

质量控制方面仍存在一定的局限性。如果能将中药的指纹图谱与药效结合进行研究,这样既能确保中药产品的有效、安全和稳定可控;同时又与中药自身的特色相契合,是当前在中药质控方面进行研究的科技工作者所面临的共同问题。目前正逐步发展起来的“谱”与“效”的相关研究在未来有可能成为解决这一难题的“钥匙”^[4]。基于以上原因,笔者在对生地黄止血作用物质基础筛选的基础上,建立了生地黄止血作用的指纹图谱^[3,5]。为了对指纹图谱进行定量分析,选择了以梓醇为基准峰,其他峰的面积与梓醇峰面积进行比较,得到各指纹峰的相对含量,这样一方面可以有效控制制剂的质量,同时又解决了其他对照

品难以获得,致使含量无法测定的问题。

参考文献

- 1 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2010:115-116
- 2 谢琦敏,叶忠伟. 张仲景运用地黄功用探讨[J]. 浙江中医药大学学报,2009,33(6):742-743
- 3 郭东艳,张丽娟,王梅,等. 生地黄止血有效部位 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):90-92
- 4 陈洪渊. 中药谱效相关研究的思路与方法[J]. 中国天然药物,2010,8(3):161
- 5 王梅,张丽娟,郭东艳,等. 生地黄止血作用药效物质基础的初步研究[J]. 时珍国医国药,2011,22(6):1938-1939

(收稿:2011-07-20)

(修回:2011-08-23)

止血带应用对下肢手术患者心、肝、肾功能的影响

王良荣 熊响清 金立达 白玉 赵喜越 姚海霞 吉伟 林丽娜

摘要 目的 观察止血带所致的缺血再灌注对下肢手术患者心、肝、肾功能的影响。**方法** 选择美国麻醉医师协会评分 I ~ II 级,年龄 25 ~ 60 岁,止血带充气 1.0 ~ 1.5h,择期单侧下肢手术病人 20 例,分别于扎止血带前、扎止血带后 1 h、止血带松开后 0.5、2、6 和 24h 记录血压、心率,并测定血清戊二醛、白介素 -6、白介素 -8、一氧化氮、内皮素 -1、缺血修饰白蛋白、谷氨酸丙酮酸转氨酶、谷氨酸草酰乙酸转氨酶、胱抑素 C 和 β_2 -微球蛋白浓度。**结果** 与基础值比较,止血带松开后 2 ~ 24h 患者血清戊二醛、白介素 -6、白介素 -8、内皮素 -1 浓度升高,而一氧化氮浓度与一氧化氮/内皮素 -1 比值下降($P < 0.01$),各时点血压、心率、血清缺血修饰白蛋白、谷氨酸丙酮酸转氨酶、谷氨酸草酰乙酸转氨酶、胱抑素 C 和 β_2 -微球蛋白浓度改变均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 止血带应用可导致脂质过氧化、全身炎症反应及一氧化氮/内皮素 -1 失衡,但不影响择期下肢手术患者心、肝、肾功能。

关键词 止血带 再灌注损伤 心功能 肝功能 肾功能

Effects of Tourniquet Application on Cardiac, Hepatic and Renal Function in Patients Undergoing Lower Extremity Surgery. Wang Lian-grong, Xiong Xiangqing, Jin Lida, Bai Yu, Zhao Xiyue, Yao Haixia, Ji Wei, Lin Lina. Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To investigate the effect of tourniquet-induced ischemia reperfusion on cardiac, hepatic and renal function in patients undergoing lower extremity surgery. **Methods** Twenty patients with American Society of Anesthesiology (ASA) physical status I ~ II, aging 25 ~ 60year, tourniquet duration 1.0 ~ 1.5h, who scheduled for lower extremity surgery were studied. Serum levels of malondialdehyde (MDA), interleukin -6, 8 (IL -6, 8), nitric oxide (NO), endothelin -1 (ET -1), ischemia modified albumin (IMA), glutamate pyruvate transaminase (GPT), glutamate oxaloacetic transaminase (GOT), cystatin C and β_2 -microglobulin were measured just before tourniquet inflation, 1h after inflation and 0.5, 2, 6 and 24h after tourniquet deflation. **Results** In comparison with the baseline values, serum levels of MDA, IL -6, IL -8, ET -1 from 2h to 24h after tourniquet deflation were significantly increased ($P < 0.01$), while serum NO levels and NO/ET -1 ratios were decreased. However, no significant changes in blood pressure, heart rate,

基金项目:浙江省中医药科学研究基金资助项目(2010ZA087);浙江省医药卫生科研基金资助项目(2009A143);温州市科委课题资助项目(Y20100025)

作者单位:325000 温州医学院附属第一医院麻醉科(王良荣、熊响清、金立达、赵喜越、姚海霞、吉伟、林丽娜);450000 郑州大学附属肿瘤医院麻醉科(白玉)

通讯作者:林丽娜,教授,主任医师,电子信箱:wzlinlina@tom.com

IMA, GPT, GOT, cystatin C and β_2 - microglobulin levels were revealed ($P > 0.05$). **Conclusion** Lower limb ischemia - reperfusion associated with the clinical use of a tourniquet could lead to lipid peroxidation, systemic inflammatory response and NO/ET - 1 imbalance, while with little effects on cardiac, hepatic and renal function.

Key words Tourniquet; Reperfusion injury; Cardiac function; Hepatic function; Renal function

肢体缺血再灌注除继续加重局部缺血组织损伤外,尚可进一步引起全身炎症反应,严重时可能引起重要脏器损伤,甚至发展为多器官功能障碍综合征,成为影响危重患者预后的主要原因之一。止血带应用时骨科领域肢体缺血再灌注损伤最常见的诱因,短时间应用止血带后再灌注即可激活中性粒细胞,并促进其与内皮细胞黏附及跨内皮迁移,从而有导致远隔脏器损伤的可能^[1]。本课题组研究表明,安全时限内止血带应用可通过多种途径导致下肢手术患者肺功能损伤,本研究拟观察其对下肢手术患者心、肝、肾功能的影响,为临床实践提供参考^[2, 3]。

材料与方法

一般资料:本研究经医院伦理委员会批准,选取温州医学院附属第一医院 2010 年 9 月 ~ 2011 年 5 月择期行单侧胫腓骨手术患者,其入选标准:美国麻醉医师协会评分 I ~ II 级,年龄 25 ~ 60 岁,止血带充气 1.0 ~ 1.5h。排除标准:术前严重的心、肝、肾等重要脏器疾病,高血压病史,糖尿病史,术前 1 周内使用氧化剂或抗氧化剂类药物,围术期使用糖皮质激素,存在椎管内麻醉禁忌证,术中发生过敏反应,麻醉方式更改等不良事件。获取知情同意后共 20 例患者入选,其中男性 12 例,女性 8 例,平均年龄 45 岁,止血带平均充气时间 78min。

2. 麻醉和监测方法:入室后常规监测,开放静脉,以备输液和标本采集。所有患者均选择 L₂₋₃ 间隙行硬膜外穿刺置管,2% 利多卡因溶液 3 ~ 5ml 作为试验剂量,无全脊麻或局麻药中毒表现后注入 0.75% 罗哌卡因溶液,神经阻滞平面控制在第 8 胸椎以下,保持自主呼吸。术中平衡液、代血浆注射液持续输注补充生理需要量及丢失量。麻醉生效后,应用棉垫

子铺垫在股部中上 1/3 的皮肤上,将止血带平整的缠放其上,以绷带缠绕 4 ~ 5 周后打结。抬高患肢,应用驱血带驱血后,自动充气式止血带开始充气,压力 65kPa,单次持续阻断时限 1.5h。分别于扎止血带前(T0)、扎止血带后 1h(T1)、止血带松开后 0.5h(T2)、2h(T3)、6h(T4)和 24h(T5)记录血压、心率与心电图表现,并抽取静脉血标本 4ml。

3. 标本检测:各时点血标本离心后,取血清置于 - 20℃ 保存,采用硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MDA)浓度,硝酸还原酶法测定血浆 NO 含量(上述试剂盒购于南京建成生物研究所),ELISA 法测定血清 ET - 1 和白介素 - 6、8(IL - 6、8)浓度(试剂盒购于上海西唐生物技术有限公司);自动生化分析仪测定缺血修饰白蛋白(IMA)浓度(试剂盒购于长沙颐康科技开发有限公司),赖氏法测定谷氨酸丙酮酸转氨酶(GPT)和谷氨酸草酰乙酸转氨酶(GOT)浓度(试剂盒购于南京建成生物研究所),ELISA 法测定胱抑素 C(Cys C)和 β_2 - 微球蛋白(β_2 - MG)浓度(试剂盒购于上海德波生物技术有限公司)。

4. 统计学方法:所有数据经 SPSS 15.0 软件处理,计量资料均进行正态性检验,以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组内比较采用重复测量资料的方差分析,与基础值比较采用 Dunnett - t 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

与基础值比较,止血带松开后 2 ~ 24h 患者血清 MDA、IL - 6、IL - 8 浓度升高($P < 0.01$);止血带松开后 2 ~ 6h 血清 ET - 1 浓度升高,而 NO 浓度下降,NO/ET - 1 比值在止血带松开后 0.5 ~ 6.0h 下降($P < 0.01$),上述指标在止血带松开后 6h 时达到极值,见表 1。

表 1 血清 MDA、IL - 6、IL - 8、NO、ET - 1 浓度及 NO/ET - 1 比值的变化($n = 20, \bar{x} \pm s$)

指标	T0	T1	T2	T3	T4	T5
MDA (nmol/ml)	2.5 ± 0.8	2.5 ± 0.9	2.7 ± 1.3	5.0 ± 1.2 *	5.6 ± 1.7 *	4.0 ± 1.0 *
IL - 6 (pg/ml)	2.4 ± 1.0	3.2 ± 1.3	3.7 ± 1.7	9.1 ± 2.9 *	22.2 ± 7.8 *	8.3 ± 7.7 *
IL - 8 (pg/ml)	9.5 ± 2.3	10.6 ± 3.2	12.6 ± 3.6	17.6 ± 2.8 *	31.6 ± 6.2 *	15.7 ± 3.5 *
NO (μmol/ml)	43 ± 7	42 ± 7	38 ± 8	30 ± 7 *	20 ± 5 *	41 ± 6
ET - 1 (pg/ml)	10.6 ± 2.8	10.4 ± 3.6	12.7 ± 3.0	15.3 ± 3.8 *	17.9 ± 4.9 *	12.7 ± 2.5
NO/ET - 1 (μmol/pg)	4.3 ± 1.3	4.4 ± 1.5	3.1 ± 1.0 *	2.1 ± 0.8 *	1.2 ± 0.4 *	3.7 ± 0.9

与 T0 比较, * $P < 0.01$

与基础值比较,各时点平均动脉压、心率、血清 IMA、GPT、GOT、Cys C 和 β_2 - 微球蛋白浓度改变均

无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。各时点无新发明显心电图异常。

表 2 平均动脉压、心率、血清 IMA、GPT、GOT、Cys C 和 β_2 -MG 浓度的变化 ($n=20, \bar{x} \pm s$)

指标	T0	T1	T2	T3	T4	T5
MAP(mmHg)	98 ± 16	102 ± 19	95 ± 19	97 ± 15	98 ± 20	94 ± 17
HR(次/分)	78 ± 12	83 ± 13	79 ± 14	80 ± 11	77 ± 14	77 ± 10
IMA(U/ml)	69 ± 18	72 ± 19	67 ± 20	66 ± 19	72 ± 21	66 ± 17
GPT(U/L)	18 ± 6	19 ± 7	21 ± 7	20 ± 8	20 ± 8	18 ± 5
GOT(U/L)	22 ± 7	25 ± 8	24 ± 8	24 ± 9	25 ± 8	24 ± 6
Cys C(mg/L)	1.14 ± 0.34	1.23 ± 0.48	1.18 ± 0.42	1.36 ± 0.29	1.19 ± 0.37	1.08 ± 0.41
β_2 -MG(mg/L)	1.14 ± 0.34	1.23 ± 0.48	1.18 ± 0.42	1.36 ± 0.29	1.19 ± 0.37	1.08 ± 0.41

讨 论

研究表明,心、肝、肾组织虽未直接遭受缺血再灌注损伤,但在严重肢体缺血再灌注后常发生不同程度的组织损伤和功能障碍,主要表现为远隔脏器中性粒细胞浸润,组织细胞水肿、变性、凋亡及脏器功能减退,但肢体缺血再灌注导致远隔脏器损伤的机制仍未完全明确^[4-6]。本研究结果表明,止血带松开后 2~24h 外周血 MDA、IL-6、IL-8、ET-1 浓度升高,NO-1 浓度及 NO/ET-1 比值下降,提示临床止血带应用可导致下肢手术患者脂质过氧化、全身炎症反应及 NO/ET-1 失衡,与前期研究结论一致^[2,3,7]。

缺血修饰白蛋白(ischemia modified albumin, IMA)是诊断急性心肌缺血的新缺血标志物,能在心肌缺血发生后 5~10min 迅速升高,并在缺血过程中持续升高^[8]。下肢手术患者应用止血带前后血流动力学稳定,无明显心电图异常,且 IMA 浓度无明显改变,提示止血带所致肢体缺血再灌注并不导致明显心肌损伤。 β_2 -微球蛋白与 Cys C 是可靠、敏感地反映肾小球滤过功能的指标,能早期发现肾脏损害和肾功能改变。另外,作为评价肝功能的重要指标,血清 GOT 和 GPT 浓度在肝脏受损早期即可升高。本研究结果表明,止血带应用不增加血清 β_2 -微球蛋白、Cys C、GOT 及 GPT 浓度,提示常规止血带应用虽引发脂质过氧化、全身炎症反应及 NO/ET-1 失衡,并不影响患者肝、肾功能。

前期研究提示,安全时限内止血带应用可导致下肢手术患者远隔肺功能损伤,但本研究未提示止血带所致肢体缺血再灌注导致心、肝、肾远隔脏器损伤,其原因可能与肺较其他组织更易受累有关。另外,止血带时间相对较短、病例数较小、所有的研究对象术前状态良好可能导致远隔脏器损伤不明显。止血带缺

血时间持久、老年患者或者术前一般状况差的患者在止血带松开后远隔脏器损伤是否更明显尚需进一步研究。

综上所述,临床止血带应用可导致脂质过氧化、全身炎症反应及 NO/ET-1 失衡,但不影响择期下肢手术患者心、肝、肾功能。

参考文献

1 Wakai A, Wang JH, Winter DC, *et al.* Tourniquet - induced systemic inflammatory response in extremity surgery[J]. J Trauma, 2001, 51 (5):922 - 926

2 Lin LN, Wang LR, Wang WT, *et al.* Ischemic preconditioning attenuates pulmonary dysfunction following unilateral thigh tourniquet - induced ischemia/reperfusion[J]. Anesth Analg, 2010, 111(2):539 - 543

3 王良荣, 赵喜越, 林丽娜, 等. 乌司他丁预先给药对下肢手术患者松止血带后肺换气功能的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2009, 29 (11):1001 - 1004

4 段国贤, 赵利军, 张连元, 等. NO 对大鼠肢体缺血/再灌注后肾脏 P2 选择素表达的影响及意义[J]. 中国应用生理学杂志, 2007, 23 (4):456 - 461

5 Laipanov KI, Sergienko VI, Petrosyan EA. Morphological changes in the liver during experimental modeling of acute ischemia and reperfusion of the limb[J]. Bull Exp Biol Med, 2007, 44(1):96 - 99

6 赵利军, 门秀丽, 董淑云, 等. L-精氨酸对大鼠肢体缺血/再灌注后心肌损伤的影响[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(6): 827 - 830

7 Lin LN, Wang LR, Bai Y, *et al.* Pulmonary gas exchange impairment following tourniquet deflation: a prospective, single blind clinical trial [J]. Orthopedics, 2010, 33(6):395

8 Apple FS, Wu AH, Mair J, *et al.* Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome[J]. Clin Chem, 2005, 51(3): 810 - 824

(收稿:2011-08-02)

(修回:2011-09-05)