

· 临床研究 ·

肢体缺血预处理对肺叶切除术患者肺的保护作用

朱媛媛 韩登阳 丛丽 陈怀龙 王明山

【摘要】 目的 评价肢体缺血预处理对肺叶切除术患者的肺保护作用,并进一步探讨其可能存在的相关机制。**方法** 择期行胸腔镜肺叶切除术患者 40 例,男 26 例,女 14 例,年龄 45~64 岁, BMI 20~28 kg/m², ASA I 或 II 级。随机分为两组:肢体缺血预处理组(P 组),左下肢根部绑止血带,充气阻断下肢血流 5 min,再放气恢复血流 5 min,如此循环 3 次;对照组(C 组),左下肢绑止血带未充气 30 min。所有患者均采用静-吸复合麻醉。分别于入室时、术后 6、12、24 h 采集静脉血样检测 Toll 样受体 4(TLR4)的表达,并于上述各时点采集动脉血样,计算肺泡-动脉氧分压差(P_{A-a}O₂)、呼吸指数(RI)和氧合指数(OI),记录术后 48 h 内肺部并发症和 P 组左下肢不良反应。**结果** 与入室时比较,术后 6、12、24 h 两组 TLR4 表达均明显上升,但 P 组明显低于 C 组($P<0.05$);与入室时比较,术后 6、12、24 h 两组 P_{A-a}O₂、RI 明显升高,OI 明显降低($P<0.05$);与 C 组比较, P 组 P_{A-a}O₂、RI 明显降低, OI 明显升高($P<0.05$)。术后两组患者肺炎和肺不张发生率差异无统计学意义,两组均未见呼吸衰竭。P 组患者左下肢无皮肤破溃、血栓栓塞、神经损伤等不良反应。**结论** 肢体缺血预处理对肺叶切除术患者肺具有保护作用,与下调血液单核细胞 TLR4 的表达、减轻全身炎症反应有关。

【关键词】 缺血预处理;Toll 样受体 4;单核细胞;肺叶切除术

Pulmonary protective effect of extremity ischemic preconditioning in patients undergoing pulmonary lobectomy ZHU Yuanyuan, HAN Dengyang, CONG Li, CHEN Huailong, WANG Mingshan. Department of Anesthesiology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao University, Qingdao 266071, China

Corresponding author: WANG Mingshan, Email: qdwangmsh@sina.com

【Abstract】 Objective To evaluate the effect of extremity ischemia preconditioning on lung protection in patients undergoing pulmonary lobectomy, and to further explore its possible mechanisms. **Methods** Forty patients (male 26 and female 14, BMI 20-28 kg/m², ASA I or II, aged 45-64 years old) scheduled for elective pulmonary lobectomy via a thoracoscope, were randomly divided into two groups: extremity ischemic preconditioning group (group P) had the left leg roots tied with a tourniquet, lower extremity blood flow aerated blocked for 5 min, then deflated to restore blood flow for 5 min, the cycle was repeated three times; control group (group C) had the left lower extremity tied but not charged for 30 min. All the patients underwent intravenous-inhaled composite anesthesia. Arterial and venous blood samples were taken after admission to the operating room, at 6 h, 12 h and 24 h after operation. The alveolar-arterial oxygen pressure difference (P_{A-a}O₂), respiratory index(RI) and oxygenation index (OI) were calculated. The level of TLR4 was measured. The pulmonary complications within 48 h after operation were recorded. The adverse reactions of the left lower extremity of the group P were recorded. **Results** Compared with the admission to the operating room, the expression of TLR4 was significantly increased in the two groups at 6 h, 12 h and 24 h after operation, but the expression of the group P was significantly lower than that of group C ($P<0.05$). Compared with the admission to the operating room, P_{A-a}O₂ and RI were significantly increased, and OI was significantly decreased in the two groups at 6 h, 12 h and 24 h after operation ($P<0.05$). Compared with group C, P_{A-a}O₂ and RI were significantly decreased, and OI was significantly increased in group P ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in the incidence of pneumonia and atelectasis in the two groups after operation, and no respiratory failure was observed in both groups. The left lower extremity of the group P had no adverse reactions, such as rupture of skin, thromboembolism, and nerve injury. **Conclusion** Extremity ischemic preconditioning has protective effect on pul-

monary function in the patients undergoing pulmonary lobectomy, which may be related to down-regulation of TLR4 expression in monocytes of blood and inhibition of the systemic inflammatory response.

【Key words】 Ischemic preconditioning; Toll-like receptor 4; Monocytes; Pneumonectomy

缺血预处理(ischemic preconditioning, IPC)可激活机体内源性保护机制,是减轻组织缺血-再灌注损伤(ischemic-reperfusion injury, IRI)的有效措施。肢体缺血预处理因其对被保护的靶器官无创伤、操作简单等优点,有广阔的临床应用前景。已有研究显示肢体缺血预处理可减轻肺组织的 IRI^[1],具有肺保护作用,但其机制仍未完全阐明。IRI 主要机制之一是过度的炎症反应, Toll 样受体 4(TLR4)能识别并启动炎症信号向胞内传导,诱导细胞合成和释放大量炎性因子,与炎症反应密切相关^[2]。肺叶切除手术中,单肺通气时隔离健侧肺,但非通气侧肺因萎陷后复张、缺血-再灌注等,可加重组织炎症反应,影响肺功能及患者预后。本研究拟通过观察肺叶切除术患者肺功能相关指标及血液单核细胞 TLR4 表达的变化,评价肢体缺血预处理对肺的保护作用,并进一步探讨其可能存在的相关机制。

资料与方法

一般资料 本研究获本院医学伦理委员会批准[(2016 年度)伦审研第(03)号)],患者或其家属签署知情同意书。择期行胸腔镜下单肺叶切除术患者,性别不限,年龄 45~64 岁, BMI 20~28 kg/m², ASA I 或 II 级,临床分级 I 或 II 期非小细胞肺癌, NYHA I 或 II 级,无外周血管疾病,3 个月内未服用非甾体类抗炎药物或糖皮质激素类药物,无急性感染者。剔除标准:术中出血量>300 ml、单肺通气时间>3 h 的患者。采用随机数字表法,将患者分为两组:肢体缺血预处理组(P 组)和对照组(C 组)。

预处理方案 P 组于麻醉诱导插管后手术开始前行肢体缺血预处理:于左下肢根部绑止血带,充气阻断下肢血流 5 min,以多普勒血流探测仪检测不到足背动脉血流为准,再放气恢复血流 5 min,如此循环 3 次。C 组于左下肢绑止血带未充气 30 min。

麻醉方法 所有手术均由同一组手术医师完成。入室监测 HR、BP、ECG、SpO₂ 和 BIS,开放静脉,局麻下行右颈内静脉穿刺置管,监测 CVP;左桡动脉穿刺置管,监测有创动脉血压。麻醉诱导:

静脉注射咪达唑仑 0.05 mg/kg、依托咪酯 0.3 mg/kg、舒芬太尼 0.3 μg/kg、顺式阿曲库铵 0.15 mg/kg,面罩通气 3 min 后行双腔支气管导管插管术,纤维支气管镜调整确认导管位置后,连接麻醉呼吸回路,采用容量控制通气模式进行机械通气, I:E 1:2,双肺通气 V_T 8~10 ml/kg, RR 10~12 次/分;单肺通气 V_T 6~8 ml/kg, RR 12~16 次/分,维持 P_{ET}CO₂ 30~40 mm Hg, SpO₂>95%,气道压<30 cm H₂O。连续静脉泵注丙泊酚 4~8 mg·kg⁻¹·h⁻¹、瑞芬太尼 0.2~1.0 μg·kg⁻¹·min⁻¹并吸入 1%~2%七氟醚维持,间断静脉注射顺式阿曲库铵 0.05 mg/kg。术中维持 HR、SBP 和 DBP 的波动幅度不超过基础值的 20%, BIS 值 40~55。胸腔内手术操作结束后恢复双肺通气。手术结束后,待患者意识恢复、V_T>6 ml/kg、RR>10 次/分、P_{ET}CO₂<50 mm Hg 时拔除气管导管。术毕均连接自控镇痛泵行 PCIA,药液配方:舒芬太尼 100 μg 和托烷司琼 5 mg,用生理盐水稀释至 100 ml,背景输注速率 2 ml/h, PCA 剂量 0.5 ml,锁定时间 15 min,维持 VAS 评分<3 分。

观察指标 分别于入室时、术后 6、12、24 h 采集静脉血 2 ml 置于 EDTA 抗凝管中。吸取全血样本 100 μl 加入试管中,向试管中加入 FITC 标记的抗人 CD14 和 PE 标记的抗人 TLR4 各 5 μl,混匀,室温避光放置 20 min。加入红细胞裂解液 500 μl,混匀,室温下避光放置 10 min,离心 5 min 后弃上清液。加入 1 ml PBS 振荡洗涤,离心后弃上清液。加入 500 μl PBS,重新悬浮细胞。采用流式细胞仪进行检测,记录 CD14/TLR4 双阳性单核细胞百分率。同时取全血样本 100 μl 加入 FITC 标记的抗人 CD14 和 PE 标记的抗人 IgG 进行同型对照。

分别于入室时、术后 6、12、24 h 采取桡动脉血 2 ml 行血气分析,记录 PaO₂ 和 PaCO₂,计算肺泡-动脉氧分压差(P_{A-a}O₂)、呼吸指数(RI)和氧合指数(OD)。记录术后 48 h 内肺炎、肺不张和呼吸衰竭^[3]等肺部并发症和 P 组左下肢不良反应的发生情况。

统计分析 采用 SPSS 19.0 统计学软件进行分析。正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组内比较采用重复测量设计的方差分析,组间比较采用成组 *t* 检验。计数资料比较采用 χ^2 检

验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

本研究共纳入 40 例患者。两组患者性别、年龄、BMI、ASA 分级、单肺通气时间、手术时间、术中出血量等一般情况比较差异无统计学意义(表 1)。

与入室时比较,术后 6、12、24 h 两组患者血液单核细胞 TLR4 表达均明显升高($P < 0.05$);P 组 TLR4 表达明显低于 C 组($P < 0.05$)(表 2)。

与入室时比较,术后 6、12、24 h 两组 $P_{A-a}O_2$ 、RI 明显升高,OI 明显降低($P < 0.05$);与 C 组比较,P 组 $P_{A-a}O_2$ 、RI 明显降低,OI 明显升高($P < 0.05$)(表 3)。

两组患者肺炎和肺不张发生率差异无统计学意义(表 4)。两组均未见呼吸衰竭。P 组患者左下肢无皮肤破溃、血栓栓塞、神经损伤等不良反应。

讨 论

肢体缺血预处理通过对肢体进行反复短暂缺血-再灌注,提高远隔脏器对随后较长时间缺血的耐受性^[4],可不同程度地减轻心、脑、肺、肝等组织器官的 IRI,具有器官保护作用。 $P_{A-a}O_2$ 和 RI 是临床上反映肺换气功能的重要指标,OI 可反映机体氧合状况。本研究结果显示,术后两组患者肺功能均降低;但肢体缺血预处理可改善肺的换气弥散功能,改善氧合,对肺 IRI 的早期肺功能保护有效。

局部和全身过度炎症反应是 IRI 的特征之一。胸腔镜肺叶切除手术单肺通气时,肺内分流率(Q_s/Q_t)增加,肺缺血缺氧,肺叶复张后,经历缺血-再灌注,进一步诱发加重肺及全身炎症反应,引起急性肺损伤(acute lung injury,ALI)^[5],影响肺功能。

表 1 两组患者一般情况的比较

组别	男/女 (例)	年龄 (岁)	BMI (kg/m ²)	ASA I / II 级 (例)	单肺通气时间 (min)	手术时间 (min)	术中出血量 (ml)
P 组	12/8	56±6	23.7±2.4	4/16	147.7±18.2	185.3±29.6	93.0±38.2
C 组	14/6	54±6	23.4±1.6	5/15	150.4±21.7	186.8±26.7	89.0±36.0

表 2 两组患者不同时点血液单核细胞 TLR4 表达的比较(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	入室时	术后 6 h	术后 12 h	术后 24 h
P 组	20	21.0±2.7	27.8±3.2 ^{ab}	33.6±4.2 ^{ab}	25.8±2.8 ^{ab}
C 组	20	20.9±2.6	35.6±3.3 ^a	40.9±4.0 ^a	31.9±3.1 ^a

注:与入室时比较,^a $P < 0.05$;与 C 组比较,^b $P < 0.05$

表 3 两组患者不同时点 $P_{A-a}O_2$ 、RI 和 OI 的比较($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	例数	入室时	术后 6 h	术后 12 h	术后 24 h
$P_{A-a}O_2$ (mm Hg)	P 组	20	11.01±3.55	69.16±4.45 ^{ab}	66.38±5.44 ^{ab}	60.04±5.09 ^{ab}
	C 组	20	10.41±4.05	78.43±4.62 ^a	74.22±3.78 ^a	66.72±4.10 ^a
RI	P 组	20	0.12±0.05	0.79±0.10 ^{ab}	0.72±0.11 ^{ab}	0.61±0.09 ^{ab}
	C 组	20	0.12±0.05	1.01±0.13 ^a	0.89±0.10 ^a	0.73±0.08 ^a
OI (mm Hg)	P 组	20	430.24±27.41	305.41±19.66 ^{ab}	319.98±19.95 ^{ab}	339.36±17.79 ^{ab}
	C 组	20	429.36±25.29	270.53±18.62 ^a	289.53±16.95 ^a	316.33±15.43 ^a

注:与入室时比较,^a $P < 0.05$;与 C 组比较,^b $P < 0.05$

表 4 两组患者术后 48 h 内肺炎和肺不张发生率的比较[例(%)]

组别	例数	肺炎	肺不张
C 组	20	3(15)	2(10)
P 组	20	2(10)	1(5)

有研究显示,肢体缺血预处理可减少炎症相关因子表达,抑制炎症反应,减轻组织 IRI^[6]。

TLR4 是 TLRs 家族中的重要成员,可识别内源性损伤相关分子模式(DAMPs),如高迁移率族蛋白 1(HMGB1)、热休克蛋白、透明质酸等^[7],启动炎症信号向胞内传导,最终导致核因子- κ B(NF- κ B)活化,大量炎症介质(如 TNF- α 、IL-1、IL-6)释放,引发炎症级联反应。大量的炎症介质、活化的炎性细胞,诱导内皮细胞活化、白细胞迁移、粒细胞脱颗粒及毛细血管通透性增加,肺泡及肺间质水肿,大量蛋白漏出,肺组织炎症细胞浸润,造成肺组织损伤、结构破坏^[8]。有研究显示,TLR4 的表达与肺组织损伤具有相关性^[9],肺 IRI 有 TLR4 的参与,并且通过敲除 TLR4 基因小鼠实验证实了这一结论^[10]。Chi 等^[11]研究发现血液单核细胞 TLR4 蛋白表达与 ALI 相关,且与血浆炎症因子水平呈正相关。本研究结果显示,肺叶切除术后全身性炎症反应加重,肢体缺血预处理可下调血液单核细胞 TLR4 的表达,抑制炎症反应,对肺功能有保护作用。肢体缺血预处理干预下调了外周血 TLR4 的表达,推测其机理可能与机体的自身负性调控有关。肢体缺血预处理可引起较小程度的组织 IRI,导致少量 DAMPs 释放,激活 TLR4 炎症信号通路,诱发轻微炎症反应,并激活反馈性炎症抑制因子的表达,下调 TLR4,抑制随后严重 IRI 诱发的炎症反应,减轻组织损伤。这一推测还有待进一步的研究证实。

综上所述,肢体缺血预处理对肺叶切除术患者

肺功能具有保护作用,可下调血液单核细胞 TLR4 的表达,减轻全身炎症反应。其在减少术后肺部并发症方面未体现优势,可能与本研究病例数量收集有限有关,需要大样本、多中心临床研究进一步证实其临床有效性。

参 考 文 献

- [1] Li C, Xu M, Wu Y, et al. Limb remote ischemic preconditioning attenuates lung injury after pulmonary resection under propofol—remifentanyl anesthesia: a randomized controlled study. *Anesthesiology*, 2014, 121 (2): 249-259.
- [2] Kong Y, Le YY. Toll-like receptors in inflammation of the central nervous system. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11 (10): 1407-1414.
- [3] 葛均波, 徐永健. 内科学. 第 8 版. 北京市: 人民卫生出版社, 2013: 42-43, 142-143.
- [4] Hausenloy DJ, Yellon DM. Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Cardiovasc Res*, 2008, 79(3): 377-386.
- [5] 张荣智, 石翊颀. 单肺通气时炎症反应机制及预防的研究进展. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2012, 33(4): 258-262.
- [6] 李霞, 龙小菊, 胡衍辉, 等. 肢体远隔缺血预处理对肝脏手术中血清 TNF- α 和 HMGB1 水平的影响. *临床麻醉学杂志*, 2015, 31(12): 1193-1195.
- [7] 刘颖, 袁荣刚, 张治然, 等. 急性肺损伤中的损伤相关分子模式. *免疫学杂志*, 2015, 31(10): 902-905.
- [8] Han S, Mallampalli RK. The acute respiratory distress syndrome: from mechanism to translation. *J Immunol*, 2015, 194(3): 855-860.
- [9] 朱珊, 潘灵辉, 林飞, 等. Toll 样受体 3 和 4 在大鼠呼吸机相关肺损伤肺组织中的表达. *临床麻醉学杂志*, 2013, 29(6): 594-597.
- [10] Merry HE, Phelan P, Doak MR, et al. Role of toll-like receptor 4 in lung ischemia reperfusion injury. *Ann Thorac Surg*, 2015, 99(4): 1193-1199.
- [11] Chi XJ, Cai J, Luo CF, et al. Relationship between the expression of Toll-like receptor 2 and 4 in mononuclear cells and postoperative acute lung injury in orthotopic liver transplantation. *Chin Med J (Engl)*, 2009, 122(8): 895-899.

(收稿日期: 2017-08-24)