

## 缺血预处理对高原大鼠肝脏缺血/再灌注损伤早期的影响

朱应乾, 覃云, 王茂旭, 杜富波, 刘厚东, 李素芝

朱应乾, 王茂旭, 杜富波, 刘厚东, 李素芝, 西藏军区总医院  
普通外科 西藏自治区拉萨市 850003

覃云, 西双版纳州公安边防支队机动大队 云南省西双版纳  
州 666108

通讯作者: 朱应乾, 850003, 西藏自治区拉萨市娘热北路66号,  
西藏军区总医院普通外科. zyqwxh@163.com

电话: 0891-6280143

收稿日期: 2006-09-11 接受日期: 2006-11-16

### Influence of ischemic preconditioning on early hepatic I/R injury in rats at high altitude

Ying-Qian Zhu, Yun Qin, Mao-Xu Wang, Fu-Bo Du, Hou-Dong Liu, Su-Zhi Li

Ying-Qian Zhu, Mao-Xu Wang, Fu-Bo Du, Hou-Dong Liu, Su-Zhi Li, Department of General Surgery, General Hospital of Tibet Military Command, Lhasa 850003, Tibet Autonomous Region, China

Yun Qin, Mobile Military Unit of Xishuangbanna Public Security Frontier Defence Detachment, Xishuangbanna 666108, Yunnan Province, China

Correspondence to: Ying-Qian Zhu, Department of General Surgery, General Hospital of Tibet Military Command, 66 Niangre North Road, Lhasa 850003, Tibet Autonomous Region, China. zyqwxh@163.com

Received: 2006-09-11 Accepted: 2006-11-16

### Abstract

**AIM:** To find out the protective effect and mechanism of ischemic preconditioning (IPC) on early hepatic ischemia-reperfusion (I/R) injury in rats at high altitude.

**METHODS:** A total of 45 Sprague Dawley rats were divided into the sham operation, I/R and IPC group. The rats were sacrificed 1, 3, and 6 hours after reperfusion. The level of serum alanine aminotransferase (ALT, nkat/L), malondialdehyde (MDA, mmol/L) and nitric oxide (NO,  $\mu\text{mol/L}$ ) were detected.

**RESULTS:** The level of serum NO in IPC group was significantly higher than that in I/R group (1 h:  $95.8 \pm 10.1$  vs  $64.2 \pm 6.8$ ,  $P < 0.01$ ; 3 h:  $91.2 \pm 9.7$  vs  $69.5 \pm 7.2$ ,  $P < 0.01$ ; 6 h:  $77.4 \pm 8.6$  vs  $63.7 \pm 6.1$ ,  $P < 0.01$ ), but lower than that in sham operation group. However, the levels of serum ALT (1

h:  $2257.1 \pm 201.7$  vs  $2912.2 \pm 398.4$ ,  $P < 0.01$ ; 3 h:  $2465.5 \pm 243.4$  vs  $3637.4 \pm 441.8$ ,  $P < 0.01$ ; 2545.5  $\pm$  223.4 vs 4027.5  $\pm$  496.8,  $P < 0.01$ ) and MDA (1 h:  $25.1 \pm 4.3$  vs  $38.7 \pm 7.6$ ,  $P < 0.01$ ; 3 h:  $27.5 \pm 5.4$  vs  $45.3 \pm 8.8$ ,  $P < 0.01$ ; 34.2  $\pm$  6.7 vs 53.2  $\pm$  10.5,  $P < 0.01$ ) in IPC group were significantly lower than those in I/R group, while they were higher than those in sham operation group.

**CONCLUSION:** IPC may protect liver tissues against I/R injury in rats at high altitude, and the mechanism is associated with the improvement of microcirculation resulted from the inhibition of lipid peroxidation and increase of endogenous NO.

**Key Words:** Ischemic preconditioning; Ischemia-reperfusion; Hepatic injury; Rat; High altitude

Zhu YQ, Qin Y, Wang MX, Du FB, Liu HD, Li SZ. Influence of ischemic preconditioning on early hepatic I/R injury in rats at high altitude. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2007;15(3):287-289

### 摘要

**目的:** 了解在高原缺血预处理(IPC)对肝脏缺血/再灌注损伤(I/R)早期保护作用及其机制。

**方法:** SD大鼠45只随机分为3组: 假手术组、缺血再灌注组、缺血预处理组。各组恢复血流后分别于1, 3, 6 h取血液标本, 检测血清ALT (nkat/L)、丙二醛(MDA, mmol/L)、NO ( $\mu\text{mol/L}$ )的含量。

**结果:** 缺血预处理组NO的水平明显高于缺血再灌注组(1 h:  $95.8 \pm 10.1$  vs  $64.2 \pm 6.8$ ,  $P < 0.01$ ; 3 h:  $91.2 \pm 9.7$  vs  $69.5 \pm 7.2$ ,  $P < 0.01$ ; 6 h:  $77.4 \pm 8.6$  vs  $63.7 \pm 6.1$ ,  $P < 0.01$ ), 低于假手术组; 而ALT(1 h:  $2257.1 \pm 201.7$  vs  $2912.2 \pm 398.4$ ,  $P < 0.01$ ; 3 h:  $2465.5 \pm 243.4$  vs  $3637.4 \pm 441.8$ ,  $P < 0.01$ ; 2545.5  $\pm$  223.4 vs 4027.5  $\pm$  496.8,  $P < 0.01$ )、MDA(1 h:  $25.1 \pm 4.3$  vs  $38.7 \pm 7.6$ ,  $P < 0.01$ ; 3 h:  $27.5 \pm 5.4$  vs  $45.3 \pm 8.8$ ,  $P < 0.01$ ; 34.2  $\pm$  6.7 vs 53.2  $\pm$  10.5,  $P < 0.01$ )明显低于缺血再灌注组, 高于假手术组。

### ■背景资料

肝脏缺血再灌注损伤是常见的临床问题, 其损伤因素远超过机体自身的保护能力, 所以在临床中有必要通过外界干预来减少损伤因素或增强机体的保护能力, 从而减少肝脏缺血再灌注损伤。目前在肝脏外科手术中最简单、有效的外界干预来减少肝脏缺血再灌注损伤的方法是缺血预处理。而目前缺血预处理对肝脏再灌注损伤的保护具体机制还不十分明确, 尤其是在高原缺氧的环境下, 对肝脏缺血再灌注损伤研究报道较少。

## ■同行评价

本文通过设计在海拔为3658 m的环境下对大鼠肝脏缺血再灌注处理,了解肝脏缺血再灌注损伤早期MDA, ALT, NO的变化,初步探讨其对肝脏缺血再灌注损伤的保护作用及其机制。实验设计合理,有较高的学术价值。

**结论:**在高原缺氧环境下,缺血预处理对大鼠肝脏缺血再灌注损伤有明显保护作用,其机制可能与缺血与预处理抑制肝脏脂质过氧化物的产生,提高内源性NO的产生,改善肝脏的微循环有关。

**关键词:**缺血预处理; 缺血再灌注; 肝脏损伤; 大鼠; 高原

朱应乾, 覃云, 王茂旭, 杜富波, 刘厚东, 李素芝. 缺血预处理对高原大鼠肝脏缺血/再灌注损伤早期的影响. 世界华人消化杂志 2007;15(3):287-289

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/287.asp>

## 0 引言

缺血再灌注损伤(I/R)是指缺血器官细胞损伤在恢复血供之后更加加重的现象。目前有大量的动物实验及少量的临床研究表明缺血预处理(IPC)对缺血/再灌注肝脏有保护作用,但其作用机制还不十分清楚。本实验旨在初步探讨高原缺氧环境下IPC对大鼠肝脏I/R的保护作用及其机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** MDA, NO试剂盒(南京建成生物工程研究所)。SD大鼠购自西南民族学院实验动物中心。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物分组** SD大鼠45只, 体重为180-230 g, 雌雄不拘, 在高原环境(海拔3658 m)饲养14 d后随机分成3组, 即假手术组(I组); 缺血再灌注组(II组): 持续阻断60 min, 再灌注1, 3, 6 h; 缺血预处理组(III组): 先缺血5 min, 再灌注5 min, 反复一次, 再行I/R。

**1.2.2 模型制备** 实验鼠术前12 h禁食、不禁水, 200 g/L乌拉坦1000 mg/kg腹腔注射麻醉, 消毒术野, 经上腹正中切口进腹, 分离肝十二指肠韧带, 充分暴露肝门部, I组不再行任何处理关腹; II组和III组用无创血管夹阻断肝左、中叶的血管胆管蒂, 造成肝实质缺血。预定阻断时间到后移去血管夹, 缝合腹壁切口。

**1.2.3 标本处理及检测** 在预定时间经心脏穿刺取血, 室温下静置12 h, 低温离心机3000 r/min离心10 min后取血清, 用自动生化分析仪测ALT活性; 用MDA, NO试剂盒测定MDA, NO的活性。

**统计学处理** 数据以mean±SD表示, 采用SPSS10.0软件对数据作单向方差分析。

## 2 结果

假手术组ALT的活性明显低于缺血预处理组和缺血再灌注组( $P<0.01$ ); 缺血再灌注组明显高于缺血预处理组( $P<0.01$ )。假手术组MDA的活性明显低于缺血预处理组和缺血再灌注组( $P<0.01$ ); 缺血再灌注组明显高于缺血预处理组( $P<0.01$ )。缺血再灌注组NO的活性明显低于缺血预处理组和假手术组( $P<0.01$ )(表1)。

## 3 讨论

肝脏I/R损伤是常见的临床问题, 其损伤因素远超过机体自身的保护能力, 所以在临床中有必要通过外界干预来减少损伤因素或增强机体的保护能力, 从而减少肝脏I/R。目前在肝脏外科手术中最简单、有效的外界干预来减少肝脏I/R损伤的方法是缺血预处理。而目前缺血预处理对肝脏再灌注损伤的保护具体机制还不十分明确, 尤其是在高原缺氧的环境下, 对肝脏缺血再灌注损伤研究报道较少。故本课题通过设计在海拔为3658 m的环境下对大鼠肝脏缺血预处理, 了解肝脏缺血再灌注损伤早期MDA, ALT, NO的变化, 初步探讨其对肝脏缺血再灌注损伤的保护作用及其机制。

研究表明, 肝脏I/R早期损伤主要是因缺氧、再灌注产生大量氧自由基<sup>[1]</sup>, 通过氧化反应直接导致肝细胞的损伤。MDA可以反映氧自由基攻击生物膜中的不饱和脂肪酸引发脂质过氧化作用而形成脂质过氧化物, 使组织细胞受损伤; 其活性与脂质过氧化损害的程度呈正相关。本实验结果证实缺血再灌注组MDA明显高于假手术组, 而缺血预处理组MDA明显低于缺血再灌注组。表明自由基是导致肝脏I/R早期损伤的重要因素; 而缺血预处理可以减少肝脏I/R时自由基的产生, 减轻自由基对肝脏的损伤。其机制可能与IPC提高内源性抗自由基酶类的活性有关。

目前越来越多的证据表明, 通过外界干预使内源性NO合成增加对肝脏I/R损伤有保护作用<sup>[2-3]</sup>。NO是一种多效能的气体自由基, 是肝脏一个重要信号分子。NO既是肝细胞损伤的主要介质, 也是部分有效抗损伤保护因子。体内NO合成受到三种NO合成酶(NO synthase, NOS)基因亚型的调控<sup>[4]</sup>, 其中肝内最重要的有诱导型NOS和内皮细胞结构型NOS。诱导型NOS合成的NO在氧应激条件下加重损伤<sup>[5]</sup>, 有证据表明特异性的诱导型一氧化氮合成酶抑制剂具有保护作用。内皮细胞结构型NOS合成的NO能维持肝脏的微

表 1 各组不同时相ALT, MDA, NO的活性

分组	ALT (nkat/L)			MDA (mmol/L)			NO (μmol/L)		
	1 h	3 h	6 h	1 h	3 h	6 h	1 h	3 h	6 h
I 组	905.2 ± 125.0 <sup>b</sup>	976.9 ± 131.7 <sup>b</sup>	361.8 ± 113.4 <sup>b</sup>	8.7 ± 1.9 <sup>b</sup>	7.9 ± 1.6 <sup>b</sup>	8.4 ± 2.0 <sup>b</sup>	98.4 ± 10.6	96.2 ± 9.8	94.1 ± 9.3
II 组	2912.2 ± 398.4 <sup>d</sup>	3637.4 ± 441.8 <sup>d</sup>	4027.5 ± 496.8 <sup>d</sup>	38.7 ± 7.6 <sup>d</sup>	45.3 ± 8.8 <sup>d</sup>	53.2 ± 10.5 <sup>d</sup>	64.2 ± 6.8 <sup>f</sup>	69.5 ± 7.2 <sup>f</sup>	63.7 ± 6.1 <sup>f</sup>
III 组	2257.1 ± 201.7	2465.5 ± 243.4	2545.5 ± 223.4	25.1 ± 4.3	27.5 ± 5.4	34.2 ± 6.7	95.8 ± 10.1	91.2 ± 9.7	77.4 ± 8.6

<sup>b</sup>P<0.01 vs II 组, III 组; <sup>d</sup>P<0.01 vs III 组; <sup>f</sup>P<0.01 vs I 组, III 组.

循环, 对肝脏I/R起到保护作用, 实验表明凡是抑制内皮型一氧化氮合成酶的物质都可以减少微循环的血流灌注、加重肝脏的损伤。

本实验结果显示缺血预处理组的ALT比缺血再灌注组明显降低, 而NO水平明显较缺血再灌注组增加, 表明在肝脏I/R早期通过缺血预处理能增加内皮细胞结构型NOS合成的NO, 起到保护作用。其机制可能通过NO扩张肝血窦, 改善肝循环; 另外通过肝脏缺血预处理后, 肝组织中腺苷含量增加, 而NO可调节腺苷的释放<sup>[6]</sup>, 通过NO的介导腺苷可以抑制白细胞黏附, 减少黏附分子表达, 干扰白细胞与血管内皮细胞的相互作用, 对肝脏缺血起保护作用<sup>[7]</sup>。

缺血预处理是一种在肝脏外科中实用和有效的降低I/R损伤措施。但在高原缺氧条件下, 临床应用较少, 其主要原因是目前对其在缺氧环境下的机制研究较少, 具体机制还不很清楚。故有待于进一步研究, 包括在高原最适宜的缺血预处理时间。

#### 4 参考文献

1 Sahin M, Avsar FM, Ozel H, Topaloglu S, Yilmaz B,

- Pasaoglu H, Avunduk MC, Erikoglu M, Hengirmen S. The effects of dimethyl sulfoxide on liver damage caused by ischemia-reperfusion. *Transplant Proc* 2004; 36: 2590-2592
- 2 Park WH, Lee SK, Kim CH. A Korean herbal medicine, Panax notoginseng, prevents liver fibrosis and hepatic microvascular dysfunction in rats. *Life Sci* 2005; 76: 1675-1690
- 3 Serracino-Inglott F, Virlos IT, Habib NA, Williamson RC, Mathie RT. Differential nitric oxide synthase expression during hepatic ischemia-reperfusion. *Am J Surg* 2003; 185: 589-595
- 4 Thalmann S, Jayet PY, Duplain H, Turini P, Sartori C, Vollenweider P, Scherrer U. NO, a major regulator of metabolic and cardiovascular homeostasis. *Rev Med Suisse Romande* 2004; 124: 639-641
- 5 Vodovotz Y, Kim PK, Bagci EZ, Ermentrout GB, Chow CC, Bahar I, Billiar TR. Inflammatory modulation of hepatocyte apoptosis by nitric oxide: *in vivo*, *in vitro*, and *in silico* studies. *Curr Mol Med* 2004; 4: 753-762
- 6 McKie LD, Bass BL, Dunkin BJ, Harmon JW. Nitric oxide mediates the blood flow response to intravenous adenosine in the rabbit. *Circ Shock* 1994; 43: 103-106
- 7 Bouma MG, van den Wildenberg FA, Buurman WA. The anti-inflammatory potential of adenosine in ischemia-reperfusion injury: established and putative beneficial actions of a retaliatory metabolite. *Shock* 1997; 8: 313-320

电编 张敏 编辑 张焕兰