

缺血预处理、远距预处理和缺血后处理与心肌保护

夏 强, 高 琴

(浙江大学医学院 生理学系, 浙江 杭州 310058)

[摘 要] 缺血预处理、远距预处理和缺血后处理是20世纪80年代以来提出的抗缺血性心肌疾病的三种重要手段。这三种干预方式有其各自的优缺点, 共享部分机制但存在差异。深入研究缺血处理的方式和机制有助于寻找防治缺血性心脏病、保护缺血心肌和促进心肌功能恢复的有效方法。

[关键词] 缺血预处理; 远距预处理; 缺血后处理; 心肌再灌注损伤; 心肌缺血/预防和控制; 心肌/预防和控制; 钾通道; 钙激活/代谢

[中图分类号] Q 463 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2007)01-0001-06

多年以来, 心血管疾病一直被 WHO 列为人类疾病的最主要的死亡原因, 其中, 缺血性心脏疾病导致的死亡率接近二分之一。因此, 有效预防心肌缺血的发生、保护缺血心肌、促进心肌功能恢复, 进而提高缺血性心脏病患者的生存率具有非常重要的实践意义。1986 年 Murry 等人^[1]首次提出, 反复多次的短暂心肌缺血——缺血预处理(ischemic preconditioning)可降低其后长时间的心肌缺血/复灌损伤, 发挥心肌保护作用。近年来又提出了一种新的预处理方式——远距预处理(remote preconditioning), 即离心脏较远的器官或组织(如肾、小肠、骨骼肌等)的短暂缺血/复灌, 不仅能减轻自身器官或组织对随后较长时间的缺血/复灌损伤, 对远隔的心脏也具有保护作用^[2]。但在临床上, 患者往往在出现严重心绞痛或发生心肌梗塞后才到医院就诊, 缺血预处理或远距预处理虽然具有减轻心肌缺血损伤、保护心肌的作用, 但这两种预处理均必须施加在心肌缺血发生之前, 这显然限制了预处理保护心肌作用在临床上的应用范围。2003 年, Vinten-Johansen 的实验室^[3]首先报道, 对在体犬心肌实施缺血后复灌初期多次短暂复灌/缺血的处理方式——缺血后处理(ischemic postconditioning), 该处理方式具有心肌保护作用。其后, 有学者将该种处理应用于家兔、大鼠心脏、大鼠心肌细胞等, 在不同的动

物种类上缺血后处理均表现出心肌保护作用。与缺血预处理或远距预处理比较, 缺血后处理方式最大的优点在于保护性的多次短暂复灌/缺血是施加于缺血发生之后。这种心肌保护方式的临床应用范围包括冠脉干预手术、冠脉旁路手术和器官移植等领域。

1 缺血预处理的心肌保护机制

缺血预处理是施加在长期缺血之前反复多次的短暂心肌缺血/复灌。该处理方式是否发挥心肌保护作用与其反复多次的短暂缺血时间密切相关。1~2 min 的心肌缺血后给予复灌不能发挥心肌保护作用^[4-6], 3~5 min 的心肌缺血后给予至少 5 min 的复灌才能发挥心肌保护作用^[1]; 而单次的短暂缺血和反复多次的短暂缺血均可发挥心肌保护作用。缺血预处理引起的心肌保护作用表现为即时效应(数分钟内发生, 作用持续 2 h 左右)和迟缓效应(即第二窗口效应, 24 h 后重现保护作用, 并持续 72 h 以上)^[1]。

心脏缺血预处理作用机制研究较多, 其信号转导及其分子机制渐趋明确。根据目前对心脏缺血预处理的信号转导途径中不同作用环节

收稿日期: 2006-12-18 修回日期: 2006-12-26

作者简介: 夏 强(1961—), 男, 教授, 博导; E-mail: xiaqiang@zju.edu.cn.

的了解,将其涉及的物质分为触发物质、中介物质和效应物质。触发物质主要是指缺血预处理时释放的大量内源性活性物质,在受体水平发挥调节作用;中介物质则以受体后多种蛋白激酶为主;效应物质主要包括产生最终效应的离子通道和保护蛋白。一般来说,无论是即时性或迟发性心肌保护,都通过释放内源性活性物质触发细胞内信号转导途径介导^[7-8]。

1.1 经典缺血预处理的细胞机制 经典缺血预处理即早期预处理或缺血预处理的即时效应。其心肌保护的细胞机制分如下几个方面:

1.1.1 触发机制:包括受体依赖和非受体依赖的触发机制。

受体依赖的触发机制:现在已知与 G_i 蛋白耦联的受体均可触发缺血预处理的即时效应,触发物质包括腺苷、阿片肽和缓激肽等。腺苷的不同受体在预处理中的作用不同,阻断腺苷的 A_1 和 A_3 受体(不是 A_2 受体)可完全取消预处理的心肌保护作用^[9-12]。在阿片受体中, δ 阿片受体参与预处理的保护机制已经得到共识,但 κ 阿片受体是否参与其中各家报道不一致^[13-14]。有报道缓激肽的触发效应只发生在单次的缺血预处理中,在延长的预处理中,腺苷和缓激肽发挥协同的保护效应^[15]。另外,前列腺素、去甲肾上腺素、血管紧张素和内皮缩血管肽也可发挥触发作用,但尚存在争议。

非受体依赖的触发机制:一氧化氮(NO)、自由基的释放(自由基可激活 G 蛋白、蛋白激酶和 ATP 敏感性钾通道)、钙的释放均参与缺血预处理的保护作用,但机制不完全清楚。

1.1.2 介质:指参与缺血预处理心肌保护作用的信号转导途径成分,包括 ATP 敏感性钾通道、蛋白激酶 $C(PKC)$ 、酪氨酸激酶(TK)、丝裂原激活的蛋白激酶($MAPK$)和三磷酸肌醇(IP_3)等。根据分布部位的不同将 ATP 敏感性钾通道分为两种:肌膜和线粒体 ATP 敏感性钾通道,这两种通道均在预处理中发挥作用。近期报道,线粒体 ATP 敏感性钾通道可能发挥触发作用而不是起介质的作用,亦有报道两种钾通道可能发挥终末效应器的作用。 PKC 和 TK 也是介导预处理的重要因素,预处理期间抑制 PKC 或 TK 不能取消预处理的心肌保护作用,

而缺血期间抑制 PKC 或 TK 均取消预处理的心肌保护作用。

1.1.3 可能的终末效应器:缺血预处理引起的心肌保护作用的终末效应器包括代谢效应、肌膜和线粒体 ATP 敏感性钾通道、线粒体通透性转换孔($MPTP$)、 Na^+-H^+ 交换器、细胞骨骼、凋亡、缝隙连接、自由基、肿瘤坏死因子- α 等。

1.2 缺血预处理第二保护窗的机制 缺血预处理的第二保护窗是指缺血预处理心肌保护作用的迟效效应(即第二保护窗口效应)。其机制与经典的缺血预处理有所不同。①触发机制:包括腺苷、 NO 、缓激肽、阿片肽、前列腺素类、儿茶酚胺类等。②介质:缺血预处理第二保护窗的信号转导途径包括 PKC 、 TK 和 $MAPK$ 等。③可能的终末效应器:包括热应激蛋白(如 $HSP72$)、抗氧化酶系统(SOD 、 $catalase$ 、 $glutathione$ peroxidase)、环加氧酶($COX-2$)、线粒体 ATP 敏感性钾通道和 NO 。另外,近年来提出复灌损伤抢救激酶(reperfusion injury salvage kinase, $RISK$)途径参与预处理、心肌缺血及心肌复灌的整个过程^[16]。

2 远距预处理的心肌保护机制

到目前为止,远距预处理的形式包括心内预处理(intra-cardiac preconditioning)、器官间预处理(inter-organ preconditioning)和心脏间转移性预处理(transferred inter-cardiac preconditioning)三种。①心内预处理的心肌保护作用是指局部阻断一个冠脉分支,引起该分支支配的局部心肌短暂缺血,随后对未受过处理的其他部位心肌产生保护作用,对缺血损伤产生耐受。②器官间预处理的心肌保护作用是指远离心脏的一个器官(如小肠和肾脏)或组织(如肢体部位的骨骼肌)遭受短暂的缺血处理,可使远隔的心脏对缺血产生耐受性。短暂的肠系膜动脉或肾动脉阻断,或肢体骨骼肌和脑缺血,都可引发心肌保护作用。③心脏间转移性预处理是指缺血预处理的保护作用可以在心脏间转移,即保护作用可以通过收集和运输冠脉流出液在很大的距离范围内从一个心脏转移到另一个心脏。

远距预处理的机制远未了解。从以上对主要

的缺血预处理心肌保护机制的了解,从理论上来说,远距预处理的心肌保护作用机制应该与上述的三个环节密切相关,或是相关机制的延伸。

2.1 心内预处理保护机制 已有的研究证据提示,短暂的缺血预处理可能引起心脏内“保护因子”的激活、生成或转运。已知心脏内某一血管床的缺血伴随着心脏非缺血区域的血管扩张,牵张也可能对远距的缺血提供一个“信号”,并通过激活机械敏感的离子通道引起心肌保护性的信号转导(如PKC的激活和转位、 IP_3 的生成等)。在家兔心脏,药理学证据表明腺苷受体刺激,PKC和ATP敏感性钾通道(均为公认的常规缺血预处理中的中介物质)是牵张诱导的心肌保护机制。另一方面,在心内预处理中,如果存在保护性因子从缺血预处理区向其他心肌“转运”,则最可能的潜在途径是通过冠脉前降支与旋支之间的侧支血管或扩散。但是,通过侧支血管转运在极少侧支血管的大鼠心脏模型是不可能的,而时间和空间的限制表明扩散也不可能是一个有效的备选途径。一个有趣的概念是通过缝隙连接转运信息物质。有证据表明,缝隙连接介导的信息传递在常规缺血预处理中发挥作用。虽然,在心肌细胞间转移的保护因子的性质尚不清楚,但是 IP_3 是一个可能的备选物质,因为在缺血预处理中 IP_3 升高(提示其参与常规的缺血预处理的心肌保护作用)并能通过缝隙连接。这些思路有待于进一步的前瞻性研究。

2.2 器官间预处理保护机制 现有的研究资料表明,由肾脏和小肠远距预处理引起的心脏保护作用最终是由心肌的腺苷受体激活、PKC激活/转位和线粒体/肌膜ATP敏感性钾通道开放完成的^[17]。肠系膜动脉短暂缺血预处理也可产生远距的延迟的心肌保护作用,类似于常规缺血预处理的“第二窗口”。在在体大鼠和家兔模型,短暂的小肠缺血24~72 h后,心肌梗死面积降低,其机制可能与一氧化氮合酶的诱导和/或capsaicin敏感的感觉神经激活有关。远距预处理的双相时间效应和机制尚需要进一步的证实。肢体远距预处理是除肾脏和小肠外研究器官间预处理机制的主要对象,其机制涉及阿片受体(主要是 δ_1 -阿片受体)激活和PKC激活/转位,肢体远距预处理的保护物质可能是通过体液途径

传递的。但是,并不能排除通过肢体感觉神经传入的神经信息传递引起心脏作用。本实验室近期研究发现, κ -阿片受体和线粒体渗透性转换孔参与了肢体远距预处理的心肌保护^[18]。

2.3 心脏间转移性预处理的保护机制 心脏间转移性预处理的保护机制目前尚不明确,但体液性因子的可能性较大。由离体兔心的实验所知,腺苷和去甲肾上腺素的释放和转移这两种看来明显的备选物已被排除,细胞保护的介质可能与阿片肽有关。

3 缺血后处理的心肌保护机制

缺血后处理是否能发挥心肌保护作用,最关键的影响因素有两个方面:循环次数和短暂缺血/复灌的持续时间。大鼠在体缺血/复灌(缺血30 min,复灌3 h)模型上发现,3~6个循环(总时程为1~2 min)明显降低了心肌梗死面积。当缺血后处理被延迟了1 min后,3个循环的后处理的保护作用消失。在家兔模型上,4~6个循环的后处理发挥了心肌保护作用。3~6个循环的后处理应用于小鼠的离体心脏灌流模型上也具有心肌保护作用。短暂缺血/复灌的持续时间相对于循环次数来看,可能发挥更重要的作用。30 s的时间间隔在在体犬和在体、离体家兔的心肌缺血/复灌模型上均发挥了心肌保护作用。Cohen的实验室在离体家兔模型上进一步发现10 s的时间间隔发挥更强的心肌保护作用。1 min的时间间隔心肌保护作用则消失。在大鼠的离体、在体模型上发现,10 s或者15 s的时间间隔可发挥心肌保护作用,但30 s的时间间隔保护作用不存在。近期文献报道,在猪的在体心脏缺血/复灌模型上,3个循环的30 s复灌、30 s缺血未表现出心肌保护作用,但ERK和Akt的磷酸化表达增高。综上所述,越小的动物后处理过程中所需的短暂缺血、复灌的时间间隔越短,越大的动物需要越长的时间间隔。

缺血后处理过程中存在着众多的调节因素参与心肌保护作用,与缺血预处理一样,将缺血后处理过程中所涉及的机制分为触发机制、介质和终末效应器。

3.1 触发机制 包括腺苷、缓激肽或阿片类物质。缺血后处理中反复多次的短暂缺血/复灌对

于心肌保护来说是至关重要的。长时间缺血后施加的后处理可能引起内源性物质如腺苷、缓激肽或阿片类物质等的释放发生改变。复灌初期的短暂缺血/复灌将延迟内源性腺苷或嘌呤类物质的洗脱。有报道表明内源性腺苷的释放参与缺血后处理的心肌保护。进一步实验发现,缺血后处理发挥的心肌保护作用与腺苷 A₂ 和 A₃ 受体的激活有关,而与 A₁ 受体无关^[19]。缺血后处理过程中内源性腺苷释放的洗脱被延迟,允许更高浓度的腺苷发挥心肌保护作用。本实验室近期发现,δ 和 κ 阿片受体均参与了缺血后处理的心肌保护作用^[20-21]。

3.2 介质

3.2.1 ATP 敏感性钾通道: Yang^[22]等报道,在后处理的心肌保护作用中存在着亚细胞机制和分子机制。这些机制与缺血预处理涉及的机制类似,线粒体 ATP 敏感性钾通道参与缺血后处理的心肌保护。然而,肌膜上的 ATP 敏感性钾通道是否参与保护作用尚不清楚。ATP 敏感性钾通道可能同时也发挥终末效应器的作用。

3.2.2 NO: Yang^[22]等指出一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)也参与缺血后处理的心肌保护作用。非特异性 NOS 的抑制剂 L-NAME 可取消后处理的降低心肌梗死面积的作用,另有报道,缺血后处理的保护作用可被 L-NAME 和鸟苷酸环化酶抑制剂 ODQ 所阻断,提示 NO-cGMP 途径参与缺血后处理的心肌保护。在缺血后处理中 eNOS 的表达增高提示 eNOS 亦可能参与后处理的心肌保护。

3.2.3 RISK: 近年报道,RISK 途径参与缺血后处理的心肌保护作用。Hausenloy 等指出,在缺血后处理后 RISK 途径中的 Akt 和 ERK1/2 在复灌初期被激活。但有多实验发现,是 PI3K-Akt 途径而非 ERK1/2 途径参与缺血后处理的心肌保护,包括下游的 eNOS 和 p70S6K。另外,尽管其他内源性激动因素如缓激肽可能参与激活 PI3K 途径,但内源性腺苷可能不是其激动因素之一。

3.3 可能的终末效应器 线粒体渗透性转换孔(MPTP)可能是缺血后处理心肌保护作用的终末效应器之一。RISK 途径、细胞内钙、NO 等均参予调节 MPTP 的开放。MPTP 在缺血期间

保持关闭状态,在复灌初期开放^[23],这与缺血后处理施加的时间正好吻合。

4 缺血预处理、远距预处理和缺血后处理的比较

缺血预处理、远距预处理和缺血后处理的异同点见表 1。前两者与后者最明显的不同在于两者施加的时间不同。缺血预处理施加于缺血之前,可引起缺血导致的危险区域的适应性反应,增加组织对缺血的耐受性,缺血后处理则没有这方面的作用。因为缺血后处理是施加于复灌初期,触发机制、介质和效应器的概念将被重新定义。缺血预处理产生的这些适应性反应是发生在缺血前或缺血期间的。比如说,缺血预处理过程中,超氧阴离子的产生发挥启动因子的作用,刺激不同信号转导途径;然而,在缺血后处理过程中,超氧阴离子的减少将减弱氧化应激造成的损伤。另外,缺血预处理过程中 NO 的

表 1 缺血预处理和缺血后处理的异同点
Table 1 Comparison of ischemic preconditioning and postconditioning

	缺血 预处理	远距 预处理	缺血 后处理
生理学效应			
减少梗死面积	+	+	+
减少凋亡的发生	+	+	+
降低组织水肿	+	+	+
减轻血管损伤	+	+	+
延迟腺苷的洗脱	—	—	+
细胞水平和亚细胞水平效应			
抑制中性粒细胞的聚集	+	+	+
抑制内皮细胞和心肌细胞超氧阴离子的释放	+	+	+
抑制细胞因子的释放	+		?
激活 ATP 敏感性钾通道	+	+	+
关闭线粒体渗透性转换孔	+	+	+
腺苷的释放	+	+/-	+
阿片肽的释放	+	+	+
分子机制			
PI3K-Akt	+	?	+/-
GSK3β	+	?	?
ERK1/2-MEK	+/-	+	+
p70S6K	+	?	+
eNOS	+	?	+

“+”表示“加强”;“—”表示减弱;“?”表示不确定

产生将部分减少MPTP的开放,而在缺血后处理中,NO则发挥抗炎反应的作用。因此,缺血后处理中的触发因素、介质或效应器的区分已不甚清楚。尽管缺血后处理与缺血预处理之间存在很多差别,但是这些触发因素、介质和生物效应却又存在着普遍性。

Halkos^[24]等报道缺血后处理与缺血预处理降低心肌梗死面积的作用相似,但两者不发生叠加效应,Tsang在离体心脏上也报道两者同时使用无叠加效应。但Yang^[22]等在家兔45 min冠脉结扎缺血、3 h复灌的在体模型上发现两者可发挥叠加效应。本实验室近期在离体大鼠心脏灌流上发现,60 min的心肌缺血时,预处理和后处理可发挥叠加效应^[25]。缺血预处理和缺血后处理是否发挥叠加效应,将有利于研究两种处理方式的分子机制的异同。

到目前为止,在临床实践中仍然没有基于缺血预处理的常规疗法^[26],主要原因是无法预知心肌缺血的发生。另一种情况是经皮冠脉干预技术,在多数情况下,并不需要缺血预处理。最近的临床试验(如AMISTAD I and II)表明,部分预处理模拟剂(如腺苷)可以减小心肌梗死面积,在复灌期给予模拟剂对患者也具有有益作用,表明模拟剂后处理的有效性。已有缺血后处理成功应用于人体冠脉成形术的报道,复灌后1 min开始给予缺血后处理(球囊1 min充气、1 min放气,4次循环),可明显减少CK释放(相当于减少心肌梗死面积约36%),心肌呈色分级评价明显增大^[27]。而在远距预处理的临床应用方面,也有较多成功的病例^[28-30]。

综上所述,缺血预处理、远距预处理和缺血后处理三种干预方式对缺血心肌的保护各有特点,临床上正在尝试中。如何充分和有效地利用这三种干预方式预防和治疗缺血性心脏疾病尚有待进一步临床实践。

References:

- [1] MURRY C E, JENNINGS R B, REIMER K A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium [J]. *Circulation*, 1986, 74(5): 1 124-1 136.
- [2] GHOBAC, SCHOEMAKER R G, VAN DEN DOEL M A, et al. Myocardial protection by brief

ischemia in noncardiac tissue [J]. *Circulation*, 1996, 94(9): 2 193-2 200.

- [3] ZHAO Z Q, CORVERA J S, HALKOS M E, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 285(2): H 579-H 588.
- [4] VAN WINKLE D M, THORNTON J D, DOWNEY D M, et al. The natural history of preconditioning: cardioprotection depends on duration of transient ischemia and time to subsequent ischemia [J]. *Coron Artery Dis*, 1991, 2: 613-619.
- [5] SCHULZ R, POST H, VAHLHAUS C, et al. Ischemic preconditioning in pigs: a graded phenomenon. Its relation to adenosine and bradykinin [J]. *Circulation*, 1998, 98(10): 1 022-1 029.
- [6] MATSUBARA T, MINATOUGH S, MATSUO H, et al. Three minute, but not one minute, ischemia and nicorandil have a preconditioning effect in patients with coronary artery disease [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2000, 35(2): 345-351.
- [7] YELLON D M, DOWNEY J M. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology [J]. *Physiol Rev*, 2003, 83(4): 1 113-1 151.
- [8] EISEN A, FISMAN E Z, RUBENFIRE M, et al. Ischemic preconditioning: nearly two decades of research: A comprehensive review [J]. *Atherosclerosis*, 2004, 172(2): 201-210.
- [9] THORNTON J D, LIU G S, OLSSON R A, et al. Intravenous pretreatment with A1 selective adenosine analogues protects the heart against infarction [J]. *Circulation*, 1992, 85(2): 659-665.
- [10] LIU G S, RICHARDS S C, OLSSON R A, et al. Evidence that adenosine A3 receptor may mediate the protection afforded by preconditioning in the isolated rabbit heart [J]. *Cardiovasc Res*, 1994, 28(7): 1 057-1 061.
- [11] AUCHAMPACH J A, RIZVI A, QIU Y, et al. Selective activation of A3 adenosine receptors with N6-(3-iodobenzyl) adenosine-5'-N-methyluronamide protects against myocardial stunning and infarction without hemodynamic changes in conscious rabbits [J]. *Circ Res*, 1997, 80(6): 800-809.
- [12] MCCULLY J D, TOYODA Y, UEMATSU M,

- et al. Adenosine-enhanced ischemic preconditioning: adenosine receptor involvement during ischemia and reperfusion [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 280(2):H 591-H 602.
- [13] SCHULTZ J E J, ROSE E, Y A O Z, et al. Evidence for involvement of opioid receptors in ischemic preconditioning in rat hearts [J]. *Am J Physiol*, 1995, 268(5):H 2 157-H 2 161.
- [14] WANG G Y, WU S, PEI J M, et al. Kappa- but not delta-opioid receptors mediate effects of ischemic preconditioning on both infarct and arrhythmia in rats [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 280(1), H 384-H 391.
- [15] GOTO M, LIU Y, YANG X M, et al. Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts [J]. *Circ Res*, 1995, 77(3):611-621.
- [16] HAUSENLOY D J, TSANG A, YELLON D M. The reperfusion injury salvage kinase pathway: a common target for both ischemic preconditioning and postconditioning [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2005, 15(2):69-75.
- [17] WEINBRENNER C, NELLES M, HERZOG N, et al. Remote preconditioning by infrarenal occlusion of the aorta protects the heart from infarction: a newly identified non-neuronal but PKC-dependent pathway [J]. *Cardiovasc Res*, 2002, 55(3):590-601.
- [18] ZHANG S Z, WANG N F, XU J, et al. Kappa-opioid receptors mediate cardioprotection by remote preconditioning [J]. *Anesthesiology*, 2006, 105(3):550-556.
- [19] KIN H, ZATTA A J, LOFYE M T, et al. Postconditioning reduces infarct size via adenosine receptor activation by endogenous adenosine [J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 67(1):124-133.
- [20] WANG Jue, GAO Qin, SHEN Jia, et al (王珏, 高琴, 沈佳, 等). κ -Opioid receptor mediates the cardioprotective effect of ischemic postconditioning [J]. *Journal of Zhejiang University: Medical Sciences (浙江大学学报:医学版)*, 2007, 36(1):41-47. (in Chinese)
- [21] WANG Jue, GAO Qin, XIA Qiang (王珏, 高琴, 夏强). Role of calcium activated potassium channel in cardioprotection induced by ischemic postconditioning in isolated rat heart [J]. *Chin J of Pathophysiology (中国病理生理杂志)*, accepted 2007. (in Chinese)
- [22] YANG X M, PROCTOR J B, CUI L, et al. Multiple, brief coronary occlusions during early reperfusion protect rabbit hearts by targeting cell signaling pathways [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 44(5):1 103-1 110.
- [23] GRIFFITHS E J, HALESTRAP A P. Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischaemia, but open upon reperfusion [J]. *Biochem J*, 1995, 307(Pt1):93-98.
- [24] HALKOS M E, KERENDI F, CORVERA J S, et al. Myocardial protection with postconditioning is not enhanced by ischemic preconditioning. *Ann Thorac Surg*, 2004, 78 (3): 961-969.
- [25] YE Ting-mei, GAO Qin, LI Yan-fang, et al (叶挺梅, 高琴, 李艳芳, 等). Cardioprotective effect of ischemic postconditioning and preconditioning against prolonged ischemia and reperfusion induced injury in isolated rat heart [J]. *Journal of Zhejiang University: Medical Sciences (浙江大学学报:医学版)*, 2007, 36(1): 35-40. (in Chinese)
- [26] KLONER R A, REZKALLA S H. Preconditioning, postconditioning and their application to clinical cardiology [J]. *Cardiovasc Res*, 2006, 70(2):297-307.
- [27] STAAT P, RIOUFOL G, PIOT C, et al. Postconditioning the human heart [J]. *Circulation*, 2005, 112(14):2 143-2 148.
- [28] CHEUNG M M, KHARBANDA R K, KONSTANTINOV I E, et al. Randomized controlled trial of the effects of remote ischemic preconditioning on children undergoing cardiac surgery: first clinical application in humans [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47 (11): 2 277-2 282.
- [29] LOUKOGEORGAKIS S P, PANAGIOTIDOU A T, BROADHEAD M W, et al. Remote ischemic preconditioning provides early and late protection against endothelial ischemia-reperfusion injury in humans: role of the autonomic nervous system [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46(3):450-456.
- [30] KHARBANDA R K, MORTENSEN U M, WHITE P A, et al. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning *in vivo* [J]. *Circulation*, 2002, 106(23):2 881-2 883.