论著

文章编号:1000-5404(2005)04-0334-03

入肝血流阻断对肝硬变大鼠肝脏能量代谢的影响

董树虹,董家鸿,李 昆 (第三军医大学西南医院全军肝胆外科研究所,重庆 400038)

提 要:目的 探讨选择性入肝血流阻断对肝硬变大鼠肝脏能量代谢的影响。**方法** 观察门静脉转流与非门静脉转流条件下阻断入肝血流不同时程后肝脏能量代谢的变化,检测指标包括肝细胞线粒体呼吸控制率(repiratory controa ratio, RCR)、肝组织三磷酸腺苷(adenosine tirphosphate, ATP)含量、动脉血酮体比值(arterial blood ketone body ratio, AKBR),并与假手术组对照。**结果** 缺血后肝组织 ATP、RCR 及 AKBR 均明显下降($P<0.05$)。再灌注后上述指标逐渐恢复,但随缺血时间延长,升高幅度明显降低,甚至难以恢复。**结论** 选择性入肝血流阻断对肝硬变大鼠肝脏能量代谢的改变与恢复过程有积极作用。

关键词:肝硬变;大鼠;能量代谢

中图法分类号:R333.4; R364.12; R575.2 **文献标识码**:A

Effects of temporary hepatic inflow occlusion on hepatic energy metabolism of rats with liver cirrhosis

DONG Shu-hong, DONG Jia-hong, Li Kun (Institute of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of temporary hepatic inflow occlusion (HIO) on hepatic energy metabolism of rats with liver cirrhosis. **Methods** Animal survival rate and hepatic energy metabolism were observed following different periods of HIO with the effect of portal vein blood bypass (PBB) and without PBB, including repiratory controa ratio (RCR), adenosine tirphosphate (ATP), and arterial blood ketone body ratio (AKBR). The sham group served as the control. **Results** ATP, RCR and AKBR decreased significantly ischemia ($P<0.05$). These parameters increased after reperfusion, but the scale descended obviously following the prolongation of ischemia. **Conclusion** Temporary hepatic inflow occlusion plays an important role in restoration of hepatic energy metabolism.

Key words: liver cirrhosis; rat; energy metabolism

临床和动物实验均已证实硬变肝脏对缺血再灌注的耐受性降低。硬变肝脏究竟能够耐受多长时间的缺血是当前急待解决的理论和实际问题,因为我国临床上需施行肝切除术的原发性肝癌病人 85% 以上均有肝硬变[1]。Isozaki 等[2]通过动物实验研究认为肝硬变大鼠耐受入肝血流阻断 15 min 是安全时限,然而他们所采用间歇性肝门阻断的方法并未排除门静脉淤血的影响,不能客观准确地反映硬变肝脏耐受缺血的真正安全时限。为此,我们复制了肝硬变大鼠模型,观察选择性入肝血流阻断对肝硬变大鼠肝脏能量代谢的影响,以期判定硬变肝脏耐受缺血的真正安全时限。

作者简介:董树虹(1969-),男,天津市人,博士,主治医师,主要从事肝脏缺血和移植方面的研究。电话:(023)68754016

通讯作者:董家鸿,电话:(023)68754168

收稿日期:2004-03-30;修回日期:2004-06-30

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康 Wistar 大鼠 128 只,雌雄不限,体质量 220~270 g,由第三军医大学实验动物中心提供。按照吴孟超[3]的方法,用 60% 四氯化碳油溶液制备肝硬变大鼠模型备实验用。

1.2 动物模型

1.2.1 选择性入肝血流阻断(partial hepatopetal blood occlusion, PBO)模型 切断所有肝周韧带,用小号动脉夹分别阻断肝左、中、右叶肝蒂(约占全肝 95%),造成受累肝叶缺血,保留尾状叶(约占全肝 5%)血供,作为门静脉血液经肝脏回流入下腔静脉的通道。到预定观察终点,去除肝蒂阻断夹,切除尾状叶。

1.2.2 完全入肝血流阻断(total hepatopetal blood occlusion, TBO)模型 用小号动脉夹阻断肝十二指肠韧带,使包括尾状叶在内的全部肝叶完全缺血,肝脏复流后切除尾状叶。

1.3 动物分组

采用数字表法将大鼠随机分为 4 组,每组 32 只,共 128 只。

①假手术组(sham)：开腹后分离肝周韧带，但不阻断入肝血流，其余同 PBO 组；②完全入肝血流阻断组(TBO-30 min)；③选择性入肝血流阻断30 min 组(PBO-30 min)；④选择性入肝血流阻断 45 min 组(PBO-45 min)。

1.4　肝脏能量代谢的观察及检测方法

①肝细胞线粒体呼吸控制率(respiratory control ratio，RCR)：各组动物于预定时相点麻醉后，迅速切取肝组织 2～3 g，参照 Johnson 差速离心法提取制备肝脏线粒体悬液，线粒体蛋白质浓度采用 Lowry 法测定，线粒体呼吸活性采用 Estabrood 氧电极法测定。②肝组织三磷酸腺苷(adenosine triphosphate，ATP) 含量：与用作制备线粒体的样品同时采取，所取肝组织立即投入液氮内速冻保存，称取 0.1～0.2 g 冰冻肝组织，采用生物发光法测定肝组织 ATP 含量[4]。③动脉血酮体比值(arterial ketone body ratio，AKBR)：各组动物于预定时相点麻醉后，从腹主动脉穿刺抽血 1.5 ml，按文献[5]方法测定。

1.5　统计学处理

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，分别采用方差分析、χ^2 检验。

2　结果

2.1　线粒体呼吸功能

各组动物肝脏缺血后线粒体 RCR 及 P/O 均不同程度降低，明显低于 sham 组($P<0.05$)，随着再灌注时间的延长，逐渐升高。于 RP-24 h 时，PBO-30 min 组和 PBO-45 min 组 RCR 已基本恢复，与 sham 组无明显差异($P>0.05$)，而 TBO-30 min 组 RCR 及 P/O 仍维持在较低水平，与 sham 组有显著差异($P<0.05$)；于 RP-24 h，TBO-30 min 组 RCR 和 P/O 均显著低于 PBO-30 min 组($P<0.05$)，见表 1。

表 1　线粒体呼吸功能参数($\bar{x} \pm s$)

Tab 1　Paramers of respiratory functions of hepatic mitochondria ($\bar{x} \pm s$)

	Group	RP-0 h	RP-1 h	RP-6 h	RP-24 h
RCR	Sham	3.000±0.070△	3.090±0.080△	3.140±0.140△	3.090±0.080△
	TBO-30 min	1.230±0.220#	2.440±0.440*#	2.410±0.170*#	1.750±0.320#△
	PBO-30 min	1.800±0.160#△	2.320±0.430*#	2.580±0.140*#	3.030±0.060☆*
	PBO-45 min	1.310±0.210#	2.310±0.210*#	2.250±0.110*#	2.790±0.210*
P/O	Sham	1.610±0.009△	1.608±0.008△	1.607±0.014△	1.602±0.060△
	TBO-30 min	1.371±0.006#△	1.364±0.006#	1.404±0.006#△	1.407±0.009#
	PBO-30 min	1.418±0.005#△	1.423±0.040#△	1.429±0.021#△	1.563±0.019*#△☆
	PBO-45 min	1.336±0.018#	1.347±0.010#	1.353±0.008#	1.522±0.006*#

*：$P<0.05$，*vs* RP-0 h；#：$P<0.05$，*vs* Sham；△：$P<0.05$，*vs* PBO-45 min；☆：$P<0.05$，*vs* TBO-30 min

2.2　肝组织 ATP 含量

各组缺血后及再灌注后肝组织 ATP 水平均不同程度降低，与 sham 组比较具有显著性差异($P<0.05$)；再灌注后各组 ATP 水平均不同程度恢复，与缺血后有显著差异($P<0.05$)，其中 RP-24 h 时，PBO-30 min 组及 PBO-45 min 组基本恢复，与 sham 组无显著性差异($P>0.05$)；而 TBO-30 min 组仍维持在较低水平，与 sham 组差异显著($P>0.05$)，见表 2。

表 2　肝组织 ATP 含量($\bar{x} \pm s$，μmol/g)

Tab 2　Contents of hepatic tissue ATP ($\bar{x} \pm s$，μmol/g)

Group	RP-0 h	RP-1 h	RP-6 h	RP-24 h
Sham	3.378±0.362△	3.345±0.413△	3.562±0.468△	3.548±0.279
TBO-30 min	0.397±0.145#	1.091±0.228#*	1.742±0.521#*	2.329±0.624#*
PBO-30 min	0.489±0.174#	1.260±0.465#*	2.545±0.471#*☆	3.353±0.725☆
PBO-45 min	0.505±0.203#	1.251±0.358#*	2.133±0.381#*	3.548±0.534*

*：$P<0.05$，*vs* RP-0 h；#：$P<0.05$，*vs* Sham；△：$P<0.05$，*vs* PBO-45 min；☆：$P<0.05$，*vs* TBO-30 min

2.3　动脉血酮体比值

各组缺血后 AKBR 不同程度降低，与 sham 组比较差异显著，$P<0.05$；再灌注后各组 AKBR 均不同程度恢复，与缺血后有显著性差异($P<0.05$)，于 RP-24 h 时，TBO-30 min、PBO-30 min 和 PBO-45 min 各组 AKBR 分别恢复至缺血前的 76.9%、93.6%和 80.2%，TBO-30 min 组和 PBO-30 min 组有显著性差异($P<0.05$)，见表 3。

表 3　动脉血酮体比值[($\bar{x} \pm s$)%]

Tab 3　Ratio of arterial blood ketone body [($\bar{x} \pm s$)%]

Group	RP-0 h	RP-1 h	RP-6 h	RP-24 h
Sham	0.743±0.039△	0.727±0.043△	0.718±0.073△	0.733±0.030△
TBO-30 min	0.357±0.016#	0.409±0.013*#	0.567±0.063*#	0.564±0.043*#
PBO-30 min	0.336±0.066#	0.440±0.041*#	0.654±0.046*#	0.686±0.018*☆△
PBO-45 min	0.313±0.015#	0.430±0.021*#	0.502±0.036*#	0.588±0.068*#

*：$P<0.05$，*vs* RP-0h；#：$P<0.05$，*vs* Sham；△：$P<0.05$，*vs* PBO-45 min；☆：$P<0.05$，*vs* TBO-30 min

3　讨论

董家鸿等[6,7]曾观察到，PBO 肝血流阻断期间及复流后平均动脉压、门静脉压、下腔静脉压等血流动力学维持稳定，与肝血流阻断前无明显差异，门静脉系无明显淤血，在此条件下正常大鼠能耐受 90 min 的热缺血；而 TBO 组波动很大，与肝血流阻断前有显著差异，胃肠淤血严重，能耐受热缺血时间不到 30 min。PBO 可防止肝血流阻断期间门静脉高压所致胃肠系统严重淤血，并减少经门静脉入肝的毒性物质，有利于再灌注后受损肝脏能量代谢的恢复。

实验结果显示，缺血后 PBO-30 min 组、TBO-30 min 组和 PBO-45 min 组 ATP、RCR、P/O 均不同程度降低，均明显低于 sham 组，3 组间比较无显著性差异；再灌注早期各组不但未见升高反而较缺血后进一步持续降低，至 RP-24 h 时，PBO-30 min 组和 PBO-45 min 组 ATP、RCR、P/O 已基本恢复缺血前，而 TBO-30 min 组各参数仍维持在较低水平，与 sham 组有显著差异，TBO-30 min 组各参数均显著低于 PBO-30 min 组，提示此时 TBO-30 min 组线粒体损害相当严重，恢复缓慢。

AKBR 能准确、及时而又简便易行的反映肝脏能

荷水平，而一定水平的AKBR是维持线粒体正常功能及产生足够ATP的重要条件[8]。实验结果显示，缺血后各组AKBR不同程度降低，再灌注后均不同程度恢复，于RP-24 h时，TBO-30 min、PBO-30 min和PBO-45 min组分别恢复至缺血前的76.9%、93.6%和80.2%，TBO-30 min组和PBO-30 min组之间存在显著性差异。上述结果提示，选择性入肝血流阻断对硬变肝脏能量代谢的干扰较小，有助于缺血后受损硬变肝脏能量代谢的恢复。

综上所述，选择性入肝血流阻断对肝硬变大鼠肝脏能量代谢的改变与恢复过程有积极作用。

参考文献：

[1] 黄志强. 肝切除术时肝门阻断的限度[J]. 肝胆外科杂志, 1995, 3(1): 4-5.

[2] Isozaki H, Okajima K, Kobayashi M, *et al*. Experimental study of liver injury after partial hepatectomy with intermittent or continuous hepatic vascular occlusion. Differences in tolerance to ischemia between normal and cirrhotic livers[J]. Eur Surg Res, 1995, 27(5): 313-322.

[3] 吴孟超，杨广顺. 大鼠肝硬化模型复制的研究[J]. 中华实验外科杂志, 1984, 1(1): 145-147.

[4] 严 涛，张 平，段恒春，等. 组织ATP、ADP、AMP水平的荧光素酶系测定[J]. 第三军医大学学报, 1987, 9(3): 294-296.

[5] Li P K, Lee J T, MacGillivray M H, *et al*. Direct, fixed-time kinetic assays for β-hydroxybutyrate and acetoacetate with a centrifugal analyzer or a computer-backed spectrophotometer[J]. Clin Chem, 1980, 26(12): 1713-1717.

[6] 董家鸿. 全肝血液转流下的肝切除术[J]. 中华普通外科杂志, 2000, 15(1): 54-56.

[7] 董家鸿，何效东，李 昆，等. 大鼠门静脉转流下耐受入肝血流阻断的安全时限[J]. 消化外科, 2002, 1(1): 20-24.

[8] 严律南，曾 勇，林琦远，等. 半肝血流阻断下肝能量代谢变化的研究[J]. 中华肝胆外科杂志, 2000, 6(1): 10-12.

（编辑 陈聪连）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2005)04-0336-01

9例血液系统并发甲状腺自身免疫性疾病临床分析

Clinical analysis of 9 cases of autoimmune diseases involving both blood and thyroid

杨文博，孔佩艳，刘 红，刘 林，史占忠，常 城 （第三军医大学新桥医院血液内科，重庆 400037）

特发性血小板减少性紫癜（idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP）、自身免疫性溶血性贫血（autoimmune hemolytic anemia, AIHA）是血液系统常见的自身免疫性疾病，毒性弥漫性甲状腺肿（grave disease, GD）和桥本甲状腺炎（Hashimoto thyroiditis, HT）是甲状腺的自身免疫性疾病，并发两个系统的自身免疫疾病在临床工作中少见，我们在临床遇到9例患者，现结合文献分析如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

本组病例为2002年1月至2003年12月在我科住院患者9例，其中男性4例，女性5例，年龄为17～48（36.7±9.1）岁，中位数年龄38岁。以血液系统疾病首发而再发现甲状腺疾病2例，以甲状腺疾病首发而再发现血液系统7例。其中以血液系统疾病首发的2例，均为ITP合并GD，以甲状腺疾病为首发表现的7例患者，3例为GD合并ITP，2例为GD合并AIHA，2例为HT合并ITP。所有病例可排除系统性红斑狼疮等其它自身免疫性疾病。

1.2 临床表现

本组患者中，ITP患者表现为鼻衄、牙龈出血、月经增多、全身皮肤散在瘀点瘀斑等，AIHA患者表现为头昏乏力黄疸等，GD患者表现为消瘦、乏力、怕热、多汗、心悸、突眼、不同程度甲状腺肿大等，HT患者表现为情绪低落、浮肿等。

1.3 实验室检查

本组患者中，ITP患者血小板不同程度减少，骨髓增生活跃至明显活跃，巨核细胞增多，有成熟障碍，血小板相关抗体（PAIgG）升高（正常值0～108 ng/10^7PA）。AIHA患者有贫血，骨髓增生明显活跃，粒红比降低，抗人球蛋白试验（Coom's Test）阳性。GD患者游离T3和/或T4升高，促甲状腺素（TSH）降低，甲状腺球蛋白抗体（TG-Ab）、甲状腺微粒体抗体（TM-Ab）升高。HT患者游离T3和/或T4降低，促甲状腺素（TSH）升高，甲状腺球蛋白抗体（TG-Ab）、甲状腺微粒体抗体（TM-Ab）升高，穿刺细胞学检查见淋巴细胞浸润。

2 治疗方法

2例先诊断ITP的病例，开始均给予糖皮质激素治疗，1例患者血小板略有上升，变化不明显，另1例患者应用激素后血小板一度升至正常，但在激素减量过程中血小板又很快下降，加用环孢霉素A仍不能维持，后发现有甲亢表现，进一步检查

（下转339页）

作者简介：杨文博（1971-），男，山东省潍坊市人，硕士研究生，主治医师，主要从事临床血液病方面的研究。电话：(023)68774609

通讯作者：孔佩艳，电话：(023)68774609

收稿日期：2004-06-04；修回日期：2004-09-26