DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.06.046
第24卷第6期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 6
2002年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 2002

文章编号:1000-5404(2002)06-0735-03

论著

心脏停跳和跳动下二尖瓣置换术病人心肌 TNF 及线粒体的变化

汪 斌,李朝先,向小勇 (重庆医科大学附属第一医院胸心外科,重庆 400016)

提 要:目的 寻求更好的心肌保护方法和准确评价心肌保护的手段。方法 随机将20例风湿性心脏病二尖瓣置换者分为浅低温心脏跳动中(不停跳)组和中低温心脏停跳(停跳)组,各10例。测定血浆和心肌组织TNF含量和心肌线粒体体视学定量分析。结果 ①血浆TNF,除不停跳组在术后48 h、7 d外,两组内各时点与其术前比较,均有明显升高($P<0.01$);两组间比较,在主动脉(或上下腔静脉)开放后30 min、术后2、6 h等3个时点的含量,不停跳组均低于停跳组($P<0.05$)。②心肌TNF,两组内各时点与其术前比较,含量不停跳组仅术后有明显升高($P<0.05$),而停跳组术中、术后均有明显增高($P<0.01$);两组间比较,术中、术后含量不停跳组均低于停跳组($P<0.05$)。③体视学指标分析:面数密度(N_A)和比表面(δ)停跳组较不停跳组下降,而平均直径(D)明显增大($P<0.05$或$P<0.01$)。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,可能与减少了心肌TNF的产生,是一种具有较好心肌保护作用的手术方式。

关键词:风湿性心脏病,心肌保护,肿瘤坏死因子,体视学
中图法分类号:R322.11;R541.2;R654.2 文献标识码:A

Myocardial TNF content and mitochondrial stereology in patients undergoing mitral valve replacement at beating or arrested heart

WANG Bin, LI Chao-xian, XIANG Xiao-yong (Department of Cardiothoracic Surgery, First Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract Objective To explore optimal technique for myocardial protection by comparing the myocardial conditions under arrested or beating heart. Methods A total of 20 patients of mitral valve replacement were randomly studied and compared. Ten of them with mild hypothermia cardiopulmonary bypass (CPB) were beating heart group and another with cold blood cardioplegia (CBC) and CPB served as arrested heart group. TNF in the plasma and myocardium were measured with radiommunoassay. The ultrastructural indexes of myocardial mitochondrial such as numerical density on area (NA), mean diameter (D) and specific surface (δ) were measured and calculated. Results ①Plasma levels of TNF were increased significantly in every patient in comparison with their own levels pre-operatively except patients from beating heart group at the 48th h and 7th d after surgery ($P<0.01$). The contents levels were significantly lower in beating heart group than arrested heart group 30 min after de-clamp of superior and inferior vena caval or aorta, and 2 and 6 h post-operation ($P<0.05$). ②Myocardial TNF contents were significantly increased in arrested group intra- and post-operation compared with pre-operation, while those of beating group rose only after operation ($P<0.01$). TNF levels were significantly lower in beating heart group than arrested heart group intra- and post operation ($P<0.05$). ③The stereological studies of myocardial mitochondrial ultrastructural indexes NA and δ were significantly decreased, but increased significantly in arrested heart group ($P<0.01$). Conclusion Myocardial ischemic injury and reperfusion injury is mild in beating heart group than in arrested heart group. It is only a conjecture that beating heart technology may reduce the injury factor such as TNF. Thereby, the technology of beating heart with mild hypothermia and CPB is worth popularizing for better myocardial protective effect on open-heart surgery.

Key words rheumatic heart disease; myocardial protection; tumor necrosis factor; stereology

心脏跳动中心内直视术是国内近年来开展的手术方式[1]。该术式在整个手术过程心脏不停跳,此间,心脏冠状动脉得到持续的氧合血灌注。1999年9月至2000年12月我们随机将20例风湿性心脏病二尖瓣病变患者分为浅低温心脏跳动中(不停跳)组和中低温心脏停跳(停跳)组,各10例。通过对心肌TNF和线粒体的测量其变化,以企客观衡量两种术式的心肌保护效果。

1 临床资料

1.1 临床资料

见表1。全部病人均经右房一房间隔途径行MVR,无手术死亡。

表1 临床资料

Tab 1 Clinical data of patients($n=10$)

Clinical material	Arrested heart group	Beating heart group
Sex (male/female)	3/7	3/7
Age (years old)	41.2±9.6	40.8±11.5
Cardiac function(NYHA Ⅱ/Ⅲ/Ⅳ)	3/5/2	2/6/2
Cardiac/thoracicratio	0.61±0.08	0.62±0.06
EF(%)	54.3±7.9	56.8±10.2
FS(%)	30.2±8.1	31.2±7.8
Time of aortic clamping(min)	44.3±26.7	
Time of superior and inferior vena caval snaring(min)	38.7±23.6	

1.2 方法

1.2.1 标本采集和样本制备 1、2组均分别在术前,主动脉阻断后15 min(或上、下腔静脉阻断后15 min,以下同),主动脉阻断后30 min,主动脉开放即刻,主动脉开放后15 min,开放后30 min,术后2、6、12、24、48 h,7 d共12个时点(以后分别用1

作者简介:汪 斌(1964—),男,重庆市人,硕士,主治医师,主要从事心血管外科治疗方面的研究 电话:(023)69012318

收稿日期:2001-07-28;修回日期:2001-10-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

~12 时点表示), 抽血 2 ml, 加入装有 30 μl 10% EDTA Na_2 的试管中, 混匀, 4 ℃, 3 000 r/min 离心 10 min 分离出血浆检测或放-80 ℃保存。

1.2.2 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 50~150 mg。右心房组织取出心肌组织, 吸去血迹, 称重(Shang ping MD 100-2 电子天平)尽快放入 0.1 mmol/L HAC 略作碾磨, 然后在 100 ℃水浴中煮沸 10 min, 再用 JY92-Ⅱ型超声波细胞粉碎机制成匀浆。4 ℃ 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清液-80 ℃保存。

另取心肌 1 mm×1 mm×1 mm 大小, 依次 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(400~600°A, 醋酸双氧铀和枸橼酸铅双染色, H-600 透射电镜(日本日立公司)观察。

1.3 检查项目

1.3.1 血浆和心肌组织匀浆上清液 TNF 测定 DFM-96 型 10 管放射免疫γ计数器(安徽众成), 试剂为解放军总医院科技开发中心放射所提供。

1.3.2 心肌细胞线粒体体视学指标定量分析 应用 H-600 型透射电镜观察线粒体结构改变情况, 并根据体视学原理[11]进行线粒体定量分析, 指标选用面数密度(N_A)、平均直径(D)和比表面(δ)。照片的规格: 遵循随机性和大数量的统计学原则, 每例病人取术前、术中、术后三个时点切片, 每张切片拍 5 张照片, 使每组有 150 张照片(共 300 张照片)。根据电镜底片标尺设定测量比例尺制长度单位, 测出照片参照系(心肌细胞胞浆)、线粒体的实际面积, 运用 CM-2000B 生物医学图像分析系统(北航一会凌)完成各指标的测定。

计算公式: $N_A = N_x / Ar$(Ar 参照系的截面积; N_x 参照系其中的截面的数目)

$D = \frac{f_d}{J_d}\bar{t}$ (f_d 为形状因子, J_d 为不均匀校正因子; 线粒体平均截距)

$\delta = S_x / V_x$(S_x 某一膜结构的面积; V_x 结构本身体积)

1.4 统计学处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。TNF 含量采用重复测量多因素设计方差分析, SAS 6.12 统计分析软件。体视学数据采用 Origin 5.0 统计软件并进行 t 检验。$P<0.05$ 为差异显著, $P<0.01$ 为差异非常显著。

2 结果

2.1 血浆和心肌组织 TNF 测定, 见表 2 和表 3。

表 2 中的"阻断"、"开放"指"主动脉(或上下腔静脉)阻断后"、"主动脉(或上下腔静脉)开放后"。

表 2 血浆肿瘤坏死因子的变化(ng/ml, $\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 2 Changes of TNF levels in plasma (ng/ml, $\bar{x} \pm s$, $n=10$)

		Arrested heart group	Beating heart group
Pre-operation		4.91±2.10	4.98±1.94
Clamping	15 min	9.08±2.15**	8.38±1.64**
	30 min	10.14±1.98**	9.01±1.86**
	Immediately	12.78±2.22**	11.05±1.87**
Dec-lamping	15 min	18.09±3.23**	11.94±1.91**
	30 min	22.52±3.11**	13.00±1.79**△
	2 h	27.28±4.47**	11.06±2.46**△△
	6 h	17.74±3.86**	9.35±1.96**△
Post-operation	12 h	15.27±3.67**	9.13±2.27**
	24 h	13.15±4.14**	8.18±2.15**
	48 h	12.11±4.00**	5.21±2.11
	7 d	6.07±1.99*	4.98±2.53

*: $P<0.05$ **: $P<0.01$ *vs* pre-operation, △: $P<0.05$, △△: $P<0.01$ *vs* arrested heart group

表 3 心肌肿瘤坏死因子含量(ng/mg $\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 3 Contents of TNF in the myocardium (ng/mg $n=10$)

Group	Pre-operation	During-operation	Post-operation
Arrested heart	0.55±0.16	1.07±0.31**	1.46±0.46**
Beating heart	0.53±0.15	0.59±0.17△	0.65±0.19*△△

*: $P<0.05$. **: $P<0.01$ *vs* pre-operation △: $P<0.05$ △△: $P<0.01$ *vs* arrested heart group

2.2 心肌细胞线粒体体视学指标定量分析, 见表 4

表 4 心肌细胞线粒体体视学测量结果($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 4 Results of mitochondrial stereologcial indexes ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Group	Numerical density on area (N_A, 个/100μm2)	Mean diameter (D, μm)	Specific surface (δ, μm2/μm3)
Arrested heart group			
Pre-operation	90.36±30.29	0.45±0.03	13.24±0.96
During-operation	57.18±9.07*	0.60±0.10*	10.56±1.97*
Post-operation	58.09±16.15*	0.72±0.05**	8.49±0.74**
Beating heart group			
Pre-operation	79.58±15.76	0.44±0.01	14.00±1.15
During-operation	78.10±17.92	0.46±0.04△△	13.05±1.23△
Post-operation	77.42±12.48△△	0.51±0.06*△△	11.72±1.25*△△

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* pre-operation △: $P<0.05$, △△: $P<0.01$ *vs* arrested heart group

3 讨论

良好的心肌保护是体外循环心内直视手术成功的重要前提。而心肌保护是一个综合措施, 尽量降低能耗, 保证能量供应是关键, 而尽快恢复冠脉循环对减少心肌缺血, 尤其是再灌注损伤有非常重要的作用。

3.1 从细胞生物化学的角度评价两种心肌保护方法

TNF 是一种自分泌的细胞因子, 它在心肌 I/R 损伤中, 可导致机能障碍和心肌细胞死亡[3,4], 是一种能敏感地衡量心肌损伤的指标[5]。实验结果发现两组与其术前比较, 血浆和心肌 TNF 在主动脉(或上下腔静脉)阻断后 15 min 即明显升高; 血浆 TNF 于上、下腔静脉开放后 30 min(不停跳组)和术后 2h(停跳组)达到高峰。我们推测早期血浆 TNF 的迅速升高是由于心肌缺血损伤后心肌细胞及单核巨噬细胞立即快速分泌所致, 而以后长达 7 d(停跳组)的升高是由于再灌注引起血管内皮细胞的损伤、激活中性粒细胞、心肌细胞较广泛死亡等所致。主动脉开放后 30 min、术后 2 h、6 h, 不停跳组血浆 TNF 含量增高均低于停跳组($P<0.05$)。因此, 不停跳组较停跳组具有的良好心肌保护作用主要是由于可能减少了损害性细胞因子如 TNF 的产生而达到的。

3.2 两种心肌保护方法对心肌超微结构的影响

线粒体是维持机体细胞生化、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[6]。因此是反映心肌细胞损伤的敏感指标。根据停跳组面数密度的明显下降, 推测与线粒体崩解, 消失有关以及随着心肌细胞肥大, 而线粒体未成比例增加, 反而有一定程度下降,

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

从而导致线粒体能量利用及生成障碍更加明显[7]。就平均直径(D)而言，不停跳组术中、术后显著小于停跳组；相反地，停跳组术中、术后比表面(δ)显著小于不停跳组，这均提示不停跳组线粒体肿胀、功能下降等心肌病理损害程度远低于停跳组。

综上所述，浅低温心脏跳动中心内直视术具有较好的心肌保护效果。该术式将为现代心肌保护概念及方法学的进一步完善开辟一条好的途径，该术式值得推广。

参考文献：

[1] 肖颖彬，陈　林，王学峰，等. 浅低温体外循环心脏跳动心岗位直视手术 1 032 例临床分析[J]. 第三军医大学学报，2001，23(5)：502－504.
[2] 徐根兴 主著. 定量细胞学和细胞化学技术[M]. 长春：吉林科学出版社，1993. 47－58.
[3] Meldrum D R. Tumor necrosis factor in the heart[J]. Am J physiol, 1998, 274(3pt2): R 577－595.
[4] Kurrelmeyer K M, Michael L H, Baumgarten G, *et al*. Endogenous tumor necrosis factor protects the adult cardiac myocyte against ischemic-induced apoptosis in a murine model of acute myocardial infarction[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(10): 5 456－5 461.
[5] Napoli C, Cicala C, Wallace J L, *et al*. Protease-activated receptor-2 modulates myocardial ischemia-reperfusion injury in the rat heart[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(7): 3 678－3 683.
[6] 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.
[7] Hans E, Dallas M H. Elementary strereology[J]. Am J Anat, 1980, 159(2): 411－426.

（编辑　汪勤俭）

文章编号：1000-5404(2002)06-0737-02

个案与短篇

心肾联合移植术后并发肺曲菌病和多发性脓肿 1 例

A case report of pulmonary aspergillosis and multiple abscess after combined heart and kidney transplantation

张　琳，　壮义　（第三军医大学附属西南医院放射科，重庆 400038）

患者，男，58 岁，因反复心悸，气促 5 年，加重 2 月，门诊以“扩张性心肌病”收治入院。查体：颈静脉怒张，肝颈静脉回流征(＋)，心尖搏动位于左侧第六肋间锁骨中线外 2 cm，心前区未扪及震颤，心脏浊音界向两侧扩大，心率 90 次/min，心律不齐，心音强弱不等，低钝，A2＞P2，各瓣膜区未闻及杂音。腹部膨隆，软，移动性浊音(＋)，双下肢水肿(＋)。

辅助检查：肾功能 钾 5.3 mmol/L，钠 137 mmol/L，氯 102 mmol/L，尿素氮 24.3 mmol/L，肌苷 212 mmol/L，血糖 16.5 mmol/L 心脏超声 扩张性心肌病，LVED 78.4 mm，LVES 67.8 mm，FS 14%，EF 28%，左室收缩功能明显减退。

入院诊断：①原发性扩张性心肌病，心功能Ⅳ级；②慢性肾功能不全 ③Ⅱ型糖尿病。

在全麻低温体外循环下行同种原位心脏移植术及同种肾移植术。手术顺利。术后 72 h 发生心脏急性排斥反应，以 ATG 200 mg/d，甲基强地松龙 1.0 g/d 冲击治疗后 2 d 好转。术后 15 d B 超发现心包腔大量积液，供肾周围血肿，行剑突下心包引流术及肾周血肿清除术，术中供心包引流出陈旧不凝血 1 000 ml，供肾周围引流出陈旧性不凝血 1 500 ml，诊断为急性供心供肾急性排斥反应。以 ATG200 mg，甲基强地松龙 1.0g 冲击治疗，病情好转。术后 25 d 出现肺部感染，以泰能＋氟康唑＋万古霉素联合用药，疗效不佳，肺部感染加重，术后 30 d 出现呼吸衰竭，经气管插管呼吸机辅助治疗，病情无好转，术后 38 d 死亡。

胸片表现及病变进展情况：术前片见心脏普遍增大，呈普大型，以左右心室增大为主；上腔静脉增宽，上肺静脉增粗；肺内未见炎性病变，见图 1。术后 15 d 胸片显示双膈面不清、肋膈角变钝；双下肺野密度普遍增高，毛玻璃样改变，无明确边界；肺纹正常，肺内无片状或块状阴影；提示双侧胸腔积液。术后 25 d 胸片发现双肺有小斑片状模糊影；右下肺野有条片状影；肺门模糊，肺纹增粗模糊；双侧肋膈角模糊；心影增大，双侧心缘平直。X 线检查诊断为肺部感染，双侧胸膜反应，少量积液。术后 36 d 胸片表明病情进一步加重；双侧肺门、肺纹模糊；双肺野见散在片状、絮团块状密度增高影，左肺野较重；双侧肋膈角模糊，右膈面不清；心影增大，左心缘平直。提示肺部感染加重，胸腔积液增多，见图 2。

病理：见双肺尤其双下肺叶广泛性粘连，双肺表面均可见多个散在大小不一的黄白色脓肿，切面为暗绿色，镜下见脓肿坏死灶中有曲霉菌菌丝，部分区域肺组织显肺泡性肺炎，左肺下叶肺组织萎陷，周围肺组织显水肿，间质血管扩张充血，部分区域出血。甲状腺，双肾，纵隔淋巴结，心房及移植心脏亦有类似脓肿形成并找到曲菌菌丝。

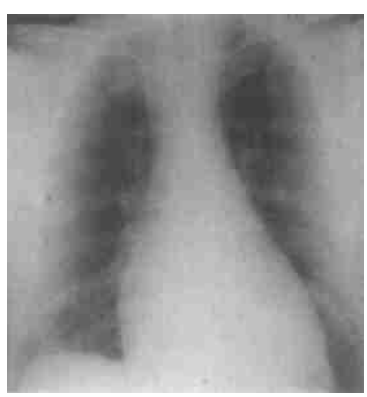


图 1　术前片心脏普遍增大，呈普大型，以左右心室增大为主；肺内未见病变

作者简介：张　琳(1973－)，男，山东省邹城市人，硕士研究生，医师，主要从事 CT 介入及腹部影像诊断方面的研究。电话：(023)68754424

收稿日期：2002-03-15；修回日期：2002-05-16

（下转 742 页）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net