

左旋精氨酸对肝缺血-再灌注损伤时血小板聚集功能的影响

王万铁 林丽娜 潘雪蓉 徐正衿

【摘要】 目的 探讨左旋精氨酸(L-Arg)对肝缺血-再灌注损伤(HIRI)时血小板聚集功能的影响。方法 选择 HIRI 实验兔及肝癌手术患者,观察血小板最大聚集率(Pt_{max})、最大聚集时间(PtT)及聚集坡斜率(PtS)的变化及 L-Arg 的调控作用。结果 实验动物和肝癌手术患者肝缺血-再灌注期间, Pt_{max} 和 PtS 均明显增加($P<0.05$ 和 $P<0.01$), PtT 均显著缩短(P 均 <0.05);使用 L-Arg 后,上述指标的异常变化均显著减轻,其差异均有显著性意义($P<0.05$ 和 $P<0.01$)。结论 L-Arg 对 HIRI 时血小板聚集功能有明显的调控作用。

【关键词】 缺血-再灌注损伤,肝脏; 血小板聚集; 左旋精氨酸

中图分类号:R365;R96;R446.113 文献标识码:A 文章编号:1003-0603(2004)01-0049-03

Effects of L-arginine on the function of platelet aggregation during hepatic ischemia/reperfusion injury

WANG Wan-tie*, LIN Li-na, PAN Xue-rong, XU Zheng-jie. * Department of Pathophysiology, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, Zhejiang, China

【Abstract】 Objective To explore the effects of L-arginine (L-Arg) on the function of platelet aggregation during hepatic ischemia-reperfusion injury (HIRI). **Methods** The changes in maximum aggregating rate of circulating platelets(Pt_{max}), its maximum aggregating time(PtT) as well as its aggregating slopes(PtS) were measured. Effects of L-Arg on those parameters were observed during HIRI in 20 rabbits and 18 patients who were scheduled for elective hepatic surgery. **Results** Pt_{max} and PtS all increased significantly ($P<0.05$ and $P<0.01$), while PtT decreased remarkably (both $P<0.05$) during HIRI of rabbits and patients. After treatment with L-Arg, the abnormal changes of parameters as above were all alleviated remarkably ($P<0.05$ and $P<0.01$). **Conclusion** It is indicated that L-Arg can effectively regulate the function of platelet aggregation during HIRI.

【Key words】 hepatic ischemia-reperfusion injury; platelet aggregation; L-arginine

CLC number: R365;R96;R446.113 Document code: A Article ID: 1003-0603(2004)01-0049-03

研究证实,左旋精氨酸(L-arginine, L-Arg)对肝缺血-再灌注损伤(hepatic ischemia and reperfusion injury, HIRI)具有积极的防治作用^[1,2]。但关于 L-Arg 对 HIRI 时血小板聚集功能的影响至今尚未见报道,有待研究。为此,设计本研究拟观察 HIRI 模型家兔及肝癌手术患者 HIRI 时血小板聚集性的变化,以及 L-Arg 对这些变化的影响,并探讨 L-Arg 防治缺血-再灌注损伤时的作用机制。

基金项目:浙江省跨世纪学术和技术带头人基金资助项目(992086);温州市“551 人才工程”培养基金资助项目(98113);浙江省卫生厅科研基金资助项目(98A087)

作者单位:325027 温州医学院病理生理学教研室(王万铁,潘雪蓉,徐正衿);温州医学院附属第一医院麻醉科(林丽娜)

作者简介:王万铁(1963-),男(汉族),浙江省温州市人,教授,硕士研究生导师,主要从事脏器缺血-再灌注损伤发生机制及防治研究,著书 2 部,发表论文 100 余篇,获省科学技术进步奖或优秀奖,中医药科技进步一等奖,教育厅科技进步二、三等奖,卫生厅科技进步二、三等奖,市科技进步二等奖及全国医药卫生优秀成果一等奖等。

1 资料与方法

1.1 对象选择和分组:

1.1.1 实验动物:日本大耳白兔 20 只,雌雄兼有,体质量 1.8~2.8 kg。氨基甲酸乙酯 1.0 g/kg 静脉麻醉,分离一侧颈外静脉以备采血。消毒开腹,暴露肝门,于尾状叶上方游离肝左叶、中叶、右中叶及方形叶的血管、胆管,用无损伤钳夹闭血管,造成该四叶完全性缺血,45 min 后松夹重新灌注 45 min 形成 HIRI 模型^[3]。随机将实验兔分为 HIRI 组(模型组)和 L-Arg 治疗组(干预组)两组,每组 10 只,分别在缺血前 20 min 及再灌注即刻静脉注射 L-Arg 溶液 100 mg/kg(50 g/L, Sigma 公司)。

1.1.2 病例:18 例肝癌患者中男 13 例,女 5 例;年龄 32~67 岁,平均 45 岁;体质量 40~61 kg;均行择期肝叶切除术。随机分成模型组(9 例)和干预组(9 例)两组,将 L-Arg 溶液 100 mg/kg(50 g/L, Sigma 公司)分别在缺血前 20 min 及再灌注即刻静

脉注射。两组患者性别、年龄、体质量及肝门阻断时间比较均无统计学意义,有可比性。

1.2 标本采集:

1.2.1 动物标本:两组实验兔分别在肝缺血前、缺血 45 min 以及再灌注 45 min 自颈外静脉取血,用来测定血小板最大聚集率(maximum aggregating rate of circulating platelets, Pt_{max})、最大聚集时间(maximum aggregating time, PtT)及聚集坡斜率(aggregating slopes, PtS)。

1.2.2 患者标本:两组肝癌手术患者分别在肝门阻断前(缺血前)、阻断 25 min(缺血 25 min)及再开放 25 min(再灌注 25 min)自颈内静脉取血,以测定 Pt_{max} 、 PtT 及 PtS 。

1.3 检测方法:采用由上海通用机电技术研究所研制的 TYXN-96 型多功能智能血液凝集仪检测 Pt_{max} 、 PtT 及 PtS 。

1.4 统计学处理:所有检测数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用组间、组内 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组实验兔 HIRI 时血小板聚集性的变化:表 1 结果显示,HIRI 时,模型组 Pt_{max} 、 PtS 明显增加, PtT 显著缩短,尤以再灌注 45 min 时最为显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);干预组 Pt_{max} 、 PtS 虽增加, PtT 虽减少,但均无显著性差异(P 均 > 0.05);而干预组与模型组再灌注 45 min 时比较, Pt_{max} 、 PtT 及 PtS 间均有显著性差异(P 均 < 0.05)。

表 1 两组动物 HIRI 时 Pt_{max} 、 PtT 及 PtS 变化($\bar{x} \pm s$)
Tab. 1 Changes of plasma Pt_{max} , PtT and PtS values during HIRI in HIRI and L-Arg group in rabbits($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	时间	$Pt_{max}(\%)$	$PtT(s)$	$PtS(\%)$
模型组	10	缺血前	4.11±5.95	6.50±7.11	35.25±26.87
	10	缺血 45 min	11.19±15.33	6.27±7.25	41.44±20.57
	10	再灌注 45 min	14.28±5.74**	3.00±2.53*△	58.21±21.90*
干预组	10	缺血前	4.89±4.08	7.26±4.06	35.62±21.45
	10	缺血 45 min	7.94±4.84	6.83±3.20	37.19±20.38
	10	再灌注 45 min	8.59±5.31▲	6.86±3.97▲	38.93±17.14▲

注:与本组缺血前比较:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与本组缺血 45 min 比较:△ $P < 0.05$;与模型组相应时值比较:▲ $P < 0.05$

2.2 两组肝癌手术患者 HIRI 时血小板聚集性的变化:表 2 结果显示,HIRI 时,模型组 Pt_{max} 、 PtS 明显增加, PtT 轻度缩短,尤以再灌注 25 min 时最为显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);干预组 Pt_{max} 虽增加, PtT 、 PtS 虽减少,但均无显著性差异(P 均 > 0.05);干预组与模型组再灌注 25 min 时比较, Pt_{max} 及 PtS

均有显著性差异($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$),而 PtT 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 两组患者 HIRI 时 Pt_{max} 、 PtT 及 PtS 变化($\bar{x} \pm s$)
Tab. 2 Change of plasma Pt_{max} , PtT and PtS values during HIRI in HIRI and L-Arg group in patients($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(例)	时间	$Pt_{max}(\%)$	$PtT(s)$	$PtS(\%)$
模型组	9	缺血前	60.44±12.49	17.67±12.52	52.11±18.74
	9	缺血 25 min	68.56±14.07*	15.67±8.37	53.44±17.03
	9	再灌注 25 min	80.22±8.22**△	13.22±7.25	58.22±9.44**
干预组	9	缺血前	58.56±14.34	17.55±8.05	51.56±15.04
	9	缺血 25 min	61.89±10.16	17.44±7.84	50.89±13.21
	9	再灌注 25 min	65.33±10.47▲▲	16.22±5.36	45.23±12.27▲

注:与本组缺血前比较:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与本组缺血 25 min 比较:△ $P < 0.05$;与模型组相应时值比较:▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$

3 讨论

血小板聚集功能是指血小板与血小板间相互作用聚集成团的特性。血小板以其膜 GPⅡb/Ⅲa 与 Ca^{2+} 相互作用下,发生血小板 I 相聚集反应,可用 PtS 反映血小板 I 相聚集强度。Ⅱ相聚集反应不仅依赖于 GPⅡb/Ⅲa 与纤维蛋白原(Fg)的相互作用,还依赖于血小板释放反应及其释放出的血小板因子如凝血酶敏感蛋白(TSP)、血小板膜蛋白-140(GMP-140)等,以 Pt_{max} 、 PtS 来反映血小板Ⅱ相聚集强度和速率。本实验结果显示,HIRI 时,实验兔和肝癌手术患者 Pt_{max} 、 PtS 均明显增加, PtT 则有不同程度缩短,提示血小板聚集性增强。使用 L-Arg 后, Pt_{max} 、 PtS 均明显下降, PtT 则不同程度延长,且较模型组有显著性差异,表明 L-Arg 能有效地抑制血小板聚集功能。

在生理条件下,血小板聚集抑制剂前列环素(PGI_2)与血小板聚集促进剂血栓素 $A_2(TXA_2)$ 处于动态平衡,血小板不发生聚集。在肝缺血-再灌注期间,细胞内钙超载^[4]、氧自由基大量生成^[5]等因素激活了循环血中的血小板,致使肝窦内皮细胞受到不同程度地损害^[6],最终导致 TXA_2 升高和 PGI_2 下降,以致 TXA_2/PGI_2 平衡失调,引起血小板聚集反应^[7,8]。L-Arg 可通过合成一氧化氮(NO),兴奋腺苷酸环化酶,增加血小板内 cAMP 的含量,置换血小板膜上的 Ca^{2+} ,使其膜流动性增强,并阻断 Ca^{2+} 对血小板激活、前列腺素代谢、抑制血小板线粒体耗氧量和氧化磷酸化作用,从而抑制血小板的聚集^[9]。另外,L-Arg 尚可通过提高体内 NO 水平,有效地保护肝窦内皮细胞免受氧自由基等有毒物质的损害^[10],从而提高体内 PGI_2 水平而抑制血小板聚集。

当然,L-Arg 也可以通过拮抗氧自由基及其引发的脂质过氧化反应^[2]而降低 TXA₂ 水平,有效地调控血小板的聚集功能。

参考文献:

- 1 王万铁,徐正桥,林丽娜,等.左旋精氨酸对缺血再灌注损伤肝脏的保护作用[J].中华肝病杂志,2000,8(6):370-372.
- 2 王万铁,王卫,徐正桥,等.肝缺血-再灌注损伤中脂质过氧化反应及左旋精氨酸的干预作用[J].中国危重病急救医学,2003,15(2):91-93.
- 3 Hasselgren P O,Biber B,Fornander J. Improved blood flow and protein synthesis in the postischemic liver following infusion of dopamine[J]. J Surg Res,1983,34:44-49.
- 4 卢绮萍,史陈让,陈孝平,等.影响肝缺血再灌注损伤主导因素的机理[J].中华实验外科杂志,1996,13(6):369-371.
- 5 王万铁,林丽娜,徐正桥,等.氧自由基在肝缺血再灌注损伤中的作用及川芎嗪的保护作用[J].中国病理生理杂志,1999,15

- (1):39-41.
- 6 王万铁,林丽娜,徐正桥,等.内皮细胞功能紊乱在肝缺血-再灌注中的作用及川芎嗪的影响[J].中国危重病急救医学,2000,12(6):350-352.
- 7 程斌.肝脏的缺血再灌注损伤[J].中华器官移植杂志,1992,13(1):47-48.
- 8 林丽娜,王万铁,徐正桥,等.肝脏围术期血栓素、前列腺素、血小板聚集性的变化及川芎嗪的调控作用[J].中华麻醉学杂志,1999,19(8):500-501.
- 9 Radomeki N W,Palmer R M J,Moncada A S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium [J]. Lancet,1987,338:1057-1062.
- 10 Lefer A M,Tsao P S,Lefer D J, et al. Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of reperfusion injury after myocardial ischemia[J]. FASEB J,1991,5:2029-2034.

(收稿日期:2003-05-15 修回日期:2003-11-08)
(本文编辑:李银平)

• 经验交流 •

危重症患儿心肌酶学指标检测的临床意义

韩彦彦 杨玮 栗秀芬

关键词:危重病患儿; 心肌肌钙蛋白 I; 肌酸激酶同工酶

中图分类号:R446.11 **文献标识码:**B **文章编号:**1003-0603(2004)01-0051-01

儿童危重症可引起肾脏、中枢神经、心血管、胃肠道等多脏器功能损害。检测心肌肌钙蛋白 I(CTnI)和肌酸激酶同工酶(CK-MB)对诊断病毒性心肌炎、新生儿窒息性心肌损害有价值,但对儿科危重症患儿诊断、病情判断和估计预后方面的价值少见报道。为此进行了本次研究,报告如下。

1 资料与方法

1.1 病例:41 例危重症患儿为我科 2001 年 7 月—2003 年 2 月收治者,其中并发多器官功能障碍综合征(MODS)22 例(占 53.6%),MODS 诊断参考全国小儿急救学组拟定的诊断标准^[1,2]。男 30 例,女 11 例;年龄 3 d~14 岁;病种:败血症 7 例,肺炎心功能衰竭(心衰)15 例,化脓性脑膜炎 2 例,重度中暑 7 例,重度一氧化碳(CO)中毒 6 例,急性药物中毒并抽搐昏迷 4 例。所有患儿均常规做心电图检查。

1.2 检测方法:血清 CTnI 测定采用微粒子免疫发光法(NBIH),仪器为美国 AXSYM 免疫分析仪,试剂盒由美国作者单位:300110 天津市黄河医院
作者简介:韩彦彦(1953-),女(汉族),天津市人,副主任医师。

BECKMAN 公司提供。CK-MB 采用酶法测定,检测仪为日立 7170A 全自动生化分析仪。取空腹静脉血 4 ml 送检。

2 结果

41 例中 CTnI 阳性者 30 例(73.2%),CK-MB 阳性者 19 例(46.3%)。39 例治疗 1 周后复查:CTnI 恢复正常 34 例(87.2%),CK-MB 均恢复正常,2 例死亡者为重度 CO 中毒和急性药物中毒各 1 例。

3 讨论

从本研究观察到危重症患儿血清 CTnI 阳性率为 73.2%,较 CK-MB 阳性率 46.3%为高。CK-MB 曾作为心肌损伤的重要指标,但 CK-MB 并非为心脏所特有的酶,正常人骨骼中也有少量存在。国内外研究都表明,CTnI 为心脏特异性抗原,是心肌细胞损伤的高度敏感和特异性标志,其 30%游离在胞浆中,其余同心肌结构蛋白相结合在肌原纤维上。疾病早期游离的 CTnI 释放入血中,其后肌原纤维不断崩解破坏,结合 CTnI 并被降解,不断释出,故 CTnI 血浓度持续时间长,1 周后降至正常。而 CK-MB 较 CTnI 分子质量大,在心肌损害后较慢释放入血,且升高时间只维持 2~3 d,

存在灵敏度低、特异性差以及升高持续时间短等不足。而 CTnI 检验可以弥补 CK-MB 的不足,显示其重要的诊断优越性。尤其心电图和 CK-MB 检测未能确诊和证实小范围心肌损伤时更重要。

本组 41 例危重患儿原发病为严重缺氧或重症感染,即使心电图无明显异常者,其外周血 CTnI 值也升高,且缺氧越重,CTnI 水平越高,心肌损害越重,重度 CO 中毒死亡者 CTnI 值达 50 ng/L,表明 CTnI 升高程度与疾病程度及预后成正比。7 例重度中暑者检测 CTnI 呈阳性,可能因高热直接损伤细胞膜,使蛋白质、酶热变性,损伤线粒体,从而造成组织细胞的广泛损伤,引起多器官功能障碍。

综上所述,对危重症患儿常规进行 CTnI 检测,可及早评估心肌损害程度,给予早期干预,以免发生 MODS。

参考文献:

- 1 中华医学会儿科学会急救学组.第四届全国小儿急救医学研讨会纪要[J].中华儿科志,1995,33(6):370-373.
- 2 陈贤楠,樊寻梅.多脏器功能不全综合征的新概念及在儿科临床中的应用[J].中华儿科杂志,1997,35(11):608-610.

(收稿日期:2003-09-06)
(本文编辑:李银平)