DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.04.031

博士生论文摘要

一氧化氮在大鼠急性胆道感染后肝损伤中的作用及其机理研究

A study of the role of nitric oxide in liver injury with acute obstructive cholangitis and its mechanisms

朱锡光* 韩本立 (第三军医大学附属西南医院肝胆外科中心) 重庆, 630038

急性梗阻性胆管炎(AOC)时肝损伤的机理尚不清楚,使临床的早期诊治仍有相当的困难。一氧化氮(NO)作为细胞信使分子,可能参与了肝脏的代谢、循环和胆道功能的调节;而它作为毒性分子,可能在肝脏诸多的病理改变中发挥着不可忽视的作用。有研究发现:内毒素性休克时血浆中NO含量增加,肝脏中一氧化氮合酶(NOS)的活性增高;体外实验观察到细菌脂多糖(LPS)及细胞因子作用于混合或单独培养的肝细胞及Kupffer细胞时,肝细胞NO合成增加而总蛋白合成却下降。提示NO可能参与了内毒素性休克时肝细胞损伤的过程。但在AOC时对NO作用的研究甚少,NO的变化与肝损伤关系的研究也有待深入。

本研究首次在急性胆道感染动物模型上系统地观察了NO在其病程发展中的变化规律,NO与急性胆道感染后肝损伤的关系,抑制或促进NO的合成对这种变化与关系的影响;并从细胞及分子水平讨论了急性胆道感染后NO产生的机理;利用离体实验观察了NO对肝细胞的直接损伤作用,探讨了NO对肝细胞损伤的可能机理。其主要的结果与结论如下:

(1)急性胆道感染后,随着感染的加重,病情的发展,血浆及肝组织中NO的含量呈进行性增加;加用NO合成前身物左旋精氨酸(L-Arg)后,可使NO的含量进一步增加;而使用NOS抑制剂硝基左旋精氨酸(L-NA)后,则NO的含量增加的程度降低,使NO的含量相对减少。

(2)急性胆道感染后,NO含量的变化与反映肝损伤的指标的变化明显相关。血浆及肝组织中NO的含量越高,血及肝组织中GOT、GPT、LDH的活性也越高,血浆KBR值及肝组织中ATP含量则越低,肝脏组织的病理改变也越严重,动物的累计死亡率随之增高。若促进NO的合成,则上述各参数的变化更加明显,动物的累计死亡率显著增加;反之,上述各参数的变化减轻,动物累计死亡率有减轻的趋势。提示:急性胆道感染后NO含量的增加程度与肝损伤的程度明显相关,NO参与了急性胆道感染后肝损伤的过程,NO在其过程中可能起着重要作用。

(3)急性胆道感染后,肝组织中iNOS的活性随感染时间的增加而明显升高。经iNOS mRNA原位杂交发现,肝脏中有众多的细胞呈阳性反应,随着感染的加重阳性细胞也越多;这些阳性反应细胞可能包括了肝细胞、Kupffer细胞、血管内皮细胞。采用iNOS mRNA狭缝杂交分析发现,急性胆道感染后iNOS mRNA的表达增强,并随感染的时间增加而加强。提示:在急性胆道感染后,不仅肝组织中iNOS被激活,而且也诱导了iNOS mRNA在肝脏众多细胞中的表达,有大量iNOS酶蛋白的合成,从而致NO的大量生成,使肝组织及血中NO含量增加。

(4)NOS抑制剂L-NA既能明显抑制iNOS的活性,也能明显抑制cNOS的活性,同时对iNOS mRNA的表达也有一定的抑制作用。NO合成前身物L-Arg对NOS的活性及iNOS mRNA的表达无明显影响。提示:L-NA可通过影响NOS的活性及NOS酶蛋白的合成而减少NO的生成,在严重胆道感染时对肝脏具有一定的保护作用。

(5)离体实验发现,NO供体SIN-1对培养的肝细胞有明显的损伤作用,且呈明显的剂量依赖性关系,SIN-1的浓度越高,上清中LDH、GPT及MDA含量越高,而肝细胞的ATP含量及^{3}H-亮氨酸(^{3}H-Leu)掺入量越低。氧自由基的清除酶SOD及CAT对SIN-1的这种损伤作用具有明显的保护作用,但随培养时间的延长其保护作用的效果降低。提示:NO对肝细胞具有直接的损伤作用,其机理可能与其自由基作用有关。

关键词 急性梗阻性胆管炎;一氧化氮;一氧化氮合成酶;肝细胞;肝损伤;基因表达;自由基;脂质过氧化

中图法分类号 R657.3

(收稿: 1997-07-02;修回: 1997-07-18)

(编辑 汪勤俭)

* 朱锡光,男,38岁,主治医师,博士研究生

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