

carotid atherosclerotic plaque telomere length; interrelation, association with plaque characteristics, and restenosis after endarterectomy[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(5): 1219-1225.

[28] Scott WB, Jasbir SM, Alex D, et al. Telomere length, risk of coro-

nary heart disease, and statin treatment in the west of Scotland primary prevention study: a nested case-control study[J]. Lancet, 2007, 369(9556): 107-114.

(收稿日期: 2011-04-16)

• 综 述 •

儿童肝衰竭的研究进展

黄翩翩 综述, 朱朝敏 审校

(重庆医科大学附属儿童医院感染消化科/重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地 400014)

关键词: 儿童; 诊断; 肝移植; 病因; 肝衰竭

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.10.030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)10-1081-03

儿童肝衰竭因其病情进展快、病情重、病死率高成为儿科医师最具挑战性的疾病之一。目前在世界范围内对儿童肝衰竭的研究仍然有限,无统一的命名、分类及诊断标准;强调内科综合治疗,大大提高肝衰竭儿童生存率;预后因病情、干预措施等因素而异。因此,儿童肝衰竭的研究进展对该病的认识及控制有重要意义。

1 儿童肝衰竭的定义及诊断标准

1.1 在国内,儿童肝衰竭又有儿童重症肝炎、小儿爆发性肝炎之称,《肝衰竭诊疗指南》将肝衰竭定义为多种因素引起的严重肝脏损害,导致其合成、解毒、排泄和生物转化等功能发生严重障碍或失代偿,出现以凝血机制障碍和黄疸、肝性脑病、腹水等为主要表现的 1 组临床症候群。国外文献则以 PALF 多见。PALF 定义为原先无肝脏损害,8 周内突发严重肝功能障碍,不出现肝性脑病而注射维生素 K₁,无法纠正的凝血障碍,PT>20 s 或 PT(INR)>2.0;或肝性脑病合并凝血障碍,PT>15 s 或 PT(INR)>1.5^[1]。目前国内较公认的说法是 2009 年中国儿科肝病学术会议提出的儿童肝衰竭定义:无已知慢性肝病的患儿出现严重急性肝功能受损的多系统紊乱,伴或不伴与肝细胞坏死有关的脑病。该定义不再将肝性脑病作为诊断的必要条件,与国外文献所提及的定义有相似之处。

1.2 诊断标准 目前国内对儿童肝衰竭无明确及统一的诊断标准,2006 年国内制定的《肝衰竭诊疗指南》遵守了循证医学原则,依据病史、临床表现和辅助检查等综合分析,将肝衰竭分为急性、亚急性、慢加急性(亚急性)及慢性肝衰竭,根据临床表现及黄疸加深程度、凝血酶原活动度及肝性脑病的出现进行临床分期。上述方案及指南均为成人制定,而儿童肝衰竭的病因及临床表现与成人有较大差别,国内肝衰竭的诊断标准中,均将肝性脑病列为诊断的必要条件,但肝性脑病在肝衰竭患儿中出现比较晚甚至不出现,并且诊断较为困难。因此,肝性脑病在儿童肝衰竭的诊断中是否作为必要因素、儿童肝衰竭的临床分期、实验室诊断标准等是否有别于成人仍待进一步研究。

2 儿童肝衰竭的病因及病理分析

2.1 儿童肝衰竭与成人肝衰竭不同,从病程上看,成人以慢性肝衰竭多见,儿童以急性、亚急性肝衰竭多见,从病因上比较,国内成人以乙型肝炎病毒引起的肝衰竭多见,国外以对乙酰氨基酚过量导致肝衰竭多见,而儿童则大多数原因不明。

中国人民解放军第三〇二医院收治的 120 例儿童肝衰竭的临床资料显示,儿童肝衰竭病因与年龄有较大的关系。在婴儿组中,肝衰竭主要是由巨细胞病毒感染引起的,但 40.6%病

因不能明确;年长儿组在已知病因中以 HBV、HAV 感染为主,但在引起肝衰竭的其他因素中,肝豆状核变性是最常见的原因^[2]。该研究临床与病理的诊断符合率 88.9%。另外,Robert 等^[3]报道,儿童急性肝衰竭研究小组对 348 例不同种族的儿童进行研究(以白人为主),结果显示 49%病因不能明确,对乙酰氨基酚中毒占 14%,排第 2 位。在已知引起肝衰竭的病因中,包括病毒性肝炎、中毒性肝病、遗传代谢性肝病、肝内、外胆道闭锁和 Caroli 综合征及淤血性肝病等,国内以嗜肝病毒感染多见,国外则以对乙酰氨基酚中毒为首因。

2.2 肝衰竭病理诊断 肝脏病理活检是肝病诊断的金标准,通过肝脏细胞坏死、水肿程度及再生情况可明确肝衰竭的分型,通过各种组织化学及原位分子杂交技术又可明确肝衰竭的病因。《肝衰竭诊疗指南》中根据显微镜下肝细胞坏死的程度、残留肝细胞再生的程度及有无肝纤维化等综合因素将肝衰竭(病理分型)分为急性肝衰竭、亚急性肝衰竭、慢加急性(亚急性)肝衰竭及慢性肝衰竭。

中国人民解放军第三〇二医院对住院的 1 020 例进行肝脏穿刺的肝病儿童进行研究,其中只有 2%的儿童在肝穿后仍然病因不明,由此可见,肝脏病理活检对于肝衰竭的病因分析及治疗方案有很大帮助。

3 儿童肝衰竭的治疗进展

肝衰竭至今无特效治疗方法,目前仍强调综合治疗,在密切监护的基础上,加强基础支持治疗,及早诊断,进行多环节阻断和治疗,积极防止各种并发症。如内科综合治疗效果不佳,则应尽快行人工肝及肝移植治疗。

3.1 内科综合治疗 内科综合治疗包括一般支持治疗、针对病因和发病机制的治疗及防治并发症。如卧床休息,加强监护,保证热量,积极纠正低蛋白血症,补充清蛋白或新鲜血浆等,并针对病因行特异性治疗。防治并发症包括去除诱因,限制蛋白质饮食,促进氨的排出,减少肠源性毒素吸收及纠正氨基酸失衡。

3.2 人工肝 人工肝是指通过体外的机械、物理、化学或生物装置,清除各种有害物质,补充必需物质,改善内环境,暂时替代衰竭肝脏部分功能的治疗方法,能为肝细胞再生及肝功能恢复创造条件或等待机会进行肝移植。浙江大学附属第一医院对 400 例行人工肝治疗(包括血浆置换、血液灌流、持续血液滤过透析)的肝衰竭患者进行研究,与 400 例行内科综合治疗的肝衰竭患者比较,人工肝组治愈率为 78.9%,早期肝衰竭治愈率又占 76.5%,内科综合治疗治愈率只有 11.9%^[4]。Hes-

sel^[5]对 33 例行分子吸附再循环系统(MARS)治疗的患者随访,3 年生存率为 52%,而对照组 46 例 3 年生存率为 17%,可见人工肝可大大提高早期肝衰竭患者的生存率。

3.3 肝移植

3.3.1 发展史 1967 年世界肝移植奠基人 Starzl 教授对 1 例肝癌患儿实施原位肝移植,术后存活 400 d,从此开启了人类肝移植的新篇章,并使原位肝移植成为全球通用的 1 种术式^[6]。20 世纪 90 年代初随着免疫抑制剂发展及肝移植新型术式的不断开发,全球肝移植总例数迅速增加,死亡率降至 10% 以下,儿童共进行 1 500 余例肝移植手术。中国肝移植研究起步晚,也由于技术、经验等诸多因素限制,20 世纪 80 年代中、后期基本无人尝试肝移植手术,1999 年才在中国大规模开展,截止 2005 年,共实施肝移植 3 300 例,尤其是港台地区肝移植手术成功率在 95% 以上。近年来,中国儿童肝移植的数量逐年增加,在 2000 年以前,每年开展的儿童肝移植不超过 5 例,而自 2001 年以后,每年的儿童肝移植数量均在 20 例以上,在 2007、2008 年,每年完成的儿童肝移植均在 50 例以上。

3.3.2 适应证 儿童肝移植的适应证包括肝内外的胆汁淤积、代谢性疾病、急性肝衰竭、原发性肝脏肿瘤及肝纤维化等,而胆道闭锁所占比例最高,达 50% 左右^[7]。有美国学者提出,用 LIU 来评估患儿能否行肝移植及其预后(根据总胆红素、PT 和血氨的高低进行评估),其准确性有待进一步研究。

3.3.3 手术时机 管文贤^[8]认为,原发性胆疾病在常规手段治疗下,1 年内将死亡的病例可考虑行肝移植术;对于淤胆型肝炎和其他慢性肝病患儿,应根据每一原发病的发病规律,结合肝功能损害状况、肝外合并症的存在与否、患儿的生长发育和生活质量等因素综合判定后确定。对各种因素所致的急性肝功能损害患儿,经全力抢救后肝功能仍进行性恶化,出现 II~III 级肝性脑病、凝血功能障碍和酸中毒时,应果断采取肝移植。而 Marco 等^[7]则认为,确定肝移植最佳候选人及制定肝移植术前、术后计划最为重要(包括明确手术指征、禁忌证,评价免疫、营养状态,防范药物不良反应等)。

3.3.4 并发症 肝移植后,患儿因病因、术式、自身情况不同,其并发症也多种多样。儿童肝移植研究组织(SPLIT)分析北美 44 个儿童肝移植数据(共 2 192 例肝移植受体资料)后指出,儿童肝移植术式主要以全肝移植及新术式(减体积肝移植、劈离式肝移植和活体供肝肝移植)为主,新术式在移植后 30 d 并发症发生率有所提高;胆道并发症(全肝移植为 7.5%,劈离式肝移植为 18.8%,减体积肝移植为 16%,活体供肝肝移植为 17.5%);门静脉血栓(全肝移植为 3.6%,劈离式肝移植为 8%,减体肝移植为 8%,活体供肝肝移植为 7.5%)。与全肝移植相比,劈离式肝移植和减体积肝移植的预后较差(相对危险度分别为 1.74 和 1.77)^[9]。

北京大学附属第一医院对 7 例行肝移植患儿进行分析,腹腔大出血是小儿肝移植后最严重的并发症,术后肾功能不全及肾衰竭发生率高达 30%^[10]。SPLIT registry 数据显示,术后多器官功能衰竭致死率 46%;Sandy^[11]与 Natasha 和 Michael^[12]则认为,感染为儿童肝移植术后最常见并发症,术后 0~30 d 细菌感染概率大于 50%;术后 31~180 d 是 EB 病毒、巨细胞病毒及卡氏肺囊虫感染的高峰;高于 40% 的患儿术后 1 年有感染真菌的可能;因胆道闭锁而行肝移植的患儿可增加细菌性胆囊炎的发生率;胆道纤维化患儿接受肝移植则有曲霉菌蔓延的危险。由此可见,肝移植患儿术后并发症较凶险,是否处理及时、得当将影响患儿生存率及生活质量。

3.3.5 肝脏再移植 Vicky 等^[13]认为,肝脏再移植指征包括肝动脉栓塞、慢性排斥反应、肝脏原有功能丧失、胆道并发症等,肝动脉栓塞是肝脏再移植较常见指征。Adam 和 Philip^[14]研究表明,8 649 例接受肝移植患儿有 14.7% 必须接受第 2 次肝移植,接受第 3 次肝移植比例为 21.1%,肝脏再移植效果较首次肝移植差,但却是提高肝衰竭患儿生存率的惟一方法。

4 儿童肝衰竭的预后

4.1 影响儿童肝衰竭预后因素包括年龄、临床分型及分期、PTA、总胆红素、“胆酶分离”现象、清蛋白、肝性脑病等,中国人民解放军第三〇二医院研究显示,PTA 和总胆红素是影响儿童肝衰竭预后最危险的因素;年龄越小,预后越差^[15]。Engelmann 等^[16]指出,预测急性肝衰竭最重要的指标是肝性脑病的程度、年龄和病因,肝性脑病 IV 级的患者预后差。伦敦大学国王学院重新修订的诊断标准中,儿童急性肝衰竭的预后取决于 4 个因素:(1)白细胞总数大于 $9 \times 10^9/L$;(2)血胆红素 13.8 mg/dL;(3)年龄小于 2 岁;(4)INR 4。如果符合上述其中 1 个条件,病死率达 76%;符合 2 个条件,病死率达 93%;符合 4 个条件,则病死率为 100%。

4.2 预后 儿童肝衰竭发病迅速,预后凶险,内科治疗生存率仅有 20%~40%,10 年生存率约为 10%~20%。肝移植的开展使儿童肝衰竭的病死率有了大幅度降低。Vicky 等^[13]分析全球最大 1 组资料(462 例)表明,肝移植患儿术后 1、3、5 年累计生存率分别为 79.8%、77.0%、77.0%,优于成人。

5 总结

中国对儿童肝衰竭的研究落后于对成人的研究,其诊断无统一标准。儿童肝衰竭因其病情重、进展快而病死率高,人工肝、肝移植的开展减低了儿童肝衰竭的死亡率。

参考文献

- [1] Brandy R, Jane G, Liu E, et al. Evaluation of a scoring system for assessing prognosis in pediatric acute liver failure[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2008, 6(10): 1140-1145.
- [2] 朱世殊, 张鸿飞, 陈菊梅, 等. 儿童肝衰竭病因及病理的研究[J]. 传染病信息, 2006, 19(3): 132-134.
- [3] Robert H, Squires S, Benjamin L, et al. Acute liver failure in children: the first 348 patients in the pediatric acute liver failure study group[J]. J Pediatr, 2006, 148(5): 652-658.
- [4] Li LJ, Yang Q, Xu XW, et al. Effect of artificial liver support system on patients with severe viral hepatitis: a study of four hundred cases[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(20): 2984-2988.
- [5] Hessel FP. Economic evaluation of the artificial liver support system MARS in patients with acute-on-chronic liver failure[J/OL]. Cost Eff Resour Alloc, 2006[2011-02-15]. <http://www.resource-allocation.com/content/4/1/16>.
- [6] 陈虹, 臧运金, 朱雄伟, 等. 肝移植发展简史[J]. 中华医史杂志, 2006, 36(4): 227-230.
- [7] Marco S, Silvia R, Maggiore G, et al. Pediatric liver transplantation[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(6): 648-674.
- [8] 管文贤. 儿童活体肝部分移植术进展[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2002, 9(4): 282-285.
- [9] Diamond LR, Fecteau A, Millis JM, et al. Impact of graft type on outcome in pediatric liver transplantation: a report from studies of pediatric liver transplantation (SPILT)[J]. Ann Surg, 2007, 246(2): 301-310.
- [10] 余奇志, 黄柳明, 贾均, 等. 小儿肝移植近期并发症防治[J]. 中华小儿外科杂志, 2005, 26(5): 233-235.

- [11] Sandy F. Long-term management of immunosuppression after pediatric liver transplantation[J]. Curr Opin Organ Transplant, 2008, 13(5): 506-512.
- [12] Natasha H, Michael G. Immunizations and infectious diseases in pediatric liver transplantation[J]. Liver Transplantation, 2008, 14(10): 1389-1399.
- [13] Vicky L, Annie F, Shepherd R, et al. Outcomes of 5-year survivors of pediatric liver transplantation[J]. Pediatrics, 2008, 122(6): 1128-1135.
- [14] Adam D, Philip R. Pediatric liver retransplantation: outcomes and

a prognostic scoring tool[J]. Liver Transplantation, 2009, 15(2): 199-207.

- [15] 朱世殊, 张鸿飞, 陈菊梅, 等. 影响儿童肝衰竭预后的相关因素分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2005, 19(1): 16-18.
- [16] Engelmann G, Schmidt J, Oh J, et al. Indications for pediatric liver transplantation. Data from the Heidelberg pediatric liver transplantation program[J]. Nephrol Dial Transplant, 2007, 22(Suppl 8): 23-28.

(收稿日期: 2011-02-20)

• 综 述 •

高效毛细管电泳的临床应用

宿振国, 周玉明, 高梅兰, 宋向芹 综述, 纪 冰 审校

(滨州医学院附属医院检验科, 山东滨州 256603)

关键词: 电泳, 毛细管; 临床医学; 治疗应用

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 10. 031

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)10-1083-02

瑞典 Uppsala 大学物理化学系 Svedberg 教授提出, 荷电的胶体颗粒在电场中移动的现象为电泳。高效毛细管电泳 (HPCE) 是在传统电泳基础上, 继现代高效液相色谱技术之后发展起来的 1 种新型高效分离技术, 它综合了经典电泳技术和现代微柱分离技术的优点, 因而具有高效、快速、简便和自动化程度高的特点^[1-2]。由于它突出的高效性和快速性, 受到越来越多青睐, 被广泛应用于生物化学、分析生物学和微生物学等领域^[3-5]。

1 HPCE 原理

当固体与液体接触时, 固体表面由于某种原因带 1 种电荷, 另因静电引力使其周围液体带有相反电荷, 在液-固界面形成双电层。当液体两端施加电压时, 就会发生液体相对于固体表面移动, 这种液体相对于固体表面移动的现象叫电渗现象。

在石英毛细管柱中, 当内充液 pH > 3 时, 表面电离成 $-\text{SiO}^-$, 管内壁带负电荷, 形成双电层。在高电场的作用下, 带正电荷的溶液表面及扩散层向阴极移动, 由于这些阳离子实际上是溶剂化的, 故将引起柱中的溶液整体向负极移动。

根据被分离物之间电荷和体积的不同, 各种分子在高电压下被分离。在自由区带毛细管电泳中, 电泳的移动 (带电荷分子朝相反极性的电极方向移动) 和电渗流导致了分离。

2 毛细管电泳仪的基本结构

2.1 毛细管柱要求具有化学和电学惰性, 可透过紫外光和可见光, 柔韧性好, 强度大, 主要有熔融石英和聚四氟乙烯等材质, 以前者为首选。

2.2 进样系统为微量, 采用自动进样, 可以分两种: 流体力学进样法, 增加进样端气压; 在出口端抽真空; 利用虹吸原理, 进样端高于出口端。电动进样法, 用样品置换缓冲液并加电压来进样。

2.3 高电压加在毛细管两端, 产生 100~500 V/cm 的电场强度, 提高电压可缩短分离时间并使峰形变窄。但高压放热使蛋白质凝固, 故必备良好的降温控制系统。

2.4 检测器一般可选用紫外光或可见光检测器/传感器, 使其在相应的领域内得以应用。

3 毛细管电泳的种类

毛细管电泳目前有多种分离方法。可以分为: 毛细管区带电泳、毛细管凝胶电泳、毛细管等电聚焦、毛细管等速电泳、胶束电动色谱、毛细管电色谱、亲和毛细管电泳等。有些毛细管电泳还可与其他分析方法联合运用, 如: 液相色谱-毛细管电泳、毛细管电泳-质谱等。

HPCE 按用途可分为临床检测和科研, 被分析的物质有离子、小分子药物、蛋白、脱氧核糖核酸、手性对映体等。而毛细管区带电泳是目前应用最广的 1 种分离模式, 适用于蛋白质、氨基酸、多肽类和离子的分析。

4 毛细管区带电泳的临床应用

4.1 血清蛋白质分析 将毛细管区带电泳用于血清蛋白分离的潜在临床诊断应用已在 20 世纪 90 年代中期建立起来^[6]。

新鲜血清经电泳后可精确地描绘出患者蛋白质的全貌, 常见的是清蛋白降低, 某个球蛋白区域升高, 提示不同的临床意义。当急性炎性反应时, 可见 α_1 、 α_2 区百分率升高; 肾病综合征、慢性肾小球肾炎时呈清蛋白下降, α_2 球蛋白升高, β 球蛋白也升高; 缺铁性贫血时可由于转铁蛋白的升高而呈现 β 区带增高; 而慢性肝病或肝硬变呈现清蛋白显著降低, Gamma 球蛋白升高 2~3 倍, 提示免疫球蛋白多克隆增高, 甚至可见 β -Gamma 区带融合的桥连现象; 另外, 在 Gamma 区也可呈现细而密的寡克隆区带。对于单一克隆浆细胞异常增殖所产生的无抗体活性均一的免疫球蛋白 M 蛋白的检测, 血清蛋白电泳是其首选的实验诊断方法^[7]。

另有报道发现, 当琼脂糖电泳与毛细管区带电泳比较时, 毛细管区带电泳在清蛋白部分的分辨率增加, 导致对双清蛋白血症检测的灵敏度改进。Jaeggi-Groisman 等^[8]在 1 年多的时间中分析 6 500 例样品, 发现 8 例双清蛋白血症, 患者既没服用抗菌剂又无任何胰腺疾病。由经典的琼脂糖进行的手工分析工作中, 在 4 年内仅仅发现 1 例。

在定量结果方面, 相对于琼脂糖电泳, 毛细管电泳得出关于 α_1 -酸性糖球蛋白的结果平均高于琼脂糖电泳结果, 这与 α_1 -酸性糖蛋白的唾液酸基团有关, 它在基于凝胶的电泳中影响蛋