

血必净注射液预处理对肝癌切除术后缺血/再灌注损伤及凝血功能紊乱的保护作用研究

沈珏 林小军 崔伯康 池沛冬 曾秋耀 赵擎宇

【摘要】 目的 对拟通过肝血流阻断切除肿瘤的患者预先给予血必净注射液,观察其对术后可能发生的缺血/再灌注(I/R)损伤及凝血功能紊乱的保护作用。方法 采用前瞻性随机对照研究,收集 2011 年 10 月至 2013 年 3 月中山大学肿瘤防治中心肝胆科收治的拟行肝癌切除术、肝功能 Child-Pugh 分级均为 A 级的 60 例患者,按随机数余数法分为对照组和血必净组(术前连续 3 d 静脉滴注血必净注射液,每次 100 mL 加入 0.9% 生理盐水注射液中进行预处理),于手术前后测定血常规、凝血功能、肝功能、血清炎症细胞因子及甲胎蛋白(AFP)等水平。结果 最终纳入 45 例患者,对照组 23 例,血必净组 22 例;43 例患者为慢性乙型病毒性肝炎。与手术前比较,两组手术后丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)明显升高,凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)明显延长,白细胞计数(WBC)、中性粒细胞比例(N)、C-反应蛋白(CRP)明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);血必净组手术后以上指标不同程度地低于对照组[ALT(U/L):213.1(80.4 ~ 796.6)比 265.8(15.6 ~ 882.3),AST(U/L):194.1(65.4 ~ 914.2)比 264.3(15.4 ~ 475.9),LDH(Ig,U/L):5.69 ± 0.72 比 5.71 ± 0.72,PT(s):15.24 ± 2.16 比 14.41 ± 1.33,APTT(s):31.51 ± 7.04 比 29.47 ± 4.90,WBC($\times 10^9/L$):13.47 ± 4.66 比 14.58 ± 4.40,N:0.87 ± 0.06 比 0.87 ± 0.04,CRP(mg/L):40.64(16.93 ~ 189.59)比 45.64(11.65 ~ 349.40)],但差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。两组手术前肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)均低于 1.0 ng/L;手术后对照组和血必净组 TNF- α 水平均无明显变化,IL-6 分别升高至 485.10(104.00 ~ 837.50) ng/L、193.26(95.10 ~ 385.20) ng/L(两组比较 $P < 0.01$)。两组手术后高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)水平均明显高于手术前(均 $P < 0.01$),血必净组手术后 HMGB1 水平明显低于对照组($\mu\text{g/L}$:268.73 ± 5.56 比 277.12 ± 2.92, $P < 0.01$)。血必净组急性生理学与慢性健康状况评分系统 II(APACHE II)评分明显低于对照组(分:4.18 ± 3.75 比 4.53 ± 2.34, $t = 5.328$, $P = 0.027$),术后首次排气、排便时间均明显早于对照组[排气时间(d):3(2 ~ 4)比 3(2 ~ 4), $U = -2.023$, $P = 0.043$;排便时间(d):4(2 ~ 6)比 5(3 ~ 8), $U = -2.926$, $P = 0.003$],但术后住院天数和总住院天数比较差异无统计学意义。Spearman 秩相关分析显示,乙型肝炎病毒基因(HBV-DNA)阳性的 33 例患者 HBV-DNA 水平与术前 ALT($r = 0.414$, $P = 0.044$)、AST($r = 0.405$, $P = 0.024$)呈明显正相关,与手术前后其他肝功能指标均无明显相关性。结论 入肝血流阻断肝癌切除术可造成一定程度的肝 I/R 损伤及凝血功能紊乱;血必净注射液可能通过抑制肝脏 I/R 后炎症因子的释放,减轻肝组织损伤,且对患者术后肠道功能恢复具有促进作用,但对改善凝血功能紊乱的作用不明显。

【关键词】 血必净注射液; 肝癌; 肝切除术; 缺血/再灌注损伤; 凝血功能; 细胞因子

The protective effect of Xuebijing injection pretreatment on hepatic ischemia/reperfusion injury and coagulopathy after excision of liver cancer SHEN Jue*, LIN Xiao-jun, CUI Bo-kang, CHI Pei-dong, ZENG Qiu-yao, ZHAO Qing-yu. * Department of Critical Care Medicine, Sun Yat-sen University Cancer Center, State Key Laboratory of Oncology in Southern China, Guangzhou 510060, Guangdong, China
Corresponding author: ZHAO Qing-yu, Email: zhaoqy@sysucc.org.cn

【Abstract】 **Objective** To observe the protective effect of Xuebijing injection pretreatment on hepatic ischemia/reperfusion (I/R) injury and coagulopathy in liver cancer patients undergoing excision of hepatic cancer after occlusion of hepatic blood flow. **Methods** A prospective randomly controlled study was conducted. Sixty patients with liver cancer classified as Child-Pugh class A undergoing hepatectomy in the Department of Hepatobiliary Surgery of Sun Yat-sen University Cancer Center from October 2011 to March 2013 were enrolled. The patients were randomized into control group and Xuebijing group (each patient received 100 mL Xuebijing injection added to 0.9% saline as a preoperative treatment for 3 days). Complete blood count, coagulation function, hepatic function, serum pro-inflammatory cytokines and alpha-fetoprotein (AFP) levels were determined before and after operation. **Results**

DOI:10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2013.12.012

基金项目:卫生部医药卫生科技发展研究项目(WH2011-01-02)

作者单位:510060 广东广州,中山大学肿瘤防治中心重症医学科(沈珏、赵擎宇),肝胆科(林小军、崔伯康),检验科(池沛冬、曾秋耀);华南肿瘤学国家重点实验室(沈珏、林小军、崔伯康、池沛冬、曾秋耀、赵擎宇)

通信作者:赵擎宇,Email:zhaoqy@sysucc.org.cn

Forty-five out of 60 patients were enrolled eventually, with 23 patients in control group and 22 in Xuebijing group, and among them 43 patients were positive for hepatitis B surface antigen (HBsAg) at admission. Compared with those before operation, the postoperative levels of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH) in control and Xuebijing groups were significantly elevated, prothrombin time (PT) and activated partial prothrombin time (APTT) were significantly prolonged, and white blood cells (WBC), proportion of neutrophils (N) and C-reactive protein (CRP) were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Although the above indexes in Xuebijing group after operation were lower than those in control group in different degrees [ALT (U/L): 213.1 (80.4–796.6) vs. 265.8 (15.6–882.3), AST (U/L): 194.1 (65.4–914.2) vs. 264.3 (15.4–475.9), LDH (lg, U/L): 5.69 ± 0.72 vs. 5.71 ± 0.72 , PT (s): 15.24 ± 2.16 vs. 14.41 ± 1.33 , APTT (s): 31.51 ± 7.04 vs. 29.47 ± 4.90 , WBC ($\times 10^9/L$): 13.47 ± 4.66 vs. 14.58 ± 4.40 , N: 0.87 ± 0.06 vs. 0.87 ± 0.04 , CRP (mg/L): 40.64 (16.93–189.59) vs. 45.64 (11.65–349.40)], no statistical significance was found between the groups (all $P > 0.05$). The preoperative levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) were both less than 1.0 ng/L, and the postoperative levels of TNF- α showed no significant change, and IL-6 was increased to 485.10 (104.00–837.50) ng/L and 193.26 (95.10–385.20) ng/L in control and Xuebijing groups respectively ($P < 0.01$). The serum high mobility group box-1 (HMGB1) protein levels after operation were higher than those of preoperative in both groups (both $P < 0.01$), but the postoperative HMGB1 in Xuebijing group were significantly lower than those in control group ($\mu\text{g/L}$: 268.73 ± 5.56 vs. 277.12 ± 2.92 , $P < 0.01$). Acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) score in Xuebijing group was significantly lower than that in control group (4.18 ± 3.75 vs. 4.53 ± 2.34 , $t = 5.328$, $P = 0.027$), and the first passage of flatus and defecation after operation in Xuebijing group were significantly earlier than those in control group [exhaust time (days): 3 (2–4) vs. 3 (2–4), $U = -2.023$, $P = 0.043$; defecation time (days): 4 (2–6) vs. 5 (3–8), $U = -2.926$, $P = 0.003$]. However, no difference was found between two groups in the postoperative and total hospital days. Spearman rank correlation analysis showed there were positive correlations between hepatitis B virus (HBV)-DNA levels and preoperative ALT ($r = 0.414$, $P = 0.044$) and AST ($r = 0.405$, $P = 0.024$) in 33 HBV-DNA positive patients, but there was no significant correlation between HBV-DNA levels or other preoperative liver function indicators. **Conclusions** Hepatic I/R injury and coagulopathy may occur in liver cancer patients undergoing resection of cancer with occlusion of hepatic blood flow. Xuebijing injection may inhibit the release of serum pro-inflammatory cytokines, thereby alleviate hepatic I/R injury and promote the recovery of intestinal function. But it does not offer protective effect on coagulopathy.

[Key words] Xuebijing injection; Liver cancer; Hepatectomy; Ischemia/reperfusion injury; Coagulation function; Cytokine

肝癌在我国是常见的恶性肿瘤,无论是原发性肝癌还是继发性肝癌,目前手术切除仍然是首选的治疗方法。但在肝内病灶较大、需手术时,对入肝血流进行阻断就有可能导致肝缺血/再灌注(I/R)损伤。血必净注射液是我国中西医结合急救医学奠基人王今达教授以古方血府逐瘀汤为基础研制出的静脉制剂,具有清热解毒、活血化瘀、扶正祛邪等功效。虽然有关 I/R 损伤的动物模型已证实,血必净注射液对肝、肾、小肠、肺、骨骼肌等 I/R 损伤组织具有显著的保护作用,并认为其保护机制与抗氧化应激、调节免疫功能、调节炎症反应和保护内皮细胞/改善微循环有关^[1-6],但目前尚无血必净预处理应用于相应手术患者的报道。本研究旨在证实血必净注射液对入肝血流阻断肝癌切除术后患者可能发生的 I/R 损伤及凝血功能紊乱的保护作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象: 采用前瞻性随机对照研究方法,选择 2011 年 10 月至 2013 年 3 月入住中山大学肿瘤防治中心肝胆科拟通过肝血流阻断切除肿瘤的 60 例患者,肝功能 Child-Pugh 分级均为 A 级;排除年

龄 < 18 岁,完善入院检查后变更手术治疗选择其他方式或放弃治疗者,用药未达设计剂量的患者。

本研究符合医学伦理学标准,并经医院伦理委员会批准,所有治疗均取得患者或家属的知情同意。

1.2 分组与治疗: 将 60 例患者按随机数余数法分为血必净组和对照组。两组患者均根据病情,采用针对性的治疗措施稳定其状态,为手术做准备。血必净组在上述常规治疗基础上,连续 3 d 静脉滴注血必净注射液(天津红日药业股份有限公司生产,每次用 100 mL 加入 0.9% 生理盐水注射液 250 mL 中)进行预处理治疗。术中对需要半肝切除者行肝门解剖、分离血管结构、半肝血流阻断,其余患者行第一肝门阻断,单次阻断时间均控制在 20 min 以内,总阻断时间不超过 30 min。根据肝脏切除范围将手术分为 3 级: I 级为肿瘤局部切除; II 级为肝段切除; III 级为联合肝段切除,包括半肝切除和肝叶切除。术后给予床旁心电监护、鼻导管给氧、合理应用抗菌药物、控制液体出入量、营养支持等综合治疗。

1.3 检测指标和方法: 取患者外周静脉血,在本中心检验科测定血常规、凝血功能、肝功能、甲胎蛋白

(AFP)、细胞因子。乙型肝炎病毒基因(HBV-DNA)定量检测采用聚合酶链反应(PCR),试剂盒购于中山大学达安基因有限公司,仪器为美国 ABI7900 型荧光定量 PCR 分析仪。血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)水平检测由本中心检验科流式细胞技术室完成,各细胞因子检测下限为 1.0 ng/L (<1.0 ng/L 记为阴性)。血清高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)蛋白水平采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)检测,人 HMGB1 ELISA 试剂盒购于美国 USCN Life 公司。

1.4 统计学处理:采用 SPSS 16.0 软件建立数据库,定量资料呈正态分布者用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验进行组内和组间比较;呈偏态分布者用中位数[*M*(范围)]表示,用 Mann-Whitney *U* 检验进行组内和组间比较;对个别数据取自然对数进行正态转化。定性资料的比较采用 χ^2 检验;应用 Spearman 秩相关分析研究变量间的相关性;*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般情况:按设计最初收录的 60 例患者中,有 15 例因各种原因被剔除,最终 45 例纳入分析,结果见表 1。两组在性别、年龄、HBV-DNA、AFP、

肿瘤大小(肿瘤最大直径)、肿瘤类型、恶性比例、肝功能分级、肝脏质地、肝门阻断时间、手术范围(I、II、III级)、手术时间、术中出血量、术中输血情况等方面差异无统计学意义(均 *P*>0.05),说明两组患者具有可比性。其中对照组有 1 例半肝切除者行半肝血流阻断,其余患者术中均行第一肝门阻断。

2.2 两组患者肝功能比较(表 2):血必净组术前丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、 γ -谷氨酰转氨酶(GGT)和总胆红素(TBil)均明显高于对照组(*P*<0.05 或 *P*<0.01);而两组乳酸脱氢酶(LDH)、直接胆红素(DBil)、白蛋白(ALB)差异均无统计学意义(均 *P*>0.05),提示血必净组患者术前肝功能稍差于对照组。与手术前比较,对照组术后 ALT、AST、LDH、TBil 及 DBil 明显升高,血必净组术后 ALT、AST、LDH 明显升高(*P*<0.05 或 *P*<0.01);血必净组术后 ALT、AST、LDH 的升高程度低于对照组,但差异无统计学意义(均 *P*>0.05)。

2.3 两组患者凝血功能比较(表 3):两组患者术前凝血功能指标均基本正常。与手术前比较,对照组术后 PT、APTT 明显延长,Fbg 水平明显降低(均 *P*<0.05);血必净组术后 PT、APTT 明显延长(均 *P*<0.05)。血必净组术后凝血功能与对照组比较差异无

表 1 不同治疗方法两组肝癌切除术后患者一般临床资料和手术情况比较

| 组别 | 例数 | 性别(例) | | 年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$) | HBV-DNA ^a [$\times 10^6$ U/L, <i>M</i> (范围)] | AFP[μ g/L, <i>M</i> (范围)] | 肿瘤最大直径 (cm, $\bar{x} \pm s$) | 肿瘤类型(例) | | | | |
|------------|----|-----------------------------------|---------------------------------|------------------------------|---|-----------------------------------|----------------------------------|----------------|---------|----------------|----|----|
| | | 男性 | 女性 | | | | | 肝细胞性肝癌 | 胆管细胞性肝癌 | | | |
| 全体 | 45 | 36 | 9 | 49.42 \pm 12.15 | 11.10(0 ~ 7 760) | 76.93(1.10 ~ 121 000) | 6.33 \pm 3.67 | 41 | 4 | | | |
| 对照组 | 23 | 17 | 6 | 52.37 \pm 12.45 | 4.82(0 ~ 4 230) | 11.64(1.10 ~ 121 000) | 6.39 \pm 4.21 | 20 | 3 | | | |
| 血必净组 | 22 | 19 | 3 | 46.12 \pm 11.26 | 124.00(0 ~ 7 760) | 158.14(1.69 ~ 121 000) | 6.25 \pm 3.06 | 21 | 1 | | | |
| 检验值 | | $\chi^2=0.450$ | | <i>t</i> =0.770 | <i>U</i> =-1.936 | <i>U</i> =-0.974 | <i>t</i> =1.247 | $\chi^2=0.228$ | | | | |
| <i>P</i> 值 | | 0.459 | | 0.386 | 0.053 | 0.330 | 0.273 | 0.608 | | | | |
| 组别 | 例数 | 肝门阻断时间 (min, $\bar{x} \pm s$) | 手术时间 (min, $\bar{x} \pm s$) | 术中出血量 [mL, <i>M</i> (范围)] | 术中输血(例) | | 手术范围(例) | | | 术中肝脏质地(例) | | |
| | | | | | 是 | 否 | I级 | II级 | III级 | 软 | 中 | 硬 |
| 全体 | 45 | 13.41 \pm 4.72 | 149.00 \pm 30.94 | 200(100 ~ 1 400) | 4 | 41 | 6 | 9 | 30 | 13 | 17 | 15 |
| 对照组 | 23 | 12.93 \pm 4.89 | 144.44 \pm 29.64 | 200(100 ~ 1 400) | 3 | 20 | 2 | 6 | 15 | 8 | 8 | 7 |
| 血必净组 | 22 | 13.93 \pm 4.65 | 158.82 \pm 32.43 | 400(100 ~ 1 000) | 1 | 21 | 4 | 3 | 15 | 5 | 9 | 8 |
| 检验值 | | <i>t</i> =0.169 | <i>t</i> =0.052 | <i>U</i> =-0.620 | $\chi^2=0.228$ | | $\chi^2=0.044$ | | | $\chi^2=0.796$ | | |
| <i>P</i> 值 | | 0.684 | 0.820 | 0.536 | 0.608 | | 0.833 | | | 0.672 | | |

注:a代表 43 例慢性乙型病毒性肝炎患者检测的乙型肝炎病毒基因(HBV-DNA)水平,对照组 21 例,血必净组 22 例;AFP 为甲胎蛋白

表 2 血必净注射液预处理对肝癌切除术后患者肝功能的影响

| 组别 | 时间 | 例数 | ALT | AST | GGT | LDH | TBil | DBil | ALB |
|------|----|----|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| | | | [U/L, <i>M</i> (范围)] | [U/L, <i>M</i> (范围)] | [U/L, <i>M</i> (范围)] | (lg, U/L, $\bar{x} \pm s$) | (μ mol/L, $\bar{x} \pm s$) | (μ mol/L, $\bar{x} \pm s$) | (g/L, $\bar{x} \pm s$) |
| 对照组 | 术前 | 23 | 28.6(12.3 ~ 100.6) | 28.5(19.8 ~ 99.7) | 36.5(15.2 ~ 333.1) | 5.06 \pm 0.41 | 11.45 \pm 3.30 | 3.6(2.1 ~ 8.5) | 40.65 \pm 2.46 |
| | 术后 | 23 | 265.8(15.6 ~ 882.3) ^a | 264.3(15.4 ~ 475.9) ^a | 29.0(13.7 ~ 305.2) | 5.71 \pm 0.72 ^a | 18.22 \pm 12.54 ^b | 6.6(2.3 ~ 16.7) ^a | 33.73 \pm 3.86 |
| 血必净组 | 术前 | 22 | 48.6(27.2 ~ 96.1) ^c | 37.8(21.0 ~ 115.1) ^d | 98.9(30.6 ~ 340.9) ^d | 5.19 \pm 0.50 | 14.66 \pm 8.29 ^d | 4.4(1.4 ~ 9.4) | 40.22 \pm 4.83 |
| | 术后 | 22 | 213.1(80.4 ~ 796.6) ^a | 194.1(65.4 ~ 914.2) ^a | 63.2(15.8 ~ 466.2) | 5.69 \pm 0.72 ^a | 16.99 \pm 8.07 | 5.9(2.3 ~ 21.9) | 33.09 \pm 3.24 |

注:ALT 为丙氨酸转氨酶,AST 为天冬氨酸转氨酶,GGT 为 γ -谷氨酰转氨酶,LDH 为乳酸脱氢酶,TBil 为总胆红素,DBil 为直接胆红素,ALB 为白蛋白;与本组术前比较,^a*P*<0.01,^b*P*<0.05;与对照组同期比较,^c*P*<0.01,^d*P*<0.05

表 3 血必净注射液预处理对肝癌切除术后患者凝血功能和血常规的影响

| 组别 | 时间 | 例数 | PT (s, $\bar{x} \pm s$) | APTT (s, $\bar{x} \pm s$) | TT (s, $\bar{x} \pm s$) | Fbg [g/L, M(范围)] | WBC($\times 10^9/L$, $\bar{x} \pm s$) | N ($\bar{x} \pm s$) | Hb(g/L, $\bar{x} \pm s$) | PLT($\times 10^9/L$, $\bar{x} \pm s$) |
|------|----|----|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|---|------------------------------|------------------------------|---|
| 对照组 | 术前 | 23 | 12.06 \pm 0.81 | 25.69 \pm 2.56 | 17.70 \pm 0.98 | 2.71(1.78 ~ 7.04) | 6.92 \pm 1.88 | 0.58 \pm 0.10 | 132.46 \pm 18.12 | 189.51 \pm 75.23 |
| | 术后 | 23 | 14.41 \pm 1.33 ^a | 29.47 \pm 4.90 ^a | 17.25 \pm 1.60 | 2.09(1.11 ~ 5.86) ^a | 14.58 \pm 4.40 ^b | 0.87 \pm 0.04 ^b | 121.33 \pm 17.46 | 176.32 \pm 91.58 |
| 血必净组 | 术前 | 22 | 12.73 \pm 1.25 | 27.09 \pm 3.71 | 18.28 \pm 0.97 | 2.50(1.53 ~ 5.12) | 5.77 \pm 1.91 | 0.54 \pm 0.11 | 143.34 \pm 15.29 | 144.03 \pm 62.49 |
| | 术后 | 22 | 15.24 \pm 2.16 ^a | 31.51 \pm 7.04 ^a | 17.60 \pm 1.08 | 2.26(0.98 ~ 3.57) | 13.47 \pm 4.66 ^b | 0.87 \pm 0.06 ^b | 131.19 \pm 22.04 | 127.36 \pm 59.64 |

注:PT 为凝血酶原时间,APTT 为活化部分凝血活酶时间,TT 为凝血酶时间,Fbg 为纤维蛋白原,WBC 为白细胞计数,N 为中性粒细胞比例,Hb 为血红蛋白,PLT 为血小板计数;与本组术前比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$

统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.4 两组患者血常规及 C- 反应蛋白(CRP)比较(表 3~4): 两组患者术前血常规及 CRP 均基本正常。两组术后白细胞计数(WBC)、中性粒细胞比例(N)、CRP 水平明显高于手术前(均 $P < 0.01$),而血红蛋白(Hb)、血小板计数(PLT)手术前后均无明显差异。血必净组术后 WBC、CRP 水平升高程度低于对照组,但差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.5 两组患者血清细胞因子比较(表 4):两组患者术前血清 TNF- α 、IL-6 均为阴性, HMGB1 比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。手术后,两组患者血清 TNF- α 水平未见明显变化,大部分为阴性结果;而 IL-6 和 HMGB1 水平较术前显著升高,但血必净组升高程度明显低于对照组(均 $P < 0.01$)。

2.6 两组患者预后情况比较(表 5):同时应用急性生理学与慢性健康状况评分系统 II(APACHE II)评分对两组患者术后疾病严重程度进行评估并比较,血必净组 APACHE II 评分明显低于对照组($P = 0.027$),术后首次排气、排便时间均早于对照组($P = 0.043$ 和 $P = 0.003$),而两组间术后住院天数和总住

院天数比较差异均无统计学意义。

2.7 相关性分析:术前根据患者的 HBV-DNA 水平将 43 例慢性乙型病毒性肝炎患者分为阴性组(HBV-DNA $< 1 \times 10^6$ U/L)、低复制组(HBV-DNA $(1 \sim 100) \times 10^6$ U/L)和高复制组(HBV-DNA $> 100 \times 10^6$ U/L)3 组^[7],分别为 10、17 和 16 例。Spearman 秩相关分析结果显示,HBV-DNA 阳性的 33 例患者 HBV-DNA 水平与术前 ALT、AST 呈明显正相关($r_{ALT} = 0.414, P_{ALT} = 0.044; r_{AST} = 0.405, P_{AST} = 0.024$),与术前 ALB、TBil、DBil 及术后 ALT、AST、LDH 均无明显相关性(均 $P > 0.05$)。

3 讨论

肝脏不仅是机体含酶最丰富的器官,同时也是除组织因子及由内皮细胞合成的血管性血友病因子(vWF)外,其他凝血因子合成的场所。CRP 是一种能与肺炎链球菌 C 多糖体反应形成复合物的急性时相反应蛋白,血清 CRP 由肝脏合成,TNF- α 和 IL-6 是其合成的最重要的调节因子,在机体发生创伤、感染、炎症和外科手术时 CRP 迅速增高。本研究结果显示,患者术后 PT、APTT 较术前平均延长 2~3 s,

Fbg 水平较术前下降,未见明显出血倾向者;同时术后 CRP、白细胞计数及其分类均显著增高,并且血清炎症因子 IL-6 和 HMGB1 均明显高于术前水平,说明经历入肝血流阻断肝癌切除术后,患者将出现轻度凝血功能障碍,同时机体炎症反应明显增强。

肝脏 I/R 时导致局部肝细胞损害的信号事件是复杂和多样的,包括多种细胞及细胞因子的参与和作用,其中 TNF- α 和 IL-6 是最常涉及到的细胞因子。HMGB1 是一种核 DNA 结合蛋白,长期以来学术界主

表 4 血必净注射液预处理对肝癌切除术后患者血清 CRP 及细胞因子水平的影响

| 组别 | 时间 | 例数 | CRP [mg/L, M(范围)] | TNF- α (ng/L) | IL-6(ng/L, M(范围)] | HMGB1 (μ g/L, $\bar{x} \pm s$) |
|------|----|----|------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------|---|
| 对照组 | 术前 | 23 | 2.84(0.42 ~ 82.98) | < 1.0 | < 1.0 | 131.01 \pm 82.34 |
| | 术后 | 23 | 45.64(11.65 ~ 349.40) ^a | < 1.0 | 485.10(104.00 ~ 837.50) | 277.12 \pm 2.92 ^a |
| 血必净组 | 术前 | 22 | 2.26(0.25 ~ 17.46) | < 1.0 | < 1.0 | 143.46 \pm 74.93 |
| | 术后 | 22 | 40.64(16.93 ~ 189.59) ^a | < 1.0 | 193.26(95.10 ~ 385.20) ^b | 268.73 \pm 5.56 ^{ab} |

注:CRP 为 C- 反应蛋白,TNF- α 为肿瘤坏死因子- α ,IL-6 为白细胞介素-6, HMGB1 为高迁移率族蛋白 B1;与本组术前比较,^a $P < 0.01$;与对照组同期比较,^b $P < 0.01$

表 5 不同治疗方法两组肝癌切除术后患者术后情况比较

| 组别 | 例数 | 术后住院天数 [d, M(范围)] | 总住院天数 [d, M(范围)] | APACHE II 评分 (分, $\bar{x} \pm s$) | 术后首次排气时间 [d, M(范围)] | 术后首次排便时间 [d, M(范围)] |
|------|----|----------------------|---------------------|---------------------------------------|------------------------|------------------------|
| 对照组 | 23 | 8(6 ~ 16) | 16(10 ~ 26) | 4.53 \pm 2.34 | 3(2 ~ 4) | 5(3 ~ 8) |
| 血必净组 | 22 | 9(7 ~ 13) | 14(12 ~ 26) | 4.18 \pm 3.75 | 3(2 ~ 4) | 4(2 ~ 6) |
| 检验值 | | $U = -0.116$ | $U = -0.285$ | $t = 5.328$ | $U = -2.023$ | $U = -2.926$ |
| P 值 | | 0.908 | 0.776 | 0.027 | 0.043 | 0.003 |

注:APACHE II 为急性生理学与慢性健康状况评分系统 II

要研究其核内功能,如稳定核小体结构、调节基因转录^[8]等。1999 年 HMGB1 作为一种迟发型炎症介质被 Wang 等^[9]发现;继而国内学者证实,血必净注射液能够显著抑制晚期促炎因子 HMGB1,对严重烫伤具有潜在的治疗作用^[10]。随研究的不断深入,Tsung 等^[11]和 Watanabe 等^[12]发现, HMGB1 在肝 I/R 损伤中与在脓毒症中作为晚期炎症介质的作用略有不同,是作为炎症和器官损害的早期介质而发挥作用, HMGB1 水平在再灌注后 1 h 就开始升高,并且以时间依赖方式继续升高至 24 h, 随后下降。同时, HMGB1 也被认为与肿瘤及新生物的形成有关^[13], HMGB1 有望成为有效评估肝细胞性肝癌患者预后的一个特异性指标^[14]。

本研究中 45 例患者术后均经病理证实为肝细胞性肝癌或胆管细胞性肝癌,其术前血清 HMGB1 水平为 $(137.13 \pm 78.16) \mu\text{g/L}$,稍高于 Cheng 等^[14]对山东大学齐鲁医院胃肠外科 160 例肝癌患者的调查结果,考虑可能与患者的肿瘤分期及实验方法、材料不同有关。

肝癌分为原发性肝癌和继发性肝癌,原发性肝癌以肝细胞癌(HCC)最为常见。2005 年 Parkin 等^[15]调查显示,全球每年新患 HCC 患者约为 62.6 万人,其中 55% 发生在我国,每年约 11 万人死于 HCC。同时肝脏也是恶性肿瘤常见的转移部位,手术切除仍是其首选的治疗方法。在对肝脏进行手术的过程中,如要对入肝血流进行阻断,可能导致肝 I/R 损伤的发生。肝脏 I/R 时,肝脏组织细胞发生一系列代谢、结构和功能的损伤,甚至导致肝功能衰竭,是影响疾病预后、手术成败和患者存活的主要因素之一。因此研究肝脏 I/R 损伤及其防治对于肝癌术后患者的预后具有重要的临床意义。

慢性乙型病毒性肝炎、肝硬化与原发肝癌的因果关系已得到国内学者的普遍认同^[16],但关于 HBV 在肝癌发生发展过程中的机制尚未完全明确。HBV-DNA 是直接反映 HBV 存在、复制及具有传染性的可靠指标^[17],HBV 的复制又可刺激机体产生免疫应答,从而造成肝细胞损伤。随着人们认识的深入,目前临床多将乙型肝炎(乙肝)血清标志物、HBV-DNA 和肝功能指标三者联合检测,以利于对 HBV 感染患者的诊断及疗效判断。李世杰等^[18]研究发现,HBV-DNA $\leq 1 \times 10^6$ U/L 组患者的血清表型以小三阳为主,对应的主要肝功能指标均无明显增高;而 HBV-DNA $> 1 \times 10^6$ U/L 组患者,不论何种乙肝免疫血清表型,大部分患者肝细胞会出现不同程度的

损伤。

本研究结果显示,HBV-DNA 低复制组和高复制组的患者术前 ALT、AST 水平与病毒载量呈正相关,随着病毒载量的增高,损伤程度增加,与李世杰等^[18]的报道结果一致;但患者术前 HBV-DNA 水平与术后 ALT、AST、LDH 等指标不具有相关性。术前未接受血必净注射液及其他药物预处理、术中经历了入肝血流阻断肝癌切除术的 23 例患者,手术后血清 ALT、AST 及 LDH 明显高于手术前水平,同时 TBil、DBil 也较术前升高。既往研究已证实,肝门血流阻断短时间内就可引起 ALT 及 AST 的升高,并且可以持续至术后第 5 天,且肝门血流阻断所造成的 I/R 损伤明显,肝功能受到损害^[19];而且肝癌切除术对 Child-Pugh A 级患者血清 HBV-DNA 复制状态无明显影响^[7]。因此可以认为,Child-Pugh A 级患者入肝血流阻断肝癌切除术后的肝损伤程度不受术前病毒载量的影响,除了手术打击及肝实质切除引起损伤外,患者术后存在明确的肝脏 I/R 损伤,其主要表现为 ALT、AST 及 LDH 升高。

本研究还发现,血必净组患者入院时基础肝功能较对照组稍差,表现为 ALT、AST 高于对照组,HBV-DNA 也高于对照组,考虑术前肝功能异常主要反映了受病毒侵袭的肝细胞损伤的程度,与病毒载量较高有较大关系,受到机体的免疫应答、营养状况、服用抗病毒药物等因素的影响;术前应用血必净注射液预处理,手术后 ALT、AST、TBil、CRP、WBC 升高水平均不同程度地低于对照组,血清 IL-6 和 HMGB1 水平升高程度低于对照组,说明血必净注射液可明显抑制入肝血流阻断肝癌切除术后炎症细胞因子 IL-6、HMGB1 的释放,以减轻机体的炎症反应。同时血必净组术后 APACHE II 评分明显低于对照组,可以初步认为,血必净预处理可减轻肝癌切除术后肝 I/R 损伤程度和手术本身对机体的打击,但目前保护效果与对照组相比未见差异。

在 I/R 损伤时,由于一氧化氮(NO)和内皮素(ET)之间的平衡被打乱,诱发的血管收缩和肝血窦腔隙的狭窄促进了白细胞的流出,使它们与毛细血管壁更加贴近^[20],进而导致血管内皮细胞损伤及微循环障碍。同时,对第一肝门进行阻断时,势必引起一段时间内门静脉回流受阻,导致肠道淤血,阻断时间越长,肠道组织缺血、缺氧时间越长,肠黏膜损伤的程度越重,进而影响患者术后的肠道功能。血必净注射液不仅可以降低血浆中内毒素的异常升高,降低一氧化氮合酶(NOS)水平,使内毒素/NOS 接近正

常,对应激性器官损伤亦具有良好的保护作用^[21];还可以拮抗内毒素,防止血小板及白细胞的中毒性损害,部分抑制血栓素的释放和保护血管内皮,从而防止凝血功能紊乱和微循环障碍的发生^[22]。张云杰等^[23-24]研究发现,I/R 后小肠黏膜破坏,黏膜变薄,绒毛高度减少,隐窝变浅,出现明显的形态学改变。随着再灌注损伤的进行,肠壁免疫细胞中凋亡基因 p53 的表达逐渐增加;应用血必净注射液能有效地保护肠黏膜,减轻肠道损伤,并可抑制肠壁免疫细胞 p53 基因的表达,其可能通过这些作用来调节肠黏膜免疫细胞,增加免疫屏障功能,从而保护肠道免疫屏障,减少肠道菌群移位和肠源性内毒素血症的发生,进而防止多器官功能障碍综合征(MODS)的发生。本研究结果显示,血必净组术后首次排气、排便时间均早于对照组,但术后 PT、APTT 和 Fbg 与对照组比较差异无统计学意义。

综上,入肝血流阻断肝癌切除术后患者可出现显著的肝功能损伤和轻度凝血功能紊乱,血必净预处理可以抑制肝脏 I/R 后炎症细胞因子的释放,并能促进患者术后肠道功能的恢复,但对于 I/R 器官功能损害的保护作用未见显著差异,对凝血功能紊乱的保护作用不明显,可能与样本量不足有关,应扩充样本量进一步观察。

另外,鉴于本研究的指标主要来自临床观察和细胞因子水平的分析,而根据血必净作为中成药制剂的作用特点,其应具有多靶点、双向调节作用,因此,为更全面了解其器官功能的保护作用机制和信号转导途径,应从组织形态学和分子生物学方面进行更深入的探讨研究。此外,目前血必净注射液应用于 I/R 损伤的临床研究甚少,其预处理用药剂量和疗程亦需要进一步的研究确定,提示我们在以后的研究工作中应注意这两方面对药物效果的影响。

参考文献

[1] 李广罡,韩文斌.血必净注射液对肝脏缺血再灌注损伤的影响.现代中西医结合杂志,2009,18:3282-3283.
 [2] 李锐,李润玖,张彧.热休克蛋白 70 在大鼠肾缺血/再灌注损伤中的表达及血必净注射液干预作用的研究.中国中西医结合急救杂志,2008,15:293-295.
 [3] 张云杰.血必净注射液对小肠缺血再灌注大鼠血清细胞因子的影响.山东中医药大学学报,2008,32:502-505.
 [4] 王光权,王龙.血必净注射液对大鼠急性肺损伤的作用.现代预防医学,2011,38:996-998,封3.
 [5] 潘维亮,陈辉,王莹.血必净注射液在骨骼肌缺血/再灌注损伤中的保护作用.中国危重病急救医学,2007,19:499.
 [6] 刘晓蓉,任新生,徐杰,等.血必净注射液治疗脓毒症凝血功能障碍的疗效观察.中国中西医结合急救杂志,2006,13:252.
 [7] 周庆菲,林小军,崔伯康,等.乙肝相关肝癌患者 HBVDNA 围手术期的变化及其对肝功能的影响.实用癌症杂志,2008,23:381-384.

[8] Lotze MT,Tracey KJ.High-mobility group box 1 protein (HMGB 1): nuclear weapon in the immune arsenal. Nat Rev Immunol,2005,5:331-342.
 [9] Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. Science, 1999, 285:248-251.
 [10] 唐冰,朱斌,朱家源,等.血必净注射液对烫伤大鼠高迁移率族蛋白 B1 的影响.中国中西医结合急救杂志,2007,14:111-113.
 [11] Tsung A, Sahai R, Tanaka H, et al. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. J Exp Med, 2005, 201:1135-1143.
 [12] Watanabe T, Kubota S, Nagaya M, et al. The role of HMGB-1 on the development of necrosis during hepatic ischemia and hepatic ischemia/reperfusion injury in mice. J Surg Res, 2005, 124:59-66.
 [13] Mollnes TE. High mobility group box-1 protein—one step closer to the clinic?. Crit Care,2008,12:168.
 [14] Cheng BQ, Jia CQ, Liu CT, et al. Serum high mobility group box chromosomal protein 1 is associated with clinicopathologic features in patients with hepatocellular carcinoma. Dig Liver Dis, 2008, 40:446-452.
 [15] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics,2002. CA Cancer J Clin,2005, 55:74-108.
 [16] 吴孟超.肝脏外科学.2版.上海:上海科技教育出版社,2000:310-312.
 [17] 彭文伟.病毒性肝炎研究.广州:广东科技出版社,1998:3.
 [18] 李世杰,刘大宁,郭瑞娟.835 例乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 水平与乙肝五项及主要肝功能指标的相关性分析.中国医药科学,2012,2:121-122.
 [19] 王时来,薛张纲,李渊,等.地氟醚预处理对肝脏缺血再灌注损伤的保护作用及其机制.中国临床医学,2011,18:682-684.
 [20] Vollmar B, Menger MD, Glasz J, et al. Impact of leukocyte-endothelial cell interaction in hepatic ischemia-reperfusion injury. Am J Physiol,1994, 267:G786-793.
 [21] 李志军,孙元莹,吴云良,等.血必净注射液防治家兔应激性脏器损伤的研究.中国危重病急救医学,2006,18:105-108.
 [22] 曹书华,王今达.血必净对感染性多器官功能障碍综合征大鼠组织及内皮损伤保护作用的研究.中国危重病急救医学,2002,14:489-491.
 [23] 张云杰,田昭春.血必净注射液对小肠缺血再灌注大鼠肠道组织形态学的影响.中国中西医结合外科杂志,2009,15:177-180.
 [24] 张云杰,朱勇.血必净注射液对大鼠肠缺血再灌注肠壁免疫细胞 P53 基因表达的实验研究.青岛医药卫生,2008,40:163-166.

(收稿日期:2013-09-30)

(本文编辑:李银平)

•广告目录•

①深圳迈瑞公司:监护仪、呼吸机 (封二)
 ②天津生化制药:琥珀氢可 (插页)
 ③珠海健帆:血液灌流器 (插页)
 ④德尔格:V500 呼吸机 (插页)
 ⑤天津红日药业:血必净注射液 (插页)
 ⑥广东天普药业:绿色方舟计划 (插页)
 ⑦罗氏诊断产品(上海)有限公司:血气分析仪 (插页)
 ⑧第一制药:克倍宁 (封三)
 ⑨江苏新晨:艾贝宁®盐酸右美托咪定注射液 (封四)