

碱对降 AST 的作用不明显)。丹参酸乙量效结果显示以 12.5mg/kg 鼠重剂量为佳。

丹参酸乙对已形成的 DMN 诱导的大鼠肝纤维化有良好的治疗效果。采用二甲基亚硝胺 DMN 腹腔注射 4 周 (共 12 次) 诱导大鼠肝纤维化模型, 造模成功后, 按体重分层随机分丹参酸乙 3 个剂量组及对照药物丹参生药组、秋水仙碱组以及模型对照组, 治疗 5 周。结果表明: 丹参酸乙能显著促进肝内胶原的重吸收, 降低肝组织 Hyp 含量及 I 型胶原的沉积; 能促进损伤肝细胞的修复, 提高血清 Alb 含量, 降低血清 ALT、AST 活性; 显著降低大鼠腹水出现率; 作用优于秋水仙碱及原生药丹参; 具一定的量效关系, 有效剂量区间为 12.5mg/kg/d ~ 25mg/kg/d。

对体外肝星状细胞功能的影响。肝星状细胞的活化及其功能变化是肝纤维化发生机制的核心环节。本研究采用肝脏原位灌注、Nycodenz 梯度离心分离大鼠肝星状细胞 (HSC), 传一代培养, 经分组和药物作用后³H-TdR 掺入法与 MTT 法测定细胞增殖。丽春红染色、图像分析法半定量检测细胞胶原沉积量, ELISA 法细胞培养上清液中 I 型胶原分泌量, RT-PCR 法分析前胶原 α_2 (I) mRNA 表达。ELISA 法与生物方法 (貂肺上皮细胞株 - Mv1Lu 增殖抑制试验) 测定上清液中活性型及总 TGF β_1 含量。Western Blot 法进行磷酸化 MAPK 检测。观察了丹参酸乙对体外活化的大鼠肝星状细胞增殖、胶原与转化生长因子 (TGF) β_1 生成以及 TGF β_1 介导的信号分子 MAPK 活性的影响, 探讨丹参酸乙抗肝纤维化的作用机制。结果显示: (1) 丹参酸乙 1 ~ 100 μ mol/L 对细胞形态及培养上清液中 LDH 活性无明显影响, 而 100 μ mol/L 可致部分细胞脱壁与死亡。(2) 丹参酸乙 0.1 μ mol/L、1 μ mol/L、10 μ mol/L 浓度依赖性抑制 HSC 增殖, MTT 转化率分别为对照组的 82.2%, 79.3% 与 74.5%。(3) 丹参酸乙 3 个剂量组的胶原沉积量分别为对照组的 86.2%、75.4% 及 73.4% ($P < 0.05$); 上清液中 I 型胶原蛋白分泌量分别为对照组 (mg/g 细胞蛋白) 的 75.3%、69.8% 及 63.5%, (均较模型组 $P < 0.05$)。 (4) 丹参酸乙 1 μ mol/L 和 10 μ mol/L 对细胞前胶原 α_2 (I) mRNA 的表达有显著抑制作用, 其表达量分别为对照组的 77.0% 与 51.8% ($P < 0.05$)。 (5) 丹参酸乙 10 μ mol/L 可显著降低 HSC 分泌的活性型 TGF β_1 及其总量 ($P < 0.01$)。TGF β_1 可激活细胞信号转导通路中 MAPK 的活化,

丹参酸乙对其呈现抑制效应。结论: 丹参酸乙能抑制 HSC 的增殖, 抑制活化 HSC 的 TGF 自分泌及活化; 降低 I 型前胶原 mRNA 表达与胶原蛋白的生成。其抑制 TGF β_1 信号转导通路中 MAPK 的活化可能是丹参酸乙抑制 I 型前胶原 mRNA 表达重要的途径之一。

综合研究表明, 丹参酸乙有较理想的抗肝纤维化效果, 其药理靶向作用较明确。由于目前国际上尚无理想的抗肝纤维化药物, 该成分的研究和作用的发现具有重要意义和良好的前景。

(收稿: 2001-11-28)

同种原位心脏移植的 实验和临床应用研究

哈尔滨医科大学附属第二医院 (150086)

夏求明 徐秀玉 臧旺福
陈子道 姚志发 析家驹

心脏移植是现代医学领域的一项高新科学技术, 是衡量一个国家移植水平的客观依据之一。本课题是在培养一支能完成心脏移植这一系统工程的技术骨干队伍的基础上, 经过动物实验过渡到临床应用。同样, 对临床应用中所出现的问题开展了相应的实验研究。重点研究了心脏移植中的关键性问题, 包括供心缺血性损害的预防与保护, 移植方法的改进与评估, 术后早期右心功能不全的影响因素与防治, 移植心脏冠状血管病变对远期存活率的影响, 以及免疫耐受等相关方面的研究与探讨。

1. 临床研究

(1) 移植方法的改进: 原位心脏移植术中, 目前大多数中心采用 Lower 和 Shumway 介绍的原位心脏移植的标准术式。但因受者的部分左、右心房保留, 故称之为心室移植。这种术式吻合方法相对简单, 移植近期效果肯定, 从而被认为是原位心脏移植的“标准”术式。近年, 通过我们的研究和一些心脏移植中心的研究结果发现, 标准术式移植后的

心脏存在一定的解剖学和生理学上的不足,如移植心脏二、三尖瓣关闭不全的发生率约为 67% 左右,可能是由于心房的异常增大,心房受两个窦房结的支配呈不协调收缩及房室瓣被变形的心房牵拉所致。另外,标准术式移植后心律失常的发生率较高,窦性心律失常发生率为 18% ~ 44%,早期心动过缓为 38%,其中 40% 需安装临时起搏器。

正是由于上述原因,我们采用了一种改进术式,即双腔静脉吻合合法心脏移植(国内领先),此方法将受者右心房也全部切除后,供心的上、下腔静脉与受者的上、下腔静脉吻合。尽管此方法吻合时间可能延长 15 分钟左右,但保存了完整的右心房,从而保持较正常的三尖瓣功能和完整的窦房结功能,提高了病人的生存质量。国外文献报道,该方法移植术后 1 年、3 年、5 年生存率分别为 87%、82%、81%,较标准法分别为 74%、70%、62% 为高。另外,在我们的研究中还采用了另一种全心腔原位移植术式(亚洲首例),它完整保留了供心解剖形态,对预防移植后心房内血栓形成和二、三尖瓣关闭不全有重要作用。该例术后恢复特别顺利。但因临床操作稍复杂,临床推广应用有待进一步研究。

(2) 手术技术的改进:从心脏移植上改进了易导致吻合口狭窄的后壁内翻缝合法,采用全外翻式吻合,保证管腔内壁的平滑,确保术后吻合口通畅,防止血栓形成。

(3) 供心的保护:在供心保存期间(包括术中、恢复血供前),应用冠状静脉窦持续微流量逆行灌注氧合保存液(与国际同步),能及时提供给心肌氧和所需的代谢底物,又可排除心肌内代谢产物,具有较好的供心保存效果。另外,脑死亡之后呼吸和循环的维持十分重要,我们采用的气管插管和维持血液循环正常等措施,使供心的心肌保护在脑死亡期间得以保证。

(4) 移植后早期右心衰竭的防治:移植术后早期右心功能不全的发生除了与供心和受者的正确选择、心肌保护的优劣程度以及术后的正确处理等多方面有关以外,我们的临床研究证实,术前肺动脉高压是导致心脏移植术后急性右心衰竭的主要因素。心脏移植受者术前常规右心导管检查,确定心肺功能状态,如 $PVR > 2.5$ Wood 单位,强调需进行肺血管降压实验以判定肺血管病变的可逆程度,以便选择适合的患者。体外循环中超滤的应用,调整转流后血流量,

避免右心室容量负荷过重以及术后适当应用血管扩张药物,强调术后早期强心、利尿等方法,明显降低右心衰竭的发生率,提高了手术早期的存活率。

2. 临床基础研究

(1) 心肌保护的实验研究:针对心肌保护可能出现的问题进行了系列的实验研究。供心首次停搏液通常选用低温(4℃)停搏液直接灌注常温的心脏,但此方法可导致心脏的痉挛和冠状血管的痉挛,我们的一组动物实验研究证实,低温确实可以造成心脏的快速冷痉挛,它的危害主要有心肌能量消耗,冠状血流阻抗的增加,心肌功能恢复延缓,研究进一步发现温度越低,痉挛的发生率越高,产生痉挛的主要原因是激活心肌肌浆网 Ca^{2+} 快速释放通道,使大量 Ca^{2+} 进入肌浆,在实验基础上通过适当提高灌注液的温度,用 15℃ 停搏液首次心肌灌注,待心脏停搏后再全量灌注 4℃ 停搏液,结果证明心肌停搏确切,无痉挛现象发生,病理学检查无器质性病变。此外,我们还对心肌停搏液的成分进行研究和改进,认为钾的浓度影响心肌保护的效果,如钾的浓度 > 30 mEq/L 会引起血管内膜的损害,研究结果表明其浓度应在 20 ~ 25 mEq/L 之间。有关心肌痉挛问题,国外也引起重视,并有相应的文献报道。

(2) 移植心脏远期冠状血管病变的实验研究:冠状血管增殖性病变是心脏移植远期主要并发症之一,其机制尚不清楚。国外的研究认为其与免疫排斥反应有关,且细胞免疫和体液免疫都参与血管内膜的损伤,认为免疫学因素和抗排斥反应药物是导致冠状血管增殖性病变的主要因素。但围术期供心缺血性损伤与冠状血管增殖性病变是否有直接的关系尚无定论。我们通过动物实验的研究证实,供心缺血缺氧以及恢复血供后的再灌注损伤均可以造成移植心脏的冠状血管内皮损伤,有时这种损伤是不可逆的。进一步研究表明,正是这种损伤可能是移植心脏冠状血管病变的始动因素,而免疫学因素和抗排斥药物在此基础上进一步影响冠状血管的损伤与修复,从而导致冠状血管增殖性病变。但确切的机制还有待深入的研究。另一组实验发现,在动物心脏移植早期应用 ACEI 可以明显地抑制移植心脏的冠状血管增殖性病变,同时也发现心肌局部的肾素-血管紧张素增高也参与移植后冠状血管病变。

(3) 右心衰竭的实验研究:应用野百合碱注射,成功地建立了大鼠的慢性右心衰竭模型。研究发现,

在右心衰竭的形成过程中一氧化氮合酶和肿瘤坏死因子起着十分重要的作用,对临床治疗和预防移植术后早期右心衰竭有一定的指导意义。

(4) 免疫耐受的动物实验研究:成功地建立了大鼠异位同种心脏移植的动物模型。在此基础上,进一步的研究认为,应用胸腺细胞或紫外线照射,可以成功地诱导大鼠的免疫耐受,临床应用效果有待进一步的研究证实。

(5) 心肌细胞移植:90 年代初期,有人发现移植到成年鼠心肌内或皮下的供者心肌能够存活,这是一个里程碑,标志着心脏治疗新领域的开始。近年,心肌细胞移植的研究已经有了重要进展。应用同种或异种的胚胎心肌细胞、成年心肌细胞、平滑肌细胞、骨骼细胞、骨髓细胞等作为供者细胞,以鼠类、兔、犬和猪等作为实验动物,用不同的实验模型和移植方法,都证明心脏缺血区的移植细胞能够存活并与宿主细胞结合而改善心功能。近期的研究已经模拟临床应用,把这种技术转移到大型动物的模型中,说明细胞移植用于人类心肌修复的时机已经逐渐逼近。

3. 临床应用与推广应用

自 1992 年我院开展临床工作以来,至今共完成原位心脏移植 9 例,心肺移植 1 例。获得长期存活 7 例,存活时间迄今分别为 9.5 年、8 年、7 年、5 年、4 年、1.5 年和 1 年,病人仍健康存活。经随访检查,病人心功能均恢复为 I 级,均从事正常人的生活。前 3 例均为国内存活时间最长(均大于 7 年),生活质量优良的病例。全部存活病例均在随访过程中,并进行定期系统检查。

自 1992 年首例心脏移植成功以来,1995 年以后相继有福建协和医院、上海胸科医院、沈阳陆军总医院等单位的专家组到我院学习心脏移植。学习后,福建协和医院、湖南湘雅医院等十余个单位开展了心脏移植工作,并取得了可喜的成绩。于 1999 年,由我院牵头,在哈尔滨成功地举办了全国首届心脏移植研讨会。著名移植专家夏穗生教授和心血管著名专家朱晓东院士对大会给予了极高的评价,认为哈医大二院的心脏移植工作无论是在临床工作还是科研工作中,在全国均处于领先地位,并极大地推动了国内心脏移植工作的开展。同年,我院心胸外科被卫生部授予心脏移植继续教育培训基地。

(收稿:2002-01-04)

造血因子治疗急性 辐射损伤的应用依据 和原则的实验研究

军事医学科学院放射医学研究所(100850)

罗庆良 从玉文 柳晓兰 郝 静 熊国林

董 波 毛秉智 邱丽玲 陈家佩

随着核能技术在肿瘤和骨髓移植病人的医疗性照射、同位素示踪、辐照加工及核电等领域的广泛应用,辐射事故的发生也随之增加。此外,平时核设施遭到破坏或战争时期的核袭击,均可发生大量的急性辐射损伤(尤其是骨髓造血功能的损伤)病人。近十多年来,应用细胞因子来改善辐射造血损伤获得良好的疗效。然而,细胞因子的用药对象、剂量、时机及合理的配伍应用等问题尚未解决,短效、无效者绝非罕见,甚至出现滥用现象。本研究从分子、细胞、组织和整体动物水平上全面观察了造血因子对造血细胞的刺激作用、相关机理和远后效应,系统研究了对急性辐射所致造血损伤的治疗作用,深入探讨了造血因子治疗急性辐射损伤的相关机制的远后效应,最终提出了造血因子治疗急性辐射造血损伤的照射剂量范围、用药时机、用药剂量及造血因子配伍等合理应用原则。

本研究解决的主要技术问题:(1)建立辐射损伤大动物——小猎犬和猕猴模型,确定造血因子治疗急性辐射损伤的照射剂量范围。(2)证实造血因子对急性辐射损伤的治疗作用,探讨最佳给药条件及联合给药的治疗效果。(3)急性辐射损伤造血因子治疗后的远后效应及造血因子刺激造血的可能作用机制。

本研究的技术创新点:(1)从细胞分子水平到整体水平较深入地研究多种造血因子对多种细胞、多种动物不同程度急性辐射损伤的治疗效果,国内外未见类似资料。(2)以自建更近似平时突发事件或核战时条件所致急性辐射损伤小猎犬、猕猴模型应用造血因子的原则的研究,经检索未见同类报道。(3)根据自行设计实验结果获得有关造血因子治疗