

DOI:10.3969/j.issn.1671-9638.2015.11.003

· 论 著 ·

不合理使用止血带加重切口感染及预处理的保护作用

王 东, 单 磊, 周君琳

(首都医科大学附属北京朝阳医院, 北京 100020)

[摘要] **目的** 通过动物模型探讨止血带对切口感染的影响, 以及探讨缺血预处理对切口感染的作用, 为临床中合理使用止血带提供实验基础。**方法** 100 只 BALB/c 小鼠随机分为 4 组, 每组 25 只小鼠, A 组: 止血带 + 切口耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)感染; B 组: 缺血预处理 + 切口 MRSA 感染; C 组: 切口 MRSA 感染; D 组: 空白对照。比较各组小鼠生存率、体温、血常规及股骨内侧切口周围软组织变化。**结果** 观察期内 A 组小鼠生存率为 68%, B、C、D 组小鼠生存率均为 100%。生存分析结果表明, A 组小鼠生存率低于 B、C、D 组小鼠 ($P < 0.05$)。A、B、C 组小鼠各个时间点体温比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 4 组小鼠体温曲线组间比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 除基础体温外, 其余时间点 4 组小鼠体温差异均有统计学意义 (均 $P < 0.01$)。第 3 天、第 7 天 4 组小鼠血常规 (白细胞总数、粒细胞总数、淋巴细胞总数) 比较, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。第 7 天 4 组小鼠血常规均恢复至正常范围内, 但 A 组小鼠血常规各指标均相对于 B、C、D 组仍偏高。A 组小鼠切片上皮组织均未愈合, 周围组织炎症反应最重; B 组小鼠切片中, 10 只上皮组织愈合, 部分切片可见炎症反应; C 组小鼠中, 4 只上皮组织愈合, 大部分切片可见炎症反应。**结论** 小鼠下肢应用止血带可加重切口感染程度, 延缓切口愈合, 延长机体恢复正常的时间, 甚至导致死亡。制造切口模型前进行缺血预处理可减轻切口感染程度, 缩短切口愈合时间。

[关键词] 止血带; 切口感染; 预处理; 保护作用

[中图分类号] R619 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2015)11-0730-06

Irrational use of tourniquet aggravates incisional infection and protective effect of ischemic preconditioning

WANG Dong, SHAN Lei, ZHOU Jun-lin (Beijing Chao-Yang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the effect of tourniquet on incisional infection based on animal model, and evaluate the effect of ischemia preconditioning on incisional infection, so as to provide experimental basis for the rational use of tourniquet in clinic. **Methods** 100 BALB/c mice were randomly divided into 4 groups, with 25 mice in each group. Group A: tourniquet + methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) incisional infection; group B: ischemic preconditioning + MRSA incisional infection; group C: MRSA incisional infection; group D: blank control. The survival rates, temperature, routine blood testing, and change in soft tissue beside femoral incision were compared among 4 groups. **Results** During observation period, the survival rate in group A was 68%, in group B, C, and D were all 100%, group A was lower than group B, C, and D ($P < 0.05$). The temperature at each time point was significantly different among group A, B, and C ($P < 0.01$); temperature curves of 4 groups were significantly different ($P < 0.01$); except basal body temperature, temperature at the other time points among 4 groups were significantly different (all $P < 0.01$); routine blood testing results (white blood cell count, total granulocyte count, and total lymphocyte count) among 4 groups on the third, and seventh day were significantly different (all $P < 0.05$); on the seventh day, routine blood testing results of 4 groups all returned to normal level, but group

[收稿日期] 2015-03-20

[基金项目] 北京市自然科学基金(7152061)

[作者简介] 王东(1988-), 男(汉族), 山东省临沭县人, 医师, 主要从事创伤骨科研究。

[通信作者] 周君琳 E-mail: zhoujunlin@medmail.com.cn

A was slightly higher than group B,C, and D. Section of epithelial tissue revealed that epithelial tissue in group A was not healed, inflammatory response of peripheral tissue was most serious; epithelial tissue in 10 mice in group B was healed, partial peripheral tissue revealed inflammatory response; epithelial tissue in 4 mice in group C was healed, most peripheral tissue revealed inflammatory response. **Conclusion** Mice incisional infection will be aggravated by using lower limb tourniquet, incision healing and body function recovery time will be delayed, even lead to death. Ischemic preconditioning before making an incision model can reduce the severity of incisional infection, and shorten wound healing time.

[**Key words**] tourniquet; incisional infection; preconditioning; protective effect

[Chin Infect Control, 2015, 14(11): 730-734, 739]

切口感染是外科手术常见的并发症之一,切口感染不仅延长患者住院时间、增加住院费用,还可导致切口愈合延迟甚至裂开,严重的可引起全身感染,导致死亡^[1-3]。骨科手术作为常见的外科手术,其目的是对受到损伤的骨骼进行修复或重建,以恢复原来的功能^[4]。骨科手术需对手术部位的组织进行切开分离,并在骨骼受损部位植入内固定物,所以,一定程度上增加了术后切口感染的风险^[5]。大出血是创伤早期导致死亡的主要原因之一,自 1718 年 Petit 发明了止血带并将其应用于临床,止血带在四肢手术中起到了重要的作用^[6-7]。止血带不仅提供了清晰的视野,也缩短了手术时间。但随着止血带的普及,关于止血带并发症的报道也逐渐增多^[6],部分研究^[8-11]认为,与缺血再灌注损伤有关。研究^[12-13]表明,应用止血带会增加术后切口感染的风险,但目前国内外关于止血带对切口感染影响的研究还很少。本研究通过动物模型探讨止血带对切口感染的影响,以及探讨缺血预处理对切口感染是否具有保护作用,为临床合理使用止血带提供实验基础。

1 材料与方 法

1.1 材料 动物: BALB/c 小鼠购自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心,许可证号为 SCXK-(军)2012-0004,所有 BALB/c 小鼠均质量检测合格,均为 SPF 级,56 d 日龄,雌性,体重均为 20 g 左右,每只动物使用 1 次。饲料、动物垫料均由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,饲养饮用水采用美国密理博公司生产的 Milli-Q Advantage A10 型纯水器净化的无菌 I 级超纯水,小鼠 24 h 均可饮水、进食。所有小鼠均饲养于北京维通利华实验动物技术有限公司提供的小鼠饲养笼中,每个笼中饲养 1 只小鼠,排除因动物间撕咬产生的体温变

化。置于恒温小动物饲养室饲养,饲养室为 ABSL-2 实验室,室温为 23.6℃,湿度为 35%,实验室中央空调及排风系统由意大利卡乐公司生产,机组 24 h 开启,风速为 0.15 m/s。光源为 LED 日光灯管提供,为荷兰皇家飞利浦电子公司生产。饲养室昼夜明暗交替时间为 12 h / 12 h,照度为 18 lx。所有动物实验均由首都医科大学动物伦理委员会审查通过。菌株:耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)标准菌株 ATCC 33591 由廊坊市人民医院提供。试剂:戊巴比妥钠由首都医科大学实验动物中心提供。

1.2 方 法

1.2.1 试验菌液的制备 将 MRSA 标准菌株接种于 LB 肉汤培养基中,37℃ 培养。每隔 1 h 吸取菌液 0.2 mL,无菌生理盐水稀释 10 倍,用无菌生理盐水作为空白样品,测量波长为 600 nm 时的光密度值(OD 值),当 OD 值增长较快时,表明细菌生长处于对数期^[14-15]。取处于生长对数期的菌液于 4℃、6 000 r/min 离心 15 min,弃上清,用无菌生理盐水洗涤 3 次,将细菌重悬于无菌生理盐水中。取 0.2 mL 菌悬液,用无菌生理盐水稀释 10 倍后再取 0.2 mL,再用无菌生理盐水稀释 10 倍,重复上述 10 倍稀释法,直至稀释至 10⁴ 倍。取稀释 10⁴ 倍的菌液 0.2 mL 至无菌试管中,加入 0.4 mL 台盼蓝溶液充分混匀,染色 2 min 左右。吸取 2 μL 染色菌液,缓慢流入擦净的细胞计数板计数池内,静置 2 min 后用显微镜计数。根据细菌计数结果用无菌生理盐水稀释至细菌浓度为 1.8 × 10⁹ CFU/mL 左右,备用。

1.2.2 模型的制备与分组 小鼠下肢止血带模型:小鼠按 40 mg/kg 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,右下肢大腿根部橡皮筋捆扎,小动物 B 超仪证实阻断血流,制备右下肢止血带模型。缺血预处理模型:用橡皮筋于小鼠右大腿根部捆扎 10 min,小动物 B 超仪证实阻断血流,再松解 10 min,重复 3 次。下肢切

口 MRSA 感染模型:参考毛小泉等^[16]报道的切口感染模型制备方法,小鼠麻醉后于 23℃ 恒温小动物手术台上右下肢备皮,消毒、铺无菌洞巾,取右侧大腿内侧纵行切口,长约 5 mm,深度约 3 mm,均未划开深筋膜。将备用的 1.8×10^9 CFU/mL 的菌液缓慢滴入切口,同时,用无菌接种针涂擦于切口表面,切忌将菌液溢出切口外。制模后第 4 天观察小鼠切口情况,发现采用 0.5 mL 菌液可以制作稳定的切口感染模型。取 100 只 BALB/c 小鼠,随机分为 4 组,每组 25 只小鼠。A 组:止血带 + 切口 MRSA 感染;B 组:缺血预处理 + 切口 MRSA 感染;C 组:切口 MRSA 感染;D 组:空白对照。所有小鼠测体重、体温,取平均值。A 组小鼠制作止血带模型后,立即制作下肢切口 MRSA 感染模型,B 组小鼠制作缺血预处理模型后立即制作下肢切口 MRSA 感染模型,C 组小鼠制作下肢切口 MRSA 感染模型,D 组小鼠不做处理。

1.2.3 小鼠生存率、体温、血常规观察 A 组小鼠制备下肢止血带模型 1 h 后松开橡皮筋。观察所有小鼠生存情况,记录所有小鼠制备股骨内侧切口 MRSA 感染模型后 1~7 d 体温变化,以及 72 h、7 d 眼内眦静脉取血,测血常规。

1.2.4 股骨内侧切口周围软组织镜下观察 7 d 后处死所有小鼠,取各组小鼠切口周围软组织,用福尔马林固定,对组织进行脱水及石蜡包埋,垂直于切口进行切片。D 组小鼠取与 A、B、C 组小鼠相同部位的软组织,采用与肢体呈同样角度方向进行切片,镜下观察,研究组织炎症反应情况。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,统计分析按实验分组进行,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组小鼠生存率比较采用生存分析法,各组小鼠不同时间点体温采用重复测量设计资料的方差分析进行比较,各组小鼠血常规采用多变量方差分析进行比较。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠生存率比较 观察期内 A 组小鼠生存率为 68%,B、C、D 组小鼠生存率均为 100%。生存分析结果表明,A 组小鼠与 B、C、D 组小鼠生存率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),生存曲线图直观地显示了 A 组小鼠的生存率低于 100%。见图 1。

2.2 各组小鼠体温变化 球形检验结果显示 $P < 0.05$ 。D 组小鼠各个时间点体温变化,差异无统计

学意义($P = 0.13$);A、B、C 组小鼠各个时间点体温变化,差异有统计学意义($P < 0.01$)。4 组小鼠体温曲线组间比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。多变量方差分析,4 组小鼠基础体温比较,差异无统计学差异($P = 0.86$),而其余时间点上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。见图 2。

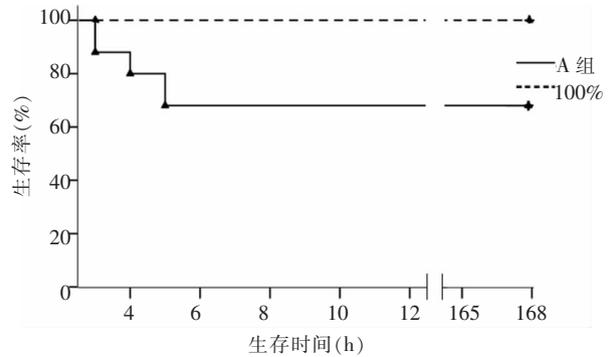


图 1 A、B、C 组小鼠生存曲线比较

Figure 1 Survival curves of mice in group A, B, and C

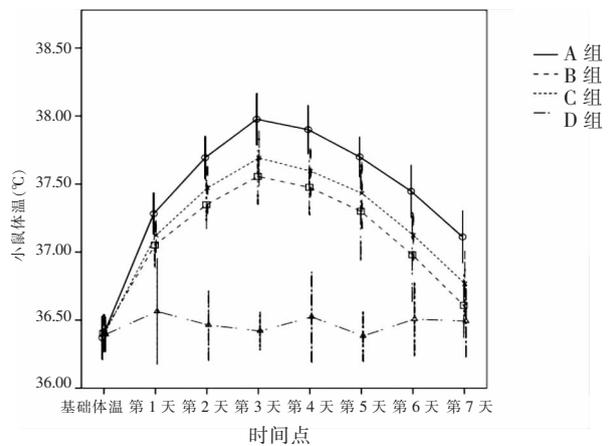


图 2 4 组小鼠体温变化曲线

Figure 2 Change in temperature curves of 4 groups of mice

2.3 各组小鼠血常规结果比较 组内比较:不同时间 4 组小鼠血常规比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。组间比较,第 3 天、第 7 天 4 组小鼠血常规(白细胞总数、粒细胞总数、淋巴细胞总数)比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见图 3。第 7 天 4 组小鼠血常规均恢复至正常范围内,但 A 组小鼠白细胞、粒细胞、淋巴细胞相对于 B、C、D 组仍偏高,见图 4。

2.4 股骨内侧切口周围软组织观察结果 A 组小鼠肉眼观察:软组织肿胀,周围组织内可见散在脓性分泌物;切口切片镜下显示:所有切口上皮组织均未愈合,局部组织破坏,血管扩张充血,以及坏死脱落细胞,大量吞噬细胞浸润。B 组小鼠肉眼观察:软组

织未见明显肿胀,4 只小鼠切口周围组织内可见散在点状脓性分泌物;切口切片镜下显示:10 只小鼠切口上皮组织愈合,6 只小鼠切片中可见到坏死脱落细胞,少量吞噬细胞浸润;血管未见明显扩张充血。C 组小鼠肉眼观察:软组织稍肿胀,16 只周围组织内可见脓性分泌物;切口切片镜下显示:所有小

鼠均可见到坏死脱落细胞,吞噬细胞浸润,其中 4 只小鼠切口上皮组织愈合,8 只小鼠切片中血管扩张充血。D 组小鼠软组织无肿胀;切片镜下显示:均为正常组织结构,无吞噬细胞、淋巴细胞、中性粒细胞浸润,血管无扩张充血。见图 5。

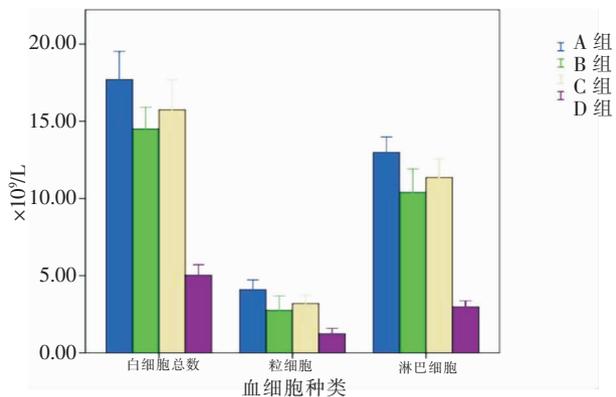


图 3 各组小鼠第 3 天血常规结果

Figure 3 Routine blood testing results of each group on the third day

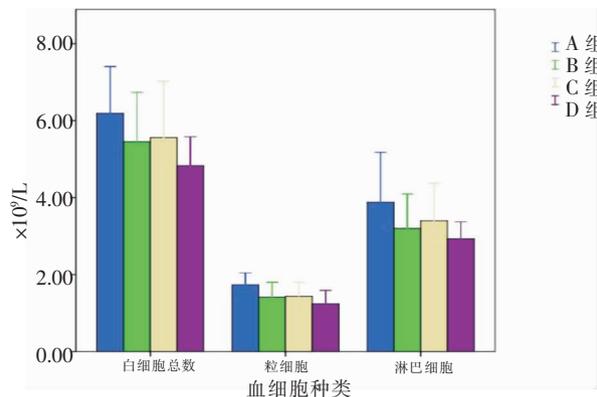


图 4 各组小鼠第 7 天血常规结果

Figure 4 Routine blood testing results of each group on the seventh day

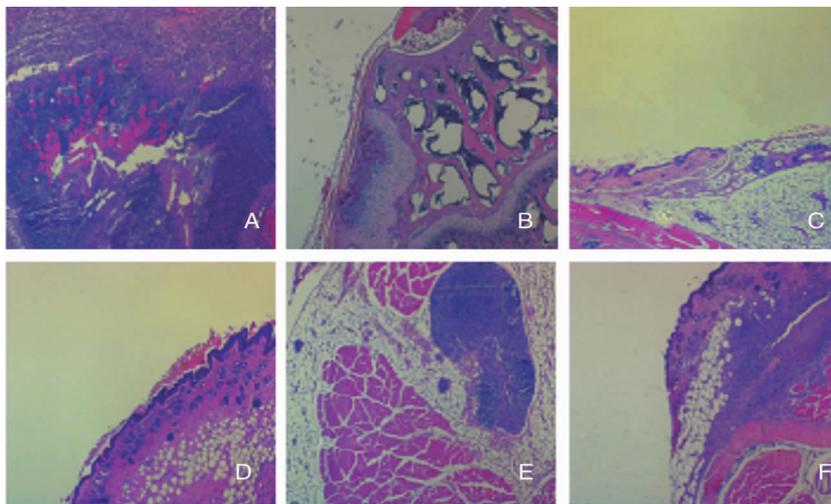


图 A、B:为 A 组小鼠切片,显示切口局部软组织破坏,炎性细胞浸润,上皮组织未愈合;
图 C:为 B 组小鼠切片,显示切口上皮组织虽未愈合,但皮下炎性反应较轻;
图 D:为 B 组小鼠切片,显示上皮组织已愈合,皮下炎性反应不明显;
图 E:为 C 组切口局部皮下积液小鼠切片,显示切口吞噬细胞浸润;
图 F:为 C 组小鼠,显示上皮组织未愈合,皮下炎性反应较重

图 5 各组病理切片(×40)

Figure 5 Pathological section of each group(×40)

3 讨论

本组实验在无菌环境下进行,动物均饲养于无菌饲养室,确保感染切口的细菌均为研究中接种的

细菌。小鼠右下肢应用止血带,造成缺血,此时肢体血流减慢,组织供氧能力减弱。组织缺氧导致细胞 ATP 合成减少,无氧酵解增加,局部乳酸增多,pH 下降,影响细胞膜通透性,钠离子进入细胞增多,造成细胞水肿。同时,缺氧影响钠与钙交换,造成胞内

钙超载,损伤细胞膜。缺氧通过氧化应激、钙稳态紊乱等机制影响线粒体结构与功能,造成线粒体肿胀、外膜破裂等。组织局部乳酸增多造成酸中毒,胞内钙超载等因素可以激活磷脂酶,使溶酶体稳定性降低,破坏细胞。同时研究^[17]发现,缺血会导致骨骼肌细胞凋亡,造成组织损伤。MRSA 为革兰阳性球菌,依靠外毒素侵袭组织,侵袭力强,易造成化脓性感染。本组实验制备小鼠止血带模型过程中,右下肢缺血 1 h,此时组织血流减慢、细胞损伤,MRSA 分泌的凝固酶更易导致细菌凝集,使血浆纤维蛋白包被在细菌表面,保护细菌免受血清杀菌物质的作用。组织细胞膜受损,MRSA 分泌的葡萄球菌毒素更易破坏细胞,造成细胞坏死,加重组织损伤。组织缺血 1 h 后再松开橡皮筋,出现右下肢缺血再灌注损伤。通过增加黄嘌呤氧化酶,激活中性粒细胞造成大量氧自由基释放,进一步破坏细胞膜,影响 ATP 合成,加重组织损伤^[18-19]。巨噬细胞释放大炎症因子^[20],激活血管内皮细胞表面黏附分子的表达,促进血管内大量中性粒细胞、淋巴细胞等免疫细胞与血管内皮黏附,渗透到血管外。缺血再灌注组织血管内内皮细胞 ICAM-1 表达增加,使中性粒细胞黏附于血管壁上,造成“无复流现象”^[21]。机体对于侵入循环系统的 MRSA 杀伤力减弱,并且血管外吞噬细胞大量吞噬组织坏死及凋亡细胞,对 MRSA 的侵袭限制作用也存在一定程度的减弱。造成 A 组小鼠感染症状严重,出现死亡,切口局部组织感染程度较其他组小鼠严重,切口愈合延缓。

缺血预处理最早是由 Murry 等于 1986 年在犬心肌缺血模型中发现,1992 年首次将缺血预处理应用于骨骼肌,发现不仅能提高骨骼肌对缺血的耐受性,还可以缩小骨骼肌坏死的范围^[22]。在制作小鼠股骨内侧切口前先对右下肢进行缺血预处理,使右下肢组织先产生保护机制。缺血预处理的保护机制有两种:一种为早期保护作用,一般在缺血预处理结束后开始,维持 2~3 h;一种为延迟保护作用,一般在缺血预处理结束后 24 h 开始,约持续 48 h 左右^[23-24]。目前普遍认为,缺血预处理产生的细胞保护机制是多种因素共同参与的结果。反复短暂缺血、灌注,使组织分泌大量物质,这些物质作用于细胞表面的受体,使细胞对缺氧有耐受作用,同时发现蛋白激酶 C 在缺血预处理产生的细胞保护机制中起重要作用^[22]。缺血预处理使组织产生的物质募集中性粒细胞、淋巴细胞等,并且使局部循环加快,从而加强组织的抗感染能力。

目前,关于缺血预处理促进组织愈合的研究很少^[25]。王新民^[26]发现,缺血预处理能够促进真皮下血管网皮片的新生毛细血管数。因此本实验 B 组小鼠切口感染程度较 C 组轻,且切口愈合时间缩短。下一步需扩大样本量深入研究缺血预处理的抗感染机制。

[参 考 文 献]

- [1] Uckay I, Hoffmeyer P, Lew D, et al. Prevention of surgical site infections in orthopaedic surgery and bone trauma: state-of-the-art update[J]. *J Hosp Infect*, 2013, 84(1): 5-12.
- [2] 黄荔红, 游荔君, 王佳, 等. 手术部位感染回顾性调查及危险因素分析[J]. *中国感染控制杂志*, 2013, 12(2): 97-100.
- [3] 彭美玲, 刘惕, 周健, 等. 骨科手术部位感染危险因素[J]. *中国感染控制杂志*, 2014, 13(11): 665-668.
- [4] 邓文涛. 骨科手术术后切口感染原因分析[J]. *中国中医药咨讯*, 2011, 3(19): 116.
- [5] 杨晓丽, 马长林. 骨科手术部位感染的危险因素及干预措施[J]. *中国消毒学杂志*, 2013, 30(7): 670-671.
- [6] 张爱华, 张静, 桂莉. 止血带在外科止血中的应用及研究进展[J]. *解放军护理杂志*, 2004, 21(1): 34-36.
- [7] 陈国艺, 利春叶. 止血带的临床运用及其常见并发症的研究进展[J]. *医学综述*, 2012, 18(7): 1071-1073.
- [8] 王良荣, 熊明清, 金立达, 等. 止血带应用对下肢手术患者心、肝、肾功能的影响[J]. *医学研究杂志*, 2012, 41(4): 89-91.
- [9] 盛希. 下肢止血带使用时间对组织代谢及血流动力学影响的研究[J]. *医学信息*, 2014, 27(3): 65-66.
- [10] 杨光, 崔苏扬. 止血带应用与缺血-再灌注损伤[J]. *临床麻醉学杂志*, 2008, 24(6): 548-550.
- [11] Saricaoglu F, Dal D, Salman AE, et al. Effect of low-dose N-acetyl-cysteine infusion on tourniquet-induced ischaemia-reperfusion injury in arthroscopic knee surgery[J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2005, 49(6): 847-851.
- [12] Abdel-Salam A, Eyres KS. Effects of tourniquet during total knee arthroplasty. A prospective randomised study[J]. *J Bone Joint Surg*, 1995, 77(2): 250-253.
- [13] Salam AA, Eyres KS, Cleary J, et al. The use of a tourniquet when plating tibial fractures[J]. *J Bone Joint Surg*, 1991, 73(1): 86-87.
- [14] Mytilinaios I, Salih M, Schofield HK, et al. Growth curve prediction from optical density data[J]. *Int J Food Microbiol*, 2012, 154(3): 169-176.
- [15] Dijkstra CE, Larkin OJ, Anthony P, et al. Diamagnetic levitation enhances growth of liquid bacterial cultures by increasing oxygen availability[J]. *J R Soc Interface*, 2011, 8(56): 334-344.
- [16] 毛小泉, 谢文扬. 颌面部感染伤口实验动物模型的建立[J]. *海南医学院学报*, 2007, 13(1): 19-20, 60.

- 2008[J]. Natl Vital Stat Rep, 2009, 49(8): 1-12.
- [2] CLSI/NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; fifteenth informational supplements [S]. M100S16, 2007, 5(1): 36-43.
- [3] 林楚怀, 刘益丹. 某院连续 3 年血培养病原体分布及其耐药性[J]. 中国感染控制杂志, 2014, 13(1): 40-42.
- [4] 孙国全, 王倩, 褚云卓, 等. 28 179 例血培养病原菌分布及耐药性分析[J]. 微生物学杂志, 2013, 33(5): 102-105.
- [5] 陈婷, 杨力, 刘慧, 等. 新生儿重症监护室常见病原菌分布及耐药性[J]. 中国感染控制杂志, 2013, 12(4): 300-303.
- [6] 李光辉, 朱德妹, 汪复, 等. 2011 年中国 CHINET 血培养临床分离菌的分布及耐药性[J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(4): 241-247.
- [7] 邢志广, 孙文莹, 周位强, 等. 葡萄球菌属的分离鉴定与耐药性监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(7): 881-884.
- [8] 刘海波, 朱光发, 王爱萍, 等. 医院获得性血流感染的临床与病原学分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(3): 176-180.
- [9] Taylor PC, Schoenknecht FD, Sherris JC, et al. Determination of minimum bactericidal concentrations of oxacillin for *Staphylococcus aureus*; influence and significance of technical factors [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1983, 23(1): 142-150.
- [10] 李智山, 邓三季. 葡萄球菌医院感染及耐药谱分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2004, 14(6): 691-692.
- [11] 童照威, 王伟洪, 施柏年. 常见葡萄球菌感染及耐药分析[J]. 中国实用内科杂志, 2005, 25(9): 810-811.
- [12] 陈婷, 杨力, 徐文君, 等. 新生儿葡萄球菌属感染分布与耐药性分析[J]. 中国实用儿科杂志, 2014, 29(1): 52-54.
- [13] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2011 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(5): 321-329.
- [14] Russell CM, Axon JE, Blishen A, et al. Blood culture isolates and antimicrobial sensitivities from 427 critically ill neonatal foals [J]. Aust Vet J, 2008, 86(7): 266-271.
- [15] 陈潇, 徐修礼, 樊新, 等. 10 941 份血培养标本中病原菌群分布及耐药性分析[J]. 中国感染控制杂志, 2010, 9(4): 264-266.

(本文编辑:张莹)

(上接第 734 页)

- [17] Madeddu P, Emanuelli C, Pelosi E, et al. Transplantation of low dose CD34+ KDR+ cells promotes vascular and muscular regeneration in ischemic limbs[J]. FASEB J, 2004, 18(14): 1737-1739.
- [18] Koksals C, Bozkurt AK, Ustundag N, et al. Attenuation of acute lung injury following lower limb ischemia/reperfusion; the pharmacological approach[J]. J Cardiovasc Surg, 2006, 47(4): 445-449.
- [19] Pang CY, Forrest CR. Acute pharmacologic preconditioning as a new concept and alternative approach for prevention of skeletal muscle ischemic necrosis[J]. Biochem Pharmacol, 1995, 49(8): 1023-1034.
- [20] Seekamp A, Warren JS, Remick DG, et al. Requirements for tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 in limb ischemia/reperfusion injury and associated lung injury[J]. Am J Pathol, 1993, 143(2): 453-463.
- [21] Harris AG, Skalak TC. Effects of leukocyte capillary plugging in skeletal muscle ischemia-reperfusion injury[J]. Am J Physiol, 1996, 271(6): H2653-H2660.
- [22] 王晓军, 王爱民. 缺血预处理对骨骼肌再灌注损伤保护作用研究进展[J]. 国外医学(骨科学分册), 2004, 25(4): 234-236.
- [23] Bolli R, Manchikalapudi S, Tang XL, et al. The protective effect of late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits is mediated by nitric oxide synthase. Evidence that nitric oxide acts both as a trigger and as a mediator of the late phase of ischemic preconditioning [J]. Circ Res, 1997, 81(6): 1094-1107.
- [24] 顾国嵘, 黄培志, 葛均波, 等. 缺血及三七皂甙预处理对心肌缺血-再灌注损伤的保护作用[J]. 中华急诊医学杂志, 2005, 14(4): 307-309.
- [25] Baumgartner I, Pieczek A, Manor O, et al. Constitutive expression of pVEGF165 after intramuscular gene transfer promotes collateral vessel development in patients with critical limb ischemia[J]. Circulation, 1998, 97(12): 1114-1123.
- [26] 王新民. bFGF, 缺血预处理对带真皮下血管网皮片周缘血运建立的研究[D]. 河北: 河北医科大学, 2008.

(本文编辑:陈玉华)