

· 临床研究 ·

## 60 例无创肢体缺血预处理与后处理对心肌的保护作用\*

张春曦, 黄达德, 罗兆榴, 谢健将

(广东省广州市第一人民医院心胸外科 510180)

**摘要:**目的 探讨无创肢体缺血预处理(NILIPC)和无创肢体缺血后处理(NILIPostC)联合应用对外循环心脏手术中心肌缺血/再灌注损伤的保护作用。方法 60 例风湿性心脏病拟行机械瓣膜置换者随机分为 1、2、3 组和对照组, 每组 15 例。1 组在主动脉阻断前 10 min 右下肢实施 NILIPC; 2 组在主动脉开放前 10 min 右下肢实施 NILIPostC; 3 组在主动脉阻断前 10 min 右下肢实施 NILIPC, 主动脉开放前 10 min 左下肢实施 NILIPostC; 对照组不施加肢体缺血处理。全组患者于手术前, 阻断时, 开放时, 开放后 3、12、24、72 h 检测肌钙蛋白 I(cTnI)和心肌酶肌酸同工酶(CK-MB)的血清浓度。结果 主动脉开放后四组患者 CK-MB 和 cTnI 血清浓度逐步上升, 至 12h 达峰值, 之后逐渐下降, 其中对照组上升幅度最大, 3 组上升幅度最小, 并于 72 h 率先降至术前水平; 主动脉开放后 3、12、24、72 h, 3 组与对照组对应时点的 CK-MB 和 cTnI 血清浓度比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与 1、2 组对应时点的 CK-MB 和 cTnI 血清浓度比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 但 4 个时点的平均值明显低于 1、2 组。结论 NILIPC 和 NILIPostC 联合应用可产生加强的心肌保护作用。

**关键词:** 肢体缺血预处理; 肢体缺血后处理; 无创; 再灌注损伤; 心肌保护

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.10.006

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)10-0951-03

### Cardioprotective effect of co-treatment with noninvasive limb ischemic preconditioning and postconditioning in ischemia/reperfusion injury during open heart surgery\*

Zhang Chunxi, Huang Dade, Luo Zhaoliu, Xie Jianjiang

(Department of Cardiothoracic Surgery, the First Municipal Hospital of Guangzhou City, Guangdong, Guangzhou 510180, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the cardioprotective effect of co-treatment with noninvasive limb ischemic preconditioning (NILIPC) and postconditioning (NILIPostC) in ischemia/reperfusion injury during open heart surgery. **Methods** Sixty patients of rheumatic heart disease who were required heart mechanical valve replacement were randomly divided into experimental 1st group ( $n=15$ ), 2ed group ( $n=15$ ), 3rd group ( $n=15$ ), and control group ( $n=15$ ). NILIPC and NILIPostC were administrated 10 minutes before aorta clamping and off-clamping respectively. Experimental 1st group implemented NILIPC on right thigh, experimental 2ed group implemented NILIPostC also on right thigh, experimental 3rd group was taken NILIPC on right thigh and NILIPostC on left thigh respectively, and the control group was given routine treatment. The contents of creatine kinase-MB (CK-MB) and cardiac troponin-I (cTnI) were measured at pre-operation, aorta clamping immediately, aorta off-clamping immediately, and 3 h, 12 h, 24 h, and 72 h after aorta off-clamping, from the patient jugular vein blood samples. **Results** In all patients, the serum concentration of CK-MB and cTnI rose gradually after aorta off-clamping, peaked at 12 h, and then gradually decreased. The control group increased most, while experimental 3rd group increased least and dropped to baseline at 72 h. At 3 h, 12 h, 24 h, and 72h after aorta off-clamping, the contents of CK-MB and cTnI were higher in the control group ( $P < 0.05$ ), compared with the experimental 3rd group. Moreover, the mean contents of CK-MB and cTnI were higher in experimental 1st group and 2ed group. **Conclusion** Co-treatment with NILIPC and NILIPostC may synergically protect myocardium from ischemia/reperfusion injury during open heart surgery.

**Key words:** limb ischemic preconditioning; limb ischemic postconditioning; noninvasive; ischemia /reperfusion injury; myocardial protection

20 多年来,内源性心肌保护一直是备受关注的研究热点,其潜在的实用价值吸引了众多科研工作者投身其中。无创肢体缺血预处理(Noninvasiv limb ischemic preconditioning, NILIPC)和无创肢体缺血后处理(Noninvasiv limb ischemic postconditioning, NILIPostC)是近年研发的新型操作策略,与经典的心肌缺血预处理和后处理方式相比, NILIPC 和 NILIPostC 简单易行,无需直接阻断升主动脉或冠状动脉的血流,不会造成全身或局部的损伤,不干扰手术操作,伦理上容易被人们接

受,临床应用前景广阔<sup>[1]</sup>。但二者联合应用是否具有协同作用,目前尚缺乏有力的证据,本研究就此进行临床实验,针对单独和联合应用的心肌保护效果进行比较。

#### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 60 例风湿性心脏病拟行心脏机械瓣膜置换手术者,年龄 33~67 岁,心功能分级(NYHA) II~III 级,四肢动脉搏动良好,左右两侧肢体收缩压差小于 20 mm Hg,术前检查无合并冠心病、高血脂、糖尿病,无风湿活动、感染和免疫

系统疾病。术前 2 周末使用过皮质激素、非甾体类消炎镇痛剂。随机分为 1、2、3 组和对照组, 每组 15 例。四组间年龄、体质量、性别、NYHA 和手术方式等一般临床资料见表 1。

表 1 四组患者一般临床资料

组别	男/女	年龄(岁)	体质量(kg)	NYHA II/III	AVR/MVR/DVR
1 组	6/9	45.4±13.1	56.7±9.8	4/11	3/8/4
2 组	7/8	47.3±12.7	54.9±7.9	3/12	2/7/6
3 组	8/7	51.1±10.2	57.4±11.2	4/11	3/9/3
对照组	7/8	49.5±11.6	51.8±12.6	5/10	2/8/5

AVR: 主动脉瓣置换; MVR: 二尖瓣置换; DVR: 主动脉瓣+二尖瓣置换。

## 1.2 方法

**1.2.1 实验方法** 全部患者于麻醉后用两个电动止血带分别绑于左右大腿上部, 进行缺血处理: 止血带充气阻断血流 3 min、开放 2 min, 重复 2 次, 阻断压力 300 mm Hg。预处理实施时间, 主动脉阻断前 10 min 内; 后处理实施时间, 主动脉开放前 10 min 内。手术均在中度低温体外循环下进行, 心肌保护采用冷晶体停跳液顺行灌注。1 组于右下肢行 NILIPC; 2 组于右下肢行 NILIPostC; 3 组则选择右下肢行 NILIPC, 左下肢行 NILIPostC; 对照组不施加缺血处理。四组患者术中资料见表 2。

表 2 四组患者术中资料( $\bar{x} \pm s$ )

组别	CPB(min)	ACD(min)	T(°C)	D(mg)
1 组	108.5±38.2	72.4±33.0	28.7±1.3	30.2±11.9
2 组	116.3±44.8	80.7±28.4	30.1±1.7	33.5±10.7
3 组	102.7±46.9	74.6±34.2	27.5±2.2	29.4±14.8
对照组	110.4±41.6	78.2±24.9	29.3±1.8	35.0±12.5

CPB: 体外循环; ACD: 主动脉阻断; T: 温度; D: 地塞米松。

**1.2.2 标本采集** 分别于手术前, 主动脉阻断前即刻, 主动脉开放后即刻, 开放后 3、12、24、72 h 颈静脉抽血检测血清肌钙蛋白 I(cTnI)、心肌酶肌酸同工酶(CK-MB)浓度。为了消除体外循环血液稀释因素对测定值的影响, 同时测定相应 7 个时点的红细胞压积(Hct)。所有测定指标按如下公式校正: 校正后值=(术前 Hct×实测值)/采样时 Hct。

**1.3 统计学处理** 计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组内比较采用配对 *t* 检验, 组间比较采用 Student Newman Keuls 方差分析, 计数资料采用精确概率的  $\chi^2$  检验, 用 SPSS13.0 统计软件进行分析处理, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 四组间年龄、体质量、性别、NYHA 和手术方式等一般临床资料差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 四组患者术中体外循环时间、主动脉阻断时间、术中温度及地塞米松用量之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**

**2.2 四组患者 CK-MB 和 cTnI 血清浓度检测结果比较** 术前四组之间 CK-MB 和 cTnI 浓度比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。组内比较: 主动脉开放后四组 CK-MB 和 cTnI 的血清浓度均逐渐上升, 于开放后 3 h, 1、2 组和对照组的 CK-MB, 2、3 组和对照组的 cTnI 开始明显升高, 分别与术前比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 于开放后 12 h 各组的 CK-MB 和 cTnI 浓度均达到高峰, 其中对照组的上升幅度最大, 3 组的上升幅度最小; 然后逐渐下降, 至开放后 72 h, 3 组率先降至术前水平, 而 1、2 组和对照组仍明显高于术前, 与术前比较差异仍存在统计学意义( $P < 0.05$ )。组间比较: 主动脉开放后 3、12、24、72 h, 3 组的 CK-MB、cTnI 浓度, 开放后 12、24、72 h 1 组的 CK-MB、cTnI 浓度, 以及开放后 24、72 h 2 组的 cTnI 浓度均明显低于对照组对应时点的测定值, 四组相互比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 1、2、3 组对应时点之间的 CK-MB、cTnI 比较差异无统计学意义, 但 3 组在 3、12、24、72 h 四个时点的均数值却明显低于 1、2 组。见表 3。

表 3 四组患者 CK-MB 和 cTnI 检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

指标	组别	术前	阻断即刻	开放即刻	开放后 3 h	开放后 12 h	开放后 24 h	开放后 72 h
CK-MB(U/L)	1 组	18.5±4.21	22.4±10.6	26.7±11.4	43.2±18.8*	112.8±27.1*△	85.2±22.3*△	42.7±19.6*△
	2 组	20.6±3.57	23.3±15.8	32.4±15.7	49.6±24.5*	121.3±35.2**	94.6±28.0**	50.2±21.3*
	3 组	19.3±4.19	24.7±12.3	25.5±13.8	34.9±23.7△	86.7±16.3*△△	56.4±17.9*△△	25.4±10.8△△
	对照组	21.4±2.95	24.2±11.2	30.1±10.6	57.2±21.3**	143.9±21.7**	102.7±23.4**	61.9±25.1**
cTnI(ng/mL)	1 组	—	0.192±0.105	0.280±0.203	1.283±0.437	4.311±1.084**△	2.201±0.852**△	0.917±0.226*△
	2 组	—	0.217±0.136	0.257±0.181	1.466±0.539*	4.758±1.263**	2.164±1.301**	1.015±0.271*△
	3 组	—	0.204±0.117	0.290±0.225	1.008±0.415*△	2.851±0.997**△△	1.130±0.458*△△	0.399±0.107△△
	对照组	—	0.185±0.098	0.358±0.207*	1.927±0.971**	6.014±1.505**	3.985±0.892**	1.826±0.973**

\*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , 与术前比较; △:  $P < 0.05$ , △△:  $P < 0.01$ , 与对照组对应时点比较; —: 表示无数据。

## 3 讨论

目前, 内源性心肌保护策略已被视为心肌保护的重要方法之一, 经典的心肌缺血预处理和后处理均可减轻心肌缺血/再灌注损伤, 但二者联合应用是否可以获得协同或叠加的心肌保护效果尚存在争议。在近年的研究中, 叶挺梅等<sup>[2]</sup>发现二者单独使用可减少离体大鼠缺血/再灌注心肌细胞凋亡和乳酸脱氢酶漏出, 但左心室收缩功能无明显改善; 联合使用时, 心肌细胞

的凋亡和乳酸脱氢酶的漏出会进一步减少, 细胞活力和左心室收缩功能明显提高, 认为二者联合使用对长时程(1 h)的心肌缺血后再灌注心肌具有加强的保护作用。Sato 等<sup>[3]</sup>对在体大鼠研究时发现, 缺血预处理的延迟性心肌保护作用可被缺血后处理显著增强。Vessey<sup>[4]</sup>也得出类似的结论。但也有学者认为, 预处理和后处理存在共同的信号传导机制, 联合应用并无协同效应<sup>[5]</sup>。

NILIPC 和 NILIPostC 是在经典心肌缺血预处理和后处理基础上发展起来的无创性操作策略,虽然提出时间较晚,但已有研究证实<sup>[6-10]</sup>,NILIPC 或 NILIPostC 通过降低心肌细胞代谢率,提高细胞缺血耐受能力,上调心脏保护基因并抑制损害基因的表达,从而减少心肌酶的漏出,减轻心肌缺血/再灌注损伤,其疗效与经典的预处理和后处理相似,其作用机制可能与肢体反复缺血后触发释放大量的细胞保护因子有关。由于 NILIPC 和 NILIPostC 更具临床实用价值,因此如何使用才能获取最大疗效等问题急需深入探讨。从实验结果可以看出,NILIPC 单独应用时,主动脉开放后 12、24、72 h CK-MB 和 cTnI 的血清浓度较对照组对应时点的测定值均有不同程度的降低,而 NILIPostC 单独应用时,主动脉开放后 24、72 h cTnI 血清浓度较对照组对应时点也出现不同程度的降低,这与前人的实验结果相似<sup>[7,10-11]</sup>;联合应用时,主动脉开放后 72 h,联合处理组的 CK-MB 和 cTnI 血清浓度测定值已经降至术前水平,而单独处理组和对照组仍明显高于术前( $P < 0.05$ );另外,主动脉开放后 3、12、24、72 h,联合处理组的 CK-MB 和 cTnI 血清浓度较对照组对应时点的测定值降低更加明显,两组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而与单独处理组比较差异虽无统计学意义,但各对应时点的均数值明显低于单独处理组,说明二者联合应用在减少心肌酶的漏出方面具有增强作用。CK-MB 和 cTnI 是反映心肌缺血/再灌注损伤的重要指标,其血清浓度升高与心肌损伤程度成正比,是研究心肌损伤的特异性标志物<sup>[12]</sup>,因此本文认为联合应用较单独应用可以更好地预防体外循环心脏手术中的心肌缺血/再灌注损伤。

本实验有两点值得探讨。首先,NILIPC 或 NILIPostC 对心肌均具有即时保护效应和延迟保护效应两个时间窗,即时保护发生时限为缺血处理后 2~3 h 内,延迟保护则出现在 24 h 之后,甚至可持续到 72 h<sup>[13-14]</sup>。根据这一理论,NILIPC 或 NILIPostC 的实施应在主动脉阻断(心肌缺血)或主动脉开放(再灌注)即时完成,以获取最佳的即时保护;联合应用时的实施间隔应控制在 2~3 h 之内,既 NILIPC 的即时保护效应减弱或消失之前实施 NILIPostC,才可能在随即的再灌注损伤中获得增强的保护效果。在本实验中,全部患者的主动脉阻断时间均在 2 h 之内,开放后 3 h,联合组的心肌酶平均值较单独处理组明显降低,提示即时保护效应被增强;而在开放后 24、72 h,这种优势继续保持,且率先降至术前水平,提示延迟保护效应同样获得了加强。因此本文认为手术前应充分预计手术时间,把握好时机使二者有效衔接至关重要。其次,以往的研究中缺血处理对象都集中在同一组织或器官,根据人体的生理特性,反复缺血刺激同一组织或器官会出现应激疲劳现象,使受体的触发阈值升高,相关的保护因子释放减少,因此设计对左右对称肢体分别实施 NILIPC 和 NILIPostC,减少应激疲劳的发生,这可能也对本实验结果产生了积极作用。

虽然,NILIPC 和 NILIPostC 联合应用可以获得增强的心肌保护作用,但这一作用并非无限,阐明其作用机制,应用外源性的方法作用于该信号传导通路中的重要位点,可能会激发出更强的心肌保护效应,这也是作者将进一步研究的方向。

#### 参考文献:

[1] 陈晓光,白涛,王俊科,等.非创伤性肢体缺血预适应对心肌缺血再灌注损伤的影响[J].中国医科大学学报,2006,

35(3):256-257.

- [2] 叶挺梅,高琴,李艳芳,等.缺血后处理与缺血预处理联合应用对长时程心肌缺血/复灌损伤的保护作用[J].浙江大学学报:医学版,2007,31(1):35-40.
- [3] Sato H,Bolli R,Rokosh GD,et al. The cardioprotection of the late phase of ischemic preconditioning is enhanced by postconditioning via a COX-2-mediated mechanism in conscious rats[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007, 293(4):H2557-H2564.
- [4] Vessey DA,Li L,Kelley M,et al. Combined sphingosine, S1P and ischemic postconditioning rescue the heart after protracted ischemia[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008,375(3):425-429.
- [5] 杨新红,李艳,王晓红,等.缺血预处理和后处理联合应用在心肌缺血再灌注损伤中的保护作用[J].中国心脏起搏与心电生理杂志,2009,23(3):277-278.
- [6] Cheung MM,Kharbanda RK,Konstantinov IE,et al. Randomized controlled trial of the effects of remote ischemic preconditioning on children undergoing cardiac surgery: first clinical application in humans[J]. J Am Coll Cardiol, 2006,47(11):2277-2282.
- [7] Hausenloy DJ,Mwamure PK,Venugopal V,et al. Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery:a randomised controlled trial[J]. Lancet,2007,370(9587):575-579.
- [8] Cao ZL,Yang TS,Long CL,et al. Advances in study of endogenous protective mechanisms of cardiac ischemia/reperfusion injuries[J]. Chin Pharmacol Bull,2006,22(8):912.
- [9] 张兴华,李春梅,马晓静,等.肢体与心肌缺血后处理对兔急性心肌缺血再灌注损伤的对比研究[J].中华医学杂志,2006,86(12):841-845.
- [10] 寇俊杰,王旭红,洪小剑,等.不同强度的无创性肢体缺血预适应与经典缺血预适应对大鼠心肌保护作用的对比[J].实用医学杂志,2009,25(21):3572-3573.
- [11] 张伟,侯彬,杨大成.远距离缺血后适应对急性心肌梗死溶栓再通患者的保护性研究[J].中国医药导报,2009,6(25):13-15.
- [12] Wu AH,Apple FS,Gibler WB,et al. National academy of clinical biochemistry standards of laboratory practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases[J]. Clin Chem,1999,45(7):1104-1121.
- [13] Konstantinov IE,Arab S,Li J,et al. The remote ischemic preconditioning stimulus modifies gene expression in mouse myocardium[J]. J Thorac Cardiovasc Surg,2005, 130(5):1326-1332.
- [14] Loukogeorgakis SP,Panagiotidou AT,Broadhead MW,et al. Remote ischemic preconditioning provides early and late protection against endothelial ischemia-reperfusion injury in humans: role of the autonomic nervous system [J]. J Am Coll Cardiol,2005,46(3):450-456.