DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.07.020
第23卷第7期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 7
2001年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2001

文章编号:1000-5404(2001)07-0795-02

论著

NO与梗阻性黄疸时肾功能损害的关系

刘祥德[1],李 卫[2],何振平[1],别 平[1],杨 勤[3] ([1]第三军医大学附属西南医院全军肝胆外科研究所、西南肝胆外科医院,重庆 400038;成都军区成都总医院:[2]全军普外中心;[3]供应室;成都 610083)

提 要:目的 探讨梗阻性黄疸时肾脏功能与血浆一氧化氮(NO)水平及肾内诱生型一氧化氮合酶(iNOS)表达之间的关系。方法 用胆总管结扎法建立大鼠梗阻性黄疸模型,模型制备成功后2周分别检测正常组(N组,$n=10$)、胆总管结扎组(BDL组,$n=20$)和N^G-硝基L精氨酸甲酯组(L-NAME组,$n=20$)大鼠血浆胆红素、尿素氮、肌酐和NO水平,免疫组织化学染色法观测肾内i-NOS的表达。结果 BDL组大鼠血浆胆红素、尿素氮、肌酐、NO水平均明显增高($P<0.01$),肾内iNOS表达阳性;L-NAME组大鼠血浆胆红素无明显变化,尿素氮、肌酐与NO水平均明显下降,与正常组水平相似,其间无明显差别,肾内iNOS表达亦不明显。结论 梗阻性黄疸时肾功能明显受损,血浆NO水平增高,肾内iNOS表达增加,NO在肾功能损害的发生中起一定作用,一氧化氮合酶抑制剂对梗阻性黄疸肾功能损害具有保护作用。

关键词:梗阻性黄疸;肾功能;一氧化氮;诱生型一氧化氮合酶;N^G-硝基L精氨酸甲酯(L-NAME)
中图法分类号:R363.13;R575;R692 文献标识码:A

Relationship between nitric oxide and renal dysfunction in obstructive jaundice

LIU Xiang-de, LI Wei, HE Zhen-ping, BIE Ping, YANG Qin (Institute of Hepatobiliary Surgery of PLA, Southwest Hospital, Southwest Hepatobiliary Surgery Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To study the relationship of renal function in obstructive jaundice with plasma nitric oxide(NO) and the expression of renal inducible nitric oxide synthase(iNOS). **Methods** Fifty rats were randomly divided into normal group(N, $n=10$), common bile duct ligation group(BDL, $n=20$) and L-NAME treated group(L-NAME, $n=20$). The model of obstructive jaundice was established by ligation of common bile duct. The plasma nitric oxide, blood urea nitrogen(BUN), creatinine(Cr) and bilirubin were determined 10 d after operation. The immunohistochemical staining was used to detect the expression of inducible nitric oxide synthase in kidney. **Results** In BDL group the plasma bilirubin, BUN, Cr and NO were higher ($P<0.01$) and the expression of iNOS was positive. The plasma bilirabin with no marked change, but BUN, Cr and NO were decreased obviously in L-NAME group and similiar to that of control group. The expression of iNOS was not remarkable. **Conclusion** The increased NO and iNOS may play a role in obstructive jaundiced renal dysfunction.

Key words: obstructive jaundice; kidney function; nitric oxide; inducible nitric oxide synthase; N^G-nitrio-L-arginine methyl ester

梗阻性黄疸时肾功能易受损害已成公识,然而其发病机制至今尚未完全阐明。一氧化氮(NO)是以L-精氨酸为底物由一氧化氮合酶(NOS)催化合成的生物活性气体小分子,在肾内具有多种生物学作用,其与梗阻性黄疸时肾功能损害之间的关系尚未见文献报道。为此,我们设计本实验,以探讨NO在梗阻性黄疸肾功能损害中的作用,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组与模型准备

健康Wistar大鼠50只,体重200~250 g,雌雄不拘,随机分为3组:①正常对照组(N组,$n=10$);②胆总管结扎组(BDL组,$n=20$);③N^G-硝基L精氨酸甲酯组(L-NAME组,$n=20$)。

动物采用乙醚吸入麻醉,中上腹正中切口3~4 cm入腹,用胆总管结扎法建立梗阻性黄疸模型。L-NAME组为胆总管结扎术后每日饮用含L-NAME水(10 mg/100 ml)。N组及BDL组大鼠自由进食水。

作者简介:刘祥德(1969-),男,山西省襄汾县人,硕士,主治医师,主要从事梗阻性黄疸肾功能损害方面的研究。电话:(023)68753779

收稿日期:2000-04-06;修回日期:2001-01-29

1.2 标本采集和指标观测

2周后大鼠在麻醉下剖腹取动脉血4 ml,注入普通肝素抗凝管中,低温下离心取血浆,-70 ℃保存,以测定血浆胆红素、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)和一氧化氮(NO)含量。切取动物左肾,常规制备HE切片及免疫组化切片。利用NO与2-乙氧-6,9-二氨基吖啶(Rivand)反应生成樱桃红的原理,测定NO的稳定代谢产物NO_2^-/NO_3^-的量,间接反映NO的含量。采用链菌素亲生物素-过氧化物酶法(S-P法)检测肾内iNOS的表达,iNOS多克隆抗体、链菌素亲生物素-过氧化物酶试剂盒、3-二氨基苯联胺(DAB)显色液均由福州迈新公司提供,具体方法步骤按试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理

采用Microsoft Excel 7.0对数据进行统计学处理,各项指标均用$\bar{x}\pm s$表示。

2 结果

2.1 梗阻性黄疸模型

BDL组及L-NAME组术后肉眼观测符合梗阻性黄疸改变,皮肤、尿液明显黄染,血清胆红素水平明显高于N组,相差非常显著。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2 血浆 NO 测定结果

胆总管结扎后血浆NO水平[(6.40±0.96)μmol/L]明显升高,与正常对照组[(2.94±0.26)μmol/L]相比相差非常显著($P<0.01$),应用 L-NAME 后血浆 NO[(3.13±0.32)μmol/L]明显下降,与 BDL 组相比相差非常显著($P<0.01$),与 N 组之间差异不显著。

2.3 肾功能测定结果

BDL 组大鼠血浆尿素氮及肌酐升高明显,与 N 组相比相差非常显著($P<0.01$),L-NAME 组大鼠 BUN、Cr 与 BDL 组相比差异非常显著($P<0.01$),与N 组之间相比差异不明显,见表 1。

2.4 光镜观察及肾内 iNOS 免疫组化染色

光镜下可见 BDL 组大鼠肾小管上皮细胞变性、坏死、脱落,细胞聚集,肾小球扩张充血与缺血萎缩并存,近端小管和远端小管上皮细胞胞浆内 iNOS 呈阳性染色,肾小球及间质小血管内皮细胞未见阳性染色,见图 1、2;N 组及 L-NAME 组大鼠肾脏病变较 BDL 组明显减轻,肾小球无明显改变,肾小管上皮细胞偶见变性、坏死或脱落,肾内未见 iNOS 阳性染色。

表1 血浆尿素氮、肌酐测定结果

Tab 1 Determination of plasma of BUN and Cr

Group	*n*	BUN(mmol/L)	Cr(μmol/L)
N	10	5.45±0.60	44.15±3.28
BDL	20	7.78±0.56 **	57.65±2.0 **
L-NAME	20	6.21±0.72 ##	48.50±3.86 ##

**: $P<0.01$ *vs* N group; ##: $P<0.01$ *vs* BDL group

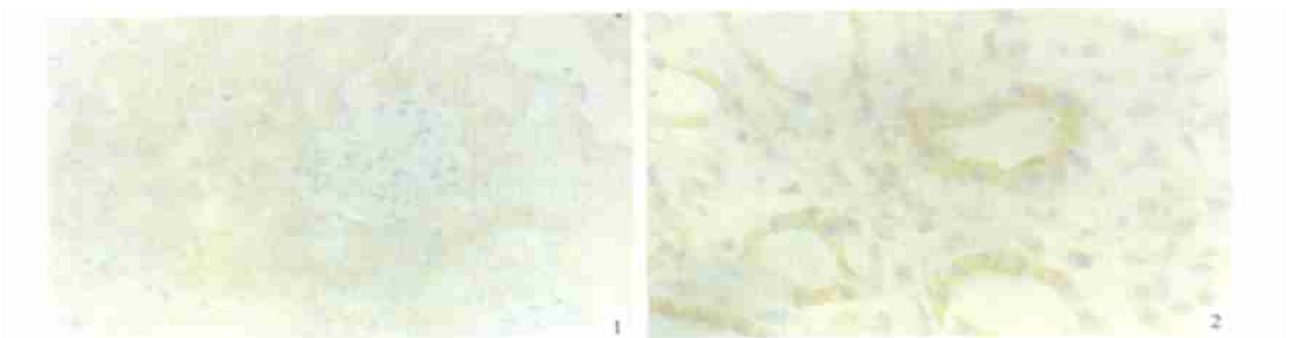


图 1 BDL组近端肾小管上皮细胞内 iNOS 呈阳性染色 (S-P× 200)

Fig 1 Positive staining of iNOS in the proximal convoluted tubular epithelial cell (S-P× 200)

图 2 BDL组远端肾小管上皮细胞内 iNOS 呈阳性染色 (S-P× 400)

Fig 2 Positive staining of iNOS in the distal convoluted tubular epithelial cell (S-P× 400)

3 讨论

梗阻性黄疸是肝胆外科的常见病症,术后易发生肾功能衰竭,历经半个多世纪,学者们在这一领域进行了广泛的研究,目前已达成共识,普遍认为此现象与下列因素有关:低血压、低血容量、肾脏血管收缩、肾细胞能量代谢障碍、内毒素血症、高胆红素血症、肾血管纤维素沉积、全身血流动力学改变、肾血流动力学改变、低血管反应性等[1]。

NO 是以 L-精氨酸为底物由一氧化氮合酶(NOS)催化合成的一种活性气体小分子,具有许多重要的生理功能。它可以通过升高细胞内的 Ca^{2+} 浓度介导机体血管扩张,从而导致血压下降[2];在肾内,NO 有抑制近端小管和集合管重吸收钠离子的作用,使肾脏排尿、排钠增加,而低剂量 N^G-硝基 L 精氨酸甲脂(L-NAME)的使用可使尿钠排泄下降约 40%[3,4];在缺血再灌注所致的肾小管损伤中,近端肾小管上皮细胞内 NO 的稳定代谢产物 NO_2^-/NO_3^- 含量明显增加,应用 NO 供体 L-精氨酸(L-Arg)可使损伤更加严重,其损害程度与 NO_3^-/NO_2^- 的浓度呈正相关,当预先给予 NO 合成抑制剂 L-NAME 后,肾小管的损伤可以得到有效预防,说明 NO 对肾小管具有损伤作用。

本实验结果显示,梗阻性黄疸时肾功能受到损害,肾小管上皮细胞可见变性、坏死、脱落,细胞聚集,肾小球扩张充血与缺血萎缩并存,血浆NO 含量明显增高,肾内 iNOS 表达增强;饮用 L-NAME 水后,肾功能明显改善,血浆尿素氮、肌酐下降,光镜下可见肾脏组织学改变较 BDL 组明显好转,肾小管上皮细胞偶见变性、坏死或脱落,此时血浆NO 水平可见明显下降,接近正常组,肾内亦未见 iNOS 阳性染色。由此可见,梗阻性黄疸时肾功能损害与 NO 之间有一定的因果关系,应用 NOS 抑制剂对肾功能损害具有保护作用。

参考文献:

[1] Fogarty B J, Parks R W, Rowlands B J, *et al*. Renal dysfunction in obstructive jaundice[J]. Br J Surg, 1995, 82(7): 877-884.

[2] Moncada S, Palmer R M, Higgs E A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology[J]. Pharmacol Rev, 1991, 43(2): 109-142.

[3] Ito S, Ren Y. Evidence for the role of nitric oxide in macula densa control of glomerular hemodynamics[J]. J Clin Invest, 1993, 92(2): 1 093-1 098.

[4] Bech J N, Nielson C G, Pedersen E B. Effect of NO synthesis inhibition on RPF, GFR, Una, and vasoactive hormones in healthy humans[J]. Am J Physiol, 1996, 270(8): 845-851.

(编辑 潘式文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net