DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.05.032

25cm,为气道峰压(Ppeak)。参照Eijking等[1]的方法确定该定压式通气参数:Ppeak 2.45 kPa,PEEP 0.49 kPa,FIO_2 1.0,呼吸频率30次/min,吸/呼=1∶1

1.3 动脉血气分析

机械通气前及通气后5、10、20、30 min时,分别自股动脉采血0.2 ml,瑞士AVL990型血气分析仪检测。

2 结果与讨论

纯氧通气前后动脉血气变化如附表所示,PaO_2、O_2Sat和O_2Cont进行性增加,5min已明显升高,30 min时PaO_2可达50 kPa以上,O_2Sat达99.9%,而pH及$PaCO_2$、BB、HCO_3^-、$StHCO_3^-$、TCO_2等无明显变化。

附表 纯氧通气前后动脉血气的变化($\bar{x}\pm s$)

	pH	$PaCO_2$ (kPa)	BB (mmol/L)	HCO_3^- (mmol/L)	$StHCO_3^-$ (mmol/L)	TCO_2 (mmol/L)	PaO_2 (kPa)	O_2Sat (%)	O_2Cont (mmol/L)
通气前	7.411 ±0.039	4.25 ±0.51	44.16 ±2.75	19.71 ±3.01	21.03 ±2.11	20.98 ±2.67	12.88 ±0.97	97.24 ±0.91	9.15 ±0.11
通气后									
5 min	7.397 ±0.026	3.88 ±0.58	42.86 ±2.34	20.49 ±2.23	20.05 ±1.19	19.23 ±1.93	29.16** ±4.61	99.60** ±0.25	9.56** ±0.13
10 min	7.393 ±0.042	4.04 ±0.64	42.66 ±2.71	19.05 ±2.81	20.21 ±1.45	19.59 ±1.39	42.09** ±4.81	99.73** ±0.21	9.63** +0.13
20 min	7.439 ±0.025	3.98 ±0.22	44.51 ±1.54	20.31 ±1.97	21.23 ±1.34	20.08 ±1.16	50.59** ±5.64	99.85** ±0.11	9.74** ±0.05
30 min	7.414 ±0.061	3.92 ±0.38	44.13 ±1.41	19.33 ±0.86	20.79 ±1.06	19.86 ±1.09	58.02** ±4.64	99.90** ±0	9.78** ±0.05

**:$P<0.01$,t检验,与通气前比较相差非常显著

该装置结构简单,性能较稳定,通气方式为定压式,呼吸参数调节也较方便。通过选择支点A(升降幅度)可获得不同的Ppeak;调节玻璃管出口在水面下的深度可获得不同的PEEP;呼吸频率也可由呼吸器调节。通过纯氧通气实验证实,该装置及选用的通气参数可显著增加氧合,而对血液酸碱平衡无明显影响,也不会引起过度通气或CO_2潴留,符合实验性治疗需要。我们应用该装置治疗大鼠重度烟雾吸入性损伤,取得较满意效果(见另文报道)。另外,该装装置尚有两个主要缺点有待改进:①因江湾Ⅰ型呼吸器的限制,吸/呼比不可调节,只能1∶1;②由于需要压缩气体作供气系统,故FIO_2只能按预先需要配制贮于钢瓶内,不便于随时调节。

关键词 机械通气;呼吸机;大鼠

中图法分类号 R560.5

参考文献

1 Eijking EP,Gommers D,So KL et al. Prevention of respiratory faiure after hydrochloric acid aspiration by intratracheal surfactant instillation in rats. Anesth Analg,1993;76:472

(收稿:1994-08-21;修回:1995-07-17)

反相—高效液相色谱法(RP-HPLC)测定血清tuftsin及其临床应用

Assay on serum tuftsin by RP-HPLC and it's clinical application

张玉新 马宏敏 朱 珠* 蔡志民 (第三军医大学附属西南医院普通外科)重庆,630038

Tuftsin是Najjar VA等于1970年在美国Tufts大学首次发现并命名的。研究证明:它是人体自然存在的四肽(Thr-Lys-Pro-Arg),来源于亲白细胞的免疫球蛋白IgG,是位于IgG重链CH_2区第289～292位氨基酸基团[1]。它需经过位于吞噬细胞膜上的白细胞膜酶(Leukokininase)和脾脏产生的内羧基肽酶(endo-

* 基础部中心实验室色谱组

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

carboxypeptidase)两步酶的作用,从母体 IgG 上游离后,与 PMN 和吞噬细胞膜上的特殊受体结合,发挥其促进吞噬的作用[2]。血清 tuftsin 的水平与脾功能状态相一致[3]。因此,它可作为临床上评价脾功能及脾外科手术疗效的有特异性的重要指标[4]。

血清 tuftsin 检测的方法,主要有 Najjar VA 等1972年报道的用吞噬指数间接地反映 tuftsin 水平的方法,Spirer Z 等1977年建立的放射免疫法(RIA)和 John ON 等1987年首创的用 RP-HPLC 测定法。本文介绍了我们在国内首次建立的 RP-HPLC 测定血清 tuftsin 的方法以及初步的临床应用。

1 测定方法及临床资料

1.1 RP-HPLC 检测血清 tuftsin 的方法

1.1.1 标准工作曲线的制作 将人工合成的 tuftsin 标准品(美国纽约 Rochester 中心医院 John ON 教授惠赠的 Sigma 公司的产品,批号 79E58203)用甲醇稀释为 10 ng 至 1000 ng 不同含量的 tuftsin 标准溶液,准确进样。用 RP-HPLC 测得不同 tuftsin含量的响应峰面积,绘制标准工作曲线,利用此曲线定量。

1.1.2 血清 tuftsin 标本的前处理 抽取受试者静脉血 3 ml,立即离心,取血清 1 ml,用 0.05 mol/L $(NH_4)_2CO_3$ 稀释并加入胰蛋白酶 1 mg,37℃水浴 1 h 后,加入 95%乙醇 17.5 ml,80℃热浴 15 min,冰上冷却,3000× g 离心 30 min,抽取上清液移至锥形底的平皿内,吹风蒸发一夜,收集干燥残余物,作为血清 tuftsin 标本,−70℃冰箱保存待测。

1.1.3 RP-HPLC 检测 用美国 Waters 公司生产的高效液相色谱仪检测,色谱条件为:Whatman ODS 柱(5-octadecylsilyl 柱,25×10^7 nm×4.6 nm),流动相为含 22%氰化甲烷(CH_3CN)和 78%水(H_2O)的 0.0023 mol/L HFB(heptafluorobutyric acid 七氟丁酸)溶液,流速1 ml/min,Waters 484UV 探测器、0.03 AUFS 灵敏度、214 nm 波长,柱温为环境温度,注射容量 25 μl,最大压力2100 Pa(Psi),Waters 510泵,WatersU6K 进样器,Waters810色谱工作站数据处理。

用200 μl 流动相溶解稀释待测血清 tuftsin 样本,进样器抽取50 μl 进样,保留时间7min,得到一个与人工合成的 tuftsin 标准品一致的峰,经 Waters810工作站数据处理,得出待测血清标本的 tuftsin 含量。

1.2 临床资料

本文对脾损伤、肝硬化脾亢和正常对照的三组患者用 RP-HPLC 法进行了血清 tuftsin 水平的检测。16例脾损伤中,男性7例,女性9例,平均年龄25.9岁(18～65岁)脾损伤破裂均经手术证实,其中10例行全脾切除术,6例附加了大网膜内自体脾组织移植术。8例肝硬化脾亢,均为男性,平均年龄36.7岁(13～48岁),临床上均有明显脾亢症状且术前外周血象,骨髓象及术后脾组织病理诊断都符合充血性脾肿大,脾亢。3例行全脾切除术,5例行脾次全(保留脾下极)切除术,两种术式均附加了预防性门－奇断流术。正常对照组5例,男性2例,女性3例,平均年龄50.3岁(45～51岁),其中慢性结石性胆囊炎3例,十二指肠球部溃疡2例,均行上腹部相应的手术治疗且术中所见及术后病理诊断与临床诊断相符。

2 结果

用美国 Waters 公司生产的 RP-HPLC 仪所测的人工合成 tuftsin 标准品的保留时间是7 min,tuftsin 标准品的含量与峰面积的工作曲线,呈直线相关,r 为0.9971,直线回归方程 Y＝1918.4865＋53.7364X。本法测试(n ＝5):变异系数 RSD＝2.5%(日内)和4.5%(日间),tuftsin 的平均加样回收率为75.4%。

在本实验的色谱条件下(灵敏度 AUFS 为0.03,保留时间7 min 时),RP-HPLC 检测正常对照组,脾损伤组,肝硬化脾亢组患者血清 tuftsin 的峰,与人工合成的 tuftsin 标准品的峰,均在保留7 min 时出现,且为单一的峰,同一血清标本反复检测,其所测的峰重复性很好,表明 RP-HPLC 用于检测血清 tuftsin 的浓度,是一个较精确、稳定、可靠的方法,具有临床实用价值。

采用我们在国内首次建立的 RP-HPLC 测定血清 tuftsin 方法,对临床上脾脏损伤(表1)和肝硬化脾亢患者(表2)行脾切除或保留性脾手术后血清 tuftsin 的变化进行了初步的观察。

表 1 脾损伤在不同脾脏手术后血清 tuftsin(ng/ml)的变化

组 别	例数	术 前	术 后(d)		
			14	30	90
对 照 组	5	284.81±14.23	280.23±15.30	280.89±20.12	283.22±15.62
全脾切除组	10	285.97±16.24	189.89±20.13	175.42±18.16*	170.93±20.46*
自体移植组	6	290.34± 9.48	268.76±10.42	257.46±13.22	241.98±18.45

*：P <0.05,与对照组比较

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

表2　肝硬化脾亢，脾切除术后血清 tuftsin (ng/ml)的变化

组　别	例数	术　前	术　后 (d)		
			14	30	90
对　照　组	5	284.81±14.23	280.23±15.30	280.89±20.12	283.22±15.62
全脾切除术	3	268.42±18.33	110.48±20.44	84.33±17.26*	75.38±21.18*
脾次全切除组	5	270.31±16.22	260.56±17.33	235.37±15.44	221.48±15.56

*：$P<0.05$，与对照组比较

结果表明：脾损伤行全脾切除或附加自体脾组织移植的保脾术，术后血清 tuftsin 浓度均下降，全脾切除组较自体脾组织移植组下降更明显，且术后30 d 以后较对照组有统计学意义($P<0.05$)。则自体脾组织移植组术后虽有下降趋势，但较对照组无统计学意义。肝硬化脾亢组，脾次全切除和全脾切除术后血清 tuftsin 浓度变化的趋势与脾损伤组相同，但全脾切除组较脾损伤全脾切除组下降更明显，且术后30 d 开始较对照组有统计学意义($P<0.05$)。

3　讨论

血清 tuftsin 的测定方法主要有三种：1970年 Najjar VA 等曾采用经胰蛋白酶等处理，游离出含 tuftsin 的待测血清与 PMN 和金黄色葡萄球菌共同孵育后，涂片、染色、镜检计数 PMN 对金黄色葡萄球菌的吞噬率或吞噬指数。此方法是半定量的间接方法，现已很少使用。Spirer Z. 等于1977年建立的放免测定法，曾广泛应用于临床。之后 John ON 等试验发现，因 tuftsin 四肽分子量太小等因素，缺乏抗原性，Spirer Z. 介绍的制备抗体的方法不可靠，由此建立的放免测定法亦可疑。建议用物理的方法测定并于1987年首创了 RP-HPLC 测定法[5]。因此方法需昂贵的仪器条件等限制，临床上尚未见普遍应用的报告。

我们首次在国内建立了用 RP-HPLC 测定血清 tuftsin 的方法，并进行了临床应用的初步观察。对临床上三组血清 tuftsin 检测结果表明：此方法较放免法具有更精确、稳定、快速且操作简便等优点，可作为检测血清 tuftsin 的标准方法。

Tuftsin 的产生，需要脾脏内羧基肽酶的作用，血清 tuftsin 浓度与脾功能状态有关，1970年 Najjar VA 等就发现反复感染的四名患者血清 tuftsin 减少或缺乏，继之许多作者均发现脾切除后患者血清 tuftsin 水平均有不同程度的降低，而选择性脾切除较外伤性脾切除者降低更明显。本研究也证实了这一点。其原因可能是脾外伤破裂时，脾组织植入(Splenosis)腹腔并且术后发挥了一个微小脾的功能[6]。这一现象也说明了脾外伤时，行自体脾组织移植不仅能存活，而且还能发挥部分脾脏的功能，有助于继续产生 tuftsin[7]。我们对肝硬化脾亢患者的血清 tuftsin 测定结果表明：脾次全切除较全脾切除术更能保留部分脾功能。对此，目前尚存在争议[8]。本研究收集的临床资料尚少，仅为初步结果，有待进一步研究，以期对肝硬化脾亢不同术式的临床疗效作出更客观、准确的评价。

关键词　色谱法，高压液相；tuftsin；脾

中图法分类号　R446.1

参考文献

1 Nancy JB, Victor AN, Judith R. The characteristic of purified HL-60 tuftsin receptors. Mol Cell Bichem, 1990; 92: 77

2 Ottelieb P, Stabinsky Y, Hiller Y et al. Tuftsin receptors. Ann NY Acta Sci, 1983; 419: 93

3 Fridkin M, Philip G. Tuftsin, Thr-Lys-Pro-Ary. Mol Cell Biochem, 1981; 41(1): 73

4 夏穗生 主编. 现代脾脏外科学. 南京：江苏科学技术出版社，1990: 27～35

5 John ON, Dominic M, Desiderio JT et al. The identification of serum tuftsin by Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography and Mass Spectrometry. Analytical Biochem, 1987; 164: 221

6 Nishiioka K, Andrew AA, George FB. Tuftsin; a hormone-like tetrapeptide with antimicrobial and antitumor activities. Life Sci, 1981; 28(10): 108

7 Constantopoulos A, Najjar VA, Wish JB et al. Defective phagocytosis due to tuftsin deficiency in splenectomized subjects. Am J Dis Child, 1973; 125: 663

8 夏穗生. 正确评价脾功能和保脾手术的作用和地位. 肝胆胰脾外科临床, 1994; 3(1): 1

(收稿：1995-01-07，修回：1995-09-04)

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