

## • 实验研究 •

# 高温顺铂液肢体区域性隔离灌注不良反应的观察

王卫东 李麟荪 王杰

【摘要】 目的 观察高温顺铂肢体区域性隔离灌注的局部和全身不良反应。方法 12 只青紫兰兔随机分成两组,在相同灌注条件下,一组用 DDP(2mg/kg 体重)灌注,另一组用生理盐水灌注。灌注前及灌注后第 3 天测定相关血生化,电解质及白细胞计数。观察肢体感染、水肿、运动等功能。根据 Wiberdinks 分级评价局部不良反应等级。另 1 只动物按 4mg/kg 体重 DDP 灌注,观察上述指标。结果 在灌注及随访期间无动物死亡。两组实验动物灌注前后 AST、AKP、Cr,电解质无明显差异。实验组 LDH、CK 灌注后有显著升高。ALT、Urea、白细胞在 DDP 组与灌注前有差异,前者高于后者。除轻度胃肠道反应外,无严重肝肾功能受损,骨髓抑制等不良反应。局部肢体毒性分级,DDP 组明显高于无药组。按 4mg/kg 体重灌注的动物出现明显的全身及局部不良反应。结论 用高温 2mg/kg 顺铂肢体区域性灌注无全身严重并发症,局部不良反应也较轻,因而是一种较为安全的治疗方法。

【关键词】 顺铂;高温肢体灌注;兔;并发症

**Study of the toxicity reaction after hyperthermic isolated perfusion of DDP on limbs** WANG Weidong, LI Lingsheng, WANG Jie. Jiangsu Provincial People's Hospital 1st. Affiliated Hospital Nanjin Medical University 210029

【Abstract】 **Objective** To gain some insight into acute local and systemic toxicity reaction after hyperthermic isolated perfusion of DDP. **Methods** Twelve rabbits were randomly divided into two groups. DDP group consisted of 2 mg/kg body weight as the average perfusion dose and the control group perfused with normal saline solutions only one other rabbit was perfused with DDP of 4mg/kg body weight. Blood specimens were collected to test ALT, AST, AKP, Urea, Cr LDH, CK, WBC,  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$  before and two days after perfusion. Wound infection, edema, motility function were observed within one month after perfusion. Acute regional toxicity was graded according to Wieberdink's grading system. **Results** No rabbit expired within one month after perfusion. AST, AKP, Cr and electrolytes did not differ significantly before and after perfusion in both DDP and control groups ( $P > 0.05$ ). Significant differences among the three groups existed in LDH, CK. Significant differences were shown between the DDP group and the preperfusate group, the DDP group and no drug group. There were also significant differences in Urea, WBC between DDP and preperfusate groups. The grade of regional toxicity reaction in DDP group was higher than that in control group ( $P < 0.05$ ). Acute regional and systemic toxicity reaction were observed in the rabbits perfused with DDP of 4mg/kg body weight. **Conclusions** Hyperthermic perfusion of DDP in a dosage of 2mg/kg body weight in isolated rabbit limbs is a safe therapy with lesser on mild acute regional toxic reaction and no serious systemic toxic reaction.

【Key words】 Cisplatin; HILP; Rabbits; Complication

自 1957 年 ILP(Isolated Limb Perfusion)方法的建立及 1968 年 HILP(Hyperthermic Isolated limb Perfusion)的应用,相应的局部和全身并发症也随之

而生<sup>[1]</sup>。用高温顺铂液对兔的肢体进行隔离灌注,两者的协同增敏效应虽然提高了 DDP 的抗肿瘤作用,在一定程度上也增加了对正常组织的毒性作用。本研究通过 DDP 灌注前后有关生化指标,白细胞,电解质等参数的检测,体重,肢体周径的变化来研究全身和局部的不良反应情况,并设对照组比较。

作者单位: 210029 江苏省人民医院,南京医科大学第一附属医院

我们通过 CK、LDH 和白细胞 (WBC) 测定, 观察肢体毒性反应。评价其与肢体组织损伤, 肢体毒性反应等级之间的关系。

材料和方法

青紫兰兔 13 只, 其中 12 只随机分成两组。DDP 灌注组和无药灌注对照组各 6 只, 前者雄性 4 只, 雌性 2 只, 体重 2. 6~ 3. 5kg, 平均 2. 8kg。后者雌雄各 3 只, 体重 2. 8~ 3. 0kg, 平均体重 3. 02kg。随机编号。取兔后肢(左或右), 戊巴比妥钠全麻下切开皮肤, 用 22G 静脉留置针行股动、静脉插管, 近端用“0”号线结扎。橡皮压迫带绑扎肢体根部。由蠕动泵和膜式氧合器组成体外循环机, 20U/ml 肝素化生理盐水预充。将动、静脉导管连于体外循环机, 启动蠕动泵加温至灌注血温 40℃以上时, DDP 组从动脉按 2mg/kg 体重注入 DDP, 2min 内注毕。持续循环 60min 后用 50ml 生理盐水冲洗出未结合之 DDP<sup>[3]</sup>。无药组亦循环相同时间。具体灌注参数: 流速 8~ 12ml/min, 氧流量 1. 0L/min, 压力 5mPa, 灌注血温 40℃~ 43℃。另一只按 4mg/kg 体重给药, 灌注参数同前。灌注前分别从两组各随机取 3 只兔从耳缘静脉采血测谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、肌酸激酶(CK)、碱性磷酸酶(AKP)、乳酸脱氢酶(LDH)、尿素(Urea)、肌苷(Cr)、WBC、电解质(K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>)。测体重, 膝关节及膝关节上 5~ 7cm 处肢体周径。灌注后 3d, 同法再次采血测上述指标。灌注后 1~ 10、15、20 和 30d 测量上述两处肢体周径。急性局部毒性参考 Wieberdink 分级<sup>[4]</sup>(以下简称 W 氏分级)。见表 1。

表 1 灌注后急性组织反应分级

I 级	无反应
II 级	轻度红斑和(或)水肿
III 级	中度红斑和(或)水肿伴有水疱, 轻度运动障碍
IV 级	广泛的表皮松解和(或)明显的深部组织损伤致确定的功能紊乱, 有室筋膜(间隙)综合征的危险或出现室筋膜综合征
V 级	严重反应有截肢的必要。

所有结果均采用 Excel 统计软件处理, *T*-test (双尾, 异方差), *P*< 0. 05 有统计学意义。

结 果

所有兔均顺利完成插管灌注, 总灌注时间约为 80min。灌注中及随访 1 个月期间动物无一死亡。肢体伤口 1~ 2 周内愈合。无感染、撕裂征象。DDP

组灌注肢体有不同程度的肿胀, 出现于灌注后第 1 天。1~ 2d 迅速达到高峰, 一般持续 3~ 6d 后开始自行消退。其中 2、5 号兔肿胀明显延续至 10d 后, 5 号肿胀消退后出现肌肉僵硬, 肌力减退, 观察 1 个月仍存在。对照组有 1 只肢体轻度肿胀、肢体周径略增加。余肢体周径增加不明显, 更无肌肉僵硬, 坏死。两组均未出现严重感染、横纹肌溶解引发室筋膜综合征而需手术切开减压。根据 W 氏分级, 本组肢体局部毒性分级情况见表 2。统计学分析有显著差异(*P*< 0. 05)。灌注前及灌注后第 3 天生化参数、WBC 计数、电解质 *T* 检验 *P* 值见表 3。其中 AST、ALP、Cr、电解质(K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>) 在灌注前后差异无统计学意义。DDP 组 ALT 及 CK 升高有统计学意义。LDH 与 CK 在 3 组间有统计学意义(*P*< 0. 05), Urea 与 WBC 在灌注前与 DDP 组有统计学意义。按 4mg/kg 体重给药, 术后出现严重肢体肿胀, 并有局部干性坏疽、肌力下降、运动功能减退。除 ALP、电解质外, 所有检测参数均升高超过正常值范围, 体重在 1 周内下降 0. 5kg, 但观察 1 个月未死亡。

表 2 局部组织反应分级

编号	无药灌注	DDP 灌注*
1	I	II
2	I	III
3	II	II
4	I	II
5	I	III
6	I	II

\* 无药灌注与 DDP 灌注相比 *P*= 0. 0017 (*P*< 0. 01)

表 3 检测指标 *T*-test *P* 值表

指标	<i>P</i> 1*	<i>P</i> 2**	<i>P</i> 3***
ALT	0. 960	0. 048	0. 049
AST	0. 183	0. 248	0. 454
ALP	0. 216	0. 276	0. 897
Urea	0. 229	0. 038	0. 220
Cr	0. 457	0. 433	0. 963
LDH	0. 049	0. 008	0. 035
CK	0. 002	0. 006	0. 038
WBC	0. 054	0. 004	0. 071
K <sup>+</sup>	0. 195	0. 543	0. 307
Na <sup>+</sup>	0. 194	0. 313	0. 073
Cl <sup>-</sup>	0. 725	0. 810	0. 575

\* 对照组灌注前后 \*\* 实验组灌注前后 \*\*\* 对照组与实验

## 讨 论

ILP 并发症包括全身和肢体局部不良反应, 全身不良反应主要与药物的类型及渗漏到体循环的量有关。DDP 主要由肾脏排泄, 少量也可由胆汁排出<sup>[5]</sup>。大剂量应用时, 主要不良反应为肝肾功能、胃肠道粘膜损害和骨髓抑制, 也有引起末梢神经炎、耳毒性, 少数可引起过敏反应, 电解质紊乱等。而高温可增加细胞的代谢, 增强药物的药理作用。但随着温度提高, 局部不良反应也显著增加<sup>[1]</sup>。

肾毒性是 DDP 主要的、也是较常见的毒性反应。本实验 DDP 组尿测定灌注后显著升高, 有统计学意义的差异( $P = 0.038$ )。

胃肠道反应为 DDP 另一常见不良反应, 轻者表现为恶心、呕吐、厌食。发生率可高达 90%, 一般出现在给药后 1~4h, 可延续 24h。动物实验难以直接观察兔的恶心、呕吐反应。但从进食情况分析, 对照组从麻醉中苏醒后大多数即能饮水、进食。可能与血容量的丢失有关。而 DDP 组一般无此反应, 部分至术后第 1 天进食量仍明显减少。

文献报道 DDP 的全身用药仅少数发生肝功能损害。尽管 DDP 组 ALT 较灌注前有统计学意义的升高,  $P$  值  $< 0.05$ 。但 AST、ALP 则无差异。3 个指标的改变并不一致, 故难以肯定此剂量 DDP 局部灌注对肝脏有明显损害, 即使有, 也是相当轻微。

骨髓抑制是多数抗肿瘤药物普遍存在的不良反应, 轻者表现为 WBC 计数降低。实验结果显示 DDP 组的 WBC 计数平均值高于对照组, 高于灌注前。统计学分析, DDP 灌注后较灌注前有显著差异( $P = 0.004$ ), 导致这一结果是由于 DDP 组引起肢体局部的组织创伤较重, 而致 WBC 反应性增生明显, 后者引起的 WBC 反应性增生轻微。因此实验中非但没有产生骨髓抑制, 反而出现 WBC 计数的升高。

根据 W 氏分级, 局部不良反应中 DDP 组为 II~III 级, 以 II 级多见, 有 2 只为 II 级。对照组一般以 I 级为主。两组有显著差异。DDP 组均出现程度不等的一过性水肿, 对照组一般无水肿出现, 与高浓度 DDP 对局部组织结构如血管、神经、肌肉的毒性

作用有关<sup>[6]</sup>。肢体局部反应也可从 LDH、CK、WBC 等指标判断。Holanberger 通过检测 LDH、CK、WBC 的变化来预测肌肉损伤和感染引起的室筋膜综合征、严重的横纹肌溶解, 研究认为在灌注后第 2~5d CK  $> 1000\text{U/L}$  时有 40% 肢体发生严重毒性反应, CK 峰值与个体毒性反应等级有关。ILP 第 2 天后 WBC 计数持续升高也有统计学意义。

本实验另一例按  $4\text{mg/kg}$  体重灌注, 出现严重的全身和局部并发症, 包括肝肾功能异常、严重肢体肿胀、部分肌肉僵硬、部分肢体干性坏疽、肢体运动功能障碍。故未再用此剂量灌注。而按  $2\text{mg/kg}$  体重给药很少出现全身并发症, 局部毒性反应也较温和。这与大部分学者的研究是一致的, 也符合 Di Filippo<sup>[7]</sup>确定的最大耐受剂量为  $3.2\text{mg/kg}$  体重。在  $2\sim 4\text{mg/kg}$  体重范围内具体的最佳剂量尚待进一步的研究。实验中有有效的隔离方法、适度的流量控制、稳定的 pH 环境、结束时的冲洗都是将毒性控制到最低程度的可靠保证。

按  $2\text{mg/kg}$  体重剂量用 DDP 高温分离肢体灌注是一种较为安全的治疗方法, 无全身严重并发症, 局部毒性反应也较轻。

## 参 考 文 献

1. Edwamd T, Lucky K, Jumes W. Regional perfusion, current sophistication, what next? The 38th Annual meeting of the society of surgical oncology. Houston, Texy, Mg 12 22, 1985.
2. Honlanberger P, Harer J, Schlag PM. Value of laboratory tests in monitoring acute regional toxicity after isolated limb perfusion. Am Surg Oncol, 1997, 4: 88-94.
3. Wile AG, Nahabedian M Y, Pumtley DA, et al. Experimental hyperthermic isolation using cis diamminechier opitimum ( II ). Cancer Res, 1983, 43: 3108-3111.
4. Joost M, Kkase E, Bin BR, et al. Patient and treatment related factors associated with acute regional toxicity after isolated perfusion for melanoma of the extremities. Am J Surg, 1994, 16: 618-620.
5. 徐叔云主编. 现代实用临床药理学. 第一版, 华夏出版社, 1996. 1056.
6. 徐世伟. 铂剂在下肢骨肿瘤区域高温隔离灌注化疗中的应用. 中国癌症研究进展, 1996, 3: 280.
7. Di Filippo, Giannarelli FD, Citro G, et al. Hyperthermic perfusion with cisplatin: standardization of treatment parameters. Reg Cancer Treat, 1992, 2: 131-136.

(收稿日期: 1999 10 11)