

• 论著 •

肝功能衰竭肝性脑病大鼠 5-羟色胺和去甲肾上腺素的变化

宋闽宁 宋屿娜 陈福 骆梅兰

【摘要】 目的 研究 5-羟色胺(5-HT)及去甲肾上腺素(NA)在大鼠急性肝功能衰竭(ALF)和慢性肝功能衰竭(CLF)肝性脑病时的变化。方法 将 110 只 SD 大鼠随机分为正常对照组(20 只)、ALF 组(45 只)及 CLF 组(45 只)。ALF 模型按 500 mg/kg 硫代乙酰胺(TAA)间隔 24 h 两次灌胃;CLF 模型按质量分数为 0.03% 的 TAA 作为饮用水灌饲 10 周,并根据每周体重的变化增减 50% 的 TAA 含量。造模成功后从眼底静脉丛取血,检测 5-HT、NA、血氨和肝功能指标;处死动物,取肝、脑组织,光镜下观察组织病理学变化。结果 ALF 组和 CLF 组均出现不同程度的肝功能损害表现,血中丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、总胆红素(TBIL)、白蛋白(ALB)、白蛋白/球蛋白(A/G)、血氨均有明显变化($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);肝脏及脑组织病理学符合 ALF 和 CLF 肝性脑病表现。ALF 组和 CLF 组 5-HT[(16.06±1.08)μmol/L 和 (15.32±1.48)μmol/L]均较正常对照组[(2.75±0.26)μmol/L]显著升高(P 均 < 0.01),CLF 组 NA 值下降[(94.0±2.13)pmol/L 比 (121.2±14.8)pmol/L, $P < 0.05$]。结论 5-HT 在大鼠 ALF 和 CLF 所致肝性脑病时明显升高;NA 在大鼠 CLF 所致肝性脑病时明显下降。

【关键词】 肝功能衰竭; 肝性脑病; 5-羟色胺; 去甲肾上腺素

Changes in serotonin and noradrenaline in hepatic encephalopathy as a result of liver failure in rat SONG Min-ning, SONG Yu-na, CHEN Fu, LUO Mei-lan. Department of Infectious Diseases, the 174th Hospital of PLA, Xiamen 361003, Fujian, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the changes in serotonin (5-HT) and noradrenaline (NA) in hepatic encephalopathy as a result of acute and chronic liver failure in rat. **Methods** One hundred and ten Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into groups of normal control ($n=20$), experimental group of acute liver failure (ALF) encephalopathy ($n=45$), and experimental group of chronic liver failure (CLF) encephalopathy ($n=45$). Two dosages of thioacetamide (TAA) of 500 mg/kg were gavaged with an interval of 24 hours to reproduce ALF model. To reproduce CLF model rats were fed with 0.03% TAA in drinking water for 10 weeks, and 50% of TAA dosage was added or withheld according to the change in weekly body weight measurement. Animals were sacrificed and venous blood specimens were obtained after successful replication of model, and 5-HT, NA, ammonia, parameters of liver function were determined, and liver and brain were studied pathologically. **Results** The experiment showed that the liver functions of rats in groups ALF encephalopathy and CLF encephalopathy deteriorated seriously, changes in alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TBIL), albumen (ALB), ALB/globulin (A/G), and blood ammonia were observed ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The clinical manifestations, liver and brain pathologies were identical to those of ALF and CLF encephalopathy. The values of 5-HT were increased in groups ALF encephalopathy and CLF encephalopathy [(16.06±1.08) μmol/L and (15.32±1.48) μmol/L] compared with the normal group [(2.75±0.26) μmol/L, both $P < 0.01$], while the value of NA decreased in the group of CLF encephalopathy [(94.0±2.13) pmol/L vs. (121.2±14.8) pmol/L, $P < 0.05$]. **Conclusion** The levels of 5-HT are elevated in the groups of ALF encephalopathy and CLF encephalopathy. The content of NA decreases remarkably in CLF encephalopathy.

【Key words】 liver failure; encephalopathy; serotonin; noradrenaline

肝性脑病是肝功能衰竭的常见严重并发症之一,其发生原因不甚明了,临床上无太多有效治疗方法。临床中可见急性肝功能衰竭(ALF)患者昏迷前有不可解释的频繁抽搐情况。为揭示肝性脑病更多的发病因素,本研究中采用大鼠 ALF 和慢性肝功能

衰竭(CLF)肝性脑病模型,研究 5-羟色胺(5-HT)和去甲肾上腺素(NA)含量变化及其相互关系。

1 材料与方 法

1.1 实验材料:清洁级 SD 大鼠 110 只,雌雄不限,体重 300 g 左右,购自上海实验动物中心,许可证号:SYXX(闽)2004-0004;硫代乙酰胺(TAA)由上海化学试剂厂生产(批号:20021027);贝克曼全自动生化检测仪,日本 MA-4120 血氨(NH₃)快速检测仪,国产 ELX-800 酶标仪及德国 IBL NA、5-HT 试剂盒。

基金项目:福建省厦门社会发展计划项目(3502Z20024007)

作者单位:361003 福建厦门,解放军第一七四医院传染科(宋闽宁,骆梅兰);解放军福州总医院(宋屿娜);厦门大学(陈福)

作者简介:宋闽宁(1954-),女(汉族),山东省人,主任医师,发表论文 30 篇。

1.2 实验方法:ALF 和 CLF 大鼠肝性脑病动物模型的制备参照文献[1]的常规方法。动物按随机数字表法分为正常对照组(20 只)、ALF 组(45 只)、CLF 组(45 只)3 组。ALF 组采用 TAA 500 mg/kg 灌胃,24 h 后重复 1 次;第 2 次给药后 24 h 观察动物活动及呼吸频率、疼痛反应、意识情况;48 h 后取眼底静脉丛血送检并处死动物;同时取肝组织和脑组织进行组织病理学观察。CLF 组用质量分数为 0.03% 的 TAA 作为饮用水灌饲 10 周,每周称 1 次体重,如体重下降 25 g,则 TAA 质量分数减少至 0.015%;如体重增加 25 g,则 TAA 质量分数增加至 0.045%;10 周后符合肝硬化表现后,眼底静脉丛取血送检并处死动物。正常对照组直接处死动物送检,方法同其他两组。

1.3 观察项目

1.3.1 血液生化指标检测:检测总胆红素(TBIL)、5-HT、NA、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、白蛋白(ALB)、白蛋白/球蛋白(A/G)、NH₃ 水平。

1.3.2 组织病理学观察:处死动物后,取同叶肝组织和脑组织,肝组织用体积分数为 10% 的甲醛固定,苏木素-伊红(HE)、网状纤维 Gomori 法染色,光镜下观察。脑组织用体积分数为 30% 的戊二醛固定,HE 染色,光镜下观察。

1.4 统计学方法:计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两两比较采用 *t* 检验;率的比较采用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠制模后一般情况:ALF 组和 CLF 组均于第 2 次灌胃 TAA 后逐渐出现嗜睡或昏迷症状,对声音、疼痛反应迟钝或消失,步态不稳,呼吸频率增快至 60 次/min,不进食。给药后 48 h 平均体重下降 8%。ALF 组于灌胃后 46 h 开始死亡,共死亡 16 只(占 35.5%)。CLF 组于灌胃后 42 h 开始死亡,共死亡 14 只(占 31.1%)。两组死亡率及死亡时间差异均无显著性(P 均 > 0.05)。

2.2 ALF 和 CLF 大鼠肝性脑病时肝功能指标的

变化(表 1):ALF 组和 CLF 组较正常对照组均出现不同程度的肝功能损害表现,ALT、AST 及 TBIL 与正常对照组比较均显著升高,差异均有显著性(P 均 < 0.01);血浆 ALB 均显著下降($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。

2.3 ALF 和 CLF 大鼠肝性脑病时血生化指标的变化(表 2):ALF 组和 CLF 组 5-HT 均显著高于正常对照组(P 均 < 0.01);两组 NA 均显著降低,CLF 组较正常对照组差异有显著性($P < 0.05$)。两组 NH₃ 均高于 284 $\mu\text{g/L}$ (P 均 < 0.01)。

表 2 ALF 和 CLF 大鼠肝性脑病时生化指标的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of biochemical parameters of rats with ALF and CLF encephalopathy($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	5-HT($\mu\text{mol/L}$)	NA(pmole/L)	NH ₃ ($\mu\text{mol/L}$)
正常对照组	20	2.75±0.26	121.2±14.8	19.0±9.1
ALF 组	29	16.06±1.08**	111.7±11.2	>284**
CLF 组	31	15.32±1.48**	94.0±21.3*	>284**

注:与正常对照组比较:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

2.4 脑组织病理学观察:光镜下观察 ALF 组脑组织结构无特殊异常改变,大脑有轻度脑水肿致血管周围轻度袖套样改变,原浆型胶质细胞轻度增生,神经元无明显异常,有少量噬神经现象。原浆型胶质细胞散在或灶性退变,部分区域有轻度增生,轻度脑水肿(彩色插页图 1)。CLF 组脑组织神经元无明显异常,有少量噬神经现象,原浆型胶质细胞散在或灶性退变,部分区域有轻度增生,轻度脑水肿(彩色插页图 2)。正常对照组脑组织无异常。

2.5 肝组织病理学观察:光镜下 ALF 组肝小叶结构存在片状坏死、出血,坏死区分布于小叶内、中央静脉周围,有桥接坏死倾向,坏死区面积约占总面积的 2/5,可见散在单个细胞胞浆肿胀、空泡化,少量淋巴细胞浸润;中央静脉旁血窦轻度扩张充血;有肝细胞再生现象,无明显小胆管再生现象(彩色插页图 3)。CLF 组肝小叶结构破坏,假小叶形成,汇管区增宽、充血,纤维组织增生;大量淋巴细胞、中性粒细胞浸润,并见较多泡沫样吞噬细胞;小胆管增生无明显淤胆现象。假小叶内肝细胞水肿、变性,有点状坏死,

表 1 ALF 和 CLF 大鼠肝性脑病时肝功能指标的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of hepatic function parameters of rats with ALF and CLF encephalopathy($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	灌胃剂量(mg/kg)	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBIL($\mu\text{mol/L}$)	ALB(g/L)
正常对照组	20		133.0±45.9	11.4±2.5	19.9±1.1	23.2±2.1
ALF 组	45	500	569.0±477.0**	1920.0±330.0**	47.7±23.1**	17.2±3.0*
CLF 组	45	500	475.0±157.0**	890.0±270.0**	80.0±34.0** $\Delta\Delta$	15.5±2.9**

注:与正常对照组比较:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 ALF 组比较; $\Delta\Delta P < 0.01$

枯否细胞增生,假小叶周围有碎屑样坏死(彩色插页图 4)。CLF 组大鼠肝组织大体呈萎缩状,黄褐色,表面有细颗粒,质中等(彩色插页图 5)。

3 讨论

重型肝炎肝性脑病是严重的中枢神经系统并发症,一旦出现常提示预后不良^[2],即使进行肝移植,近期成活率也不高。肝性脑病诱发因素较复杂,可发生于重型肝炎早期或终末期,至今为止对其的治疗效果尚不理想。近年来越来越多的研究表明,神经递质代谢紊乱对精神、神经系统功能有影响^[3]。5-HT 是色氨酸的中间产物,原位于大脑的神经细胞、肠道细胞和血小板等。5-HT 系统过度兴奋时可发生轻度躁狂,肌阵挛、反射亢进、震颤等,重者可导致死亡^[4]。NA 由脑内蓝斑区产生。此类细胞对大脑各区均有影响,尤其是对情绪调节起重要作用的边缘系统。5-HT 与 NA 均为真性神经递质^[5],其在 ALF 和 CLF 发生肝性脑病时所占比例如何,既往鲜有报道。本研究发现,ALF 相关肝性脑病及慢性肝病或肝硬化基础上发生的 CLF 相关肝性脑病^[6-8],大鼠 5-HT 水平均明显升高;而 NA 只在 CLF 相关肝性脑病大鼠中明显下降,具有统计学意义。似可说明肝性脑病时两项指标的改变,抑制性递质(NA)的增

高及兴奋性递质(5-HT)的下降^[4],与其他因素可能共同促进了肝性脑病的发生。NA 含量在 ALF 及 CLF 所致肝性脑病中的不同有何意义,还有待进一步研究。

参考文献:

- 1 孙敬方. 动物实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:308-309.
- 2 宋闽宁,骆梅兰,闽峰. 血浆置换对重型肝炎并发感染的影响[J]. 中国危重病急救医学,2003,15(2):120-121.
- 3 van Heeringen K. The neurobiology of suicide and suicidality[J]. Can J Psychiatry,2003,48(5):292-300.
- 4 Sternbach H. The serotonin syndrome[J]. Am J Psychiatry,1991,148(6):705-713.
- 5 顾长海,王宇明. 肝功能衰竭[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:208-211.
- 6 王宇明. 肝性脑病的最新共识[J]. 中华肝脏病杂志,2003,11(5):261-264.
- 7 Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, et al. Hepatic encephalopathy—definition, nomenclature, diagnosis, and quantification, final report of the working party at the 11th world congresses of gastroenterology, Vienna, 1998[J]. Hepatology, 2002, 35(3):716-721.
- 8 朱畴文. 肝性脑病发病机制的新进展[J]. 肝脏,2002,7(1):35-37.

(收稿日期:2006-04-13 修回日期:2006-09-06)

(本文编辑:李银平)

• 启事 •

2005 年《中国科技期刊引证报告》(核心版)中 各医药学类期刊影响因子较高的前 10 种期刊排序表

2006 年 12 月,中国科技信息研究所在北京公布了 2005 年度中国科技论文统计与分析结果。

其中医药学类中影响因子较高的前 10 种期刊(根据 STPCD 2005 年统计)分别如下。

学科	排序	期刊名称	影响因子	学科	排序	期刊名称	影响因子
基础医学与 医学综合类	1	中华医院管理杂志	1.556	内科学类	1	中华肝病杂志	1.573
	2	中华病理学杂志	1.171		2	中华心血管病杂志	1.272
	3	中华医学杂志	1.091		3	中华糖尿病杂志	1.209
	4	中国危重病急救医学	0.998		4	中华肾脏病杂志	1.077
	5	实用诊断与治疗杂志	0.997		5	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	1.062
	6	中华麻醉学杂志	0.918		6	中华内分泌代谢杂志	0.981
	7	生理学报	0.851		7	中华内科杂志	0.903
	8	高血压杂志	0.701		8	中华消化杂志	0.798
	9	免疫学杂志	0.683		9	中华消化内镜杂志	0.782
	10	中华血液学杂志	0.676		10	中国动脉硬化杂志	0.662
临床医学类	1	中华医院感染学杂志	1.368	外科学类	1	中国修复重建外科杂志	1.311
	2	中华检验医学杂志	1.054		2	中华烧伤杂志	1.218
	3	中国呼吸与危重监护杂志	0.831		3	中华骨科杂志	1.072
	4	中华创伤骨科杂志	0.783		4	中华创伤杂志	0.983
	5	中华皮肤科杂志	0.719		5	中国实用外科杂志	0.977
	6	中华急诊医学杂志	0.715		6	中华外科杂志	0.963
	7	中国抗感染化疗杂志	0.694		7	中华泌尿外科杂志	0.938
	8	中华风湿病学杂志	0.689		8	中国胸心血管外科临床杂志	0.793
	9	中国输血杂志	0.600		9	中华显微外科杂志	0.787
	10	中国介入心脏病学杂志	0.588		10	中华胸心血管外科杂志	0.745

内毒素诱发弥散性血管内凝血伴多器官功能 损害大鼠模型的建立

(正文见41页)

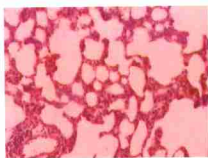


图1 正常对照肺组织病理变化(HE, ×100)
Figure 1 Pathological changes of lung tissues in control group (HE, ×100)

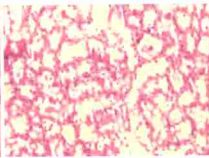


图2 正常对照肾组织病理变化(HE, ×100)
Figure 2 Pathological changes of renal tissues in control group (HE, ×100)

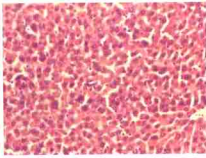


图3 正常对照肝组织病理变化(HE, ×100)
Figure 3 Pathological changes of liver tissues in control group (HE, ×100)

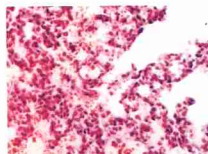


图4 中剂量LPS组大鼠肺组织病理变化
(HE, ×200)
Figure 4 Pathological changes of lung tissues in middle dosage group (HE, ×200)

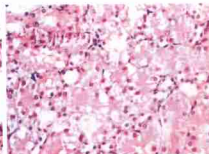


图5 中剂量LPS组大鼠肾组织病理变化
(HE, ×200)
Figure 5 Pathological changes of renal tissues in middle dosage group (HE, ×200)

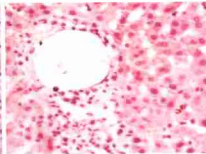


图6 中剂量LPS组大鼠肝组织病理变化
(HE, ×200)
Figure 6 Pathological changes of liver tissues in middle dosage group (HE, ×200)

肝功能衰竭肝性脑病大鼠5-羟色胺和去甲肾上腺素的变化

(正文见50页)

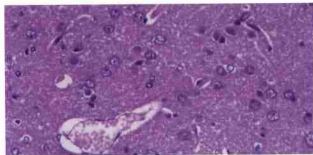


图1 ALF组大鼠脑组织病理学改变 (HE, ×200)
Figure 1 Pathological changes of cerebral tissues in rats of ALF group (HE, ×200)

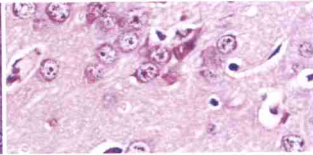


图2 CLF组大鼠脑组织病理学改变 (HE, ×400)
Figure 2 Pathological changes of cerebral tissues in rats of CLF group (HE, ×400)

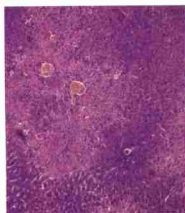


图3 ALF组大鼠肝组织病理学改变
(HE, ×200)
Figure 3 Pathological changes of liver tissues in rats of ALF group (HE, ×200)

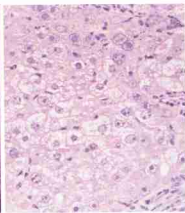


图4 CLF组大鼠肝组织病理学改变
(HE, ×400)
Figure 4 Pathological changes of liver tissues in rats of CLF group (HE, ×400)



图5 CLF组大鼠典型肝脏大体改变
Figure 5 General changes of liver in rats of CLF group