

· 论 著 ·

DOI: 10.13498/j.cnki.chin.j.ecc.2021.02.06

搏动灌注对体外循环期间血流剪切力及血管内皮糖萼功能的影响

李冠华, 曾剑锋, 李佳妮, 彭成江, 周成斌

[摘要]:目的 研究应用搏动灌注对体外循环期间血流剪切力(FSS)及血管内皮糖萼(VEG)功能的影响。方法 选取体外循环下瓣膜置换手术患者40名,随机分为搏动灌注组及平流灌注组,每组患者20名,比较两组患者临床预后指标、FSS、VEG及炎症反应标志物[多配体蛋白聚糖-1(syndecan-1)、硫酸乙酰肝素及趋化因子C-C型配体2(CCL2)],分析血管壁峰值剪切力(PWSS)与VEG标志物的相关性。结果 两组患者ICU停留时间、住院时间等临床指标无明显差异;在主动脉开放前、停机后两个时间点,搏动组患者的PWSS均较平流组显著较高($P<0.05$);搏动组患者停机后syndecan-1及CCL2的水平较低($P<0.05$);搏动组患者在主动脉开放前、停机后硫酸乙酰肝素水平较低($P<0.05$);PWSS与syndecan-1及硫酸乙酰肝素的水平呈负相关($P<0.01$)。结论 搏动灌注有利于维持体外循环期间FSS,对于VEG的保护及缓解血管内皮炎症反应具有积极意义。

[关键词]: 搏动灌注;体外循环;血流剪切力;血管内皮糖萼;多配体蛋白聚糖-1

The effect of pulsatile perfusion on flow shear stress and the function of vascular endothelial glycocalyx during extracorporeal circulation

Li Guanhua, Zeng Jianfeng, Li Jiani, Peng Chengjiang, Zhou Chengbin

Department of Cardiovascular Surgery, Guangdong Cardiovascular Institute, Guangdong Provincial People's Hospital, Guangdong Provincial Key Laboratory of South China Structural Heart Disease, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China

Corresponding author: Zhou Chengbin, Email: zcbwww@163.com

[Abstract]: Objective To investigate the effects of pulsatile perfusion on flow shear stress (FSS) and the function of vascular endothelial glycocalyx (VEG) during extracorporeal circulation. **Methods** 40 patients with valve replacement underwent cardiopulmonary bypass (CPB) were randomly divided into two groups: the pulsatile group ($n=20$) and the non-pulsatile group ($n=20$). The clinical prognostic indicators, FSS, VEG and vascular inflammatory biomarkers (syndecan-1, heparan sulfate and CCL2) were compared between the two groups, and the correlation between peak wall shear stress (PWSs) and VEG markers were also analyzed. **Results** There was no significant difference in ICU stay, hospital stay and other clinical indicators between the two groups. PWSs in pulsatile group was significantly higher than that in non-pulsatile group at two time-points during CPB: before aortic de-clamping and after the CPB ($P<0.05$). In the pulsatile group, lower levels of syndecan-1 and CCL2 were observed at the off-pump time point ($P<0.05$), while the heparan sulfate levels were significantly higher at the aortic de-clamping and off-pump time points ($P<0.05$). Furthermore, a negative correlation was observed between PWSs and the concentration of syndecan-1 or heparan sulfate ($P<0.01$). **Conclusion** Pulsatile perfusion maintains flow shear stress during CPB, protects VEG, and attenuates vascular inflammatory responses.

[Key words]: Pulsatile perfusion; Extracorporeal circulation; Flow shear stress; Vascular endothelial glycocalyx; Syndecan-1

作者单位:510180 广州,广东省人民医院(广东省医学科学院)广东省心血管病研究所,广东省华南结构性心脏病重点实验室,心血管外科(李冠华、李佳妮、周成斌);510120 广州中山大学孙逸仙纪念医院心血管外科(李冠华),麻醉科(曾剑锋);510630 广州,中山大学附属第三医院心血管外科(彭成江)

通信作者:周成斌,Email: zcbwww@163.com

随着体外循环(extracorporeal circulation, ECC)技术的成熟,心血管外科得以迅猛发展,传统的ECC灌注模式是“平流灌注”,在主动脉阻断后血压波形近一直线,微循环缺乏有效灌注,使血管内皮功能受损,最终激活全身系统炎症反应^[1]。随着ECC技术的进步,“搏动灌注”逐渐得以应用,Shepard等

指出,搏动灌注的能量等值压力高于平均动脉压,其剩余血流动力学能量产生的舒张期额外势能可使微循环灌注压大于毛细血管闭合压,从而实现微循环有效灌注^[2]。研究表明,搏动灌注减轻主动脉弓和颈动脉窦压力感受器发放神经冲动,保护 ECC 期间器官功能,并缓解全身系统炎症反应^[3]。本课题组既往研究亦证实,低频搏动灌注可显著减少氧化应激及血管内皮炎症反应,增加一氧化氮合成,减少血管内皮素-1 的释放^[4]。

血流剪切力(flow shear stress, FSS)是血流经过血管腔时所产生的一个沿血流方向的摩擦力,在 ECC 期间,血流方式的改变可导致 FSS 发生变化,进而影响血管内皮功能^[5]。血管内皮糖萼(vascular endothelial glycocalyx, VEG)是一种富含多糖的绒毛状结构,覆盖于内皮细胞管腔侧,最新研究发现, FSS 的改变可导致 VEG 的某些成分脱落,如硫酸乙酰肝素(heparan sulfate, HS)和多配体蛋白聚糖-1(syndecan-1),两者与 VEG 功能密切相关^[6]。Dekker 及 He 等发现, ECC 期间 syndecan-1 和 HS 的水平显著增加^[7-8],笔者推测,搏动灌注所引起 FSS 的改变可能引起外周血中 syndecan-1 和 HS 的含量发生变化。本研究通过对比搏动灌注与平流灌注在 ECC 期间 FSS 的影响,以及 syndecan-1、HS 及趋化因子 C-C 型配体 2[chemokine (C-C motif) ligand, CCL2]的变化,深入探讨搏动灌注对 FSS 及 VEG 功能的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象 本研究得到医院医学伦理委员会批准[2020 伦申第(66)号],所有患者均签署研究知情同意书。挑选 2019 年 1 月至 2019 年 8 月在广东省人民医院 ECC 下瓣膜置换手术患者 40 名,随机数字表法分为搏动灌注组及平流灌注组,每组患者 20 名。纳入标准为:年龄 18~70 岁;心功能纽约心脏协会分级 II~III 级;左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF) >45%;左心室舒张末直径 <65 mm。排除标准为:二次手术患者、合并感染、凝血障碍、合并房颤、颈动脉狭窄程度 >40%或有颈动脉斑块、术前肝肾功能不全。

1.2 手术及 ECC 方法 患者气管插管全身麻醉成功后,采用传统胸骨正中切口,使用肝素使 ECC 期间活化凝血时间维持在 480 s 以上。使用德国 Stöckert S5 人工心肺机行搏动灌注或传统平流灌注,参照本研究组既往研究^[4],搏动灌注参数设置为:搏动频率 30 次/min、脉宽 30%、基础流量 30%。

手术中 ECC 流量为 50~100 ml/kg,中低温 30~32℃,主动脉阻断后灌注 4:1 含血心脏停搏液,术中维持平均动脉压 50~70 mmHg, ECC 期间使用 α 稳态处理酸碱平衡,如出现低血压则使用去氧肾上腺素维持目标血压, ECC 结束后鱼精蛋白中和肝素。

1.3 评估 ECC 下 FSS

1.3.1 血液黏滞度的测定 分别在麻醉前静息状态、ECC 开始、主动脉开放前、ECC 结束后四个时间点记录、测定相应数据,均为上述时间点 1 min 以内瞬时状态的测定值。取患者动脉血 2 ml,用 SA-500 血液流变仪(赛科希德公司)测定血液黏滞度(η)。

1.3.2 颈动脉血流速度及舒张末期半径测定 根据上述时间点,选定左侧颈动脉窦前约 1 cm 处,连接彩超线阵高频探头,频率 5 MHz 测定颈动脉血流速度(V)。同时在心电图 R 波触发点测定颈动脉舒张末期半径(R)。最终测量值为 3 个连续心动周期测量数值的均值。

1.3.3 FSS 测定 根据 Womersley 理论的血流动力学模型测定血管壁峰值剪切力(peak wall shear stress, PWSS)^[9]。具体测定公式如下:

$$PWSS = \frac{\eta}{R} \sum_{n=-N}^N \frac{\alpha_n j^{\frac{3}{2}} J_1(\alpha_n j^{\frac{3}{2}})}{J_0(\alpha_n j^{\frac{3}{2}}) - 1} u(0, \omega_n) e^{i\omega_n t}$$

此公式中 η 为血液黏滞度(mPa·s);R 为血管半径(cm);n 为谐波数(次/min);N 为谐波数的最大值;u(0, ω_n) 为轴向血流速度的 n 阶谐波分量; j = √-1; J₀ 和 J₁ 是第一类零阶和一阶 Bessel 函数; α_n = ρ 为 Womersley 值; ρ 流体密度(g/cm³); ω_n = 2nπf 为圆频率(r/s); f 为基频(Hz)。

1.4 VEG 及炎症标志物的检测 在上述 4 个时间点取已肝素化的患者动脉血,4 000 r/min 离心 15 min,根据试剂盒使用操作说明,采用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定 VEG 标志物: syndecan-1 及 HS。在手术前及 ECC 结束后取患者静脉血,采用 ELISA 法测定血管炎症标志物 CCL2。

1.5 统计学分析 计量资料中的连续变量和非连续变量分别使用均数±标准差(̄x±s)、中位数和四分位数间距[Q(Q₁, Q₃)]表示;计数资料使用数值(百分比)表示。符合正态分布的、不同时间点及组别的数据使用多重比较重复测量方差分析比较;不符合正态分布的则使用 Wilcoxon 检验;使用 Spearman 秩相关分析;所有统计学处理均使用 SPSS 18.0 软

件, $P < 0.05$ 时表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床结果 40 例患者随机分为平流及搏动灌注组, 两组患者术前基线资料: 年龄、性别、体重、既往史、肝肾功能指标、手术类型(单瓣/双瓣置换)、心功能指标的比较无统计学差异; 术中主动脉阻断时间、ECC 时间的对比均无统计学差异; 两组患者术后 ICU 停留时间、住院时间的对比差异均无统计学意义, 见表 1。

2.2 FSS 基于血管彩超的血管半径、血流速度等测定值, 根据 Womersley 模型测定两组患者的 PWSS, 结果发现, 在 ECC 期间, 两组患者的 PWSS 均进行性下降, 与平流灌注相比, 搏动灌注患者下降幅度较小, 在主动脉开放前、停机后两个时间点, 搏动组患者的 PWSS 均较平流组显著高 ($P < 0.05$), 差异具有统计学意义, 见图 1。

2.3 VEG 及炎症标志物 Syndecan-1 和 HS 是 VEG 的标志物, 其浓度的上升与 VEG 的损伤密切相关。与手术前静息状态下相比, ECC 期间两组患者的 syndecan-1 和 HS 浓度均升高; 与平流组相比, 搏动组患者停机后的 syndecan-1 测量值显著低 ($P < 0.05$), 差异具有统计学意义(见图 2A); 搏动灌注组

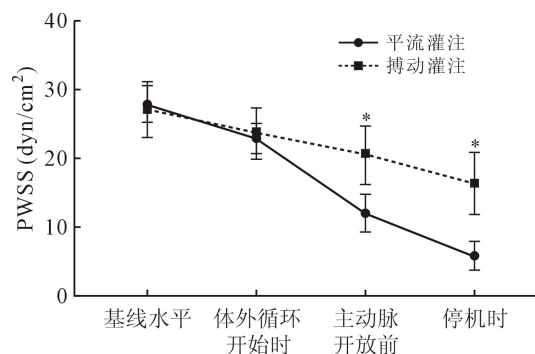


图 1 两组在 ECC 期间 PWSS 的变化

患者主动脉开放前、停机后 HS 测量值同样具有显著性差异 ($P < 0.01$ 及 $P < 0.05$, 见图 2B)。

CCL2 是血管炎症反应标志物, ECC 期间, 两组患者静脉血的 CCL2 浓度较术前显著升高 ($P < 0.05$), 在停机后, 实施搏动灌注的患者血清 CCL2 水平显著降低 ($P < 0.05$), 差异具有统计学意义(见图 2C)。

2.4 FSS 与 VEG 标志物浓度的相关性 结果发现, PWSS 与 syndecan-1 呈负相关 ($r = -0.81$, $P < 0.01$), 与 HS 也呈负相关 ($r = -0.79$, $P < 0.01$), 差异均具有统计学意义, 以此说明, 实施搏动灌注以维持相对较高的 FSS, 对减少 VEG 的损伤具有积极意义。

表 1 基线资料、术中及术后临床资料的比较 (n=20)

临床指标	平流灌注组	搏动灌注组	P 值
年龄(岁)	52.3±15.4	54.6±20.0	0.31
男性[n(%)]	13(65)	11(55)	0.52
体重(kg)	58.1±22.6	62.7±26.3	0.28
高血压病史[n(%)]	5(25)	4(20)	0.38
COPD 病史[n(%)]	1(5)	1(5)	0.99
糖尿病病史[n(%)]	2(10)	1(5)	0.55
肌酐(μmol/L)	97.24±35.36	114.92±44.2	0.46
ALT(U/L)	28.4±12.5	31.1±18.9	0.37
LVEF(%)	58.3±26.6	62.0±30.2	0.14
AVR[n(%)]	5(25)	6(30)	0.72
MVR[n(%)]	11(55)	12(60)	0.75
DVR[n(%)]	4(20)	2(10)	0.38
ACC 时间(min)	76.2±29.9	82.9±41.4	0.19
ECC 时间(min)	119.8±47.7	124.0±38.8	0.23
ICU 时间(d)	2.1±0.9	1.6±0.7	0.1
住院时间(d)	9.2±3.6	8.5±5.5	0.21

注: COPD: 慢性阻塞性肺病; ALT: 谷丙转氨酶; LVEF: 左室射血分数; AVR: 主动脉瓣置换术; MVR: 二尖瓣置换术; DVR: 双瓣置换术; ACC: 主动脉阻断; ECC: 体外循环

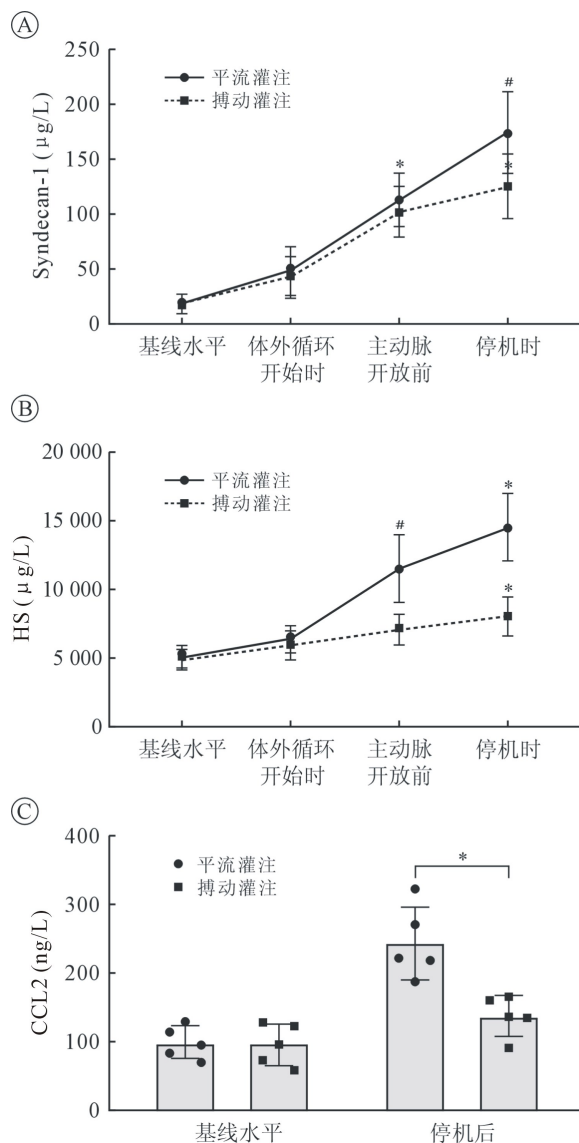


图2 两组在 ECC 期间 syndecan-1、HS 及 CCL2 的变化

3 讨论

众多研究已证实, ECC 期间实施搏动灌注具有积极意义, 本研究从 FSS 及 VEG 的角度剖析搏动灌注保护效应的机制。本研究结果证实, 在 ECC 期间搏动灌注显著减少患者 PWSS 的衰减幅度; VEG 的损伤程度较轻, VEG 标志物 syndecan-1 及 HS 的水平较低, 血管内皮炎症标志物 CCL2 的表达水平亦较低; 此外, PWSS 与 syndecan-1 及 HS 的水平呈负相关。

搏动灌注的能量等值压力高于平均动脉压, 由于剩余血流动力学能量产生的额外势能可使舒张期微循环的灌注压大于毛细血管闭合压, 从而改善组织灌注^[2], 本课题组既往研究中也证实了上述观点^[4]。

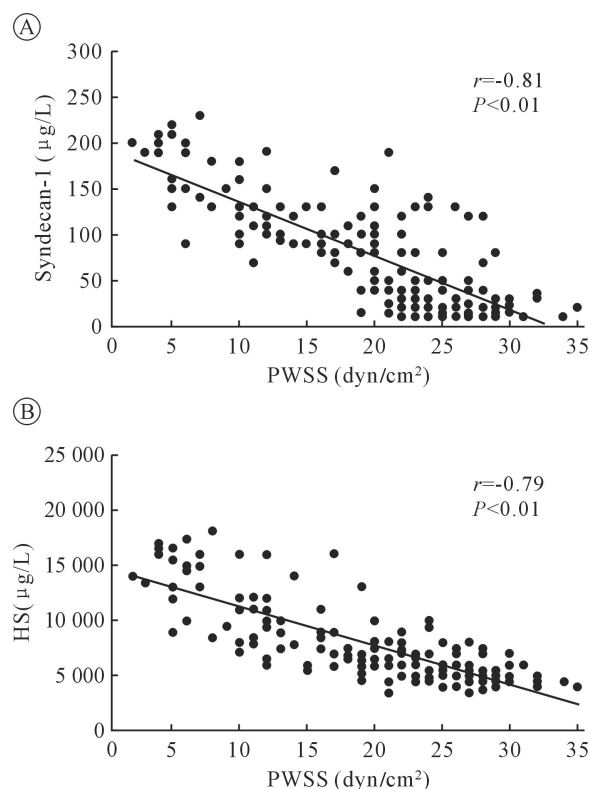


图3 PWSS 与 syndecan-1 及 HS 的相关性分析

FSS 是血流经过血管内皮时产生的摩擦力, 在实施传统 ECC 时, 非生理性平流灌注的峰值流速及 PWSS 较低, FSS 可直接作用于 VEG 上, 对 VEG 的合成及分布有重要影响, PWSS 的降低可抑制 VEG 中蛋白多糖的合成, 从而促进 VEG 损伤^[10]。本研究发现搏动灌注显著减少 PWSS 的衰减幅度, 在恢复自主血流的并行循环期间, 两组 PWSS 差异仍具有显著性, 提示搏动灌注对 PWSS 的影响可能具有延长效应。

毫无疑问, 搏动灌注较平流灌注具有显著的血流动力学优势, 然而也有少量学者认为, 搏动灌注并不能改善患者预后, 对术后并发症发生率、住院死亡率等指标无影响^[11]。笔者认为出现这种差异的原因是多方面的。首先, 研究对象缺乏同质性, 对年轻、器官功能良好、常规简单手术的患者, 搏动灌注与否对预后影响可能不大。本研究及课题组既往研究中, 纳入的患者均为简单先天性心脏病及心功能良好的简单瓣膜疾病, 尽管搏动灌注在血流动力学上别具优势, 然而临床结局无异。其次, 部分研究质量偏低, 未从能量学角度来分析搏动灌注, 造成偏倚。此外, 搏动灌注保护效应的具体机制尚不明确, 研究相对匮乏, 是制约搏动灌注进一步临床推广的“卡脖子”问题。

VEG 是血液与血管内皮之间一层约 100~750 nm 厚度的蛋白多糖结构,由蛋白聚糖的核心蛋白连接带负电荷的糖胺聚糖侧链形成,某些核心蛋白结合在糖基磷脂酰肌醇锚或其他细胞骨架跨膜结构域上,如 syndecan 家族,而糖胺聚糖侧链主要由 HS、硫酸软骨素、透明质酸等组成,其中 HS 成分占 50%~90%。因此当 VEG 损伤、应激及重分布时,均可引起 syndecan-1 及 HS 的释放^[12]。VEG 在内皮细胞表面形成一层负电荷屏障,对维持血管内皮的正常结构与功能至关重要,同时,VEG 是一种力学感受器,可将 FSS 的力学信号转变为细胞内化学信号,在 FSS 的作用下维持着降解与合成的动态平衡^[12]。本研究结果证实,PWSS 与 syndecan-1 及 HS 的水平呈负相关,表明搏动灌注缓解 ECC 期间 PWSS 的衰减,有利于维持 VEG 的结构及功能。

研究表明,ECC 可导致 VEG 急性损伤,其病因包括:血流方式、手术应激、植入物的影响、低温、缺血再灌注损伤、全身炎症反应等。Sangalli 等^[13]发现,ECC 期间非生理性平流的 FSS 明显低于搏动流,与搏动血流相比,持续性机械平流对内皮细胞功能的损伤显著较高,与本研究结果大致相同。此外,VEG 还在血管炎症的病理生理过程扮演着重要角色,当炎症激活时,肿瘤坏死因子等可引起 VEG 脱落,激活肥大细胞释放组胺从而进一步降解 VEG,破坏血管内皮屏障,引起 CCL2 等趋化因子激活,进一步加重炎症反应^[14]。本课题组既往研究曾证实,搏动灌注显著减少氧化应激及血管内皮炎症反应^[4];而为进一步探索搏动灌注保护效应的分子机制,通过生物信息学分析发现搏动流可下调多个炎症相关基因的表达,如 CCL2、CX3CR1、CD163 及 TLR7 等,以 CCL2 下调最为明显^[15]。本研究发现,实施搏动灌注可使血管内皮炎症标志物 CCL2 的表达水平显著降低,由此推断搏动灌注通过维护 VEG 功能,从而缓解血管炎症反应。

综上所述,本研究结果证实,搏动灌注减少 ECC 期间 FSS 的衰减,对于 VEG 功能的保护及缓解血管内皮炎症反应具有积极意义。本研究从 FSS 的角度进一步揭示搏动灌注保护效应的具体机制,为搏动灌注的进一步临床应用提供确切的科学依据。

参考文献:

[1] Salameh A, Kuhne L, Grassl M, *et al*. Protective effects of pulsatile flow during cardiopulmonary bypass[J]. *Ann Thorac Surg*, 2015, 99(1): 192-199.

- [2] Sunagawa G, Koprivanac M, Karimov JH, *et al*. Is a pulse absolutely necessary during cardiopulmonary bypass[J]? *Expert Rev Med Devices*, 2017, 14(1): 27-35.
- [3] Vrselja Z, Daniele SG, Silbereis J, *et al*. Restoration of brain circulation and cellular functions hours post-mortem[J]. *Nature*, 2019, 568(7752): 336-343.
- [4] Li G, Jiang W, Zhang Y, *et al*. The outcome of pediatric patients undergoing congenital cardiac surgery under pulsatile cardiopulmonary bypass in different frequencies[J]. *Ther Clin Risk Manag*, 2018, 14: 1553-1561.
- [5] Nussbaum C, Haberer A, Tiefenthaler A, *et al*. Perturbation of the microvascular glycocalyx and perfusion in infants after cardiopulmonary bypass[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2015, 150(6): 1474-1481.
- [6] Kaushal S, Wehman B. Cardiopulmonary bypass and the endothelial glycocalyx: shedding new light[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2015, 150(6): 1482-1483.
- [7] Dekker NAM, Veerhoek D, Koning NJ, *et al*. Postoperative microcirculatory perfusion and endothelial glycocalyx shedding following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass[J]. *Anaesthesia*, 2019, 74(5): 609-618.
- [8] He G, Gao Y, Feng L, *et al*. Correlation between wall shear stress and acute degradation of the endothelial glycocalyx during cardiopulmonary bypass[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2020, 13(6): 1024-1032.
- [9] Leguy CA, Bosboom EM, Hoeks AP, *et al*. Model-based assessment of dynamic arterial blood volume flow from ultrasound measurements[J]. *Med Biol Eng Comput*, 2009, 47(6): 641-648.
- [10] Elhadj S, Mousa SA, Forsten-Williams K. Chronic pulsatile shear stress impacts synthesis of proteoglycans by endothelial cells; effect on platelet aggregation and coagulation[J]. *J Cell Biochem*, 2002, 86(2): 239-250.
- [11] Hoefleijers MP, ter Horst LH, Koning N, *et al*. The pulsatile perfusion debate in cardiac surgery: answers from the microcirculation[J]? *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2015, 29(3): 761-767.
- [12] Ebong EE, Lopez-Quintero SV, Rizzo V, *et al*. Shear-induced endothelial NOS activation and remodeling via heparan sulfate, glypican-1, and syndecan-1[J]. *Integr Biol (Camb)*, 2014, 6(3): 338-347.
- [13] Sangalli F, Guazzi M, Senni S, *et al*. Assessing endothelial responsiveness after cardiopulmonary bypass: insights on different perfusion modalities[J]. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2015, 29(4): 912-916.
- [14] Zhang D, Qi B, Li D, *et al*. Phyllyrin relieves lipopolysaccharide-induced AKI by protecting against glycocalyx damage and inhibiting inflammatory responses[J]. *Inflammation*, 2020, 43(2): 540-551.
- [15] Li G, Chen Z, Zhang Y, *et al*. Effects of left ventricular assist device on heart failure patients: A bioinformatics analysis[J]. *Artif Organs*, 2020, 44(6): 577-583.

(收稿日期:2020-09-18)

(修订日期:2020-12-04)