DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.11.009
第22卷第11期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 11
2000年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2000

文章编号:1000-5404(2000)11-1039-03

论著

缺血预处理对肝再灌注损伤的保护作用

杨恒文,杜晓兰,曾 琳,廖维宏 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第三研究室,重庆 400042)

提 要:目的 观察缺血预处理(IPC)对肝脏缺血再灌注(I/R)损伤后肝功能的保护作用。方法 大鼠48只随机分为I/R组和IPC组。观测缺血后的肝脏谷丙转氨酶(ALT)、乳酸脱氢酶(LDH)、髓过氧化物酶(MPO)及肝组织的病理变化。结果 ALT在I/R组各时相点比缺血前升高47%~58%,而IPC组仅在缺血后24 h升高20%;LDH在I/R组与缺血前比较1、6、24 h均升高($P<0.01$),IPC组仅在缺血6 h较缺血前升高($P<0.05$);I/R组MPO与IPC组比较有显著增高($P<0.05$)。病理检查IPC组比I/R组肝细胞损伤减轻、坏死范围小。结论 IPC可以减轻再灌注对肝脏的损伤,减少LDH的漏出和MPO的生成,而保护肝功能。

关键词:缺血再灌注;缺血预处理;乳酸脱氢酶;过氧化物酶
中图法分类号:R459.9;R619.9;R657.3 文献标识码:A

Protective effects of ischemic preconditioning on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats

YANG Heng-wen, DU Xiao-lan, ZENG Lin, LIAO Wei-hong (Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To study the protective mechanism of ischemic preconditioning on the liver function in hepatic ischemia-reperfusion injury. Methods Forty-eight rats were randomly divided into: ischemia-reperfusion group (I/R) in which hepatic arteries had been occluded for 1 h and ischemic preconditioning group (IPC) in which the arteries were ligated for 1 h after 10 min occlusion and 10 min release for 3 times. Serum alanine transferase (ALT), lactic dehydrogenase (LDH), medulla peroxidase (MPO) were measured and pathological changes of the liver were observed. Results The serum ALT content was increased by 47%~58% at time points of group I/R than that before ischemia, but only by 20% at the 24 h post-ischemia in group IPC. The LDH content was increased at hour 1, 6, 24 in group I/R compared with that before ischemia ($P<0.01$), and at 6 h after ischemia compared with that of the normal in group IPC ($P<0.05$). The MPO content was obviously increased in group I/R than in group IPC ($P<0.05$). Compared with group I/R, group IPC showed less hepatocyte injury, smaller necrotic area in the livers. Conclusion Preconditioning can relieve ischemia-reperfusion injury in the liver, decrease the leakage of LDH and inhibit the formation of MPO, thus it has a protective effect on hepatic function.

Key words: ischemia-reperfusion; ischemic preconditioning; lactic dehydrogenase; medullas peroxidase

缺血预处理(Ischemic preconditioning, IPC)能调动组织器官内源性保护机制,在多种动物的心肌再灌注模型中已得到证实。但IPC对实质性脏器功能的保护效应尚未见报道。设计本实验旨在观察IPC对肝脏功能的保护作用,其研究结果如下。

基金项目:第三军医大学科研基金资助项目
作者简介:杨恒文(1944—),女,辽宁省本溪市人,高级实验师,主要从事创伤方面的研究,发表论文23篇。电话:(023)68757433
收稿日期:1999-12-03;修回日期:2000-04-28

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

1 材料与方法

1.1 实验动物

选择健康大鼠48只，雄雌各半。将动物随机分成2组，I/R组和IPC组，每组24只。观察时相为缺血前、缺血后1、3、6、24 h 5个时相。

1.2 致伤方法

用1%戊巴比妥钠腹腔麻醉，腹部正中切口，暴露肝固有动脉和门静脉。I/R组直接用无损伤动脉夹阻断血流，缺血时间为1 h；IPC组先阻断血流10 min，然后放开血管夹10 min，反复3次后再阻断血流1 h。

1.3 肝功能测定

采用国产生化测定仪，在不同时相点，由颈外静脉插管到下腔静脉，取回心血液2 ml，分别测定谷丙转氨酶(ALT)、乳酸脱氢酶(LDH)、总胆红素(TBIL)、总蛋白(TP)。

1.4 肝组织中髓过氧化酶(MPO)的测定

取肝组织100 mg，加匀浆液2 ml，4 ℃下离心30 min，3 000 r/min。取上清液0.1 ml，放冰箱保存。样本采集到一定数量后，常温复融后再加反应液2.9 ml(成分为磷酸邻联二茴香胺O-dianisidine 167 mg，H_2O_2 5 mg，50 mmol/L PBS 100 ml)，保持25 ℃水中立即在紫外分光光度计下进行460 nm，2 min扫描，测波长(30~90 s)。1 min内吸光度变化代表酶活力。

1.5 病理检查

肝组织用石蜡包埋，组织切片后用HE染色，在光镜下观察。

1.6 统计学处理

实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，进行 t 检验。

2 结果

2.1 肝功能测定

ALT是反应肝功能的最灵敏的指标，肝脏缺血时出现也比较早。本实验在肝脏I/R组和IPC组各时相点均测定了ALT，I/R组缺血后各时相点较缺血前升高47%~58%。而预处理组在24 h时有20%升高，其它都在正常范围内。TBIL和TP两项差异不显著。LDH：I/R组1、6、24 h与伤前比较差异均显著，与预处理比较差异亦显著 $P<0.05$，LDH在预处理与伤前比较除6 h时相点有显著差异外，1 h和24 h无显著差异，见表1。

表1 缺血和缺血预处理后肝脏 **LDH** 含量的变化(**U/L**，$\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Changes of LDH contents in the liver following ischemia and ischemia/preconditioning(U/L，$\bar{x}\pm s$)

Group	n	Preischemia	Time after reperfusion (h)		
			1	6	24
Ischemia	6	303 3.3±48	420 3.3±59 *△	746 8.3±82 *△	570 6.7±99 *△
Preconditioning	6	303 3.3±48	334 0.0±60.5	519 6.7±96△	352 5.0±62

*：$P<0.05$ *vs* preconditioning；△：$P<0.05$ *vs* preischemia

2.2 肝组织中MPO

肝缺血再灌注损伤时MPO增高。与损伤前比较各时相点统具有非常显著差异($P<0.01$)。缺血损伤组与预处理组除24 h无显著差异外，其它各时相均有显著差异。预处理组与伤前比较亦有显著差异，见表2。

表2 缺血和缺血预处理后肝脏 **MPO** 含量的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Changes of MPO contents in the liver following ischemia and ischemia/preconditioning($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Preischemia	Time after reperfusion(h)			
			1	3	6	24
Ischemaia	5	0.0381±0.006	0.1041±0.010 *△	0.1065±0.011 *△	0.1114±0.030 *△	0.0886±0.019△
Preconditioning	5	0.0381±0.006	0.0846±0.011△	0.0898±0.013△	0.0794±0.021△	0.0776±0.016△

*：$P<0.05$ *vs* preconditioning；△：$P<0.05$ *vs* preischemia

2.3 病理变化

肝缺血再灌注24 h的病理变化是肝细胞肿胀，结构紊乱，排列不整齐。增大的肝细胞胞浆淡染，核大而浓染。有散在的肝小叶中心坏死。经预处理后的肝细胞肿胀减轻，肝细胞坏死范围缩小。

3 讨论

I/R损伤在多种器官和组织已得到了证实。Jaeschke等[1]阻断小鼠肝脏血流45 min，建立肝缺血模型，检测到肝组织双相损伤。Myagkaya等观察到在常温下肝缺血60~90 min，内皮细胞就可能发生不可逆损伤，而肝细胞在缺血90~120 min则出现不可逆性损伤。本实验中在预实验时做肝缺血90 min有80%的动物死亡，这与文献报道基本一致。所以实验时肝缺血时间选择60 min，以造成可逆性损伤。

IPC文献报道有多种，有缺血2.5 min再灌注1次，也有3.5 min再灌注1次，最长者达到25 min再灌注1次。IPC的使用有1次，也有2次，多则4次5次。Lawson等[2]认为小鼠1次预处理不可能调动其缺血预处理保护机制，至少要2次缺血才能有效。本实验采用3次预处理，其结果比较理想。

肝脏缺血再灌注后肝细胞发生一系列代谢、结构和功能的损伤，结果导致肝功能的衰竭，转氨酶升高，LDH漏出增多[3,4]。本实验结果也证实了这些变化。表现ALT、LDH、MPO均明显升高。组织病理学检查肝

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

组织有明显病理变化，IPC 组各种变化均比 I/R 轻，证实 IPC 对肝缺血损伤保护效果确实明显 。这对提高临床器官移植手术的成功率是一种有益的方法。由于缺血缺氧肝血管床的损伤，微血管通透性升高，中性粒细胞浸润，组织 MPO 活性升高，内分泌功能紊乱。MPO 和细胞毒性物质引起肝组织再损伤，经缺血预处理后再缺血，能提高肝脏对缺血的耐受性，减轻再灌注损伤，它能减少 LDH 漏出和 MPO 释放[5,6] 。有的学者认为 IPC 可能是一种比用抗氧化剂、清除剂或抗嗜中性白细胞粘附剂等更好的方法。以上结果表明：预处理能增强肝组织对缺血的适应性，减少 LDH 漏出和抑制 MPO 的产生，减轻肝细胞损害。有关 IPC 的作用机制以及对肝功能的保护作用通过肝内何种物质起作用，还有待进一步研究。

参考文献：

[1] Jaeschke H, Farhood A, Smith C W. Functional inactivation of neutrophils with a Mac-1 (CD11b/CD18) monoclonal antibody protects against ischemia-reperfusion injury in rat liver[J]. Hepatology, 1993, 17(5): 915—923.

[2] Lawson C S, Downey J M. Preconditioning: State of the art myocardial protection[J]. Cardiovasc Res, 1993, 27(3): 542—550.

[3] Esklidsen-Helmond Y E, Van-Heugten H A, Lamers J M. Regulation and functional significance of phospholipase D in myocardium[J]. Mol Cell Biochem, 1996, 157(1): 39—48.

[4] Liu X H. General biological phenomenon and its mechanism[J]. Prog Physiol Sci, 1998, 29(1): 39—41.

[5] 乌立晖，张宝仁，朱家麟，等. 缺血预处理对大鼠心肌细胞超微结构的保护作用[J]. 第二军医大学学报，1998，19(2)：159—162.

[6] Moritaka G, Yoshiyuki T, Sunao K, *et al*. Endothelin-1 is involved in the pathogenesis of ischemia/reperfusion liver injury by hepatic microcirculatory disturbances[J]. Hepatology, 1994, 19(3): 675—681.

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2000)11-1041-01

经验与短篇

38 名吸毒、戒毒者血清学 5 项指标检测结果

Serological determination of 5 items in 38 drug addicts

李 兵[1]，林武存[1]，李书武[1]，刘 佳[1]，杨 民[1]，陈 瑛[1]，方勇飞[2] （第三军医大学附属西南医院：[1] 输血科；[2] 药物依赖治疗所；重庆 400038）

我科从 1995 年 11 月至 1998 年 1 月共对 350 名吸毒、自愿戒毒人进行抗-HIV 初筛试验，并对其中 38 名进行艾滋病抗体（抗-HIV）、丙型肝炎抗体（抗-HIV）、乙型肝炎表面抗原（HBsAg）、梅毒血清学试验、ALT 5 项检测。现将报告如下。

1 标本来源和检测方法

1.1 血清标本

主要来自本院戒毒科自愿戒毒者，均为重庆市居民。38 份标本中 22 例为男性，16 例为性。年龄 18～39 岁，从静脉采集不抗凝血 2 ml。

1.2 检测方法

抗 HIV、抗 HCV 检测为 ELISA 法，均使用厦门新创生物有限公司产品。HBsAg 检测为 ELISA 法，使用上海科华生物有限公司产品。梅毒血清学试验为 TRUST 法，使用上海科华生物有限公司产品。ALT 检测为赖氏法，使用重庆医学检测试剂研究所产品。实验用酶标仪为 BIORAD550 型，洗板机为 BIORAD1575 型，为美国百乐公司产品。

2 结果

38 名吸毒、戒毒者中吸毒时间最短半年，最长 8 年。其中静脉注射者吸毒时间 2～5 年（平均 3.8 年），肌注吸毒者时间 1～6 年（平均 3 年），烫吸者吸毒时间 0.5～8 年（平均 2.7 年）。17 名抗-HCV 阳性者中有 2 人曾经有过输血史，其余均无输血或血液制品史。抗-HCV 阳性同时伴有 ALT 升高者 6 例，伴有 HBsAg 阳性者 3 名。

吸毒、戒毒者中血清检测 5 项指标见表 1。

初次农民献血者、大学生献血者、吸毒人员 HCV 感染状况比较：农民献血者 543 人，抗-HCV 阳性 25 人，阳性率 4.6%；大学生献血者 39 人，抗-HCV 阳性无 1 人；吸毒者 38 人，抗-HCV 阳性 17 人，阳性率 44.74%。

（下转 1045 页）

作者简介：李 兵（1955—），女，河北省威县人，副主任技师，发表论文 16 篇。电话：(023)68754000-73116

收稿日期：1999-12-20；修回日期：2000-03-06

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