

吸入麻醉药对肝缺血再灌注损伤的保护作用

梁小女 阮 林

肝缺血再灌注损伤(HIRI)是肝脏外科手术中常见的病理生理过程,是引起肝术后和肝移植术后病人发生肝功能衰竭和肝细胞坏死的重要原因。其发生机制复杂,影响因素众多,钙离子超载、氧自由基(OFRs)的产生、细胞因子损害、炎性细胞浸润等都参与其中。近年来众多的实验研究已显示卤族吸入麻醉药除了其麻醉效能外,还能明显减轻肝缺血再灌注损伤,表现在血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)等肝脏酶学指标的释放减少,肝组织病理损害减轻,肝微循环改善等方面,对缺血再灌注的肝脏起到保护作用^[1~4]。目前研究认为卤族吸入麻醉药减轻肝缺血再灌注损伤的作用机制主要有以下几个方面。

一、吸入麻醉药能减少氧自由基的产生,抑制炎症反应

氧化应激反应在肝缺血再灌注损伤早期即发挥了重要作用,它是引起早期肝细胞死亡和炎症因子释放的主要因素^[5]。而氧自由基正是引起肝缺血再灌注损伤最早和最重要的物质。它可以通过改变细胞内蛋白质的结构、启动脂质过氧化反应、消耗自由基清除剂(如还原型谷胱甘肽 GSH、SOD)等引起肝细胞的损伤。Connor 等研究也表明在大鼠肝缺血再灌注损伤的模型中有氧自由基的形成,且氧自由基的产生可以被超氧化物歧化酶和过氧化氢酶所阻断,证明了氧自由基的生成是肝缺血再灌注损伤的重要环节^[6]。在缺血的肝组织中,氧自由基主要来源于黄嘌呤氧化酶体系、库普弗细胞和中性粒细胞的呼吸暴发^[7]。研究已表明库普弗细胞、中性粒细胞、内皮细胞的激活和氧自由基的产生是导致肝缺血再灌注损伤的主要因素^[8]。库普弗细胞是位于肝血窦腔内的巨噬细胞,具有胞吞、胞饮,抗原提呈和分泌生物活性物质的功能。肝缺血再灌注后库普弗细胞可被吸收

入肝的内毒素激活,增强其吞噬功能并产生氧自由基等多种生物活性物质,对进入肝脏的毒性物质进行代谢解毒。但同时激活的库普弗细胞又可以分泌大量的炎性介质(如 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1$ 、 $IL-8$),直接损害肝细胞;更严重的是这些炎性介质能够与细胞趋化因子、细胞黏附分子等共同作用,使中性粒细胞(poly morph nuclear leukocyte, PMN)趋化、黏附聚集、活化,触发呼吸暴发,产生大量的氧自由基,诱发脂质过氧化反应并释放多种蛋白酶类,导致肝细胞坏死和凋亡。在损伤的肝组织中,可以观察到中性粒细胞的浸润和内皮细胞中黏附因子表达的升高。而库普弗细胞正是诱发炎症级联反应的关键所在。已有实验证实用氯化钆抑制库普弗细胞的激活可以减少氧自由基的产生及中性粒细胞的浸润,从而减轻肝脏的缺血再灌注损伤^[9]。

利用离体的大鼠灌流肝实验证明:氟烷、异氟烷和七氟烷能够减轻缺血后再灌注阶段的肝损伤,但不能减轻单纯缺血阶段的肝损伤^[1]。这与其抑制肝脏再灌注后氧自由基的产生,减轻再灌注初期氧化应激反应对细胞的损伤相关。Kon 等人通过用氯化钆抑制库普弗细胞后,再分别用 0.5MAC、1MAC 和 2MAC 的异氟烷进行鼠肝缺血再灌注预处理实验,表明用氯化钆抑制库普弗细胞后能减少肝缺血再灌注早期 LDH 的释放,认为 1MAC 和 2MAC 的异氟烷能保护早期的库普弗细胞介导的与中性粒细胞无关的缺血再灌注损伤,且这种保护作用与抑制肝细胞外产生超氧化物有关^[2]。近年来通过对各个脏器的研究亦显示吸入麻醉药具有抑制炎症转录因子 $NF-\kappa B$ 的激活、抑制炎症细胞因子及细胞黏附分子的表达、抑制中性粒细胞与内皮细胞的相互作用,减少中性粒细胞在组织的聚集的作用,这与其对脏器缺血再灌注的保护作用密切相关。肝脏缺血再灌注损伤时, $NF-\kappa B$ 激活并进入细胞核内,与一些炎症因子基因启动子区特异序列结合,上调 $TNF-\alpha$ 、 $ICAM-1$ mRNA 表达,从而引起肝脏缺血再灌注损伤^[10]。在体外吸入麻醉药能够不同程度地抑制多种类型黏附

基金项目:2007 年广西壮族自治区自然科学基金(桂科自 0728200)

作者单位:530021 南宁,广西医科大学附属肿瘤医院麻醉科

通讯作者:阮林,电子邮箱:Ruanlin63@sohu.com

分子表达^[11],其机制可能是通过抑制 NF- κ B 途径实现^[12]。

二、吸入麻醉药对缺氧肝细胞的有能量保护作用

能量供应是肝细胞维持其正常功能的基础。研究表明增加肝血流能够改善缺血再灌注损伤的肝细胞的预后^[13]。当肝血流减少、肝细胞氧供不足时,细胞内线粒体的氧化磷酸化作用会减低,进而可造成肝细胞内 ATP 合成不足。细胞内 ATP 含量缺少,Na⁺-K⁺-ATP 酶功能不能维持,会造成细胞内离子稳态失衡,最终导致肝细胞水肿和坏死。因此,肝内 ATP 的含量已作为反映肝能量的指标,广泛应用于研究之中。

吸入麻醉药能够保护离体鼠肝缺血再灌注后的能量平衡,增加 ATP 的储存。Bedirli^[14]在研究七氟烷和异氟烷预处理大鼠肝缺血再灌注损伤的作用时发现,不管是缺血再灌注后 2h 还是 4h,七氟烷都能不同程度地减少肝内 ATP 的损耗,而异氟烷的这种作用则相对不明显^[14]。但是 Samuta 及俞卫峰等人利用离体培养的鼠肝细胞,以 O₂/CO₂ 和 N₂/CO₂ (95%/5%) 进行缺氧再灌注处理,都发现异氟烷能部分保护肝细胞缺氧期间的能量平衡,改善缺氧所致的 ATP 水平下降及 AMP 水平升高,使缺氧肝细胞 ATP/ADP 的比值增大,且异氟烷的这种保护作用呈剂量效应关系,1~2MAC 浓度时的效应较强^[15,16]。说明异氟烷对缺血再灌注的肝细胞有能量保护作用。由于卤族吸入麻醉药预处理提高了肝细胞内的能量储备,使 ATP 下降减慢,不仅能够使无氧酵解推迟发生,而且能够对抗氧自由基对肝细胞的损伤,保护了线粒体的功能;更重要的是能够保存缺血期 ATP 分解的底物,从而为再灌后肝细胞合成 ATP 提供了原料,有助于促进其能量代谢的恢复。

三、吸入麻醉药能够减轻细胞内 Ca²⁺ 超载

钙超载是肝缺血再灌注损伤的又一重要机制^[17]:①钙超载使线粒体内的 Ca²⁺ 浓度升高,Ca²⁺ 不仅抑制 ATP 合成,而且可造成线粒体膜的损伤,影响细胞能量供应并可致使细胞内 Ca²⁺ 进一步滞留;②Ca²⁺ 可激活 Ca²⁺ 依赖性蛋白酶,促使细胞内许多重要的酶降解并破坏细胞膜骨架,同时促使黄嘌呤脱氢酶转变为黄嘌呤氧化酶而间接参与了氧自由基的合成;③Ca²⁺ 超载可激活 Ca²⁺ 依赖性磷脂酶(主要是磷脂酶 C 和磷脂酶 A₂)破坏膜结构,而膜磷脂分解产生的游离脂肪酸、白三烯、溶血卵磷脂等均对细胞有毒害作用;④激活 Ca²⁺ 依赖性核酸内切酶引起 DNA

水解。吸入麻醉药预处理可减轻细胞内钙超载。吸入麻醉药可直接作用于肌质网,抑制其对 Ca²⁺ 的释放其作用可能是通过激活 K_{ATP} 通道来实现^[18]。实验认为,七氟烷和异氟烷预处理可诱发肝脏细胞激活蛋白激酶 C,再与 K_{ATP} 通道相偶联,使其激活开放,引起动作电位持续时间下降,从而减少经电压控制 Ca²⁺ 通道的 Ca²⁺ 内流,并维持 Na⁺/Ca²⁺ 交换,促进 Ca²⁺ 细胞外流,从而减轻 Ca²⁺ 超载。异氟醚预处理作用机制与腺苷受体、蛋白激酶 C、G 蛋白及 K_{ATP} 通道有关,并提示 K_{ATP} 通道是其最后途径^[19]。说明吸入麻醉药预处理不仅具有阻断电压门控性 Ca²⁺ 通道的作用,还可以抑制肌质网内 Ca²⁺ 的释放并增加对其摄取,从而起到减轻缺血再灌注后肝细胞内 Ca²⁺ 超载的作用。

四、吸入麻醉药可以诱导血红素氧化酶(HO-1)的合成

HO-1 是催化血红素(heme)分解生成一氧化碳(CO)、胆绿素(biliverdin)和 Fe²⁺ 的限速酶。HO-1 及其产物有抗氧化应激、抗凋亡、抗炎症及改善微循环等作用,被认为是减轻肝脏缺血再灌注损伤的一种新的方法^[20]。HO-1 的产物 CO 能降低促炎基因表达而提高抗炎基因表达,减轻炎症反应。CO 还能抑制血管平滑肌增生、抑制血小板聚集、抵抗细胞凋亡。HO-1 的另一产物胆绿素,是较强的氧化剂,能减轻内皮细胞中黏附分子的表达,抑制炎粒细胞和炎性巨噬细胞聚集,提高抗凋亡分子的表达。此外,HO-1 还能降低 NF- κ B 减轻炎症反应,减轻肝脏损伤。最新的实验研究表明,异氟烷和七氟烷能够诱导鼠肝 HO-1 的表达。Rene Schmidt 等人将大鼠随机分为 4 组,分别为戊巴比妥那预处理组,异氟烷预处理组,戊巴比妥那和 HO-1 抑制剂处理组,异氟烷和 HO-1 抑制剂处理组。研究表明,与其他各组相比,异氟烷预处理能够诱导肝 HO-1mRNA 和 HO-1 蛋白质的表达水平的上调,增强 HO 酶的活性,降低血清中 AST、ALT 和 α -GST 的水平。组织学也表明异氟烷预处理组大鼠肝坏死区域明显缩小,特别是在异氟烷诱导 HO-1 表达较高的区域更明显。另外,异氟烷还可以增加肝微循环的血流量,降低丙二醛含量。但是用锌原卟啉 IX 抑制 HO-1 的活性后异氟烷的这种保护作用减弱。由此推测异氟烷能够通过诱导肝 HO-1 的表达,起到减轻肝缺血再灌注损伤的作用。

越来越多的实验研究表明吸入麻醉药具有保护肝细胞免受缺血再灌注损伤的潜在作用,但机制复

杂,涉及方面众多,尚不完全清楚。吸入麻醉药是临床上广泛应用的麻醉药物,而缺血再灌注损伤也与临床紧密相关,因此研究吸入麻醉药对肝缺血再灌注损伤的保护作用有助于指导临床,改善缺血再灌注患者的肝预后,有重要的研究价值。

参考文献

- 1 Imai M, Kon S, Inaba H. Effects of halothane, isoflurane and sevoflurane on ischemia – reperfusion injury in the perfused liver of fasted rats. *Acta Anaesthesiol Scand*,1996,40(10):1242 – 1248
- 2 Kon S, Imai M, Inaba H. Isoflurane attenuates early neutrophil – independent hypoxia – reoxygenation injuries in the reperfused liver in fasted rat. *Anesthesiology*,1997,86(1):128 – 136
- 3 张建,叶敏,彭章龙,等. 安氟醚和异氟醚对肝脏缺血 – 再灌注损伤的影响[J]. *中华麻醉学杂志*,2000,20(4):223 – 225
- 4 鲁开智,杜津,陶国才,等. 地氟醚预处理对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *第三军医大学学报*,2003,25(23):2109 – 2111
- 5 Zwacka RM, Zhou W, Zhang Y, *et al.* Redox gene therapy for ischemic/reperfusion injury of the liver reduces AP1 and NF – kappaB activation. *Nat Med*,1998,4:696 – 704
- 6 Connor HD, Gao W, Nukina S, *et al.* Evidence that free radicals are involved in graft failure following orthotopic liver transplantation in the rat: an electron paramagnetic resonance spin trapping study [J]. *Transplantation*,1992,54(2):199 – 204
- 7 Jaeschke H. Reactive oxygen and ischemic/reperfusion injury of the liver. *Chem Biol Interact*,1991,79:115 – 136
- 8 Farmer DG, Amersi F, Kupiec – Weglinski, *et al.* Current status of ischemia and reperfusion injury in the liver. *Transplant Rev*,2000,14:106 – 126
- 9 Shibuya H, Ohkohchi N, Tsukamoto S, *et al.* Tumor necrosis factor induced, superoxide – mediated neutrophil accumulation in cold ischemic/reperfused rat liver. *Hepatology*,1997,26:113 – 120
- 10 徐钧,解军,鲍民生,等. 核因子 – κ B/I – κ B 传导通路在肝脏缺血

血再灌注损伤中的作用[J]. *中华实验外科杂志*,2003,20(7):614 – 615

- 11 Zhu B, Xue Z G, Jing H, *et al.* The in vitro effect of desflurane preconditioning on endothelial adhesion molecules and mRNA expression [J]. *Anesth Analg*,2005,100(4):1007 – 1013
- 12 Banga N R, Homer – Vanniasinkam S, Graham A, *et al.* Ischaemic preconditioning in transplantation and major resection of the liver[J]. *Br J Surg*,2005,92(5):528 – 538
- 13 Miller CD, Fitch W, Thomson IA. Effect of isoflurane on the canine hepatic circulation and hepatic oxygen balance. *Br J Anaesth*,1990,65:698 – 703
- 14 Bedirli N, Ofluoglu E, Kerem M, *et al.* Hepatic Energy Metabolism and the Differential Protective Effects of Sevoflurane and Isoflurane Anesthesia in a Rat Hepatic Ischemia – Reperfusion Injury Model. *Anesth Analg*,2008,106(3):830 – 837
- 15 Samuta T, Becker GL, Pohorecki R, *et al.* Effects of isoflurane dose, duration of anoxia, and reoxygenation on isoflurane’s preservation of energy balance in anoxic isolated hepatocytes. *Anesth Analg*,1993,77(1):38 – 43
- 16 俞卫峰,李泉,曹云飞,等. 异氟烷保护缺氧肝细胞的能量平衡[J]. *第二军医大学学报*,2002,23(6):614 – 616
- 17 孙备,秦嵩,许军,等. 肝脏缺血 – 再灌注损伤与药物处理的研究进展[J]. *哈尔滨医科大学学报*,2003,37(1):85 – 87
- 18 Schulz R, Gres P, Heusch G. Activation of ATP – dependent potassium channels is a trigger but not a mediator of ischaemic preconditioning in pigs[J]. *Br J Pharmacol*,2003,139(1):65272
- 19 Ishida H, Kadota Y, Sameshima T, *et al.* Comparison between sevoflurane and isoflurane anesthesia in pig hepatic ischemia – reperfusion injury[J]. *J Anesth*,2002,16(1):44250
- 20 KupiecWeglinski JW, Busuttill RW. Ischemia and reperfusion injury in liver transplantation [J]. *Transplant Proc*,2005,37(4):1653 – 1656

(收稿:2009 – 10 – 20)

(修回:2009 – 12 – 18)

常用抗血小板药物临床应用中值得关注的问题

王宇玫

抗血小板药物应用是心血管疾病防治的重要手段,有效的抗血小板治疗使各种心血管疾病病死率下降了 25%^[1,2]。各种动脉粥样硬化疾病的防治指南均把阿司匹林作为 I 级预防的推荐,而氯吡格雷的出现,更进一步完善了冠脉介入 (PCI) 治疗,显著地降低了介入的并发症和病死率。目前,联合使用阿司匹

林和氯吡格雷 (clopidogrel) 已作为冠脉介入后的标准治疗。此两种药物是目前临床上应用最广泛的抗血小板制剂。虽然抗血小板治疗已被广泛采用,但临床应用中仍存在不少问题。首先,药物的作用存在个体差异,即不同人群对抗血小板药物的反应不一,即使同一个体在不同的状态下对药物的反应也有所差别,表现为即使在规律足量使用抗血小板药物情况下,仍无法完全避免血栓事件的发生;血小板功能检测显示