维普资讯 http://www.cqvip.com



文章编号：0253-3626(2002)01-0038-04

# 二尖瓣置换术中心脏跳动与停跳对降钙素基因相关肽及心肌细胞超微结构的影响

汪 斌[1]，李朝先[1]，向小勇[1]，刘胡伟[2]，廖晓刚[3]，徐 晨[3]，王 红[3]
（1. 重庆医科大学临床学院胸心外科；2. 重庆医科大学临床学院核医学科；
3. 重庆医科大学基础医学院电镜室 重庆 400016）

【摘 要】目的：为进一步评价心内直视术中心脏跳动的作用。方法：20例风湿性心脏瓣膜病二尖瓣置换者，随机分为心脏不停跳组及停跳组。应用放射免疫法测定血浆和心肌组织中的降钙素基因相关肽（CGRP）含量和进行心肌细胞超微结构观察。结果：1、血浆CGRP、与术前比较，均有明显升高($P<0.01$)。两组间比较，在主动脉开放后15min、30min，术后2h、6h等4个时点的含量、不停跳组均低于停跳组($P<0.05$或$P<0.01$)。2、心肌CGRP含量，两组内各时点与其术前比较，均有明显下降($P<0.01$)；两组间比较，术后含量不停跳组高于停跳组($P<0.05$)。3、不停跳组心肌细胞超微结构术前、术后无明显变化，而停跳组术后较术前心肌损害加重I-II级。结论：提示浅低温体外循环心脏跳动中心内直视术对心肌损伤较轻，推测并非主要是由于增加了保护性细胞因子的产生而且还减少了心肌缺血再灌注（I/R）损伤，为一种值得推广的具有较好心肌保护作用的手术方式。

【关键词】心内直视手术；心肌保护；降钙素基因相关肽；心肌细胞超微结构
【中国图书分类法分类号】R654.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2001-08-29

## Effect of mitral valve replacement between beating heart and arrested heart on calcitonin gene-related peptide and myocardial ultrastructure

*WANG Bin, et al*
*(Department of Thoracic and Cardiovascular, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University)*

【Abstract】 *Objective*: To estimate further myocardial protective effect between beating heart with mild hypothermia and arrested heart with cold blood cardioplegia perfusion. *Methods*: Twenty cases were randomly divided into two groups. The samples of plasma and myocardium were measured by radioimmunoassay, Myocardial ultrastructure were observed and analysed. *Results*: (1). The contents of CGRP in plasma were increased significantly when compared with their basic levels at pre-operation in two groups. Levels of CGRP in the beating heart group were significantly lower than that of the arrested heart group at 15min and 30min after aortic de-clamping, 2h and 6h post-operation. (2). The content of CGRP in myocardium was decreased significantly in both groups. CGRP levels in the beating heart group were significantly higher than those of the arrested heart group at post-operation. (3). For myocardium sample of electron microscopy: there were no significant differences between pre-operation and post-operation in the beating heart group. The degree of post-operation myocardial injury is more severe (I to II degree more) than that of pre-operation in the arrested heart group. *Conclusion*:Myocardial ischemic injury and reperfusion injury in the beating heart group is less severe than that in the arrested heart group. It decreased myocardial I/R injury and might not increase the protective factor mainly. Thereby, the technology of the beating heart with mild hypothermia and CPB is worth popularizing for myocardial protective effect during open-heart operation.

【Key words】Open-heart operation; Myocardial protection; Calcitonin gene-related peptide; Myocardial ultrastructure

作者介绍：汪 斌（1964- ），男，主治医师，硕士。
主要研究方向：心脏及大血管外科治疗。

维普资讯 http://www.cqvip.com



浅低温心脏跳动中心内直视术[1]在国内近年来日益受到重视，但也存在较多争议。本研究通过CGRP测定和心肌细胞超微结构观察，试图客观衡量浅低温心脏跳动中与中低温心脏停跳两种心内直视术的心肌保护效果。

## 1 材料和方法

### 1.1 临床资料

自1999年9月至2000年12月，随机将20例风湿性心瓣膜病二尖瓣病变患者分为2组（不停跳组和停跳组各10例）。平均年龄分别为41.2±9.6岁、40.8±11.5岁；上下腔静脉阻断时间38.7±13.6(min)，主动脉阻断时间44.3±16.7(min)。两组性别、心功能、心胸比、EF、FS均无显著性差异。全部病人均经右房一房间隔途径行MVR，无手术死亡。

### 1.2 标本采集及制备

两组均分别在术前、主动脉(或上下腔静脉，以下同)阻断后15min、30min、主动脉开放即刻；15min、30min；术后2h、6h、12h、24h、48h、7d共12个时点，抽血2ml，加入有30μl EDTA+40μl抑肽酶的试管中，混匀。4℃，3000转/min离心10min，分离出血浆置-80℃保存。

心肌组织标本分别在术前(上腔静脉插管时)、术中(右房切口关闭时)、术后(上腔静脉插管拔除时)切取约50～150mg，吸去血迹，称重，尽快放入0.1mmol/L HAC略作碾磨，然后在100℃水浴中煮沸10min，用超声波细胞粉碎机制成匀浆。4℃3000转/min离心15min，取上清液置-80℃保存。

另取心肌1mm³大小，依次用4%戊二醛和10%锇酸双重固定，丙酮常规脱水，环氧树脂618定向包埋，光镜下定位，Reichert-Jung型超薄切片机切片(400～600A)，醋酸双氧铀和枸橼酸铅双染色，H-600透射电镜观察。

### 1.3 检测项目

(1)CGRP测定采用非平衡法；(2)DFM-96型10管放射免疫γ计数器；(3)试剂为解放军总医院科技开发中心放免所(原北京东亚免疫技术研究所)提供。

常规电镜观察 根据Balderman[2]的评定心肌超微结构，如线粒体、肌原纤维、肌浆网等的受损程度，应用H-600型透射电镜观察。

### 1.4 统计学处理

数据均以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。血浆及心肌CGRP含量采用重复测量多因素设计方差分析。用SAS 6.12 统计分析软件。

## 2 结 果

### 2.1 血浆及心肌CGRP测定

表1显示，两组内各时点与术前比较，血浆CGRP都升高，有非常显著性差异($P<0.01$)。主动脉

表1 血浆降钙素基因相关肽的变化(pg/ml, $\bar{x}\pm s$)

| | | 停跳组 | 不停跳组 |
|---|---|---|---|
| 术前阻断 | 15min | 94.29±16.17 | 94.43±18.89 |
| 开放 | 30min | 176.22±28.05** | 154.04±22.94** |
| | 30min | 157.10±28.10** | 161.37±16.43** |
| | 即刻 | 238.31±37.04** | 193.96±26.88** |
| 术后 | 15min | 325.79±34.20** | 205.91±29.95**△ |
| | 30 min | 405.42±35.69** | 210.38±30.75**△△ |
| | 2h | 362.63±30.32** | 165.74±25.64**△△ |
| | 6h | 304.65±57.72** | 156.18±42.65**△△ |
| | 12h | 219.38±45.17** | 150.59±41.67** |
| | 24h | 203.95±51.07** | 138.35±41.84** |
| | 48h | 167.34±43.85** | 139.32±40.66** |

$F=97.86$，$P=0.0001$组内与术前比较*$P<0.05$、**$P<0.01$ 组间比较 △$P<0.05$，△△$P<0.01$

表2 心肌降钙素基因相关肽含量(pg/mg $\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 术前 | 术中 | 术后 |
|---|---|---|---|
| 停跳组 | 99.76±23.64 | 56.54±16.48** | 29.10±10.42** |
| 不停跳组 | 104.11±23.33 | 55.81±24.56** | 56.87±10.71**△ |

注：$F=21.56$，$P=0.0001$，组内与术前比较 **$P<0.01$，组间比较 △$P<0.05$

维普资讯 http://www.cqvip.com



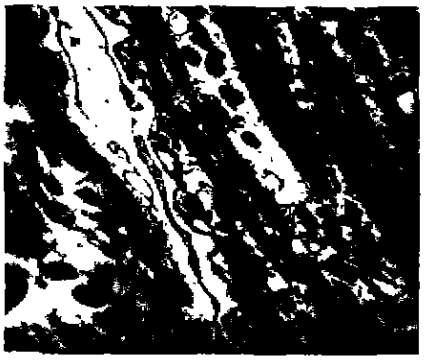


图1　不停跳组术前心肌细胞超微结构
电镜下肌丝断裂、溶解、线粒体较多，多数形态正常，心肌损伤Ⅰ级（×10000）

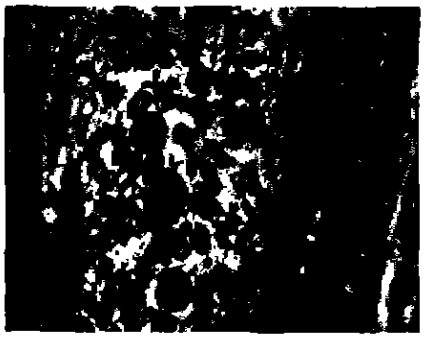


图2　不停跳组术后心肌细胞超微结构
较广泛肌丝溶解、Z线增宽、模糊，线粒体普遍呈中度肿胀，肌浆网有轻度扩大，心肌损伤Ⅱ级（×10000）



图3　停跳组术前心肌细胞超微结构
电镜下肌丝溶解、断裂、Z线模糊，线粒体基本正常，心肌损伤Ⅰ级（×10000）

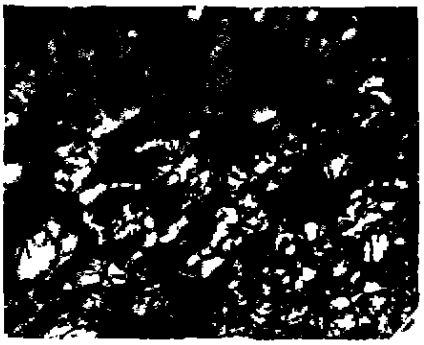


图4　停跳组术后心肌细胞超微结构
线粒体广泛显著肿胀，个别空泡化，Z线模糊，心肌损伤Ⅲ级（×10000）

阻断后15min即有非常明显升高（$P<0.01$）。30min达高峰。术后7d均有下降、但仍高于术前（停跳组$P<0.01$，不停跳组$P<0.05$）。

两组间比较，主动脉开放后15min即有显著性差异（$P<0.05$），开放30min和术后2h、6h有非常显著性差异（$P<0.01$）。表2显示两组内各时点与其术前比较，含量均下降且都有非常显著性差异（$P<0.01$）。两组间比较，术后有显著性差异（$P<0.05$）。

2.2　心肌细胞超微结构电镜观察（见图1～4）

不停跳组术后超微结构与术前比较变化轻微，除肌丝仍见断裂、溶解外，仅见部线粒体有轻到中度的肿胀，肌浆网轻度扩张。而停跳组术后发生了明显的超微病理变化，受损程度均加重了Ⅰ~Ⅱ级。其主要超微病理改变有：线粒体中到重度肿胀、甚至空泡化、部份膜破裂；肌浆网明显扩大；广泛肌丝溶解、Z线异常改变等。

## 3　讨　论

CGRP是1983年Rosenfeld等[3]第一个应用基因重组技术发现的一种含有37个氨基酸残基的生物活性多肽。它是调节心血管活动的重要肽能神经递质。大量研究证实，CGRP是体内已知最强的扩血管物质，对冠状动脉有强大的扩张作用。CGRP对心肌具有正性变力、变时，以及降低脂质过氧化等的作用，可明显促进心肌I/R损伤时的心功能恢复、减轻损伤程度，并稳定内环镜[4]。

本实验结 果显示，主动脉阻断后15min CGRP即有明显升高。推测其原因可能为：(1)心肌缺血缺氧导致心脏感觉神经释放CGRP增多，并由回心引流装置至循环中，缺血愈明显CGRP升高愈显著。(2)体外循环本身是一种非生理性灌注，机体内环境发生明显变化，为维护内环境的稳定，外周血管CGRP释放增多[5]。在主动脉开放后持续升高，在开放后30min达到高峰，并在术后7d仍维持较高水平。其原因可能是：①(停跳组)主动脉阻断后，虽然给予心脏麻痹液及低温、但心肌细胞代谢并未完全停止、加之体外循环的平流灌注对微循环自搏性搏动和灌注的不良影响，均导致心肌细胞处于相对缺血缺氧状态；主动脉开放心肌再灌注时，尽管冠状动脉的血流得以恢复，但心肌遭受在一定时间内呈加重趋势的I/R损伤，在再灌注区因血管内皮细胞

维普资讯 http://www.cqvip.com



肿胀，微血管痉挛，白细胞及血小板聚集而出现冠状血管低灌注状态，进一步加重了心肌细胞的缺血缺氧，从而刺激大量含有CGRP的神经纤维释放分泌。②主动脉开放后，随着温度的升高和心功能的逐步改善，心脏和全身血管床的代谢增强，CGRP生成增多及储存于这些组织内的CGRP释放入血增多。③主动脉开放后，随着循环的改善，内环境的稳定，水钠潴留减轻，血液浓缩，也相应增加了CGRP的浓度[6]。

本实验还发现，在主动脉开放后15min、30min、术后2h、6h这4个时点上不停跳组血浆CGRP升高显著低于停跳组，结合动态变化趋势来看，推测其原因可能是由于不停跳组不阻断主动脉，不接受低温停跳液灌注，使冠状动脉不断有来自心肺机的氧合血供应，心脏不断得到氧和营养物质，减少了心肌缺血缺氧，使机体内环境紊乱减小到最低限度，虽然有反应性的CGRP增加，但增加幅度不大。结合血浆TNF停跳组较不停跳组明显增多的结果（作者另一篇待发表文章），推测由于不停跳组更多地降低了损伤性细胞因子TNF的产生，而并非主要是由于增加了保护性细胞因子的产生、显示出比停跳组有更好的心肌保护效果。

本实验证实，两组心肌组织CGRP的含量较术前均明显减少，且停跳组较不停跳组组减少更为明显($P<0.05$)。结合血浆CGRP的含量变化，推测可能一方面是由于缺血缺氧等刺激促使CGRP从外周神经释放，导致血浆CGRP浓度增高；而另一方面心肌组织神经未梢释放CGRP亦增多，从而心肌组织CGRP含量减少，缺血愈明显，心肌释放的CGRP愈多。

线粒体是维持机体细胞氧化及能量产生等重要功能的单位，也是清除破坏力很大的氧自由基酶系统活力最重要的部位，对缺氧十分敏感，是决定细胞由可逆到不可逆改变的关键细胞器[7]，是反映心肌细胞损伤的敏感指标。本研究的心肌细胞超微结构电镜观察证明了不停跳组具有更佳的心肌保护作用。

结论：浅低温体外循环心脏跳动中心内直视术较中低温心脏停跳心内直视术对心肌损伤轻，利于心功能恢复，推测并非主要是由于增加了保护性细胞因子的产生而且减少了I/R损伤，为一种值得推广的具有较好心肌保护作用的手术方式。

## 参 考 文 献

[1] 何 巍，林 辉，陈铭伍，等. 心脏跳动中二尖瓣置换术(附137例报告)[J]. 中华外科杂志，1996;34(11):678-680.

[2] Balderman SC, Bhayana JN, Binette P, et al. Perioperative preservation of myocardial ultrastuctural and high-energy phosphates in man[J]. J Thorac cardiovasc Surg, 1981;82:860-874.

[3] Rosenfeld MG, Mermod JJ, Amara SG, et al. Production of a novel neuropeptide by the calcitonin gene via tissuespecitic RNA processing[J]. Nature, 1983; 304(5918):129-135.

[4] Wang X, Han C, Fiscus RR. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) causes endotheliumdependent cyclic AMP, cyclic GMP and vasorelaxant responses in rat abdominal aorta[J]. Neuropeptides, 1991;20:115.

[5] Franco-cerecede A, Gennaric. Cardiovascular effects of calcitonin gene-related peptide I and II in man[J]. Circ Res, 1987;60:393-397.

[6] Bell D, Schluter KD, Zhou XJ, et al. Hypertrophic effects of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and amylene on adult mammalial ventricle cardiomycytes [J] . J Mol Cell Cardiol, 1995; 27:2433-2443.

[7] 王维新，解士胜，陈元恒，等. 体外循环心脏手术期间降钙素基因相关肽的变化[J]. 中华胸心血管外科杂志，1998;14(6):345-347.

[8] 林 辉，何 巍，冼 磊，等. 逆行灌注心脏不停跳心肌保护的实验研究[J]. 广西医科大学学报，2000; 17(1): 5-8.