

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.26.029

远端缺血预处理对同种异体肾移植术后患者肾功能的影响*

汪海涛 孙莹杰 周 锦 陈万成 陈克研 张铁铮[△]

(沈阳军区总医院麻醉科 辽宁 沈阳 110840)

摘要 目的:探讨远端缺血预处理对同种异体肾移植术后患者肾功能的影响。**方法:**选择行同种异体肾移植手术的患者 20 例,并将其随机分为实验组(S)和对照组(D),每组 10 例。S 组于麻醉后在左下肢绑扎止血带行远端缺血预处理,D 组不作缺血预处理。分别于术前(T0)、术后 24(T1)、48(T2)、72h(T3)记录患者的尿量;生化检测患者血清尿素氮(BUN)和肌酐(Scr)含量;ELISA 检测患者肾损伤分子-1(Kim-1)的含量。**结果:**两组患者的一般情况比较无统计学差异($P>0.05$)。两组患者术后各时点的尿量均较术前显著增加,且 S 组术后各时点的尿量均明显多于 D 组增多($P<0.05$)。两组患者术后各时点的 Scr、BUN 含量均较术前下降,两组 T1、T2 时点的 Scr、BUN 含量比较差异无统计学意义($P>0.05$),但 S 组术后 T3 时点血清 Scr、BUN 水平均明显低于 D 组($P<0.05$)。两组患者术后尿液 Kim-1 水平均较术前明显下降,S 组在 T3 时点的 Kim-1 水平显著低于 D 组($P<0.05$)。**结论:**远端缺血预处理可显著减轻移植肾缺血再灌注损伤,有利于同种异体肾移植患者术后肾功能的恢复。

关键词:远端缺血预处理;肾移植;缺血再灌注损伤;肾损伤分子-1

中图分类号:R322.61,R69 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)26-5115-04

Effect of Remote Ischaemic Preconditioning on Renal Function in Patients Undergoing Allograft Donor Kidney Transplantation*

WANG Hai-tao, SUN Ying-jie, ZHOU Jin, CHEN Wan-cheng, CHEN Ke-yan, ZHANG Tie-zheng[△]

(Department of Anaesthesiology, General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang, Liaoning, 110840, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of remote ischaemic preconditioning on renal function in patients undergoing allograft donor kidney transplantation. **Methods:** Twenty patients undergoing allograft donor kidney transplantation were randomly assigned to remote ischaemic preconditioning (S) group (n=10) and control (D) group (n=10). After anesthesia, remote ischemic preconditioning was induced by left lower extremity ischemia using a tourniquet inflated in the S group. Patients in the D group underwent sham placement of the tourniquet wrapped around the left lower extremity without inflation. 24 h urine volume, blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (Scr) and kidney injury molecule-1(Kim-1) were detected by ELISA before operation (T0) and at 24 (T1), 48(T2) and 72h(T3) after operation. **Results:** No significant difference was observed in the baseline information between two groups ($P>0.05$). After surgery, the urine volume at all time points of patients from both groups were significantly increased than those before operation ($P<0.05$), which was significantly more in the group S at all time points than those in the group D ($P<0.05$); the BUN, Scr and Kim-1 at all time points of patients from both groups were significantly decreased than before operation ($P<0.05$). No significant difference was found in the BUN, Scr levels at T1 and T2 between two groups, but the serum BUN, Scr levels at T3 of group S were significantly lower than those of group D ($P<0.05$). The urine Kim levels of both groups were significantly lower than those before operation, which at T3 of group S was significantly lower than that of group D ($P<0.05$). **Conclusion:** Remote ischaemic preconditioning could improve renal function through protecting the kidney against ischemia reperfusion injury in patients undergoing allograft donor kidney transplantation.

Key words: Remote ischaemic preconditioning; Kidney transplantation; Ischemia reperfusion injury; Kidney injury molecule-1

Chinese Library Classification: R322.61, R69 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)26-5115-04

前言

肾脏移植是开展最普遍,存活率最高的一种器官移植,在肾移植手术过程中要经历获取前血动力学紊乱、热缺血、供肾

低温保存和血流再通等过程,因此肾脏的缺血再灌注损伤(ischemia/reperfusion injury, IRI)在所难免^[1,2],如何减少术中 IRI,降低术后急性肾功能衰竭的发生率,快速恢复移植肾的功能,提高肾移植患者的生存率仍是有待解决的问题。目前研究表

* 基金项目:辽宁省科技攻关项目(2012225006)

作者简介:汪海涛(1981-),男,医师,主要研究方向:临床麻醉与基础医学

△ 通讯作者:张铁铮,电话:024-28897160, E-mail: tzzhang@hotmail.com

(收稿日期:2013-12-15 接受日期:2014-01-10)

明,不同器官经过暂时缺血可以降低 IRI 引起到的伤害,产生明显的保护作用^[3],由于这一保护效应可以发生于 IPC 以外的组织器官^[4],因此被称为远端缺血预处理(remote ischaemic preconditioning,RIPC)。大量的动物实验表明 RIPC 对因 I/R 引起的肾脏损伤有保护作用^[5,6],但 RIPC 对人肾脏损伤保护作用的研究尚少,关于 RIPC 对同种异体肾移植术后的肾功能的作用鲜有报道。本研究拟通过观察 RIPC 预处理后成人同种异体肾移植患者的术后尿量、血尿素氮(BUN)、肌酐(Scr)的水平,以及尿液肾损伤分子 1(Kim-1)的含量的变化,旨在探讨 RIPC 对同种异体肾移植术后肾功能的作用,为临床肾移植手术克服 IRI 提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 研究对象

本研究经患者知情同意和医院伦理委员会批准。2012 年 02 月至 2012 年 12 月从我院选取行同种异体肾移植手术患者 20 例,其中男 17 例,女 3 例,年龄 17 岁~60 岁,ASA II~III 级。随机分为实验组(S)和对照组(D),每组 10 例,术前 ABO 血型完全相同或相容,淋巴毒试验低于 10%,群体反应性抗体低于 20%,HLA 按六抗原无错配标准(即 HLA-A、HLA-B、HLA-DR 抗原的相配)尽量减少错配。

排除标准:术前禁食水不足者;二度以上房室传导阻滞者;左室功能受损(射血分数 <45%)者;严重呼吸系统疾病患者;预计穿刺点皮肤、软组织感染者;严重凝血功能障碍者;预先存在神经疾病(例如下肢周围神经病变)及对局麻药物过敏者。

1.2 方法和步骤

1.2.1 麻醉方法 所有患者手术前一天常规血液透析,禁食水 6h。开放外周静脉,常规监测 HR、SPO₂、ECG、等患者生命体征,桡动脉穿刺直接监测动脉压,局麻下右颈内静脉穿刺置管监测中心静脉压。S 组左下肢股骨中下 1/3 处绑扎止血带备用。选择双点穿刺法硬脊联合麻醉。在患者 T12~L1 位置硬膜外穿刺向头端留置硬膜外导管。然后再 L2~L3 间隙穿刺确定进入硬膜外间隙,置入腰麻针,见脑脊液流出后,向蛛网膜下腔注入 0.5%盐酸罗派卡因 1.5 mL~2 mL,退出腰麻针,在相应部位硬膜外腔留置硬膜外导管。控制麻醉平面上界在 T6 以下。维持血压平稳,不低于麻醉前基础水平。

1.2.2 RIPC 方法 S 组 IPC 预处理过程是在麻醉平面固定后,手术开始前进行,在左下肢止血带充气至压力大于动脉收缩压

15mmHg,以同侧足背肤色变白,足背动脉波动消失,无法测出趾端血氧饱和度为标准,持续阻断 5 min,放气间断 5 min,做 4 个循环。D 组不作 IPC,其他治疗方法两组相同。

1.2.3 监测指标 分别于术前(T0)及术后 24(T1)、48(T2)、72h(T3)记录患者的尿量;抽取患者的静脉血,生化检测仪测定血浆中 BUN 和 Scr 水平;ELISA 检测试剂盒检测尿液中 Kim-1 的含量。

1.3 统计学分析

采用 SPSS19.0 统计软件进行分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组内不同时点比较采用单因素方差分析,组间相同时点采用配对 t 检验,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般情况的比较

两组患者的身高、体重、性别、年龄、平均动脉血压、手术时间、术中输血量等比较均无统计学差异(P>0.05),见表 1。

表 1 两组患者一般情况的比较

Table 1 Comparison of the general information between two groups

Group	Group S	Group D
性别(男/女) Gender(male/female)	8/2	9/1
年龄 Age(years)	39.9±2.5	41.2±2.0
体重 Body weight(kg)	61.3±2.1	64.2±1.6
身高 Body height(cm)	171.3±3.2	170.5±4.1
平均动脉压 Mean arterial pressure(mmHg)	137.2±4.5	129.9±5.4
手术时间 operation time(min)	165.9±6.8	142.3±4.9
术中输血量 Intraoperative fluid volume(ml)	2091.8±88.2	1987.9±104.7

2.2 两组患者尿量变化的比较

肾移植术患者术前多处于少尿或无尿状态,与 T0 比较,两组患者术后各时点的尿量均显著增加(P<0.05),且 S 组术后各时点的尿量均明显多于 D 组,差异均有统计学意义(P<0.05)(表 2)。

表 2 两组患者不同时间点尿量的比较($\bar{x} \pm s$, ml)

Table 2 Comparison of the urine volume at different time points between two groups($\bar{x} \pm s$, ml)

Group	T0	T1	T2	T3
Group D	912.35±103.82	4579.31±297.75*	3577.77±327.02*	3006.67±193.64*
Group S	898.13±98.32	5035.14±304.23**	4154.54±427.46**	3754.54±335.74**

Note: **P<0.05 S group compared with D group; *P<0.05 compared with T0.

2.3 两组患者血清 Scr 水平变化的比较

如表 3 所示,与 T0 相比,S 组患者在术后 T1、T2、T3 各时点的血清 scr 水平均显著下降(P<0.05),D 组患者术后 T2、T3

时的血清 Scr 水平显著下降(P<0.05);S 组患者术后各时点的血清 Scr 水平均低于对照组,其中 T3 时点的血清 Scr 水平与 D 组的差异有统计学意义(P<0.05)。

表 3 两组患者不同时间点血清 Scr 水平的比较($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$)Table 3 Comparison of the serum Scr levels at different time points between two groups($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$)

Group	T0	T1	T2	T3
Group D	612.33± 182.62	454.66± 206.16 [*]	369.77± 44.65 [*]	305.55± 77.39 [*]
Group S	636.22± 221.80	439.88± 178.56 [*]	323.22± 69.41 [*]	203.22± 34.98 ^{•▲}

Note : [▲]P<0.05 S group compared with D group; ^{*}P<0.05 T1, T2 and T3 compared with T0

2.4 两组患者血清 BUN 水平变化的比较

如表 4 所示,与 T0 比较,两组患者的血清 BUN 水平均明显降低(P<0.05)。两组 T0 时血清 BUN 水平比较均无统计学意义

(P>0.05),S 组术后各时点血清 BUN 水平均较 D 组降低,其中 T3 时点的差异有统计学意义(P<0.05)。

表 4 两组患者不同时间点血清 BUN 水平的比较($\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)Table 4 Comparison of the serum BUN levels at different time points between two groups($\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)

Group	T0	T1	T2	T3
Group S	22.09± 3.62	18.19± 3.15 [*]	15.01± 2.11 [*]	13.61± 3.14 [*]
Group D	21.58± 3.64 [*]	17.21± 3.97 [*]	13.93± 2.54 [*]	10.42± 2.33 ^{•▲}

Note : [▲]P<0.05 S group compared with D group; ^{*}P<0.05 T1, T2 and T3 compared with T0.

2.5 两组患者尿液 Kim-1 水平变化的比较

如表 5 所示,与 T0 比较,两组患者的尿液 Kim-1 水平均呈下降趋势,且两组患者术后 T2、T3 时点的尿液 Kim-1 水平

均显著下降 (P<0.05);S 组术后各时点的尿液 Kim-1 水平均较对照组降低,其中 T3 时点差异有统计学意义(P<0.05),见表 5。

表 5 两组患者不同时间点尿液 Kim-1 水平的比较($\bar{x} \pm s, \text{ng/L}$)Table 5 Comparison of the urine Kim-1 levels at different time points between two groups($\bar{x} \pm s, \text{ng/L}$)

Group	T0	T1	T2	T3
Group D	41.95± 3.46	35.01± 3.43	33.61± 5.65 [*]	28.78± 4.28 [*]
Group S	39.11± 3.45	32.87± 2.74	30.24± 4.42 [*]	21.46± 3.31 ^{•▲}

Note : [▲]P<0.05 S group compared with D group; ^{*}P<0.05 T1, T2 and T3 compared with T0.

3 讨论

肾脏是对缺血再灌注敏感的器官之一,在临床上,休克、播散性血管内凝血、肾脏外伤和肾脏移植过程中均可发生肾缺血再灌注损伤(IRI)^[78]。肾移植术中 IRI 损伤是常见的并发症,移植肾缺血在一定时间后恢复供血,可进一步加重肾脏损伤,其主要因素是再灌注后自由基的爆发、钙超载产生、白细胞增多和细胞凋亡等,最终导致缺血性急性肾功能不全或移植肾失活^[90]。

BUN 是机体蛋白质代谢主要的终末产物,主要经肾小球滤过随尿排出,肾小管也有排泄^[1]。Scr 人体肌肉的代谢产物,每天身体产生的 Scr,几乎全部都由肾小球滤过随尿液排出,不受尿量的影响^[12]。血清 Scr 水平可反映肾小球滤过功能和粗略估计有效肾单位的数量,是临床常用于了解肾功能的主要方法之一^[13]。Kim-1 是缺血再灌注肾损伤再生修复的过程中被发现的一种新基因,研究证实 Kim-1 在正常肾组织及胚胎肾组织中几乎不表达。由于尿液中脱落的 Kim-1 胞外区水平与组织 Kim-1 的表达密切相关^[14],可反映近端肾小管的损伤。大量 IRI 以及多种肾毒性药物引起的肾损伤动物模型中,近端肾小管上皮细胞表达 Kim-1 水平明显升高,与肾小管的损伤程度密切相关,表明尿 Kim-1 是诊断肾移植 IRI 早期敏感指标^[15]。本研究

采用 BUN、Scr 和 kim-1 三个指标结合尿量评估 RIPC 对同种异体移植术后患者肾功能的影响。结果表明,采用 RIPC 干预后,患者的尿量较未用 RIPC 干预明显增加,血清 BUN、Scr 水平显著下降,尿液 Kim-1 的含量亦显著减少,表明 RIPC 可促进同种异体移植术后患者肾功能的恢复,并减轻移植肾的缺血再灌注损伤。

RIPC 已被证实对 IRI 后的重要脏器有明显的保护作用^[16]。研究认为,直接缺血预处理时保护信息在同一器官中传递,而 RIPC 将保护信息通过神经通路、体液介质或联合作用介导传送到远隔组织器官^[17]。预处理器官释放体液介质传递至缺血再灌注的组织器官,导致远隔器官释放其他的体液介质,激活远隔组织器官局部神经通路和传入神经,引发内源物质释放引起全身应激反应^[18]。不论任何信号通路预处理的基础机制都是通过保护信息的传递和储存,提高细胞阈值预防随后 IRI 损伤。RIPC 保护作用是刺激信号分子释放,通过受体启动细胞内信号通路,继而产生放大影响效应。

目前,RIPC 肾脏延迟保护效应和发生机制正在研究中,认为 e-氧化氮合酶、超氧化物歧化酶、腺苷及其他受体等被激发内源物质与肾脏延迟保护效应有关联性^[19,21]。Jefayri^[22]等发现,在单纯 IRI 组、缺血再灌注组 e-氧化氮合酶均明显升高,而在

IPC+ 缺血再灌注组肾细胞损伤的程度较单纯缺血再灌注组明显减轻。Davies 等^[23]研究发现用多种 IPC 方案,与单纯缺血再灌注组比较,肾小球滤过率(GFR)、肾血流量、Na⁺ 排泄分数在 IPC+ 缺血再灌注组均有明显改善,在预处理后 30 分钟有 39 种基因的 mRNA 表达上调,这些基因编码的蛋白质尤其是细胞骨架肌动蛋白参与蛋白质折叠与细胞结构的重建,并可使 ATP 酶活性快速恢复从而改变可利用的细胞能量来源。Huang 等^[24]采用多种缺血再灌注方案,诱导出肾脏的延迟保护效应,减少白细胞浸润,降低 kim-1 的表达,减轻细胞骨架肌动蛋白对肾组织的损伤作用,使缺血后的肾功能得到改善。总之, RIPC 保护肾 IRI 的作用已得到实验的证实,但具体机制仍待进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Li L, Ma YH, Wang SQ. Effects of preconditioning of wufu jingfang on ischemia/reperfusion injury induced apoptosis in rats[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2013, 33(6): 789-794
- [2] Kramor AB, van Timmeren MM, Schuurs TA, et al. Reduction of proteinuria in adriamycin-induced nephropathy is associated with reduction of renal kidney injury molecule(Kim-1)over time[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2009, 296: 1136-1145
- [3] Perco P, Oberbauer R. Kidney injury molecule-1 as a biomarker of acute kidney injury in renal transplant recipients [J]. Nat Clin Pract Nephrol, 2008, 4: 362-363
- [4] Ravlo K, Koefoed-Nielsen P, Secher N, et al. Effect of remote ischemic conditioning on dendritic cell number in blood after renal transplantation-flow cytometry in a porcine model [J]. Transpl Immunol, 2012, 26(2-3): 146-150
- [5] Thielmann M, Kottenberg E, Kleinbongard P, et al. Cardioprotective and prognostic effects of remote ischaemic preconditioning in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a single-centre randomised, double-blind, controlled trial[J]. Lancet, 2013, 382(9892): 597-604
- [6] Tang YH, Xu JJ, Li JX, et al. Remote postconditioning induced by brief pulmonary ischemia and reperfusion attenuates myocardial reperfusion injury in rabbits[J]. Chin Med J, 2011, 124(11): 1683-1688
- [7] Jang HS, Han SJ, Kim JI, et al. Activation of ERK accelerates repair of renal tubular epithelial cells, whereas it inhibits progression of fibrosis following ischemia/reperfusion injury [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1832 (12): 1998-2008
- [8] Xiaoyi Y, Gang T, Changjun H. Hydrogen Sulfide Protects Cardiomyocytes from Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury by Enhancing Phosphorylation of Apoptosis Repressor with Caspase Recruitment Domain[J]. The Tohoku Journal of Experimental Medicine, 2012, 226: 275-285
- [9] Caetano AM, Vianna Filho PT, Castiglia YM, et al. Erythropoietin attenuates apoptosis after ischemia-reperfusion-induced renal injury in transiently hyperglycemic Wistar rats[J]. Transplant Proc, 2011, 43 (10):3618-3621
- [10] Gong D, Zhang Y, Zhang H, et al. Aldehyde dehydrogenase-2 activation during cardioplegic arrest enhances the cardioprotection against myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. Cardiovasc Toxicol, 2012, 12(4): 350-358
- [11] Wapner RJ. First trimester screening: the BUN study [J]. Semin Perinatol, 2005, 29(4): 236-239
- [12] He J, Li C, Yuan XN, et al. Anti-human leukocyte antigens and anti-major histocompatibility complex class I-related chain A antibody expression in kidney transplantation during a four-year follow-up[J]. Chin Med J, 2013, 126(15): 2815-2820
- [13] Cianci R, Martina P, Cianci M, et al. Ischemic nephropathy: proteinuria and renal resistance index could suggest if revascularization is recommended[J]. Ren Fail, 2010, 32(10): 1167-1171
- [14] Timmeren MM, Heuvel MC, Bailly V, et al. Tubular kidney injury molecule-1(KIM-1)in human renal disease[J]. J Pathol, 2007, 212: 209-217
- [15] Ichimura T, Asseldonk EJ, Humphreys BD, et al. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells[J]. J Clin Invest, 2008, 118: 1657-1668
- [16] Tonomura Y, Tsuchiya N, Torii M, et al. Evaluation of the usefulness of urinary biomarkers for nephrotoxicity in rats [J]. Toxicology, 2010, 273: 53-59
- [17] Dieterich C, Puey A, Lin S, et al. Gene expression analysis reveals new possible mechanisms of vancomycin-induced nephrotoxicity and identifies gene markers candidates[J]. Toxicol Sci, 2009, 107: 258-269
- [18] Vaidya VS, Ozer JS, Dieterle F, et al. Kidney injury molecule-1 outperforms traditional biomarkers of kidney injury in preclinical biomarker qualification studies[J]. Nat Biotechnol, 2010, 28: 478-485
- [19] Sieber M, Hoffmann D, Adler M, et al. Comparative analysis of novel noninvasive renal biomarkers and metabolomic changes in a rat model of gentamicin[J]. Nephrotoxicity-Toxicol Sci, 2009, 109: 336-349
- [20] Zhou Y, Vaidya VS, Brown RP, et al. Comparison of kidney injury molecule-1 and other nephrotoxicity biomarkers in urine and kidney following acute exposure to gentamicin, mercury, and chromium [J]. Toxicol Sci, 2008, 101: 159-170
- [21] Rached E, Hoffmann D, Blumbach K, et al. Evaluation of putative biomarkers of nephrotoxicity after exposure to ochratoxin A in vivo and in vitro[J]. Toxicol Sci, 2008, 103: 371-381
- [22] Jafayri MK, Grace PA, Mathie RT, et al. Attenuation of reperfusion injury by renal ischaemic preconditioning: the role of nitric oxide[J]. BJU Int, 2000, 85(9): 1007-1013
- [23] Davies WR, Brown AJ, Watson W, et al. Remote ischemic preconditioning improves outcome at 6 years after elective percutaneous coronary intervention: the CRISP stent trial long-term follow-up[J]. Circ Cardiovasc Interv, 2013, 6(3):246-251
- [24] Huang J, Chen Y, Dong B, et al. Effect of remote ischaemic preconditioning on renal protection in patients undergoing laparoscopic partial nephrectomy: a 'blinded' randomised controlled trial[J]. BJU Int, 2013, 112(1):74-80