

乌司他丁对心脏骤停后综合征患者氧化应激水平的影响

王鸿燕, 刘树元

[摘要] **目的** 探讨乌司他丁对心脏骤停后综合征(post-cardiac arrest syndrome, PCAS)患者氧化应激水平的影响及其临床意义。**方法** 选择解放军总医院第六医学中心ICU收治的95例PCAS患者,随机分为对照组和治疗组。2组患者均给予PCAS集束化治疗,在此基础上治疗组患者静脉注射乌司他丁300 000 U/d,连用5 d;对照组静脉注射等量的生理盐水。分别在用药前和用药5 d后测定血清总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)活力、总抗氧化力(total anti-oxidation capacity, T-AOC)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量;分别于治疗第1(干预前)、2、3、4、5天测定血乳酸和中心静脉血氧饱和度(central venous oxygen saturation, ScvO₂),比较2组间上述指标及2组患者28 d病死率的差异。**结果** 干预前2组患者T-SOD活力、T-AOC、MDA、血乳酸及ScvO₂差异比较无统计学意义($P>0.05$);用药5 d后,治疗组T-SOD活力和T-AOC显著高于对照组,MDA含量显著低于对照组($P<0.05$)。2组患者第1、2、3、4、5天血乳酸和ScvO₂差异比较无统计学意义($P>0.05$)。2组患者28 d病死率差异比较无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 乌司他丁可能会减轻PCAS患者体内氧化应激水平,但对血乳酸和ScvO₂无明显影响,也未能改善28 d病死率。

[关键词] 乌司他丁;心脏骤停后综合征;氧化应激;乳酸;中心静脉血氧饱和度

[中图分类号] R541.78

[文献标志码] B

[文章编号] 2095-3097(2019)03-0162-04

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2019.03.008

Effects of ulinastatin on oxidative stress and mortality rate in patients with post-cardiac arrest syndrome

WANG Hongyan¹, LIU Shuyuan²

(1. Cardiovascular Department of Cadre Ward, the Sixth Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China; 2. Department of Emergency, the Sixth Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effects of ulinastatin on oxidative stress and mortality rate in patients with post-cardiac arrest syndrome (PCAS). **Methods** Ninety five patients in ICU of the Sixth Medical Center of PLA General Hospital with PCAS were enrolled and randomly divided into control group and treatment group. Bundle therapeutic measures were implemented in both groups. Besides, the patients in treating group were additionally injected with ulinastatin by vein with 300 000 U/d, for five consecutive days, while the same volume of saline injection were given in control group. The oxidative stress indicators of serum malondialdehyde (MDA) contents, total superoxide dismutase (T-SOD) activities and total anti-oxidation capacity (T-AOC) were tested in two groups before intervention and five consecutive days after intervention by ulinastatin or saline. Blood lactates and central venous oxygen saturation (ScvO₂) were also tested at the time of 1 (before intervention), 2, 3, 4, 5 d. Mortality after 28 days were observed in both groups. **Results** There were no significant difference of T-SOD activities, T-AOC, MDA contents, blood lactates and ScvO₂ in both groups before intervention ($P>0.05$). But 5 days after ulinastatin or saline injection, T-SOD activities and T-AOC were significantly higher, and MDA contents were significantly lower in treating group than those in control group ($P<0.05$). However, no difference on blood lactates and ScvO₂ were found between both the groups at the time of 1, 2, 3, 4, 5 d ($P>0.05$). There were also no difference on 28 d mortality between both groups ($P>0.05$). **Conclusion** Ulinastatin maybe protect against the damage of oxidative stress in patients with PCAS. But this study failed to observe effects on blood lactates and ScvO₂, and improvement of 28 d mortality by ulinastatin in patients with PCAS.

[Key words] Ulinastatin; Post-cardiac arrest syndrome (PCAS); Oxidative stress; Lactate; Central venous oxygen saturation (ScvO₂)

心脏骤停患者经心肺复苏自主循环恢复后,机体面临着广泛的缺血再灌注损伤和全身性炎症反应,引起严重的生理代谢紊乱和多器官功能障碍/衰竭,即心脏骤停后综合征(post-cardiac arrest syndrome, PCAS)。PCAS是复苏患者经心肺复苏自主循环恢复后主要的死亡原因。在这一病理生理过程中,过量氧自由基产生以及由此导致的氧化损伤发挥了重要的作用^[1-4]。乌司他丁是近年来尝试用于治疗PCAS的热点药物,显示出良好的应用前景^[5-6]。随着研究的深入,乌司他丁无论在细胞水平还是动物实验都展现出较好的抗氧化损伤作用^[7-10]。本研究旨在通过前瞻性随机对照设计,观察乌司他丁对PCAS患者氧化应激水平的影响,以期进一步探索乌司他丁治疗PCAS的效果及可能机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2014年1月—2016年7月期间解放军总医院第六医学中心抢救的院外或院内心脏骤停患者,经积极心肺复苏后自主循环恢复并于24 h内转入ICU治疗。共入选病例132例,其中有33例患者入组后5 d内死亡,4例患者因转院失访。排除标准:①发生心脏骤停前曾长期使用维生素C、维生素E等抗氧化剂、降血脂类药物、非甾体类抗炎药、激素或免疫抑制剂等影响氧化应激状态的药物;②对注射用乌司他丁过敏或出现严重不良反应;③入组患者5 d内死亡者视为无效病例,不列入最终数据统计。通过随机数字表法将患者分为对照组和治疗组。最后共收集95例有效病例,男性53例,女性42例,年龄40~86(64.27±9.65)岁。具体分组情况如下:对照组共51例,其中男28例,女23例,年龄40~86(63.45±9.46)岁;其中急性心肌梗死29例,低氧血症8例,严重酸中毒5例,低血容量4例,急性肺栓塞3例,中毒2例。治疗组共44例,其中男25例,女19例,年龄42~85(65.23±9.89)岁;其中急性心肌梗死25例,低氧血症7例,严重酸中毒4例,低血容量4例,急性肺栓塞2例,中毒2例。2组患者性别、年龄、体质量指数、原发疾病、心肺复苏时间、APACHE II评分等比较差异均无统计学意义。本研究经解放军总医院第六医学中心伦理委员会批准,所有入组对象均由患者本人或其授权委托人(无民事行为能力人或限制民事行为能力人由其法定代理人)签署《参与临床研究知情同意书》。

1.2 方法 2组患者均按照PCAS给予集束化治疗,包括:气道管理与呼吸支持(维持氧饱和度94%~99%,维持动脉血二氧化碳分压至基础水平);早

期血流动力学优化治疗(维持平均动脉压 ≥ 65 mmHg或收缩压 ≥ 90 mmHg,必要时给予血管活性药);补充血容量(维持中心静脉压在8~12 cmH₂O,必要时输血,维持血红蛋白浓度90~100 g/L,红细胞比容 $>30\%$);维持尿量[≥ 0.5 mL/(kg·h),必要时辅以连续性肾脏替代治疗];维持水电解质和酸碱平衡;必要时抗感染治疗;控制体温;控制抽搐;控制血糖(目标8~12 mmol/L,避免低血糖);昏迷患者给予48 h亚低温治疗等。在上述治疗基础上,治疗组给予静脉注射用乌司他丁:100 000 U溶于0.9%氯化钠注射液10 mL,缓慢静脉注射,3/d,连续5 d;对照组给予0.9%氯化钠注射液10 mL,静脉注射,3/d,连续5 d。乌司他丁由广东天普生物化学制药有限公司生产,批号为国药准字H19990134(100 000 U/支,粉剂)。2组患者均在用药前和用药5 d后采集外周静脉血(经肘静脉),留取血清保存于-40℃冰箱冷藏待检血总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和总抗氧化力(total anti-oxidation capacity, T-AOC),试剂盒购自南京建成生物工程研究所,以缓冲液梯度稀释血清样本,721型分光光度计检测吸光度,绘制标准曲线,测定流程严格按照试剂盒说明操作。于治疗第1(干预前)、2、3、4、5天自中心静脉导管(锁骨下或颈内静脉)抽血测定血乳酸和中心静脉血氧饱和度(central venous oxygen saturation, ScvO₂) (美国GEM 4000血气分析仪)。记录2组患者28 d病死率。

1.3 统计学处理 应用SAS 9.3软件包对结果进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2组间数据比较采用一般线性模型过程;计数资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异比较有统计学意义。

2 结果

2.1 2组患者血清T-SOD活力、T-AOC及MDA含量比较 干预前2组患者T-SOD活力、T-AOC和MDA含量差异比较均无统计学意义($P > 0.05$);5 d后治疗组T-SOD活力和T-AOC显著高于对照组,MDA含量显著低于对照组($P < 0.05$)。表1。

2.2 2组患者血乳酸和ScvO₂的比较 干预前(第1天)2组患者血乳酸水平和ScvO₂差异比较无统计学意义($P > 0.05$);第2~5天治疗组血乳酸水平和ScvO₂较对照组差异比较也无统计学意义($P > 0.05$)。但组内干预前后对比,血乳酸逐渐下降,ScvO₂逐渐升高,血乳酸和ScvO₂在第5天较第1天差异比较均有统计学意义($P < 0.05$)。表2。

表 1 2 组患者血清 T-SOD 活力、T-AOC 和 MDA 含量测定

组别	T-SOD(U/mL)		T-AOC(U/mL)		MDA(nmol/mL)	
	干预前	5 d 后	干预前	5 d 后	干预前	5 d 后
对照组	73.59 ± 15.59	75.63 ± 16.32	6.87 ± 1.96	6.62 ± 2.25	10.03 ± 2.00	10.25 ± 2.27
治疗组	74.12 ± 20.89	93.98 ± 17.43 *	6.70 ± 1.92	8.72 ± 2.18 *	10.13 ± 2.15	7.36 ± 1.87 *

注:与对照组比较,* P<0.05

表 2 2 组患者血乳酸(mmol/L)和 ScvO₂(%)测定

组别	第 1 天		第 2 天		第 3 天		第 4 天		第 5 天	
	乳酸	ScvO ₂	乳酸	ScvO ₂	乳酸	ScvO ₂	乳酸	ScvO ₂	乳酸	ScvO ₂
对照组	6.43±3.58	61.08±7.79	5.33±3.67	66.35±8.38	4.95±3.27	69.04±7.21	4.76±3.11	69.22±8.76	4.04±2.99 *	69.92±10.42 *
治疗组	6.14±3.06	61.77±8.27	5.08±3.05	67.08±8.14	4.82±2.69	68.75±6.82	4.49±2.64	68.82±9.33	3.92±2.52 *	69.98±9.92 *

注:与本组第 1 天比较(前后对比),* P<0.05

2.3 2 组患者 28 d 病死率 2 组患者 28 d 病死率比较差异无统计学意义($\chi^2=0.102, P=0.082$)。表 3。

表 3 2 组患者 28 d 病死率

组别	组例数(n)	死亡例数(n)	28 d 病死率(%)
对照组	51	19	37.25
治疗组	44	15	34.09

3 讨论

心肺复苏术是针对心脏骤停患者所采取的一系列急救措施。这一技术在过去 60 多年的时间里得到了快速发展,心脏骤停患者自主循环恢复率明显提高,然而最终出院存活率却仍不理想,原因在于自主循环恢复后机体面临着广泛而严重的缺血再灌注损伤和全身性炎症反应,常导致多器官功能障碍甚至衰竭,即 PCAS。PCAS 所涉及的机制较为复杂,其中大量活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生造成氧化-还原失衡(即氧化应激状态),从而引起的广泛性氧化损伤是重要发病机制之一^[1-4]。抗氧化损伤治疗或许为 PCAS 的治疗提供新的思路。

ROS 是氧的某些中间代谢产物或含氧的衍生物,可通过黄嘌呤氧化酶激活、中性粒细胞爆发、儿茶酚胺的自身氧化等途径产生。过量的 ROS 可与蛋白质、脂质、DNA、RNA 等反应,使其结构和(或)功能发生改变,导致氧化损伤^[11-13]。正常情况下,人体内具有内源性抗氧化防御系统,使 ROS 的产生和清除维持动态平衡^[11]。由于 ROS 从产生到湮灭的时间极短,是一个动态“链”式反应的过程,同一时间内可能存在多种 ROS,单纯检测某一种 ROS 的意义不大。

SOD 是体内清除 ROS 的主要抗氧化酶;T-AOC

代表体内酶性和非酶性抗氧化物的总体水平,是综合反映组织和体液对抗 ROS 损伤能力的指标;MDA 是 ROS 与细胞膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的主要终产物之一,其含量可以间接反映体内 ROS 的含量和氧化损伤的程度。这 3 个指标是反映体内氧化应激水平和氧化损伤的最基本的指标,也是国内外研究通常采用的测定指标^[14-16]。

乌司他丁是人体内的正常物质,主要来源于人尿,分子量 67 000,为前- α -胰蛋白酶抑制剂和间- α -胰蛋白酶抑制剂经丝氨酸蛋白酶裂解产物,具有强大的抑制丝氨酸蛋白酶活性,属于广谱酶抑制剂。由于参与炎症反应并直接造成细胞和组织损伤的多种毒性蛋白酶均含有丝氨酸蛋白酶成分,乌司他丁可与其结合而拮抗这些毒性蛋白酶的活性,从而实现了对细胞和组织最直接的保护^[17-19]。乌司他丁除了对丝氨酸蛋白酶具有抑制作用之外,同时还具有抑制炎症介质过度释放、减少炎症细胞因子表达、改善患者细胞免疫功能等多种药理作用,属于内源性炎症抑制因子^[8,17]。乌司他丁最初用于胰腺炎的治疗^[20-21]。近年来,亦有报道乌司他丁用于心肺复苏和 PCAS 的治疗,并取得一定效果^[5-6]。

进一步研究发现,乌司他丁可能具有较好的抗氧化活性,对于 ROS 介导的细胞损伤具有保护作用^[7-10,22]。乌司他丁的抗氧化损伤作用是不是其改善 PCAS 治疗效果的机制之一?基于这一疑问,我们设计了本研究,通过对 PCAS 患者应用乌司他丁进行干预,观察和评价患者体内氧化应激水平、血乳酸、ScvO₂及 28 d 病死率的变化。结果显示,乌司他丁治疗组患者用药 5 d 后血清 MDA 含量均显著低于对照组,T-SOD 活力和 T-AOC 均显著高于对照组,这提示乌司他丁能够减轻 PCAS 患者体内氧化

应激水平。在治疗的第1~5天,治疗组与对照组血乳酸和 ScvO₂并未发现显著差别,这提示乌司他丁对 PCAS 患者血乳酸和 ScvO₂可能无显著影响。非常有意思的是,不论治疗组还是对照组,血乳酸逐渐下降,ScvO₂逐渐升高,第5天较第1天(即组内干预前后对比)差异比较均有统计学意义。我们知道,血乳酸和 ScvO₂是反映组织灌注的重要指标,这一结果提示随着综合治疗的进行,2组患者总体上组织灌注都有改善,而这种改善似乎与乌司他丁无关,或者说乌司他丁的抗氧化损伤作用可能与组织灌注无关。本研究中治疗组28d病死率低于对照组,但2组间差异比较并无统计学意义,可能是影响患者28d病死率的因素更为复杂,需要设计大样本和多中心的研究进一步探索。

【参考文献】

[1] Nagase M, Sakurai A, Sugita A, et al. Oxidative stress and abnormal cholesterol metabolism in patients with post-cardiac arrest syndrome [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2017, 61(2): 108-117.

[2] Kenhaar FS, Fumagalli F, Li Volti G, et al. Relationship between post-cardiac arrest myocardial oxidative stress and myocardial dysfunction in the rat [J]. *J Biomed Sci*, 2014, 21: 70.

[3] Sayouri H, Boudier A, Vigneron C, et al. Hydrogen sulfide: a promising therapy in neuroprotection following cardiac arrest? [J]. *Ann Pharm Fr*, 2015, 73(6): 401-410.

[4] Sakurai A. Cardiopulmonary resuscitation and post-cardiac arrest brain injury [J]. *Nihon Rinsho*, 2016, 74(2): 262-266.

[5] 曹英俊, 查贵智. 乌司他丁对心肺复苏后心肌功能障碍患者的保护作用的临床研究 [J]. *安徽医药*, 2014, 18(12): 2373-2375.

[6] 高峰. 不同剂量乌司他丁对心肺复苏后患者临床疗效研究 [J]. *中外医疗*, 2016, 35(5): 10-12.

[7] He F, Song Y, Ying WJ, et al. Effects of ulinastatin on myocardial oxidative stress and inflammation in severely burned rats [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(17): 5719-5728.

[8] Yu Z, Rayile A, Zhang X, et al. Ulinastatin protects against lipopolysaccharide-induced cardiac microvascular endothelial cell dysfunction via downregulation of lncRNA MAL-AT1 and EZH2 in sepsis [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(5): 1269-1276.

[9] Ji M, Chen T, Wang B, et al. Effects of ulinastatin combined with mechanical ventilation on oxygen metabolism, inflammation and stress response and antioxidant capacity of ARDS [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(6): 4665-4670.

[10] Li C, Ma D, Chen M, et al. Ulinastatin attenuates LPS-induced human endothelial cells oxidative damage through suppressing JNK/c-Jun signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 474(3): 572-578.

[11] Niwa Y. Oxidative injury and its defense system in vivo [J]. *Rinsho Byori*, 1999, 47(3): 189-209.

[12] Lushchak VI. Free radical oxidation of proteins and its relationship with functional state of organisms [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2007, 72(8): 809-827.

[13] Srivastava KK, Kumar R. Stress, oxidative injury and disease [J]. *Indian J Clin Biochem*, 2015, 30(1): 3-10.

[14] Su X, Ma Y, Huang R, et al. Effects of shenmai injection on blood SOD activity and MDA level in senile patients with coronary heart disease [J]. *J Tradit Chin Med*, 2005, 25(1): 50-53.

[15] Somogyi A, Rosta K, Pusztai P, et al. Antioxidant measurements [J]. *Physiol Meas*, 2007, 28(4): R41-R55.

[16] Madany J. Serum malondialdehyde level and activity of total antioxidant status of dogs with age-related cataract [J]. *Pol J Vet Sci*, 2016, 19(2): 429-431.

[17] Liu S, Xu J, Gao Y, et al. Multi-organ protection of ulinastatin in traumatic cardiac arrest model [J]. *World J Emerg Surg*, 2018, 13: 51.

[18] Leng YX, Yang SG, Song YH, et al. Ulinastatin for acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis [J]. *World J Crit Care Med*, 2014, 3(1): 34-41.

[19] Feng Z, Shi Q, Fan Y, et al. Ulinastatin and/or thymosin α 1 for severe sepsis: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2016, 80(2): 335-340.

[20] 许玉娥. 乌司他丁对危重症胰腺炎的临床疗效 [J]. *中国实用医刊*, 2012, 39(3): 54-56.

[21] 邱英, 张均, 白玛乔, 等. 大剂量乌司他丁联合血必净在急性重症胰腺炎中的应用研究 [J]. *中外医学研究*, 2015, 13(21): 25-27.

[22] Zhu K, Wang JP, Su JG. Pophylactic ulinastatin administration for preventing post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: a meta-analysis [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(4): 3036-3056.

(收稿日期:2018-09-27 本文编辑:张在文)