



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.07.024
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract3967.shtml

· 简要论著 ·

肾素 - 血管紧张素系统阻断对肝脏部分切除小鼠 肝功能的影响

李鹏, 李斌, 梁艳, 谢经武, 李云, 李强

(山东潍坊医学院附属平度市人民医院肝胆科, 山东平度266700)

摘要

目的: 探讨应用卡托普利阻断肾素 - 血管紧张素系 (RAS) 统后对肝切除术小鼠肝功能及白介素 6 (IL-6) 表达的影响。

方法: 制备肝部分切除术后小鼠模型, 实验组予以卡托普利腹腔内注射, 对照组予以生理盐水, 分别于术后 1、3、5、7、9 天测定肝功能治疗及 IL-6 表达的变化, 与对照组比较, 应用统计学方法分析 RAS 阻断对肝功能标志物及炎症因子的影响。

结果: 两组术后第 1 天开始, 肝功能各项指标均上升, 但对照组上升更明显; 实验组术后第 1、3 天 ALT、AST、TBIL 与对照组比较, 有统计学差异 (均 $P < 0.05$), ALP 与对照组比较无统计学差异 ($P > 0.05$); 第 5 天实验组 ALP 下降, ALT、AST、ALP 与对照比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 第 5 天开始两组 TBIL 无统计学差异 ($P > 0.05$); 术后第 7 天开始两组 ALT、AST 未再出现统计学差异 ($P > 0.05$)。

结论: RAS 阻断可促进肝部分切除小鼠早期肝脏功能恢复, 减缓肝脏损伤后炎症反应。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(7):983-985]

关键词

肝切除术; 肾素 - 血管紧张素系统; 肝脏再生; 肝功能; IL-6

中图分类号: R657.3

充分的肝脏再生能力是肝部分切除术后顺利康复的必要条件。然而, 几个与肝脏再生有关的进程有可能刺激肿瘤生长, 从而导致肝切除术后肿瘤复发^[1]。化疗作为一种新的辅助疗法, 有可能影响肝脏再生, 降低肝脏手术效率^[2]。肾素 - 血管紧张素除了调节心血管及肾脏的体内平衡外尚能够在局部包括肝脏在内的几个器官调节细胞的增殖、凋亡及血管生成。这些进程对于肝脏再生及肿瘤生长具有非常重要的作用。最新证据表明, 应用血管紧张素转换酶 (ACE) 抑制剂卡托普利阻断肾素血管紧张素系统能够抑制结肠癌肝转移生长^[3]。但卡托普利的这种作用对肝脏再生及肝功能的影响尚未有研究。本课题通过对肝部分切除术后小鼠肾素 -

血管紧张素系统 (RAS) 阻断, 研究肝部分切除术后肝脏功能及炎症因子变化。

1 材料与方法

1.1 材料

雄性 CBA 小鼠 (10~12 周) 80 只, 由潍坊医学院实验室动物服务中心提供, 小鼠养殖在空气空调房中, 12 h 光照与黑暗循环; 卡托普利 (浙江南洋药业有限公司, 国药准字 H33021469, 批号: 120908), 应用时以注射用水溶解。IL-6 多克隆抗体 (美国 Santa Cruz 公司), SP9001 试剂盒及 DAB 显色剂购于北京中山生物技术有限公司。

1.2 部分肝切除的体内模型制备及实验方法

雄性 CBA 小鼠 80 只, 随机分为 2 组, 10~12 周时将左内叶与中叶用钛夹切掉, 行 70% 肝切除。治疗组小鼠自肝部分切除术后每天予以 750 mg/kg 体质量卡托普利腹腔内注射, 对照组予以等量生理盐水腹腔内注射, 直到实验每个实验点结束。

收稿日期: 2014-04-02; 修订日期: 2014-06-08。

作者简介: 李鹏, 山东潍坊医学院附属平度市人民医院副主任医师, 主要从事肝脏肿瘤诊断及治疗方面的研究。

通信作者: 李斌, Email: lib732@163.com

肝切除后第 1、3、5、7、9 天, 每组小鼠随机取 8 只, 称体质量, 尾静脉取血检验谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、总胆红素 (TBIL)、碱性磷酸酶 (ALP) 并杀死, 获取肝脏, 石蜡包埋, 连续 5 μm 切片, 用 PBS 代替一抗作为阴性对照, 免疫组化染色步骤按说明书进行。

1.3 免疫组化结果判断

根据细胞的染色面积及染色强度进行综合评分。染色面积评分: 无细胞染色为 0 分, <25% 细胞染色为 1 分, 25%~50% 细胞染色为 2 分, >50% 细胞染色为 3 分; 染色强度评分: 不染色为 0 分, 轻度染色为 1 分, 中度染色为 2 分, 强度染色 3 分。按照两者积分相加进行评定: 0~1 分为 (-), 1~2 分为 (+), 3~4 分为 (++) , 5~6 分为 (+++) , (++)~(+++) 定为阳性, 至第 9 天统计实验组和对照组 IL-6 各表达例数总和。

1.4 统计学处理

计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, t 检验; 计数资料用百分比表示, χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝部分切除术后肝功能的变化

两组术后第 1 天开始, 肝功能各项指标均上升, 但对照组上升更明显; 实验组术后第 1、3 天 ALT、AST、TBIL 与对照组比较, 有统计学差异 (均 $P < 0.05$), ALP 与对照组比较无统计学差异 ($P > 0.05$); 第 5 天实验组 ALP 下降, ALT、AST、ALP 与对照比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 第 5 天开始两组 TBIL 亦无统计学差异 ($P > 0.05$); 术后第 7 天开始两组 ALT、AST 未再出现统计学差异 ($P > 0.05$) (表 1)。

2.2 RAS 阻断对肝部分切除术后小鼠肝脏 IL-6 的表达

术后第 1 天始, IL-6 在实验组及对照组皆呈高表达, 但两者尚无统计学意义 ($P > 0.05$); 自第 3~9 天, IL-6 表达在实验组及对照组皆呈高表达, 但实验组明显低于对照组 ($P < 0.05$); 1~9 d 对照组及实验组阳性表达总和统计, 实验组明显低于对照组, 差异有统计学意义 ($P = 0.0153$) (表 2)。

表 1 肝部分切除术后肝功能损伤指标变化的比较

肝损伤指标	实验组	对照组	P
第 1 天			
ALT (μL)	89.9 \pm 9.8	104 \pm 11.6	0.0199
AST (μL)	98.3 \pm 11.6	117 \pm 18.9	0.0318
ALP (μL)	152.6 \pm 12.9	158.4 \pm 14.7	0.2078
BIL (mmol/L)	6.8 \pm 0.78	8.9 \pm 0.89	0.0005
第 3 天			
ALT (μL)	58.4 \pm 3	97.2 \pm 16.8	0.0000
AST (μL)	65 \pm 4.6	100 \pm 11.2	0.0000
ALP (μL)	118.3 \pm 14.6	124.7 \pm 12.3	0.3024
BIL (mmol/L)	5.8 \pm 1.1	7.6 \pm 0.79	0.0021
第 5 天			
ALT (μL)	26.2 \pm 3.9	65.1 \pm 9.7	0.0000
AST (μL)	25.5 \pm 5.6	48.7 \pm 11.3	0.0001
ALP (μL)	67.2 \pm 9.7	77 \pm 3.4	0.0174
BIL (mmol/L)	7.2 \pm 0.89	6.8 \pm 2.3	0.6535
第 7 天			
ALT (μL)	15.9 \pm 6.2	20.1 \pm 5.4	0.1485
AST (μL)	14.5 \pm 2.1	16.9 \pm 3.4	0.1115
ALP (μL)	34 \pm 7.9	59.7 \pm 3.6	0.0000
BIL (mmol/L)	6.9 \pm 1.1	6.2 \pm 0.68	0.1481
第 9 天			
ALT (μL)	10.8 \pm 2.4	13.2 \pm 3.7	0.0812
AST (μL)	8.5 \pm 1.8	10.1 \pm 2.9	0.2061
ALP (μL)	26 \pm 6.4	51 \pm 8.6	0.0000
BIL (mmol/L)	5.5 \pm 0.75	5.2 \pm 1.2	0.5488

表 2 肝部分切除术后小鼠肝脏 IL-6 表达比较

组别	时间 (d)					合计
	1	3	5	7	9	
实验组						
(-)	0	0	0	0	0	0
(+)	0	4	4	5	6	19
(++)	4	2	3	2	2	13
(+++)	4	2	1	1	0	8
对照组						
(-)	0	0	0	0	0	0
(+)	0	1	1	2	3	7
(++)	3	3	3	4	3	17
(+++)	5	4	4	2	2	16
P						0.0153

3 讨论

肝脏功能恢复能力是肝切除术后患者能否顺利康复的关键环节。如果没有足够的肝脏功能恢复能力, 往往会增加并发症发生率及由于肝脏功能衰竭而引致的死亡^[4]。

RAS 在肝脏纤维化进程中起着重要作用。RAS 经典活性物质是 ACE, 催化血管紧张素 I (Ang I) 转换而成的血管紧张素 II (Ang II), 其通过与 AT1R 结合发生效应, 构成 ACE-Ang II-AT1R 轴,

能引起血管收缩、细胞肥大与增殖,促进醛固酮的分泌和细胞外基质的形成,在高血压、心肌肥厚等心血管疾病及肝纤维化发生中起重要作用;近年来研究发现,除ACE之外,RAS中尚存在ACE2,ACE2可以直接水解Ang II生成Ang(1-7),Ang(1-7)效应的发生主要通过Ang(1-7)特异性受体-MAS实现。从而形成ACE2-Ang(1-7)-MAS轴。Ang(1-7)主要作用恰恰与Ang II相反,可以对抗Ang II的作用,使血管舒张^[5-7],缓解心肌肥厚^[8],减缓炎症反应,抗纤维化过程中起着重要作用。同时Ang(1-7)的降解主要靠ACE降解为无活性的Ang(1-5)。由此可以看出,ACE是RAS系统中关键因素。

临床上,肝脏功能的重要标志物AST及ALT,肝脏切除后,肝组织由于损伤肝细胞破坏会发生炎症反应,炎症因子在肝脏功能康复中起着不可忽视的作用。有人^[9]认为,肝部分切除术后,IL-6浓度迅速增加,并参与肝脏再生,在本研究中我们发现,术后第1天始,小鼠实验组对照组AST、ALT均上升且IL-6皆呈高表达状态,但实验组AST、ALT、IL-6表达明显低于对照组($P<0.05$),两者具有统计学意义。

经典的RAS中活性物质Ang II,通过细胞膜上AT1R促进炎症进程,增加促炎症细胞因子,炎症趋化因子,及细胞黏附分子的表达。与此相反,Ang(1-7),能够通过与其特异性受体MAS相互作用而起到抗炎症作用。应用Ang(1-7)治疗脂多糖刺激后大鼠腹膜巨噬细胞,能够明显减少包括肿瘤坏死因子、白细胞介素6等在内的炎症细胞因子的表达。这与本课题研究结果相一致。本研究发现,RAS阻断后,可明显降低肝脏损伤标志物水平及IL-6的表达水平,考虑与卡托普利抑制了ACE活性,从而减少Ang II的生成,并同时减少Ang(1-7)的分解,Ang II减少及Ang(1-7)的增加两者协同减轻肝损伤后炎症反应有关。

总之,应用卡托普利阻断RAS能够并降低肝脏切除术后早期阶段ALT、AST、TIBL的水平,

降低炎症因子IL-6的表达,减缓炎症反应,促进肝功能恢复,其机制尚待进一步研究。

参考文献

- [1] Koh SL, Ager EI, Christophi C. Liver regeneration and tumour stimulation: implications of the renin-angiotensin system[J]. *Liver Int*, 2010, 30(10):1414-1426.
- [2] Barugel ME, Vargas C, Krygier Waltier G. Metastatic colorectal cancer: recent advances in its clinical management[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2009, 9(12):1829-1847.
- [3] Neo JH, Malcontenti-Wilson C, Muralidharan V, et al. Effect of ACE inhibitors and angiotensin II receptor antagonists in a mouse model of colorectal cancer liver metastases[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007, 22(4):577-584.
- [4] Schneider PD. Preoperative assessment of liver function[J]. *Surg Clin North Am*, 2004, 84(2):355-373.
- [5] Sampaio WO, Souza dos Santos RA, Faria-Silva R, et al. Angiotensin-(1-7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways[J]. *Hypertension*, 2007, 49(1):185-192.
- [6] Sriramula S, Cardinale JP, Lazartigues E, et al. ACE2 overexpression in the paraventricular nucleus attenuates angiotensin II-induced hypertension[J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 92(3):401-408.
- [7] Walters PE, Gaspari TA, Widdop RE, et al. Angiotensin-(1-7) acts as a vasodepressor agent via angiotensin II type 2 receptors in conscious rats[J]. *Hypertension*, 2005, 45(5):960-966.
- [8] Inaba S, Iwai M, Furuno M, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 in cardiac hypertrophy induced by nitric oxide synthase inhibition[J]. *J Hypertens*, 2011, 29(11):2236-2245.
- [9] 姚豫桐,李可洲.肝部分切除术后肝脏再生调控的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2009, 18(2):181-184.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式:李鹏,李斌,梁艳,等.肾素-血管紧张素系统阻断对肝脏部分切除小鼠肝功能的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(7):983-985. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.07.024
Cite this article as: LI P, LI B, LIANG Y, et al. Effects of blocking of renin-angiotensin system on liver function in partial hepatectomy of mice[J]. *Chin J Gen Surg*, 2014, 23(7):983-985. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.07.024