

- 3 张文田,周力,佃雪辉,等.男性十二指肠溃疡病患者血清睾酮、雌二醇、催乳素、黄体生成素、卵泡刺激素的测定[J].新医学,1992,23(3):127-128
- 4 陆星华,于中麟,汪鸿志,等.溃疡病的流行病学研究—北京地区358 644例胃镜分析[J].中华消化杂志,1996,16(3):152-154
- 5 郑芝田主编.消化性溃疡病[M].北京:人民卫生出版社,1998:46,140-141,216.
- 6 汪鸿志,曹世植,主编.现代消化性溃疡病学[M].北京:人民军医出版社,1999:47-49,194-200.
- 7 何晶,周淑琴,敬祯琳,等.复合性溃疡在不同年龄组的内镜分析[J].现代医药卫生,2003,19(1):87-88.
- 8 刘达云,高安宁,唐国都,等.南宁市消化性溃疡发病与气象因子的关系[J].世界华人消化杂志,2002,10(1):48-51.
- 9 Liu D, Cao A, Tang G, et al. Study of relationship between the onset of peptic ulcer and meteorological factors [J]. Chin Med J(Engl), 2003, 116(12):1940-1942.
- 10 梅琦,陈健康,朱运龙,等.应激对大鼠胃窦及十二指肠5-HT细胞内5-HT含量的影响[J].第四军医大学学报,1991,11(1):53-55.
- 11 秦明,黄裕新,王景杰,等.预防性针刺足三里穴对冷应激大鼠胃粘膜损伤的影响[J].西南国防医药,2005,15(2):133-136.
- 12 秦明,黄裕新,王景杰,等.电针对应激大鼠血浆EGF和CGRP及胃粘膜损伤的影响[J].第四军医大学学报,2001,22(9):797-799.
- 13 陈贻胜,林志辉,林海,等.急性上消化道出血的季节变化[J].中国实用内科杂志,1998,18(1):41-42.
- [收稿日期 2009-03-28][本文编辑 韦挥德 黄晓红]

论 著

肝缺血再灌注损伤与细胞凋亡关系的临床研究

吴基华, 文 张, 段佳佳, 宋经清, 郭 雅

基金项目:广西青年科学基金项目(编号:桂科青0447037),广西卫生厅科研基金项目(编号:桂卫Z2008104),广西教育厅2007年广西研究生教育创新计划基金项目

作者单位:530021 南宁,广西医科大学第一附属医院肝胆外科

作者简介:吴基华(1983-),男,大学本科,在读硕士研究生,研究方向:肝脏手术围手术期的处理

通讯作者:郭 雅,男,博士,教授,主要研究方向:肝脏手术围手术期处理。E-mail:wjh200720198@126.com

[摘要] 目的 通过检测肝缺血再灌注前后肝组织的细胞凋亡情况,探讨临床手术中肝缺血再灌注与细胞凋亡之间的关系,为更好地预防或减轻临床肝脏手术中造成的缺血再灌注损伤(HIRI)提供理论基础。方法 以细胞凋亡测定法(TUNEL法)测定肝缺血再灌注前后肝细胞的凋亡情况。结果 肝门阻断前与肝门开放时和关腹前肝细胞的凋亡指数各组间的差异有统计学意义($P < 0.01$),肝门阻断前肝细胞的凋亡指数高于肝门开放时和关腹前肝细胞的凋亡指数($P < 0.01$);肝门开放时肝细胞的凋亡指数高于关腹前肝细胞的凋亡指数($P < 0.01$)。结论 研究表明肝脏手术中,在肝细胞短时间(15 min左右)缺血后的再灌注损伤中,肝细胞凋亡和缺血再灌注损伤呈负相关,它并不是术后早期肝细胞损伤的一种主要方式。

[关键词] 肝脏; 缺血再灌注; 凋亡

[中图分类号] R 657.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2009)04-0330-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2009.04.003

Relationship between hepatic ischemia-reperfusion injury and apoptosis WU Ji-hua, WEN Zhang, DU-AN Jia-jia, et al. Department of Surgery, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nan-ning 530021, China

[Abstract] **Objective** To detect the apoptosis of liver cell before and after hepatic ischemia-reperfusion, and explore the relationship between the liver ischemia-reperfusion of the clinical operation and apoptosis, in order to provide a theoretical basis for better preventing the hepatic ischemia reperfusion injury (HIRI) caused by the operation. **Methods** The apoptosis determination (TUNEL method) was used to measure the apoptosis in-

dex(AI) of hepatic cells before and after liver ischemia reperfusion. **Results** Compared the AI of hepatic cells before Pringle's maneuver, at the time of the open of porta hepatis and before the closure of abdominal cavity respectively, differences among these three groups were significant ($P<0.01$). The AI of liver cells before Pringle's maneuver was higher than that at the open of porta hepatis ($P<0.01$), and also was higher than that before the abdominal closure ($P<0.01$), AI of liver cells at the time of the open of porta hepatis was higher than the AI before the abdominal closure ($P<0.01$). **Conclusion** In the early of hepatic reperfusion injury after the short (about 15mins) term ischemia, apoptosis and ischemic reperfusion injury is a negative correlation, apoptosis is not the major way in the early injury of the liver cell.

[Key words] Liver; Ischemic reperfusion; Apoptosis

细胞凋亡(apoptosis, Apo)是细胞受到一些特殊信号刺激后,按照内在程序,即细胞预存的死亡程序,由其自身内部机制调控的、主动的细胞死亡,属于机体自身的生理活动^[1]。细胞凋亡过程受基因严格调控,与细胞坏死有显著的差别。肝缺血-再灌注损伤(hepatic ischemia-reperfusion injury, HIRI)见于许多临床病理和手术过程中,是多细胞参与、多种介质共同发挥作用的复杂病理生理过程。细胞凋亡是肝缺血-再灌注损伤后细胞死亡的重要方式,而且HIRI后细胞凋亡的发生与缺血的严重程度、再灌注时间的长短有关。在临床肝脏手术中,肝门阻断的时间往往较短(大约5~15 min左右)。本文通过研究临床手术中短暂肝脏缺血后再灌注损伤与凋亡的关系,为临床选用有效的预处理方法来抑制肝细胞凋亡、减轻肝脏缺血再灌注损伤提供理论基础。

1 资料与方法

1.1 标本来源 为2005-01~2008-03在广西医科大学第一附属医院肝胆外科住院行肝段切除的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma; HCC)的患者27例,术中均采用Pringle's法阻断第一肝门。肝门阻断时间为 11.2 ± 4.1 min;肝门阻断开放后到手术结束关腹的时间为 68.4 ± 12.4 min。采用自身前后对照。

1.2 标本的采集和保存 分别在术中肝门阻断前、肝门阻断开放同时、手术结束关腹前取切缘旁肝组织5g。用4%多聚甲醛固定,制作石蜡标本,并做常规病理检查。

1.3 细胞凋亡采用TUNEL法测定 TUNEL阳性细胞为单个散在分布,细胞呈典型的凋亡形态,周围无炎症反应,阳性染色呈红色。应用病理图像分析仪分析,每张切片一个高倍视野计数200个细胞中凋亡细胞数量,共取5个视野,并计算凋亡指数(AI = Apoptosis Index = 阳性细胞数之和/1000)。设立经过DNA酶处理的切片为阳性对照片,PBS代

替TUNEL反应混合物为阴性对照片。

1.4 统计学处理 建立数据库,采用SPSS13.0软件进行统计分析。结果以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,并应用 t 检验分析。以 $P<0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

关腹前的肝细胞凋亡指数低于肝门开放时凋亡指数;肝门开放时的凋亡指数低于肝门阻断前凋亡指数;肝门阻断前的凋亡指数高于关腹前的凋亡指数。三个时点进行两两比较, P 均 <0.01 。见表1,图1。

表1 肝细胞凋亡指数(AI)在各时间点的比较($\bar{x} \pm s$)

时 点	例数	AI	t	P
①肝门阻断前	27	9.59 ± 0.959	—	—
②肝门开放时	27	5.80 ± 0.939	17.675	<0.01
③关腹前	27	4.69 ± 1.739	12.821	<0.01

注:②与③比较 $t=2.918, P<0.01$

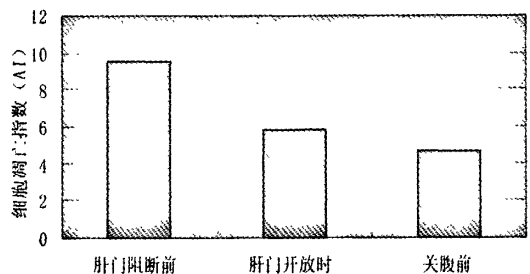


图1 肝细胞凋亡指数(AI)在各时点的比较

3 讨论

3.1 肝缺血再灌注损伤是临床肝脏切除手术和肝脏移植手术中的一个重要问题,可直接影响到疾病的预后、手术成功率和病人的存活率。肝缺血-再灌注损伤是一个多因素、多环节、多途径参与的复杂的网络过程。包括氧自由基的释放、钙超载、Kuffer细胞的激活、细胞因子的释放^[2]。近年来研究表明,细胞凋亡与肝缺血再灌注损伤密切相关,并在HIRI的病理过程中起着重要的作用。目前,大多数的动物研究显示长时间(>30 min)的肝门阻断再灌注

后,再灌注的肝细胞都出现不同程度的凋亡甚至坏死,并随缺血的时间延长凋亡指数加重。并以此为依据研究出相应的缺血再灌注损伤预处理方法来减轻缺血再灌注后的损伤。但在实际临床肝脏手术中,阻断肝门时间大多数在 15 min 以内,人体肝脏手术肝细胞缺血的时间和动物试验中的缺血时间存在着较大的差异,再灌注后肝细胞凋亡的情况可能也存在不同的结局。我们的研究发现:在临床肝脏手术中,关腹前的肝细胞凋亡指数低于肝门开放时凋亡指数;肝门开放时的凋亡指数低于肝门阻断前凋亡指数;肝门阻断前的凋亡指数高于关腹前指数。在临床的肝脏手术中短时间的肝门阻断并不像以往动物试验研究那样加重肝细胞的凋亡,阻断前肝细胞的凋亡指数比阻断后肝细胞的凋亡指数还要高,也就是说阻断开放后的短时间内(68.4 ± 12.4 min)肝细胞的凋亡并没有加重,肝细胞凋亡在临床肝脏手术后短时间内还不是肝细胞损害的主要方式。

3.2 我们的研究结果与其他大部分的动物研究存在较大不同,这可能和短时间的肝门阻断和再灌注后机体产生和释放的一些抑制凋亡的因子的作用有关。到目前为止研究发现的凋亡相关基因多达数十种,根据功能不同可分为:(1)抑制凋亡基因:Bcl-2 家族中的 Bcl-2、Bcl-xL、A1/Bf-1、Nrl3、mcl-1、突变型 p53、IAP 家族;(2)促进凋亡基因:Bcl-2 家族中的 bax、bik、bad、bid、Hrk、Bcl-xs、bim、mtid、Fas 基因及野生型 p53;(3)双向调控基因:即早基因(1EGs),c-f08、c-myc 等。另外,也有文献报道在缺血再灌注损伤中 HSP(热休克蛋白)^[3]具有保护性的作用,血红素氧合酶-1(heme oxygenase,HO-1)

和细胞凋亡存在负相关;HIRI 中重要的早期炎症因子高迁移率蛋白-1(HMGB-1)也有抑制凋亡的作用^[4]。因此,我们认为在短时间肝缺血后的再灌注中机体可能存在着凋亡与抗凋亡,损伤与抗损伤的过程,而且抗凋亡的作用可能要大于凋亡的过程。这有可能是短时间的肝缺血再灌注后肝细胞凋亡指数有所下降的原因之一。

总之,细胞凋亡在器官的缺血再灌注损伤中起着至关重要的作用,是细胞损害一个重要方式。在肝手术过程中,尽快在短时间内恢复肝脏的血供是保证肝脏功能恢复的重要步骤,在主动缺血之前或被动缺血之前给予肝脏预处理保护,增强肝脏抗缺血缺氧的能力,阻止一些细胞跨过不可逆点,有可能终止或减轻肝细胞凋亡的发生,有利于术后肝细胞损伤的恢复。

参考文献

- 1 Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR, et al. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics [J]. Br J Cancer. 1972, 26(4):239-257.
- 2 Kurne M, Yamamoto Y, Saad S, et al. Ischemic pre-conditioning of the liver in rats: implications of heat shock protein induction to increase tolerance of ischemia-reperfusion injury [J]. J Lab Clin Med, 1996, 128(3):251-258.
- 3 Bedirli A, Sakrak O, Muhtaroglu S, et al. Ergothioneine pretreatment protects the liver from ischemia-reperfusion injury caused by increasing hepatic heat shock protein 70 [J]. J Surg Res, 2004, 122(1): 96-102.
- 4 Volp K, Brezniceanu ML, Bosser S, et al. Increased expression of high mobility group box 1 (HMGB1) is associated with an elevated level of the antiapoptotic c-IAP2 protein in human colon carcinomas [J]. Gut, 2006, 55(2): 234-242.

[收稿日期 2009-02-22][本文编辑 宋卓孙 刘京虹]

《中国临床新医学》杂志会员入会登记表

(复印填写后寄回本刊)

姓 名		性 别		出生年月		职 务	
职 称		学 位		专 业			
单 位			地 址				
电 话		E-mail				邮 编	