DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.02.033

实验性胆管阻断后肝细胞线粒体数值的改变

迟彦邦 孟宪钧△ 彭志明□ 傅钦岚* 李才安* (新桥医院)

提 要 本文报导大白鼠胆管完全性及选择性阻断后的不同时期，用显微分光光度计(MSP)检测肝细胞线粒体量的变化。胆总管完全阻断后，肝细胞线粒体明显减少(对照组为22.948)。选择性肝管阻断及肝管未阻断组，肝细胞线粒体亦明显减少。因而，此实验提示：肝脏代偿性肥大，其线粒体的数量并不增加。

关键词 线粒体，肝；肝管阻塞，肝外；细胞；分光光度测定法

胆管阻塞后胆道压力急剧上升，从而发生胆管扩张、胆红素上升、小胆管内胆栓形成，以至肝索排列紊乱、肝细胞进行性损害。肝内ATP含量和脑内5-HT等均有明显的改变[1]，ATP的变化与肝细胞质内线粒体的数值，有明显的相关性。本实验系在胆管阻断后的不同时期，通过显微分光光度计(Microspectro-photometer，MSP)检查，从肝细胞线粒体数值的变化，拟进一步说明胆道高压的严重性，以及胆管阻断的不同时期线粒体的变化。并说明肝细胞内ATP的降低，由于线粒体减少所致。

实验方法和材料

一、实验性胆管阻断模型的建立

大白鼠35只(分为7组，每组5只)，在戊巴比妥钠(30mg/kg)腹腔内麻醉下，取上腹正中切口。

胆管完全阻断组：将胆总管在肝门处完全游离后，用3-0的丝线双重结扎，分别于结扎后2、3、4周活杀。

选择性肝管阻断组：系结扎肝脏左侧叶、左中叶、右中叶，保留右侧叶、尾状叶及乳头叶。被结扎的肝管所累及的肝脏约80%，于肝管结扎后2、3、4周活杀。

标本共分为10组：第1组(G1)为对照组。第2组(G2)为胆总管完全阻断2周。第3组(G3)为胆总管完全阻断3周。第4组(G4)为胆总管完全阻断4周。第5组(G5)为选择性肝管阻断2周。第6组(G6)为选择性肝管阻断2周的未阻断部位的肝脏，第7组(G7)为选择性肝管阻断3周。第8组(G8)为选择性肝管阻断3周的未阻断部位的肝脏。第9组(G9)为选择性肝管阻断4周。第10组(G10)为选择性肝管阻断4周的未阻断部位的肝脏。

二、组织片的制备与线粒体染色

以上10组肝脏标本，浸入Reguard氏液，室温下固定12h，再用硬石腊包埋，采用Leitz切片机切片，片厚2～3μ，使用Altmann-Meves酸性品红染色法，染色液依关正次的改造法，严格控制染色时间，各组染色条件一致。

三、线粒体的测量

应用Leitz MPV Ⅲ型的显微分光光度计(MSP)进行检测。样品吸光率测量选用镜扫描法，范围为20×20 μm，域值为20×25，波长为560 nm，测光栅为0.05 mm。取样步宽：3×3。扫描点间距离0.11μm。光源电流8A。光电倍增管电压1000V。物镜100倍(油镜)。

每张切片随意在汇管区周围，及肝小叶各测20～25个视野。用PDP 11型系列微机控制，数据用方差分析(F)标验。

结 果

经显微分光光度计所测的线粒体数值见表1。

表1 各组线粒体测量结果

组别 (G)	例数(N)	均数(M)	标准差(SD)
1	5	22.948	1.575
2	5	19.246	4.059
3	5	14.292	1.255
4	5	17.182	2.037
5	5	15.126	2.251
6	5	21.060	1.403
7	5	12.860	2.631
8	5	15.102	2.124
9	5	13.482	1.678
10	5	14.800	1.942

△ 301医院基础医学研究所；□ 西南医院肝胆外科
* 训练部中心仪器室

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

将所得原始数据进行方差齐性检验，得 $P>0.05$，表明各组的方差无显著差异，从而进行了方差分析，得 F 值为 11.6371，$P<0.01$，表明至少有的组线粒体均数间有显著差异。从表 1 可看出胆总管阻断后线粒体的数值明显下降；正常对照为 22.948，阻断后第 2～4 周均明显减少，选择性肝管阻断部位的肝细胞线粒体数值，与未阻断处的线粒体数值亦下降。

讨　论

胆道梗阻后，随着时间的推移，胆道压力逐渐升高。初期毛细胆管的微绒毛全部或部份消失，亦可肿胀以至呈水泡状[2]，肝细胞质膜的结构、功能、理化等均可改变，肝细胞骨架结构、连接复合体[3][4]，Golgi 复合体及光面内质网均有改变[5]。继而肝细胞损害进行性加重、坏死等以至纤维组织增生形成假小叶；胆管亦相应扩张，由于高胆红素血症等损害，则导致各重要脏器（肾、肺等）的病变，胆汁长期淤积则在小胆管内形成胆栓；若胆道梗阻伴有感染，在胆道高压的情况下，大量细菌、内毒素由毛细胆管经血窦逆流血循环；胆道压力继续升高，有时因迷走神经受到刺激，可导致反射性心血管功能障碍。

胆道压力的高低，常与肝脏内 ATP 浓度相关。当胆道阻塞时间长、压力高，则 ATP 浓度低[1]。ATP 的生成，肝细胞的线粒体（Mitochondria）是其主要场所。本实验于胆管阻断后的不同时期，线粒体的数量有明显变化。线粒体是细胞生物氧化而产生能量的主要部位[6]。三羧酸循环、呼吸链电子传递和氧化磷酸化，均在其中进行。糖、脂肪、蛋白质代谢的共同中间产物乙酰辅酶 A（乙酰 CoA），在线粒体内进入三羧循环进行彻底氧化。因而检查肝细胞线粒体的相对数值，对进一步研究肝细胞的代谢功能有其重有意义。

胆道压力高低、阻断时间长短与线粒体数值的关系至为密切。胆道阻断后第 2、3、4 周，与正常对照组相比线粒体明显减少（$P<0.01$），阻断时间增加，虽然线粒体数值比对照组仍明显减少，但 2 周组与 4 周组相比，线粒体减少不明显（表 2）。这与胆管

表 2　阻断 2、3、4 周组间比较

组别(G)	例数(N)	均数(M)	P 值
G2: G4	5/5	19.246/17.182	>0.05
G3: G4	5/5	14.292/17.182	>0.05

阻断后第 4 周，ATP 值下降不明显相一致[1]。

代偿性肝肿大，肿大肝脏肝细胞线粒体的数量问题，是一个值得讨论的课题。正常的肝脏一叶萎缩，则另一叶必将代偿性增大，代偿性增大的肝脏，从大体上观察，形态往往不甚规则，特别是肝脏的边缘多为钝圆，色泽较为浅淡。光镜主要发现：肝细胞肿大、胞浆疏松。但代偿性增大的肝细胞线粒体数值如何？增多抑或减少？一般不被注意。本组实验说明，代偿性增大的肝细胞线粒体数值，随着时间的增长，并不增加而是相应的减少。如第 6 组线粒体数为 21.06，第 8 组则为 15.10，第 10 组则为 14.8。将 G6、G8，G6、G10 进行均值间比较，则 G6、G8 的 $P<0.01$，G6、G10 的 $P<0.01$。又如选择性肝管阻断组的 G5 线粒体为 15.126，G7 为 12.86，G9 为 13.482。这三组与正常对照组相比，线粒体数值亦明显减少，经均值间比较 G1、G5 的 $P<0.01$，G1、G7 的 $P<0.01$，G1、G9 的 P 值亦 <0.01（表 3）。从表 3

表 3　选择未阻断组间和正常与选择阻断组间比较

组别(G)	例数(N)	均数(M)	P 值
G6: G8	5/5	21.06/15.102	<0.01
G6: G10	5/5	21.06/14.80	<0.01
G1: G5	5/5	22.948/14.126	<0.01
G1: G7	5/5	22.948/12.86	<0.01
G1: G9	5/5	22.948/13.482	<0.01

中可看出 G5、G6 之比线粒体明显减少（$P<0.01$），而 G7、G8，G9、G10 之比则 $P>0.05$（表 4）。由此则可说明：虽然未结

表 4　选择阻断组与未阻断组间的比较

组别(G)	例数(N)	均数(M)	P 值
G5: G6	5/5	15.126/21.06	<0.01
G7: G8	5/5	12.86/15.102	>0.05
G9: G10	5/5	13.482/14.8	>0.05

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

扎肝管部位的肝脏在代偿性增大，但线粒体的数量与被结扎肝管部位的肝组织相比，两者无差别（均减少）。胆道压力升高，肝脏的汇管区与肝小叶（肝索）所承受的压力是否相等，本组实验提示，由于两处所承受的压力不同（前者大于后者），汇管区周围肝细胞内线粒体数量，较肝索（远距汇管区的部位）的数量明显减少。仅就胆总管阻断2周的大白鼠，两个区域所测得线粒体的数值亦说明了这一点，汇管区线粒体为11.12，而肝小叶（肝索）区为27.31，两者经统计学处理 $P<0.01$（表5）

表5 阻断二周组汇管区与肝小叶之间的比较

	例数(N)	均数($\bar{X}$)	t值	P值
汇管区	5	11.12	6.48	<0.01
肝小叶（肝索）	5	27.31		

注：表2～4均是采用的 Newman－Keuls 多重比较法

参考文献

1. 迟彦邦，等。实验性胆道阻塞性黄胆对肝、胃、肺的损害。重庆医药 1983; 6: 53
2. Desmet VJ. Cholestasis: A Problem, In: Csomos G, et al. eds, Clinical Hepatology, History, Present State Outlook. Berlin: Springer－Verlag, 1983: 299
3. Denk H, et al. Cytoskeletal filaments. In: Arias I, et al. eds, The liver: Biology and Pathobiology, New York Raven Press, 1982: 55
4. Popper H. Cholestasis: The future of a past and present riddle. Hepatology 1981; 1: 187
5. Metz J. Freeze－fracture of hepatic fine structure under normal and experimental conditions. In: Motta PM, et al. eds, Basic and Clinical Hepatology, Developments in Gastroenterology. Vol 2. Hague: Martinus Nijhoff Publishers, 1982: 51
6. 第二军医大学。细胞结构及功能。上海：上海科技出版社，1981: 83

（收稿：1988.9.7；修回：1989.2.20）

Numeral change of mitochondria of liver cells following the experimental bile duct obstruction

Chi Yanbang, et al

(*Xinqiao Hospital, Third Military Medical College*)

The mitochondria of the liver cells of rats are counted following the experimental operation of selective and complete bile duct obstruction. The amount of mitochondria decreases significantly after complete obstruction, (in the control group it is 22,948), and after the selective obstruction it decreases significantly, too. This experiment suggests: in the compensatory hypertrophy of the liver the amount of mitochondria dosen't inhance.

Key words: Mitochondria, liver/CY; Bile duct obstruction, extrahepatic; Cells/UL; Spectrophotometry

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