

DOI:10.7499/j.issn.1008-8830.2013.10.005

先心病专题

先天性心脏病伴肺动脉高压患儿围术期中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白水平的变化

梁园园 叶建荣 马海平 郑宏

(新疆医科大学第一附属医院麻醉科, 新疆 乌鲁木齐 830054)

[摘要] 目的 探讨先天性心脏病(CHD)合并肺动脉高压患儿手术前后中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)水平的变化及意义。方法 将80例CHD患儿按其肺动脉收缩压分为4组:无肺动脉高压组及轻、中、重度肺动脉高压组。测定各组术前、术后即刻、术后24h血清NGAL含量,分析血清NGAL含量与肺动脉高压及早期预后的关系。结果 CHD伴轻、中、重度肺动脉高压患儿血清NGAL含量均高于不伴肺动脉高压组,血清NGAL浓度随着肺动脉高压程度的加重而升高($P<0.01$)。各组患儿术后血清NGAL含量均较术前降低($P<0.01$)。血清NGAL含量与肺动脉高压的程度、重症监护病房滞留时间呈正相关($P<0.01$)。结论 CHD所致肺动脉高压时,血清NGAL浓度增高;手术中止异常分流后,血清NGAL浓度逐渐降低。血清NGAL水平或可作为衡量肺动脉高压程度和评价手术效果的血清学参考指标。

[中国当代儿科杂志, 2013, 15(10): 827-830]

[关键词] 先天性心脏病;肺动脉高压;中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白;儿童

Perioperative change in serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin level among children with congenital heart disease and pulmonary hypertension

LIANG Yuan-Yuan, YE Jian-Rong, MA Hai-Ping, ZHENG Hong. Department of Anesthesiology, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China (Zheng H, Email: xyzhenghong@yahoo.com)

Abstract: Objective To study the perioperative change in serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) level among children with congenital heart disease (CHD) and pulmonary hypertension (PH) and its significance. **Methods** Eighty children with CHD were divided into four groups according to pulmonary artery systolic pressure: non-PH, mild PH, moderate PH and severe PH groups. Serum NGAL levels were measured before operation, immediately after operation and 24 hours after operation. The relationship of serum NGAL level with PH and early prognosis was analyzed. **Results** The mild, moderate and severe PH groups had significantly higher serum NGAL levels than the non-PH group, and the severer the PH, the higher the serum NGAL level ($P<0.01$). All groups showed significant decreases in serum NGAL levels after operation ($P<0.01$). Serum NGAL level was positively correlated with the degree of PH and length of stay in the intensive care unit ($P<0.01$). **Conclusions** Serum NGAL level increases in children with CHD and PH, and it gradually decreases after operation for closing the abnormal shunt. Serum NGAL level may be used as a serological indicator for evaluating the degree of PH and surgical outcome.

[Chin J Contemp Pediatr, 2013, 15(10): 827-830]

Key words: Congenital heart disease; Pulmonary hypertension; Neutrophil gelatinase-associated lipocalin; Child

中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)正常表达于中性粒细胞、肝实质细胞、肾小管上皮细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞等^[1]。在动脉粥样硬化不稳定斑块患者中,血清NGAL水平升高,

NGAL与动脉粥样硬化疾病发生发展相关^[2]。近年来,NGAL在支气管肺发育不良^[3]、慢性阻塞性肺气肿^[4]、肺癌^[5]等领域的研究也逐渐展开。左向右分流型先天性心脏病(congenital heart disease, CHD)是最常见的先天性心血管畸形,约占先天

[收稿日期] 2013-06-04; [修回日期] 2013-08-14

[收稿日期] 高等学校博士学科点专项科研基金联合资助课题(20126517110005);新疆自治区重点学科项目(新教研(2010)7号)

[作者简介] 梁园园,女,硕士,住院医师。

[通信作者] 郑宏,教授,主任医师。

性心血管畸形总发病率的60%~70%左右。该疾病主要的病理生理特点是左向右分流导致肺循环血流量增加。高肺血流所致肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH)是左向右分流型CHD常见的合并症,其严重程度直接影响疾病的发展及预后。传统诊断PH是通过超声多普勒测量肺动脉高压,这一方面花费较大,另一方面也需要患儿的配合,而对于行手术的患儿需术后基本恢复后才可复查,以检验手术效果。基于NGAL在心血管和肺领域的相关研究,其是否可作为反映PH严重程度的早期血清学指标,以利于早期判断手术效果和预后尚未可知。本研究通过检测手术前后各时段血清NGAL的水平变化,探讨其与CHD合并PH之间的关系,推测其在CHD所致PH中的意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究经医院伦理委员会批准,所有参与研究的患儿监护人均签署书面同意书。所有研究对象均来自我院小儿心脏外科2012年1~12月间收治的左向右分流CHD患儿。纳入标准:(1)年龄 ≤ 14 岁;(2)临床诊断为CHD,心功能I~II级;(3)择期全身麻醉下行根治修补术。排除标准:(1)伴有其他心肺疾病;(2)肝、肾功能异常;(3)对所应用的麻醉药物过敏,有恶性高热家族史或者恶性高热病史;(4)术中情况不佳或死亡者。共选取80例,男37例,女43例,年龄6个月至13岁,其中室间隔缺损34例,房间隔缺损30例,动脉导管未闭4例,室间隔缺损合并房间隔缺损12例。

80例患儿术前经多普勒超声心动图检查,在无右室流出道梗阻及肺动脉狭窄时,以超声多普勒测量结合简化柏努利(Bemoulli)方程计算肺动脉收缩压(pulmonary arterial systolic pressure, PASP)。按照PASP分为4组^[6]:对照组(PASP正常)、轻度PH组(PASP 30 mm Hg~)、中度PH组(PASP 50 mm Hg~)和重度PH组(PASP 70 mm Hg~),每组20例。

1.2 方法

1.2.1 手术及术后管理 80例患儿均采用统一的常规根治手术、静吸复合麻醉。4例动脉导管未闭患儿在非体外循环下手术,其余均在全麻中低温体外循环下手术治疗。体外循环者体外循环方式和设备均一致,术中各参数控制在正常水平。术后常规呼吸机辅助呼吸,并维持血流动力学及

内环境稳定。

1.2.2 标本采集与处理 所有患儿分别于术前、术后即刻、术后24 h采集桡动脉血3 mL,将其注入不含抗凝剂的干燥试管中,常温放置30 min后,3000 r/min离心10 min,抽取上清液,样品密封后,-80℃冰箱保存。

1.2.3 观察指标 主要指标为血清NGAL。次要指标:术后带管时间、重症监护病房(ICU)滞留时间、术后住院天数。其他指标:手术时间、体外循环时间、术中尿量。

1.2.4 血清NGAL测定 冰冻样品测定前置于室温或常温水中共融,并将样品摇匀。由专人按说明书用ELISA法进行血清NGAL水平测定,试剂盒由美国R&D公司提供。测量时使用盲法(单盲)原则,检测者在未知被测样本所代表的组别的前提下完成定量检测工作。

1.3 统计学分析

应用SPSS 17.0统计软件包和Excel 2003软件包进行数据处理和统计学分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用Bonferroni法,不同时点各组血清NGAL水平比较采用重复测量数据的方差分析。计数资料以例数(百分比)表示,组间比较采用卡方检验。各组血清NGAL水平与各观察指标之间的相关性用两个变量间直线相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象一般情况

80例受试者中无中途退出者,均术后访视至出院。4组患儿年龄、性别、手术时间、体外循环时间比较差异均无统计学意义;但体重、术中尿量比较差异有统计学意义。见表1。

2.2 4组血清NGAL含量的变化

4组患儿术前、术后即刻、术后24 h 3个时点血清NGAL含量差异均有统计学意义($P < 0.001$),术后即刻血清NGAL含量开始降低,术后24 h其含量进一步降低。不同组别间3个时点血清NGAL含量的比较差异均有统计学意义($P < 0.001$),其含量随着肺动脉压力的增高而增高。见表2、图1。

2.3 相关性分析

直线相关性分析发现,3个时点的血清NGAL含量与PH程度、ICU滞留时间呈显著正相关($P < 0.01$),见表3。

表1 患儿人口学特征及一般情况 [$n=20$; $\bar{x} \pm s$ 或 $n(\%)$]

指标	对照组	轻度 PH 组	中度 PH 组	重度 PH 组	$\chi^2 (F)$ 值	P 值
年龄 (岁)	4.5 ± 2.5	4.5 ± 3.0	5.4 ± 3.5	2.9 ± 1.6	6.108	0.106
性别						
男	11(55)	7(35)	7(35)	12(60)	4.121	0.249
女	9(45)	13(65)	13(65)	8(40)		
体重 (kg)	18 ± 7	18 ± 7	17 ± 7	12 ± 3	(14.332)	0.002
民族						
汉	8(40)	9(45)	8(40)	8(40)	0.082	0.994
维	8(40)	7(35)	8(40)	8(40)		
哈	4(20)	4(20)	4(20)	4(20)		
疾病类型						
室缺	9(45)	9(45)	8(40)	8(40)	0.071	0.851
房缺	7(35)	7(35)	8(40)	8(40)		
动脉导管未闭	1(5)	1(5)	1(5)	1(5)		
室缺 + 房缺	3(15)	3(15)	3(15)	3(15)		
手术时间 (min)	158 ± 30	165 ± 20	172 ± 40	170 ± 19	(4.052)	0.252
体外循环时间 (min)	32 ± 13	32 ± 13	38 ± 19	33 ± 10	(6.904)	0.072
术中尿量 (mL)	720 ± 450	870 ± 512	742 ± 421	430 ± 132	(10.417)	0.013

表2 各组 NGAL 的动态变化 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

组别	例数	术前	术后即刻	术后 24 h	F 值	P 值
对照组	20	61.4 ± 3.7	56.5 ± 2.0	52.2 ± 2.8	135.13	<0.001
轻度 PH 组	20	64.3 ± 3.0^a	58.3 ± 2.5^a	55.4 ± 1.2^a	198.43	<0.001
中度 PH 组	20	$68.0 \pm 14.0^{a,b}$	$63.9 \pm 1.6^{a,b}$	$55.9 \pm 1.0^{a,b}$	353.85	<0.001
重度 PH 组	20	$86.0 \pm 6.2^{a,b,c}$	$74.3 \pm 5.3^{a,b,c}$	$64.0 \pm 2.8^{a,b,c}$	404.85	<0.001
F 值		33.71	114.23	114.22		
P 值		<0.001	<0.001	<0.001		

a: 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与轻度 PH 组比较, $P<0.05$; c: 与中度 PH 组比较, $P<0.05$

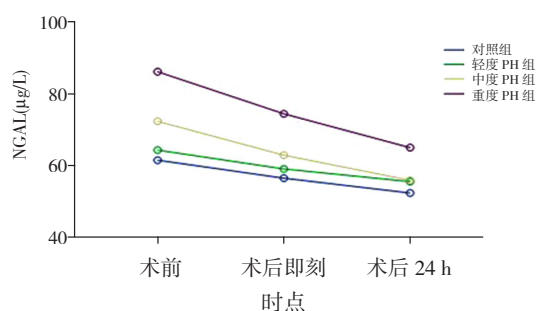


图1 各组患儿 NGAL 变化的趋势图

表4 4组患儿 ICU 滞留时间、术后带管时间和术后住院时间的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ICU 滞留时间 (h)	术后带管时间 (h)	术后住院时间 (d)
对照组	20	18.7 ± 3.5	5.5 ± 2.1	6.2 ± 1.0
轻度 PH 组	20	19.4 ± 3.0	4.4 ± 1.9	6.2 ± 1.2
中度 PH 组	20	$27.0 \pm 10.2^{a,b}$	9.4 ± 7.8^b	7.2 ± 2.2
重度 PH 组	20	$28.3 \pm 9.2^{a,b}$	10.4 ± 9.0^b	6.4 ± 1.1
F 值		9.761	4.718	2.208
P 值		<0.001	0.04	0.095

a: 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与轻度 PH 组比较, $P<0.05$

表3 NGAL 和各指标相关性的相关系数

	术后住院时间	ICU 滞留时间	PH 程度	术后带管时间
术前 NGAL	-0.118	0.430 ^a	0.850 ^a	0.124
术后即刻 NGAL	-0.131	0.427 ^a	0.852 ^a	0.061
术后 24 h NGAL	-0.123	0.411 ^a	0.825 ^a	0.030

a: $P<0.01$

2.4 4组患儿早期预后的比较

4组患儿 ICU 滞留时间和术后带管时间差异均有统计学意义 ($P<0.05$), 其中中、重度 PH 组的 ICU 滞留时间长于对照组和轻度 PH 组, 中、重度 PH 组的术后带管时间长于轻度 PH 组。见表4。

3 讨论

NGAL 主要由中性粒细胞分泌, 也能由肺泡上皮细胞分泌, 它在体内如何调节上皮细胞的功能还不清楚。本研究结果显示, 在同一时点血清 NGAL 含量随着 PH 的增高而增高; 两变量间直线相关分析显示血清 NGAL 含量与 PH 呈正相关。由此推测 NGAL 与 CHD 所致 PH 的形成和发展相关。

CHD 合并 PH 其自然进程为长期的左向右分流, 肺血流持续血容量增加所导致的肺血管收缩和血管壁重构, 肺血管内皮细胞损伤和功能紊乱,

血管收缩物质增多以及内皮细胞内相关因子的表达异常,可出现由成纤维细胞、平滑肌细胞和结缔组织基质作为衬里的内皮管道局灶性增生为特征的致丛样肺动脉病、肺动脉微血栓形成等,最终进展为艾森曼格综合征,直至死亡^[7]。NGAL是 lipocalin 家族的一个成员,分子量为 25 KD,在中幼粒细胞和晚幼粒细胞的分化阶段合成,由 Kjeldsen 等^[8]在 1993 年分离。一些生长因子,例如成纤维细胞生长因子、肝细胞生长因子能刺激 NGAL 的表达,NGAL 的局部表达可以通过促进细胞组织变成管状结构,同时反馈调控生长因子的分化功能,从而调节上皮细胞形态^[9]。一氧化氮具有强烈扩血管效应,由于肺血流量增加,在高血流、高切应力的作用下,血管内皮细胞 eNOS mRNA 和蛋白上调,一氧化氮释放增加^[10],循环血液中一氧化氮增加,促进 NGAL 释放。这些可能是导致 CHD 伴 PH 患儿围术期血清 NGAL 水平变化的相关机制。

动物实验发现,活性氧簇(ROS)刺激后,小鼠各脏器 NGAL 水平上调,并可被抗氧化剂抑制,NGAL 可通过清除 ROS 保护细胞免受损伤^[11];在体外培养血管平滑肌细胞中,又可见内膜和中膜平滑肌均表达 NGAL、MMP-9,血管损伤后两者的表达水平同时上调^[12];NGAL 还可能参与心脏移植后炎症的调节作用^[13]。因此,NGAL 在 CHD 所致 PH 的形成和发展中起到何种作用尚不清楚,其在疾病中的功能及意义期待更多的研究证实。

本研究发现各组患儿术后即刻和术后 24 h 血清 NGAL 含量逐渐降低。通过手术矫治心内畸形,阻断大量左向右分流,减少肺血流量,肺动脉高压得到控制,NGAL 的血清含量下降,且随着术后的恢复逐渐降低;4 组 ICU 滞留时间差异有统计学意义,中、重度 PH 组的 ICU 滞留时间长于对照组和轻度 PH 组,术后血清 NGAL 的含量与 ICU 滞留时间呈正相关,据此,血清 NGAL 或可作为判断术后早期预后的参考指标。

本研究存在的不足之处:(1)CHD 患儿存在低氧状态,在此状态下,红细胞功能受到影响^[14],对患儿的铁代谢造成影响,本研究中并没有考虑到铁代谢对血清 NGAL 含量的影响;(2)本研究虽以肺高压水平分组,但事实上 CHD 患儿肺高压的形成主要取决于分流量的大小,本研究在术前没有计算左向右分流量,因此在组间的统计学比较中存在该种混杂因素。

综上所述,血清 NGAL 的水平变化与 PH 的严重程度及早期预后相关性。NGAL 可能是反映

PH 严重程度的生物标志物,可用于评判手术效果,预测早期预后。NGAL 可能参与 CHD 所致 PH 的形成,具体机制与作用还有待进一步研究证实。

[参 考 文 献]

- [1] Friedl A, Stoesz SP, Buckley P, Gould MN. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in normal and neoplastic human tissues. Cell type-specific pattern of expression[J]. *Histochem J*, 1999, 31(7): 433-441.
- [2] Hemdahl AI, Gabrielsen A, Zhu C, Eriksson P, Hedin U, Kastrup J, et al. Expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in atherosclerosis and myocardial infarction[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(1): 136-142.
- [3] Inoue H, Ohga S, Kusuda T, Kitajima J, Kinjo T, Ochiai M, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a predictor of the development of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants[J]. *Early Hum Dev*, 2013, 89(6): 425-429.
- [4] Eagan TM, Damas JK, Ueland T, Kitajima J, Kinjo T, Ochiai M, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: A biomarker in COPD[J]. *Chest*, 2010, 138(4): 888-895.
- [5] Zhang PX, Chang JX, Xie JJ, Yuan HM, DU ZP, Zhang FR, et al. Regulation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin expression by C/EBP β in lung carcinoma cells[J]. *Oncol Lett*, 2012, 4(5): 919-924.
- [6] Mc Quillan BM, Picard MH, Leavitt M, Yuan HM, DU ZP, Zhang FR, et al. Clinical correlates and reference intervals for pulmonary artery systolic pressure among echocardiographically normal subjects[J]. *Circulation*, 2001, 104(23): 2797-2802.
- [7] Duffels MG, Engelfriet PM, Berger RM, van Loon RL, Hoendermis E, Vriend JW, et al. Pulmonary arterial hypertension in congenital heart disease: an epidemiologic perspective from a Dutch registry[J]. *Int J Cardiol*, 2007, 120(2): 198-204.
- [8] Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengeløv H, Borregaard N. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase[J]. *J Biol Chem*, 1993, 268(14): 10425-10432.
- [9] Cruz DN, Gaiao S, Maisel A, Ronco C, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a bio- marker of cardiovascular disease: a systematic review[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2012, 50(9): 1533-1545.
- [10] Li Y, Zheng J, Bird IM, Magness RR. Effects of pulsatile shear stress on signaling mechanisms controlling nitric oxide production, endothelial nitric oxide synthase phosphorylation, and expression in ovine fetoplacental artery endothelial cells[J]. *Endothelium*, 2005, 12(1-2): 21-39.
- [11] Roudkenar MH, Kuwahara Y, Baba T, Roushandeh AM, Ebishima S, Abe S, et al. Oxidative stress induced lipocalin 2 gene expression: addressing its expression under the harmful conditions[J]. *J Radiat Res*, 2007, 48(1): 39-44.
- [12] Wang Y, Lam KS, Kraegen EW, Sweeney G, Zhang J, Tso AW, et al. Lipocalin-2 is an inflammatory marker closely associated with obesity, insulin resistance, and hyperglycemia in humans[J]. *Clin Chem*, 2007, 53(1): 34-41.
- [13] Aigner F, Maierti T, Schwelberger HG, Wallnofer EA, Amberger A, Obrist P, et al. Lipocalin-2 regulates the inflammatory response during ischemia and reperfusion of the transplanted heart[J]. *Am J Transplant*, 2007, 7(4): 779-788.
- [14] 乐高钟,董湘玉,沈阳,陈永前,芦金萍.左向右分流先天性心脏病儿童红细胞氧化应激状态相关研究[J]. *中国当代儿科杂志*, 2010, 12(6): 440-443.

(本文编辑: 邓芳明)