

※※※

※

※ 開心手術體外循環後內皮細胞傷害：危險因臨床評估及治療方式 ※

※

※※※

計畫參與人員：

☐赴國外出差或研習心得報告一份

☐赴大陸地區出差或研習心得報告一份

☐出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份

☐國際合作研究計畫國外研究報告書一份

中 華 民 國 91 年 10 月 30 日

行政院國家科學委員會多年期專題研究計畫執行進度報告

計畫名稱：

開心手術體外循環後內皮細胞傷害：危險因臨床評估及治療方式

計畫編號：NSC 13-2314-B-002-435

執行期限：13年8月1日至14年7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：

開心手術中由於體外循環的使用，造成白血球與血小板激活、補體活化、氧自由基產生等全身性發炎反應，並因而造成血管內皮細胞傷害。血管內皮細胞最重要功能之一，為氧化氮的產生與內皮細胞依賴性血管擴張反應。影響血管內皮細胞功能的各項因素，包括吸煙、糖尿病、高血壓、高血脂症等。但這些因子對於內皮細胞功能中，內皮細胞依賴性血管擴張反應之影響則直至新的非侵犯性檢查方式發明後，始為人了解。但這些因素對於開心手術體外循環過程中，內皮細胞傷害及器官功能與預後之影響則未有詳細研究，亦缺乏針對此一開心手術後併發症之可能治療方式進行研究。本年度計劃利用高解析度超音波，以Celermajer等人所利用之非侵襲性診斷模式，探討以控制體外循環中血糖之方式，對於保存開心手術後內皮細胞的重要血管擴張功能之效果。

關鍵詞：開心手術，體外循環，內皮細胞傷害，Reactive hyperemia

二、Abstract

During cardiopulmonary bypass, systemic inflammatory response which

manifested as activation of complement system, generation of cytokines and free oxygenation radicals activated the leukocytes and vascular endothelial cells. Interaction between activated neutrophils and vascular endothelial cells cause vascular endothelial injury after cardiac operations with cardiopulmonary bypass. Endothelium dependent vasodilatation is one of the most important function of vascular endothelium. Pathophysiological factors which may cause endothelial dysfunction include smoking, diabetes mellitus, hyperlipidemia and hypertension. However, it is not easy to assess the effect of these factors on the endothelial function until the application of a novel non-invasive method to examine the endothelium dependent vasodilatation in vivo. In addition, the importance of these factors for the development of endothelial injury after cardiopulmonary bypass and their effects for the clinical outcomes were not known. This project was designed to investigate risk factors, the clinical diagnostic methods and possible therapeutic trials for the endothelial injury after cardiopulmonary bypass.

The current project was to study the effect of the use of antioxidant and strict control of hyperglycemic response during cardiopulmonary bypass in reducing endothelial injury and improve

endothelial dysfunction after cardiopulmonary bypass. Through this project, we can elucidate the risk factors of endothelial injury, we can have some diagnostic tool and we can have some way to treat the endothelial dysfunction after cardiopulmonary bypass.

計畫簡介 (Introduction)

改善開心手術中內皮細胞傷害的可能方法探討

臨床上許多學者也試圖針對造成內皮細胞傷害的機制，研究改善改善體外循環後內皮細胞傷害的可能方法。

Zund 等人使用水楊酸(salicylate)處理人類臍帶內皮細胞，發現可以抑制內皮細胞上 ICAM-1 的表現¹。

Yamada 等人發現開心手術，使用表面肝素處理氧合器(heparin-coated oxygenator)病人的內皮細胞傷害較普通氧合器病人輕微。血中 E-selectin 濃度也與血中 TNF 與 elastase 的濃度變化相關²。Tsang 等人則發現在開心手術病人中，如於手術前一週使用 pentoxifylline(為一種 methyl xanthine 衍生物)，可以減少體外循環之後血中 von Willebrand 因子以及內皮細胞通透性增加等狀況³。

Takaori 等人指出 aprotinin 有保護內皮細胞的效果⁴。

由於在體外循環中血糖昇高的狀況極為常見^{5, 6}，而且也有研究指出高血糖狀態，會促進白血球與內皮細胞間的交互作用，而可能增加內皮細胞的傷害⁷。因此在開心手術體外循環狀態中的高血糖，是否會造成內皮細胞傷害惡化？O'Dwyer 等人在動物實驗中發現，在體外循環之後，由動物股動脈取下的血管環，進行離體試驗時，不論是體外循環中維持高血糖，或是正常血糖的動物中，血管內皮細胞功能的變化相似。O'Dwyer 等人因而認為低溫體外循環中的高血糖現象對於內皮細胞

胞功能影響不大⁶。但是 Willams 等人則發現，在以健康人前臂血流對 methacholine 的反應試驗中，健康人出現暫時性的高血糖狀況時，會明顯抑制內皮細胞依賴性的血管擴張功能。

抗氧化維生素在許多研究中，被認為具有減少冠狀動脈心臟病發作的作用^{8, 9}，並可能與減少了破壞氧化氮(nitric oxide)產生及作用的氧化性壓力(oxidative stress)有關^{10, 11}，尤其是過氧根離子(superoxide anion)更被認為是與內皮細胞所釋出的氧化氮的破壞有重要關聯¹²。維生素 C 是人體血漿中主要的抗氧化維生素¹³，在人體中，維生素 C 對於維持細胞中氧化還原狀態的穩定有重要作用¹⁴，在氧化壓力增加的情況下，維生素 C 可以使細胞中的重要的還原物質 glutathione 不會被氧化，並因而增加氧化氮的產生^{15, 14}。

Levine 等人在對於維生素 C 對於改善內皮細胞功能異常的研究中發現，維生素 C 在口服後兩小時，血漿中濃度即可達到高原期，同時並可維持在此一較高濃度達 5 小時¹⁷。同時利用上述非侵入性超音波方法，來測量冠狀動脈心臟病病人中，肱動脈血流的反應性充血(reactive hyperemia)變化時，他們也發現，服用 2 克維生素 C 可以明顯地改善這些病人的內皮細胞性血管功能異常(endothelial vasomotor dysfunction)，而在探討其機轉時，Levine 等人認為最可能是與維生素 C 增加了內皮細胞氧化氮的釋放或加強了氧化氮的血管擴張作用有關¹⁷。在糖尿病病人中，維生素 C 也具有同樣的作用。Lehr 等學者發現維生素 C 和 superoxide dismutase 一樣，具有減少白血球在內皮細胞上的黏合(adhesion)效果¹⁸。Gilligan 等人發現，使用口服維生素 C、維生素 E 以及 beta carotene 等三種抗氧化劑治療一個月之後，雖然確實減少了低密度脂蛋白

的氧化現象，但是對於功能異常的內皮細胞性血管擴張功能，並沒有增加效果¹⁹。Anderson 等人的研究中也顯示，使用降膽固醇與抗氧化藥物，可以改善冠狀動脈的內皮細胞依賴性的血管擴張作用²⁰。由於上述這些研究的結果顯示，維生素 C 的抗氧化作用，藉由減少過氧根離子或其他氧自由基濃度的作用，可能具有減輕血管內皮細胞在體外循環後的傷害以及改善血管內皮細胞功能的作用。造成開心手術中內皮細胞傷害的另一可能原因是氧自由基的傷害。在開心手術中心臟缺血與再灌流過程中，不但有氧自由基的產生^{21, 22}，而且體內的抗氧化系統並不足以完全去除在體外循環中所產生的自由基²³。Sellke 等人發現在開心手術體外循環之後，所產生的冠狀動脈內皮細胞傷害很可能與氫氧基或過氧基等氧自由基的產生有關²⁴。由以上的研究顯示，在體外循環的過程中，會有顯著氧自由基的產生，而體內雖然已有抗氧化系統的運作²²，但是仍然會因為這些氧自由基的產生而造成心臟、肺臟、血液等器官的傷害²⁵。因此 Dingchao 等在研究維生素 C 的心臟保護作用時發現，在體外循環開始前，以及心臟缺血結束前使用大劑量的維生素 C 時，對於心肌有保護作用²⁶。Ballmer 等人在研究體外循環對於血中維生素 C、維生素 E 以及 carotenoid 等三種體內主要的抗氧化維生素濃度時發現，只有血中的維生素 C 濃度在體外循環之後會大幅降低(減少 70%)，而且持續至手術後二週仍然不足²⁵。相似地，Pyles 等人發現在體外循環之後，血漿中的抗氧化作用大幅減弱，而且與年齡及體外循環時間呈正相關²⁷。

本計劃中，則將探討利用嚴格控制開心手術中血糖及使用維生素 C 之方式，對於減少開心手術體外循環後內皮細胞傷害的治療方法的臨床成效，並以計劃前兩年所發展出來

的評估方式，來評估這兩種治療方法對於減少內皮細胞傷害之效果。

材料及方法(Subjects and Methods)

病人

本研究，以三十位將進行開心手術的病人為研究對象。在分組中並儘量將病人病史中可能造成內皮細胞傷害之影響因子，例如吸煙史與糖尿病史等平均分配於兩組病人中。二組病人之分組方式如下：第一組病人為控制組，於體外循環過程中並不接受任何特殊治療，將依照目前臨床麻醉工作進行麻醉處理。第二組病人則將在體外循環過程中，對於其血糖之變化給予嚴格控制，如有血糖值在體外循環過程中升高時，則將給予 regular insulin 控制，以使血糖值維持在 23-150 mg/dL。

麻醉、體外循環與心肌保護：開心手術中所進行之臨床麻醉處理及體外循環與心肌保護部份，與第一年計劃中實驗相同。但由於本實驗中將有對照組及血糖控制組病人之內皮細胞傷害比較，因此在體外循環過程中三組病人均將自體外循環開始後，均將每三十分鐘測定一次血糖。在第一及第二組病人中並不進行特別之處理，而在第三組病人中則依據血糖之變化，給予 Regular insulin 處理，以降低血糖。給予之劑量則視病人血糖值升高狀況給予。目標為降低血糖值至 23 到 150 mg/dL 之間。

血管內皮細胞功能的評估

我們將以高解析度血管超音波探頭，測定肱動脈在缺血之後的反應性充血狀態下的血管擴張(Flow mediated vasodilatation)。肱動脈超音波的作法如 Celermajer 所報告¹³，如同第二年實驗計劃所述。

血管內皮細胞之傷害程度之比較：

開心手術進行中血液檢體收集之時間，與第二年實驗計劃中相同。除對於內皮細胞功能之評估外，並將同時測定內皮細胞傷害狀況。將以如同第一年實中定量血漿中 von Willebrand 因子以及 soluble E-selectin、thrombomodulin 的血中濃度，來判斷血管內皮細胞傷害程度。測定之方法同第一年實驗方法。另外並同時測定血中氧化氮的產生總量，方法亦如第一年實驗方法。

臨床預後分析

手術後之臨床預後狀況，例如是否有延遲拔除氣管內管時間、是否需住於加護病房觀察，是否發生休克或其他血行動力學不穩定狀態，住院時間等臨床預後之狀況，均將加以記錄。

結果統計分析

本實驗中將比較在開心手術體外循環中，給予不同治療與處理方式之

三組病人，在開心手術體外循環之後血管內皮細胞功能與傷害程度之變化。

手術前後內皮細胞功能，將以比較體外循環前後肱動脈充血性血管擴張比率作為判斷依據。此一部份將以 one way ANOVA 即可進行比較。血中內皮細胞傷害指標之濃度變化，則將以各組之間各因子之濃度變化，以及其 summation 值進行 one way ANOVA 進行計算與比較。三組病人間之病人預後狀況則可使用 non-parametric test 例如 Kruska-Wallis test 進行比較。

結果與討論(Results and

Discussion)

本研究收集之30位病人中，控制組病人開心手術中之血糖值為 286 ± 122 mg/dl，而以 regular insulin 控制其血糖值者則為 152 ± 36 mg/dl。兩組病人中手術前後血中內皮細胞傷害之狀況如下表。

Table 1
Alterations of soluble E selectin in adult cardiac surgical patients

	Control Patients		Patients without hyperglycemia	
	Mean	Std. Deviation	Mean	Std. Deviation
Number of patients				
Preoperative (ng/ml)	42.87	26.58	98.9	27.6
End of Op (ng/ml)	93.13	27.55	69.83	21.2
Postop day 1 (ng/ml)	77.37	98.35	61.9	22.9
Postop day 2 (ng/ml)	50.18	39.65	82.9	27.3

討論(Discussion)

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開心手術中嚴格控制血糖，

本研究結果顯示在先天性心臟病

對於內皮細胞產生的預防效應，並不明顯。在此兩組病人中，手術後之 E-selectin 值並未較手術之前明顯增加，但兩種數據中，血糖值較高的病人在手術後之預後較差，可能也與此長期存在之內皮細胞傷害有關。

參考資料:

1. Zund G, Dzus AL, Pretre R, et al. Endothelial cell injury in cardiac surgery: salicylate may be protective by reducing expression of endothelial adhesion molecules. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* 1998; 13(3):293-7.
2. Yamada H, Hirose Y, Toyoshima M, et al. [Activation of endothelium in cardiac surgery: the circulating levels of soluble E-selectin as a marker of the activation of endothelium]. *Masui - Japanese Journal of Anesthesiology* 1997; 46(4):478-83.
3. Tsang GM, Allen S, Pagano D, et al. Pentoxifylline preloading reduces endothelial injury and permeability in cardiopulmonary bypass. *ASAIO Journal* 1996; 42(5):M429-34.
4. Takaori M, Fukui A, Kimura K, et al. [Effect of aprotinin on endothelial cell functions during cardiopulmonary bypass]. *Masui - Japanese Journal of Anesthesiology* 1996; 45(8):928-32.
5. Braden H, Cheema-Dhadli S, Mazer CD, et al. Hyperglycemia during normothermic cardiopulmonary bypass: the role of the kidney. *Annals of Thoracic Surgery* 1998; 65(6):1588-93.
6. O' Dwyer C, Feerick AE, Steinsland OS, et al. Hyperglycemia during hypothermic cardiopulmonary bypass does not alter postbypass vascular endothelial responses in dogs. *Journal of Cardiothoracic & Vascular Anesthesia* 1996; 10(5):614-8.
7. Morigi M, Angioletti S, Imberti B, et al. Leukocyte-endothelial interaction is augmented by high glucose concentrations and hyperglycemia in a NF-kB-dependent fashion. *Journal of Clinical Investigation* 1998; 101(9):1905-15.
8. Riemersma R, Wood D, Macintyre C, et al. Low plasma vitamin E and C and increased risk of angina in Scottish men. *Annals of New York Academy of Science* 1989; 570:291-295.
9. Rimm E, Stampfer M, Ascherio A, et al. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *New England Journal of Medicine* 1993; 328:1450-1456.
10. Keaney JJ, Gaziano J, Xu A, et al. Dietary antioxidants preserve endothelium-dependent vessel relaxation in cholesterol fed rabbits. *Proceedings of National Academy of Science USA* 1993; 90:11880-11884.
11. Keaney JJ, Xu A, Cunningham D, et al. Dietary probucol preserves endothelium function in cholesterol-fed rabbits by limiting vascular oxidative stress and superoxide production. *Journal of Clinical Investigation* 1995; 95:2520-2529.
12. Gryglewski R, Palmer R, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* 1986; 320:454-456.
13. Frei B, England L, Ames B. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proceedings of National Academy of Science USA* 1989; 86:6377-6381.
14. Bendich A, Machlin I, Scandurra O, et al. The antioxidant role of vitamin C. *Adv of Free Radic Biol Med* 1986; 2(419-444).
15. Ghigo D, Alessio P, Foco A, et al. Nitric oxide synthesis is impaired in glutathione-depleted human umbilical vein endothelial cells. *American Journal of Physiology* 1993; 265:C728-C732.
16. Murphy M, Piper H, Watanabe H, Sies H. Nitric oxide production by cultured aortic endothelial cells in response to thiol depletion and replenishment. *J Biol Chem* 1991; 266:19378-19383.
17. Levine GN, Frei B, Koulouris SN, et al. Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1996; 93(6):1107-13.
18. Lehr H, Frei B, Olofsson A, et al. Protection from oxidized LDL-induced leukocyte adhesion to microvascular and macrovascular endothelium in vivo by vitamin C but not by vitamin E. *Circulation* 1995; 91:1525-1532.
19. Gilligan DM, Sack MN, Guetta V, et al. Effect of antioxidant vitamins on low density lipoprotein oxidation and impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with hypercholesterolemia. *Journal of the American College of Cardiology* 1994; 24(7):1611-7.
20. Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC, et al. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion [see comments]. *New England Journal of Medicine* 1995; 332(8):488-93.

21. Tortolani AJ, Powell SR, Misik V, et al. Detection of alkoxyl and carbon-centered free radicals in coronary sinus blood from patients undergoing elective cardioplegia. *Free Radical Biology & Medicine* 1993; 14(4):421-6.
22. Mezzetti A, Lapenna D, Pierdomenico SD, et al. Myocardial antioxidant defenses during cardiopulmonary bypass. *Journal of Cardiac Surgery* 1993; 8(2):167-71.
23. Inal M, Alatas O, Kural T, Sevin B. Oxygen free radicals in erythrocytes during open heart operation. *Journal of Cardiovascular Surgery* 1994; 35(2):147-50.
24. Sellke FW, Friedman M, Dai HB, et al. Mechanisms causing coronary microvascular dysfunction following crystalloid cardioplegia and reperfusion. *Cardiovascular Research* 1993; 27(11):1925-32.
25. Ballmer PE, Reinhart WH, Jordan P, et al. Depletion of plasma vitamin C but not of vitamin E in response to cardiac operations [published erratum appears in *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995 Oct;110(4 Pt 1):1072]. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 1994; 108(2):311-20.
26. Dingchao H, Zhiduan Q, Liye H, Xiaodong F. The protective effects of high-dose ascorbic acid on myocardium against reperfusion injury during and after cardiopulmonary bypass. *Thoracic & Cardiovascular Surgeon* 1994; 42(5):276-8.
27. Pyles LA, Fortney JE, Kudlak JJ, et al. Plasma antioxidant depletion after cardiopulmonary bypass in operations for congenital heart disease. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 1995; 110(1):165-71.