DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.12.024
第22卷第12期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 12
2000年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2000

文章编号:1000-5404(2000)12-1179-04

论著

利加隆对 CCl_4 和酒精中毒时鼠肝超微结构损害的保护作用

李丽娟,赵晓晏 (第三军医大学附属新桥医院消化内科,重庆 400037)

提 要:目的 了解抗氧化剂利加隆(LGL)对实验性肝损害肝超微结构改变的影响,并探讨其作用机制。方法 四氯化碳(CCl_4)及低浓度酒精诱导Wistar大鼠肝损害,部分动物在染毒同时给予LGL治疗,观察不同时相治疗组与非治疗组大鼠肝组织丙二醛(MDA)含量变化及肝超微结构改变的差异。结果 CCl_4及酒精染毒后,大鼠肝组织MDA含量增加,与正常大鼠肝组织中含量比较相差非常显著($P<0.01$),肝细胞超微结构发生一系列改变,LGL治疗各组肝组织MDA含量均较非治疗组显著降低($P<0.01$),肝超微结构改变较非治疗组明显减轻,即使在肝超微结构发生明显改变时才给予LGL治疗,也有明显的效果。结论 CCl_4及酒精染毒后肝超微结构改变可能与肝脂质过氧化反应有关,抗氧化剂LGL能减轻实验性肝损害时肝超微结构的改变,这种治疗作用可能是通过其抗脂质过氧化反应,抑制炎性反应及抑制炎性细胞因子的产生及活性而发挥作用的。

关键词:四氯化碳;酒精;中毒;脂质过氧化;肝;超微结构;抗氧化剂;治疗
中图法分类号:R575;R979.9 文献标识码:A

Protective effects of Legalon on liver ultrastructure lesion induced by CCl_4 and alcohol

LI li-juan, ZHAO Xiao-yan (Department of Gastroenterology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To observe the effects of an anti-oxidant, Legalon (LGL) on the ultrastructural changes of experimentally damaged liver. Methods When liver injury of Wistar rats were induced by CCl_4 and low dose alcohol with different time durations, they were divided into LGL-treated and non-treated groups. The malondialdehyde (MDA) contents in the hepatic tissue and the ultrastructural changes of the liver cells of the treated groups and the untreated groups were observed at different time phase. Results After the administration of CCl_4 and alcohol, the MDA content in the hepatic tissue was significantly increased compared with that in normal rats ($P<0.01$), and that in LGL-treated group were significantly lower than that in untreated group ($P<0.01$). The ultrastructural changes of hepatic tissue were markedly alleviated in LGL-treated group than in untreated group. Even LGL was treated after ultrastructural of hepatic tissue had changed, distinctly effect was found. Conclusion The ultrastructural changes of hepatic tissue might be related to lipoperoxidation. The anti-oxidant, LGL can attenuate the ultrastructural changes of hepatic cells in damaged liver, which might through its anti-lipoperoxidation function, inhibiting the inflammatory reaction and suppressing the production and activity of inflammatory cell factors.

Key words: carbon tetrachloride; alcohol; toxicity; lipoperoxidation; liver; ultrastructure; anti-oxidant; therapy

作者简介:李丽娟(1962—),女,云南省剑川县人,副主任医师,主要从事肝纤维化方面的研究,发表论文7篇,现在成都军区昆明总医院消化内科,昆明 650032。电话:(0871)5351476

收稿日期:2000-01-20;修回日期:2000-09-08

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

四氯化碳(CCl_4)是卤素碳氢化合物,在 CCl_4 中毒的早期,肝细胞的损伤是由于卤素的烷基化造成的,而到后阶段,其损害是由于脂质过氧化作用引起。酒精本身是一种肝毒性物质,它除能直接损伤线粒体,还能增强 CCl_4 对肝细胞的毒性作用,这种增强作用是因为酒精导致 CCl_4 在体内转化为毒性中间体增加,加重脂质过氧化反应,导致肝损害。利加隆(LGL)的主要成分是水飞蓟宾(SB),后者是水飞蓟素(SIL)3 种异构体中有效成分。有研究表明,SIL 具有较强的抗脂质过氧化作用[1],是有力的自由基清除剂。本实验用 CCl_4 及低浓度酒精(V/V)诱导 Wistar 大鼠肝损害模型,给予 LGL 治疗,测定肝组织中丙二醛(MDA)含量并观察肝超微结构改变,了解 LGL 对 CCl_4 及酒精中毒时肝组织脂质过氧化反应及肝细胞超微结构改变的影响,并探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物分组与模型制作

第三军医大学实验动物中心提供雄性 Wistar 大鼠 78 只,体重 160~200 g,随机分为 9 组:正常对照组(N 组,6 只);CCl_4 及低浓度酒精染毒 3、6、9 周非治疗组及治疗组(简称 A、B、C、A+LGL、B+LGL、C+LGL 组,各 9 只);CCl_4 及低浓度酒精染毒至 6 周,7~9 周染毒同时给予 LGL 治疗组(简称 D+LGL 组);CCl_4 及低浓度酒精染毒至 6 周,停止染毒,7~9 周给予 LGL 治疗组(简称 E+LGL 组)。参照王先明等[2]的方法,用 60% CCl_4 油溶液在大鼠双下腹区交替皮下注射,剂量为 3 μl/g 体重,每 4 d 1 次,同时给 5%酒精(V/V)替代饮用水让大鼠自由饮用。对照组大鼠用生理盐水在相同部位注射,注射间隔时间同上,大鼠自由饮用自来水。A+LGL 组、B+LGL 组、C+LGL 组在染毒初始同时给予 LGL 治疗,D+LGL 组、E+LGL 组从 7 周开始给予 LGL 治疗,剂量为 50 mg/kg 体重,灌胃给药,1 次/d。

1.2 标本采集及处理

分别于 3、6、9 周停止染毒后 3 d 活杀大鼠,对照组与 9 周组同时活杀,取 1 g 左右肝组织冷藏于液氮中,后用生化法测定 MDA 含量。取 0.3 cm×0.3 cm×0.3 cm 大小肝组织块固定于 4%戊二醛中,超薄切片,透射电镜观察。取 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 大小肝组织固定于 10%甲醛中,常规石蜡包埋、切片、HE 染色、封片,光镜观察。

2 结果

2.1 肝组织 MDA 含量

A、B、C 组肝组织中 MDA 含量(nmol/mg)分别为 1.97±0.03、2.77±0.23、3.25±0.20,较 N 组 1.44±0.05 明显升高,且随 CCl_4 作用时间延长而加重($P<0.01$);A+LGL、B+LGL、C+LGL 组 MDA 含量(nmol/mg)分别为 1.66±0.07、1.64±0.06、1.55±0.12,与相同时相的 A、B、C 组比较明显降低($P<0.01$);D+LGL、E+LGL 组为 2.01±0.21、1.49±0.10,前者较 C 组减少($P<0.01$),后者接近 N 组($P>0.05$)。

2.2 电镜观察结果

与正常大鼠肝组织超微结构比较,A 组大鼠肝细胞胞浆中粗面内质网减少,滑面内质网增多,线粒体肿胀、嵴模糊。胞浆中有大小不等脂滴,窦周间隙可见胶原原纤维,还可见增生的纤维母细胞及中性粒细胞聚积。B 组大鼠肝细胞超微结构改变加重,线粒体明显肿胀,胞浆溶解,可见退行性变的肝细胞及内皮细胞,纤维母细胞增生。C 组大鼠肝细胞超微结构改变较 B 组改变更严重,胞浆及细胞器溶解,坏死肝细胞周围可见纤维母细胞及原胶原纤维,见图 1。LGL 治疗各组与同时相非治疗组比较,肝细胞超微结构改变明显减轻。A+LGL 组脂滴减少,线粒体肿胀减轻,粗面内质网较 A 组增多。B+LGL 组部分肝细胞胞核及细胞器正常,部分胞浆中有少量脂滴,细胞器正常。C+LGL 组肝细胞胞浆中有极少量脂滴,细胞器基本正常,在同一切片中观察到核大、胞浆丰富、细胞器正常的肝细胞,见图 2,因未作相关计量检测,仅能推测其可能为新生的肝细胞。D+LGL 组肝细胞胞浆中仍有少量脂滴,较 B、C 组明显减少,但较 C+LGL 组多,粗面内质网及线粒体正常。E+LGL 组肝细胞超微结构改变减轻更为明显,胞浆中线粒体正常,粗面内质网较增多,仅见少量脂滴,与 C+LGL 组比较,肝细胞超微结构损害的恢复较后者明显。

2.3 光镜下组织学改变

A 组大部分肝细胞呈空泡样变性,有片状坏死,变性的肝细胞周围有炎细胞浸润,部分门静脉周围有纤维组织增生,少部分增生的纤维向肝小叶内伸入,随染毒时间延长肝细胞破坏加重,纤维组织不断增加并将肝组织分割成大小不等的假小叶。LGL 治疗各组与同时相非治疗组比较肝损害及纤维化程度有所减轻,见图 3。

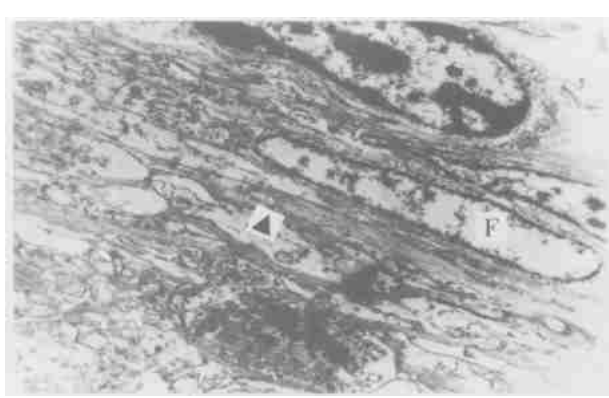


图1 C组胶原原纤维(▲)及纤维母细胞(F)增生 (TEM×5 000)

Fig 1 Proliferation of collagen-fibril (▲) and fibroblast (F) in group C (TEM×5 000)

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



图 2　C+ LGL 组肝细胞(H)胞浆中粗面内质网(⇦)及线粒体(▲)基本正常　(TEM× 10 000)

Fig 2　Apparently normal appearance of pachy-endoplasmic reticulum(⇦) and plasmosome(▲) in group C+ LGL　(TEM× 10 000)

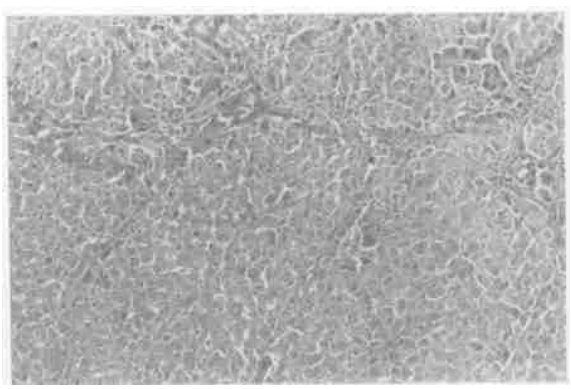


图 3　B+ LGL 组, 肝细胞损害明显减轻, 有少量纤维组织从汇管区向肝组织中延伸, 炎细胞较少　(HE× 100)

Fig 3　Injury of hepatic cells alleviated, fibrous tissue extened from portal area to hepatic tissue in B+ LGL group inflammatory cells fewer than untreated group　(HE× 100)

3　讨论

Wistar 大鼠接受 CCl_4 及低浓度酒精染毒至 3 周时, 肝组织中 MDA 含量已明显高于正常对照组($P<0.01$), 说明至此脂质过氧化已经发生, 因为 MDA 是一种具有特征性的脂质过氧化终末产物[3]。随造模时间延长, 肝组织中 MDA 含量不断升高, 各组与 N 组有明显差异($P<0.01$)。同时观察到, 染毒后大鼠肝细胞发生一系列超微结构改变, 与以往报道的 CCl_4 导致的肝超微结构改变[4]基本相似。同时窦周间隙可见胶原原纤维, 可见增生的纤维母细胞及中性粒细胞聚积。这些改变随 CCl_4 及酒精作用时间延长而加重。LGL 治疗各组, 肝组织 MDA 含量较非治疗组明显降低($P<0.01$), 肝细胞线粒体肿胀减轻、粗面内质网增加、滑面内质网减少、脂滴减少甚至消失、未见胶原原纤维及纤维母细胞增生(在观察肝超微结构改变的同时, 我们用免疫组化法染色Ⅰ、Ⅲ胶原辅以图像分析观察两型胶原沉积变化, 提示治疗组这两种间质胶原沉积较非治疗组减少)。治疗时间越长 LGL 的作用越明显, 即使在肝细胞已经受损, 肝细胞超微结构发生明显改变后才给予治疗, 仍有明显治疗作用, 停止毒性物质作用后, LGL 的治疗效果更明显。超微结构变化与光镜观察结果是相符的, CCl_4 及低浓度酒精引起肝细胞损害, 炎细胞聚积, 同时引起肝纤维组织增生沉积, LGL 治疗组肝损害减轻, 纤维组织沉积明显减少。光镜下 B+ LGL 组及 C+ LGL 组肝细胞破坏明显减轻与电镜下肝细胞恢复是一致的, 但仍有较多的纤维组织沉积, 而电镜下却未见胶原原纤维, 这可能与电镜标本取材小不能反映肝组织整体变化之故。本实验提示, CCl_4 及酒精染毒大鼠肝超微结构改变可能与两种毒素诱导肝脂质过氧化有关, 抗氧化剂 LGL 能减轻肝脂质过氧化反应及肝超微结构改变, 祛除病因也不可忽视。

CCl_4 及酒精可诱导肝脂质过氧化, 肝细胞双层脂质膜受脂质过氧化的作用, 浆膜失去完整性, 跨膜离子梯度消失, 细胞器变性, 最终细胞坏死[5]。体外培养 FSC[6]发现, 自由基和脂质过氧化副产品能直接激活胶原基因。胶原的产生还与连接炎症与肝纤维化两者间的 $TGF\beta_1$ 有关, 它对 FSC 也起着调节作用[7]。LGL 可能通过抑制脂质过氧化反应及代谢产物的产生[8], 降低 TGFβ 3 种异构体和 TGFβ Ⅱ型受体基因表达, 减轻肝细胞损害, 减少胶原基因的表达, 减少胶原增生沉积。

本实验中还发现, CCl_4 还引起肝组织明显的炎性反应。这种炎性反应可能部分与脂质过氧化有关, 乙醛氧化酶释放 O_2^- 并引致中性白细胞的趋化作用[9]。脂质过氧化诱导及加重炎性反应, 产生炎性细胞因子, 进一步损害肝细胞。SIL 能减轻脂质过氧化反应, 从而减轻炎性反应, 减少炎性细胞因子产生, 同时通过其直接抑

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

制TNF的产生及活性的双重作用[10]，减轻肝损害。

综上所述，CCl_4及低浓度酒精中毒引起大鼠肝组织超微结构发生一系列改变可能部分与肝脂质过氧化有关，IGL减轻这种肝超微结构改变可能是通过其抗脂质过氧化反应、抑制炎性反应及抑制炎性细胞因子的产生及活性的作用而发挥的。

参考文献：

[1] 高 峰，李 铣. 国产水飞蓟素的化学成分及抗脂质过氧化活性研究[J]. 沈阳医科大学学报，1997，14(2)：87－88.

[2] 王先明，房献平，文明星，等. 大鼠肝硬化门脉高压模型研究[J]. 湖南医学，1990，7(4)：204－205.

[3] Chojkier M，Houglum K，Solis-Herruzo J，*et al*. Stimulation of collagen gene expression by ascorbic acid in cultured human fibroblast[J]. J Biol Chem，1989，264(28)：16 957－16 962.

[4] 曾庆善，朱小京，谭爱玲，等. CCl_4卵内注射所致鸡肝损害的电镜观察[J]. 湖南医科大学学报，1995，20(4)：323－614.

[5] 巫协宁. 肝细胞坏死的细胞机制及临床涵义[J]. 国外医学：消化系统疾病分册，1996，16(2)：75－79.

[6] Lee K S，Buck M，Hougluk K，*et al*. Activation of hepatic stellate cells by TGF-α and collagen type I is mediated by oxidative stress through c-myb expression[J]. J Clin Invest，1995，96(34)：2 461－2 468.

[7] 蔡卫民. 抗纤维化治疗与评价[J]. 临床肝胆病杂志，1993，9(4)：48－50.

[8] Afanaser I B，Dorozhko A I，Brodski I，*et al*. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation[J]. Biochem Pharmacol，1989，38(12)：1 763－1 769.

[9] 巫协宁. 肝细胞坏死的细胞机制及临床涵义[J]. 国外医学：消化系统疾病分册，1996，16(2)：75－79.

[10] 张俊平. 水飞蓟素对小鼠肝脏炎症损伤和肿瘤坏死因子的产生及活性的影响[J]. 药学学报，1996，31(8)：577－580.

（编辑 陈聪连）

（上接1178页）

法，行端-端吻合术并应用双J支架管。2周后出院。

例3，男，52岁。右侧肾区酸胀痛3～4年，伴随尿路刺激症状2个月。尿检红细胞(＋)、白细胞(＋)。行静脉肾盂造影示右肾盂及上段输尿管明显扩张，中下段输尿管未显影，左肾正常。逆行肾盂造影示右侧输尿管紧贴并越过第3～4腰椎，呈镰刀形，受压上段及肾盂明显扩张，术中证实在第3～4腰椎处输尿管环绕下腔静脉，受压段较为狭窄。钝性分离松解，使输尿管在下腔静脉后能自行滑动，在输尿管扩张处横行切断并使其复位，应用双J支架管行端-端吻合，患者术后2周康复出院。

讨 论

下腔静脉后输尿管不在下腔静脉的外侧，而从下腔静脉的后面绕过，再回到正常的路线，亦称环绕腔静脉输尿管。下腔静脉后输尿管病列甚为少见，男性与女性患者的比例约为3∶1，由于该病临床症状与体征不明显，易被误诊和漏诊。其临床表现主要是下腔静脉压迫输尿管所致的上尿路梗阻症状，腰部酸胀不适。长期的尿流不畅可引起尿路感染，继发结石，约2/3患者出现血尿。凡原因不明的右肾积水，同时发现右输尿管移位应考虑本病。诊断除依靠病史、体征、尿检、B超、静脉肾盂造影、肾图等常规检查外，右侧尿路逆行造影更能显示右肾盂及上1/3段输尿管积液、扩张及输尿管向中线移位越过3～4腰椎而形成镰刀状或S状畸形。对可疑病例，加拍侧位照片，若造影剂或导管显示在椎体前方，则诊断明确。必要时，可同时行输尿管和下腔静脉造影以明确诊断。

治疗的主要方法为手术，采取何种手术，视肾脏受损程度而定。如果患肾严重积水，长期血尿、感染、结石伴实质重度损害，同时对侧肾功能良好者，应考虑病肾切除。若患侧肾功能尚佳，则采用Harrill方法，即在肾盂输尿管连接处以上切断输尿管，重新放置到腔静脉之前进行对端吻合。此法的优点是肾盂和近端输尿管的血运丰富，再将两断端修剪成斜形而施端-端吻合术，内置双J支架管以引流尿液，手术后吻合部位很少发生狭窄。

根据X线表现可将本病分为低袢型和高袢型，低袢型多见，Harrill方法是低袢型腔静脉后输尿管的治疗原则，而高袢型的病人一般不需要手术[1]。

关键词：下腔静脉后输尿管；诊断；治疗

中图法分类号：R322.63 文献标识码：B

参考文献：

[1] 高伯生，马腾骧，董克权，等. 下腔静脉后输尿管[J]. 中华外科杂志，1998，36(3)：136－137.

（编辑 谢义霞）

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