

文章编号:1005-6947(2008)01-0041-04

· 基础研究 ·

前列腺素 E₁ 对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用

王玉柱¹, 明英姿¹, 熊力^{1,2}, 叶启发¹

(1. 卫生部移植医学工程技术研究中心、中南大学湘雅三医院移植医学研究院, 湖南长沙 410013;
2. 中南大学湘雅二医院, 湖南长沙 410011)

摘要:目的 探讨肝脏缺血后前列腺素 E₁ (PGE₁) 对再灌注损伤的保护作用及其可能机制。方法 建立大鼠 70% 的肝脏缺血再灌注模型。将 24 只健康雄性 SD 大鼠随机分为假手术(S)组、缺血再灌注(I/R)组及 PGE₁ 处理组, 各组于缺血 45 min 再灌注 1 h 后取静脉血, 观察血清肝酶、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、髓过氧化物酶(MPO)的含量变化, 并行肝组织病理学检查。结果 与 S 组比较, I/R 组与 PGE₁ 组血清 ALT, AST, LDH 显著升高, SOD 活性明显降低, MDA 和 MPO 含量均明显升高 ($P < 0.01$)。PGE₁ 组与 I/R 组相比, 前者血清 ALT, AST, LDH 降低 ($P < 0.01$), 肝形态学异常变化明显减轻, 血清 SOD 活性升高, MDA 和 MPO 含量降低 ($P < 0.01$)。结论 PGE₁ 对大鼠肝脏 I/R 损伤有明显的保护作用; 其作用机制部分可能是提高组织的抗氧化能力和减轻中性粒细胞的聚集。

[中国普通外科杂志, 2008, 17(1): 41-44]

关键词: 肝/血液供给; 缺血再灌注损伤; 前列腺素 E₁

中图分类号: R 657.3 文献标识码: A

Protective effects of Prostaglandin E₁ in rat hepatic ischemia/reperfusion injury

WANG Yuzhu¹, MING Yingzi¹, XIONG Li^{1,2} YE Qifa¹

(1. Transplantation Engineering Research Center of Ministry of Health, Xiangya Transplantation Medical Academy, the Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, China; 2. the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

Abstract: Objective To observe the protective effect of PGE₁ in rat ischemia-reperfusion injury and to investigate the possible mechanism. **Methods** After the model of in situ hepatic I/R injury was established in 24 rats, the rats were randomly divided into sham operation (S) group, ischemia-reperfusion (I/R) group and Prostaglandin E₁ (PGE₁) group. The serum concentrations of liver enzyme levels, superoxidase dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and myeloperoxidase (MPO) were measured respectively, and the hepatic pathological changes were observed. **Results** The liver enzyme levels, MDA and MPO were significantly higher, and activity of SOD was lower in groups of I/R and PGE₁ group than those in S group ($P < 0.01$). Compared with I/R group, liver functional parameters, MDA and MPO were lower in PGE₁ group ($P < 0.01$), and the activity of SOD was higher in PGE₁ group ($P < 0.01$); meanwhile, the hepatic congestion and pathological damage were also obviously relieved in PGE₁ group. **Conclusions** PGE₁ could relieve the I/R injury of liver, and the mechanism may be by improving tissue antioxidation capability and decrease of neutrophilic leukocyte aggregation.

[Chinese Journal of General Surgery, 2008, 17(1): 41-44]

收稿日期: 2007-06-25; 修订日期: 2007-11-23。

作者简介: 王玉柱, 男, 中南大学湘雅三医院硕士研究生, 主要从事肝胆外科及腹部器官移植方面的研究。

通讯作者: 明英姿 E-mail: myz_china@yahoo.com.cn

Key words: Liver/blood supply; Ischemia-reperfusion Injury; Prostaglandin E₁

CLC number: R 657.3

Document code: A

肝脏缺血再灌注损伤 (hepatic ischemia - reperfusion injury, HIRI) 是肝叶切除及肝移植等需阻断肝血流的手术中常见的病理生理过程, 可导致肝功能损害、移植肝原发性无功能等^[1-2]。为减轻肝脏的 I/R 损伤, 近年来国内外广泛开展了缺血后处理的研究。但缺血后采用药物处理的研究较少。本文旨将 PGE₁ 作为肝脏 I/R 后处理药物, 以明了其作用及可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料

健康雄性 SD 大鼠 24 只, 购于中南大学实验动物中心, 体重 220 ~ 250 g; 术前 12 h 禁食, 自由饮水。常规显微手术器械系上海医疗器械有限公司手术器械厂生产。前列腺素 E₁ (PGE₁) 注射液购自北京泰德制药有限公司, 10 μg/2 mL 批号为 2066H。超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、髓过氧化物酶 (MPO) 试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 模型制备及动物分组

以 0.3% 戊巴比妥钠 30 mg/kg 腹腔注射, 麻醉后取上腹正中切口, 参照 Kohli 法^[3] 建立大鼠肝脏局部 70% I/R 模型: 即分离出大鼠肝左、中叶肝动脉, 门静脉和胆管支, 用小号无损伤动脉夹选择性夹闭肝左、中叶肝动脉、门静脉, 保证肝右叶和尾状叶血流通畅以免胃肠道淤血及全身血流动力学改变。将实验动物随机分为 3 组 ($n = 8$)。(1) 假手术组 (S 组): 进腹后仅分离肝十二指肠韧带, 不阻断肝门血管。(2) I/R 组: 进行 45 min 的缺血及 60 min 的再灌注;(3) PGE₁ 处理组: 肝脏缺血 45 min 时, 经门静脉建立微输液泵通道, 将 PGE₁ 注射液以 0.02 μg/(kg · min) 速度持续性泵入 60 min, 再松开动脉夹全面恢复血液灌注。

1.3 血清学检测

于再灌 60 min 时, 取下腔静脉血 1 mL, 离心后用多功能生化分析仪测定谷丙转氨酶 (ALT), 谷草转氨酶 (AST), 乳酸脱氢酶 (LDH); 取下腔静脉血 2 mL, 严格按照试剂盒说明用硫代巴比妥酸比色法 (TBA) 测定血清 SOD, MDA 及 MPO。

1.4 肝组织病理形态学变化的观察

于再灌 60 min 时, 切取左叶新鲜肝组织, 用中性甲醛固定 24 h, 常规石蜡包埋切片, HE 染色,

光镜观察肝组织的变化。

1.5 统计学处理

实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用完全随机设计的单因素方差分析, 多个样本均数间两两比较采用 SNK q 检验。所有操作均由 SPSS13.0 统计软件进行。 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 血清 ALT, AST 及 LDH 含量的变化

肝脏 I/R 后, I/R 及 PGE₁ 组 ALT, AST) 及 LDH 含量升高, 与 S 组比较差异均有显著性 ($P < 0.01$); PGE₁ 组较 I/R 组各指标水平明显下降, 差异亦均有显著性 ($P < 0.01$) (表 1)。

表 1 各组大鼠血清 ALT, AST 及 LDH 的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ALT(u/L)	AST(u/L)	LDH(u/L)
S	8	60.92 ± 7.36	225.87 ± 42.03	1216.57 ± 137.16
I/R	8	312.46 ± 44.53 ¹⁾	779.93 ± 79.16 ¹⁾	3322.77 ± 437.37 ¹⁾
PGE ₁	8	129.1 ± 29.95 ^{1), 2)}	375.57 ± 47.42 ^{1), 2)}	2444.67 ± 259.3 ^{1), 2)}

注: 1) 与 S 组比较, $P < 0.01$; 2) 与 I/R 比较, $P < 0.01$

2.2 血清 SOD, MDA 及 MPO 含量的变化

再灌注 60 min 时, I/R 及 PGE₁ 组血清 SOD 水平明显降低, 而 MDA 及 MPO 含量则明显升高, 与 S 组比较差异均具有显著性 ($P < 0.01$); PGE₁ 组与 I/R 组比较, SOD 水平上升, 而 MDA、MPO 含量下降, 差异亦均有显著性 ($P < 0.01$) (表 2)。

表 2 各组大鼠 SOD, MDA 及 MPO 的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SOD(U/mL)	MDA(nmol/L)	MPO(U/L)
S	8	204.72 ± 17.07	7.59 ± 1.13	13.23 ± 1.22
I/R	8	135.29 ± 7.16 ¹⁾	24.02 ± 5.34 ¹⁾	24.84 ± 2.291)
PGE ₁	8	169.3 ± 7.41 ^{1), 2)}	15.76 ± 1.46 ^{1), 2)}	17.86 ± 1.63 ^{1), 2)}

注: 1) 与 S 组比较, $P < 0.01$; 2) 与 I/R 比较, $P < 0.01$

2.3 光镜下肝组织细胞结构改变

S 组: 肝细胞及肝窦内皮细胞均正常, 无明显变性、坏死 (图 1)。I/R 组: 肝细胞可见不同程度的浊肿变性和空泡样变性, 呈气球样改变, 并可见灶状坏死及炎症细胞聚集、浸润 (图 2)。PGE₁ 组: 肝小叶结构基本正常, 细胞轻度浊肿, 变性不明显, 未见明显炎症细胞聚集、浸润 (图 3)。

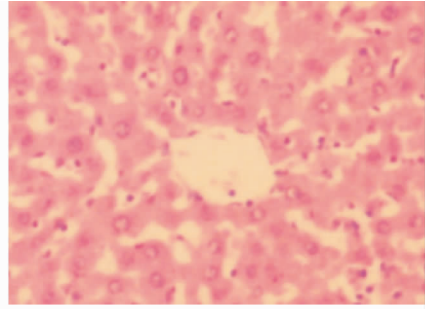
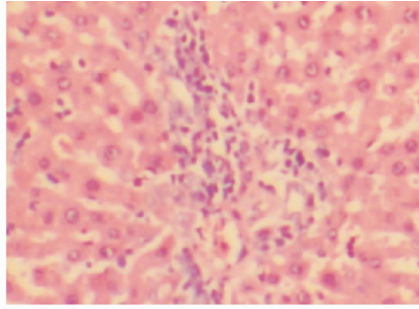
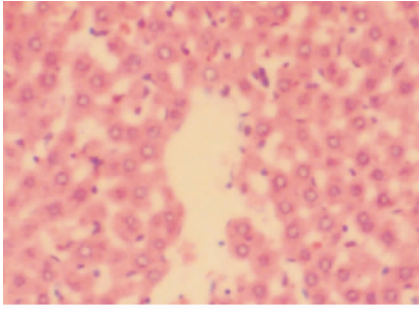


图1 S组肝组织细胞结构(HE×200)

图2 I/R组肝组织细胞的改变(HE×200)

图3 PGE₁组肝组织细胞的改变(HE×200)

3 讨论

研究发现,缺血或药物预处理对肝脏的 I/R 损伤具有保护作用,但各种预处理方法在我国肝移植中应用较局限^[4]。I/R 损伤的关键时刻在于再灌注开始的前几分钟^[5],寻找一种简单且有效的减轻移植肝 I/R 损伤的方法是当代肝外科的研究焦点。

I/R 损伤发生的确切机制尚未完全清楚,可能与钙超载、氧自由基及其引发的脂质过氧化反应等多种因素有关。其中最主要氧自由基的大量产生和中性粒细胞浸润造成的组织损伤,缺血可使内源性抗氧化剂如 SOD 失活或者耗尽,氧自由基清除减少^[6]。氧自由基的堆积在体内转换为活性更强的羟自由基,使膜脂质过氧化(lipid peroxide, LPO),引起细胞膜的结构和功能损害。在肝脏恢复血液供应后,则会给已缺血组织激发一系列复杂的级联反应,其中的一个重要表现是中性粒细胞黏附和内皮细胞游走^[7];这些中性粒细胞即可以黏附聚集阻塞肝血窦,也可在黏附因子的参与下黏附于肝细胞,进而释放大量的细胞毒性物质损伤内皮细胞,使受损的内皮细胞更容易形成肝窦内微血栓,从而加重肝组织损伤。因此如何减少氧自由基的产生及中性粒细胞的浸润是防止 HIRI 的关键。SOD 是细胞内主要的抗氧化酶和氧自由基清除剂,其活性变化可以反映体内的抗氧化能力;而 MDA 是体内最重要的 LPO 代谢产物,可反映体内脂质过氧化程度,间接反映细胞损伤的程度;MPO 是中性粒细胞内一种耐高温酶,是反映中性粒细胞聚集浸润程度的指标。基于此本研究选择 SOD、MDA 及 MPO 作为检测指标。

PGE₁ 是二十碳不饱和羟基脂肪酸的衍生物,具有较强的扩张血管、抑制血小板聚集、稳定细胞膜及溶酶体膜、改善微循环、减少再灌注后氧自由基的产生及减轻脂质过氧化反应、抑制单核

巨噬细胞和炎症细胞浸润及免疫复合物和抗体形成等作用^[8]。国内外学者通过大量实验证实 PGE₁ 可以减轻 HIRI^[9]。本研究将一种脂质体携带 PGE₁ 作为缺血后处理药物,观察到 PGE₁ 可以明显降低 HIRI 后血清中 ALT, AST, LDH 含量,而血清 SOD 活性升高,MDA 和 MPO 含量降低($P < 0.01$)。同时病理切片显示,PGE₁ 组肝细胞损伤较轻,肝窦内无中性粒细胞聚集,而 I/R 组则损伤明显,并有大量炎症细胞聚集、浸润;形态学变化亦与上述血清学变化规律相符。

总之,本研究证实 PGE₁ 对大鼠肝脏缺血再灌注损伤有明显保护作用。其机制可能部分系通过减少再灌注后氧自由基的产生及减轻脂质过氧化反应,并通过抑制中性粒细胞的浸润聚集而发挥作用,此结果为临床肝移植术后应用 PGE₁ 防治肝脏 I/R 损伤提供了理论依据。

参考文献:

- [1] Land WG. The role of post-ischemic reperfusion injury and other nonantigen dependent inflammatory pathways in transplantation [J]. *Transplant Rev*, 2005, 79 (5): 505 - 514.
- [2] 张岚,杨侠,杨宪法,等. 缺血再灌注对肝癌组织及正常肝组织的损伤[J]. *中国普通外科杂志*, 2007, 16 (8): 783 - 785.
- [3] Kohli V, Selzner M, Madden J, *et al.* Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver [J]. *Transplantation*, 1999, 67 (8): 1099 - 1105.
- [4] 王楠,马庆久,鲁建国,等. 缺血后处理对大鼠移植肝缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *中华外科杂志*, 2005, 43 (23): 1533 - 1536.
- [5] Vinten-Johansen J, Zhao ZQ, Zatta AJ, *et al.* Post-conditioning: A new link in nature's armor against myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Basic Res Cardiol*, 2005, 100 (4): 295 - 310.
- [6] Khandoga A, Biberthaler P, Enders G, *et al.* P-selection mediates latelel-endothelial cell interactions and reperfusion injury in the mouse liver in vivo [J]. *Shock*, 2002, 18 (6): 529 - 535.
- [7] Rentsch M, Post S, Palma P, *et al.* An ti-ICAM-1 blockade reduces postsinusoidal WBC adherence following cold ischemia

and reperfusion but does not improve early graft function in rat liver transplantation [J]. *Journal of Hepatology*, 2000, 32 (5): 821 - 828.

- [8] Ney P, Braun M, Szymanski C, *et al.* Antiplatelet antineurophil and vasodilating properties of 13, 14-dihydro-PGE₁ (PGE₀) an in vivo metabolite of PGE₁ in man [J]. *Endo-*

crinology, 1991, 4 (3): 177 - 184.

- [9] Hafez T, Moussa M, Nesim I, *et al.* The effect of intraportal prostaglandin E₁ on adhesion molecule expression, inflammatory modulator function, and histology in canine hepatic ischemia/reperfusion injury [J]. *J Surg Res*, 2007, 138 (1): 88 - 89.

文章编号:1005-6947(2008)01-0044-01

· 病案报告 ·

原发性乳腺小细胞癌 1 例

郑伟刚, 柳辑章, 阎慧

(山东德州市立医院 普通外科, 山东 德州 253012)

关键词: 乳腺肿瘤/外科学; 癌, 小细胞; 病例报告

中图分类号: R 737.9

文献标识码: D

患者 女, 34 岁。因发现左侧乳腺肿物 1 个月余于 2006 年 1 月 13 日入院。妊娠 7 个月。体查: 双侧乳腺发育正常, 左侧乳腺外上象限距乳头约 3 cm 腺体内可触一大小约 7.0 cm × 7.0 cm 类圆形肿物, 质硬, 边界欠清, 活动度中等, 与皮肤无粘连, 无触痛; 双侧腋窝及锁骨上下未触及肿大淋巴结。腹部超声及胸片均未见异常, 术前穿刺病理示: 恶性肿瘤, 免疫组化染色显示肿瘤细胞 AE1 (+), AE3 (+), PR (+ 50% ~ 75%) ER (-) HER-1 (-), HER-2 (-), E-cadherin (-), GCDFP (-), CD3 (-), CD20 (-)。2006 年 1 月 22 日行左乳腺癌改良根治术。术后大体病理示: 左乳腺内上象限距乳头 4 cm 处见一肿物, 大小为 4.5 cm × 4.5 cm × 4.0 cm, 切面灰白色, 质脆, 周围乳腺呈灰白间灰红色; 腋窝脂肪组织中检出淋巴结 16 枚, 大者 1.5 cm × 1.0 cm × 1.0 cm, 小者 0.5 cm × 0.5 cm × 0.5 cm。术后病理报告: (左侧) 乳腺内上象限小细胞/燕麦细胞癌 (神经内分泌癌), 肿瘤大小为 4.5 cm × 4.5 cm × 4 cm, 乳头皮肤未见癌。腋窝淋巴结见转移癌 (3/16)。免疫组化染色显示肿瘤细胞: Map-2 (++) , CD56 (+) , CD99 (+) , AE1 (个别细胞 +) , Syn

(-) , CK7 (-) , CK20 (-) , E-cadherin (-) , CgA (-) , AE3 (-) , CD3 (-) , CD20 (-) , ER (-) , PR (-) , CEA (-)。肿瘤周围乳腺呈纤维腺病改变。诊断: 左乳腺燕麦细胞癌 (pT2N1M0) IIB 期。术后未予特殊治疗, 随访至 2007 年 10 月未见复发或远处转移迹象。

讨论 乳腺小细胞癌是具有神经内分泌特征、类似肺燕麦细胞癌、发生于肺以外部位的癌。原发性乳腺小细胞癌的诊断必须排除非乳腺部位的转移, 或者在组织上能证明它是原位癌的组成部分。乳腺小细胞癌属于神经内分泌型乳腺癌的一种亚型, 具有神经内分泌型乳腺癌的共同特点, 又有着其特殊性。

神经内分泌型乳腺癌可分 3 型: (1) 类癌样型。细胞成分丰富, 间质少, 癌细胞呈巢、呈实性团, 细胞小, 大小及形状较一致, 核呈圆形或卵圆形, 核仁不显著或很少, 核分裂象不多见, 胞浆丰富, 透明或颗粒状。(2) 黏液癌型。黏液癌或与类癌样结构混合存在。(3) 小细胞型。细胞散在或形成小索条, 间质多, 癌细胞甚小, 并颇为一致, 细胞浆少, 核小染色深, 圆形或卵圆形, 核仁不显著, 但核分裂象易找到。多数病例是一般癌细胞与嗜银细胞混合存在, 各占比例不一, 因此有人建议改称为伴有嗜银细胞的乳腺癌, 以有别于真正的类癌^[1]。良性肿瘤及正常乳腺组织无嗜银细胞或极少见, 因此多数学者认为, 嗜银细胞是乳腺癌在癌变过程中基因去抑制、细胞分化紊乱的结果。具有嗜银细胞的乳腺肿瘤的大

部分病例, 其临床症状及其预后, 与一般乳腺癌似无明显差异, 但燕麦细胞型预后较差。小细胞型乳腺癌非常少见, 为未分化癌形式。该型肿瘤由于细胞组成可成片分布或松散排列, 有时形成环状; 细胞小可呈圆形, 胞浆少, 与淋巴瘤相似。如成梭型则与纤维肉瘤相似。癌可见细胞间连接的桥粒, 黏液诊断染色对诊断很有帮助。免疫组化染色角蛋白抗原 (keratin) 及上皮膜抗原 (EMA) 呈阳性, 而肉瘤则相反。此类未分化癌的临床过程发展迅速, 不仅肿瘤增大较快, 且易发生淋巴结转移和远隔转移, 预后差, 患者手术后生存很少超过 5 年。本病临床表现与一般类型乳腺癌无异, 目前国内尚无治疗经验, 对放疗化疗及内分泌治疗的敏感性尚不清楚。

参考文献:

- [1] 阙秀. 乳腺癌临床病理学 [M] 北京: 北京医科大学、协和医科大学联合出版社, 1993. 76.
[2] Devitt PG. Carcinoid tumor of the breast [J]. *British Medical Journal*, 1978, 2 (6133): 327.
[3] Vina M, Wells CA. Clear cell metaplasia of the breast [J]. *Histopathology*, 1989, 15 (1): 85 - 92.
[4] Taxy J B. "Carcinoid" tumor of the breast [J]. *Human Pathol* 1981, (12): 170 - 179.
[5] Azzopardi J G, Muretto P, Goddeeris S, *et al.* "Carcinoid" tumors of the breast. Muretto P, Goddeeris, *et al.* The morphological spectrum og argyrophil carcinomas [J] *Histopathology*, 1982, (6): 549 - 569.

收稿日期: 2007-10-29.

作者简介: 郑伟刚, 男, 山东德州市立医院主治医师, 主要从事普通外科方面的研究。

通讯作者: 柳辑章 E-mail: ZHWGDZ@163.com