiology* 1994; 81:1181-9.
15. Holdright DR, Hunt BJ, Parratt R, et al. The effects of cardiopulmonary bypass on systemic and coronary levels of von Willebrand factor. *Eur J Cardiothorac Surg* 1995; 9:18-21.
16. Turner-Gomes SO, Andrew M, Coles J, Trusler GA, Williams WG, Rabinovitch M. Abnormalities in von Willebrand factor and antithrombin III after cardiopulmonary bypass operations for congenital heart disease. *J Thorac*

- Cardiovasc Surg 1992; 103:87-97.
17. Weistein M, Ware JA, Troll J, Salzman E. Changes in von Willebrand factor during cardiac surgery: effect of desmopressin acetate. *Blood* 1988; 71:1648-55.
 18. Blann AD, Naqvi T, Waite MA, CN M. Von Willebrand factor and endothelial cell damage in essential hypertension. *J Human Hypertension* 1993; 7:107-11.
 19. Blann AD, Bushell D, Davies A, Faragher EB, Miller JP, CN M. Von Willebrand factor, the endothelium and obesity. *Internat J Obesity* 1993; 17:723-5.
 20. Blann AD, McCollum CN. Von Willebrand factor, endothelial cell damage and atherosclerosis. *Eur J Vasc Surg* 1994; 8:10-5.
 21. Nilsson TK, Boman K, Bjerle P, Hallmans G, Hellsten G. von Willebrand factor and fibrinolytic variables are differently affected in the insulin resistance syndrome. *Journal of Internal Medicine* 1994; 235:419-23.
 22. Naik SK, Knight A, Elliott M. A prospective randomized study of a modified technique of ultrafiltration during pediatric open-heart surgery. *Circulation* 1991; 84:III422-31.
 23. Elliott MJ. Ultrafiltration and modified ultrafiltration in pediatric open heart operations. *Ann Thorac Surg* 1993; 56:1518-22.
 24. Blann AD, Taberner DA. A reliable marker of endothelial cell dysfunction: does it exist?. [Review]. *Br J Haematol* 1995; 90:244-8.
 25. Pigott R, Dillon LP, Hemingway IH, AJH G. Soluble forms of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 are present in the supernatant of cytokine-activated endothelial cells. *Biochem Biophys Res Comm* 1992; 187:584-9.
 26. Casey LC. Role of cytokines in the pathogenesis of cardiopulmonary-induced multisystem organ failure. *Ann Thorac Surg* 1993; 56.
 27. Cotran RS, Pober JS. Cytokine-endothelial interaction in inflammation, immunity and vascular injury. *J Am Soc Nephrol* 1990; 1:225-35.
 28. Marti F, Munoz J, Peiro M, et al. Higher cytotoxic activity and increased levels of IL-1 beta, IL-6, and TNF-alpha in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Am J Hematol* 1995; 49:237-9
 29. Duke T, Butt W, South M, et al. Early markers of major adverse events in children after cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997;114:1042-1052