

前列腺素 E1 对大鼠肝移植肾功能的保护作用

阚彤 杨甲梅 严以群 吴孟超

【摘要】 目的 探讨术中应用前列腺素 E1 (prostaglandin E1, PGE1) 对大鼠肝移植肾功能的保护作用。**方法** 大鼠原位肝移植术中经颈内静脉灌注 PGE1 为治疗组, 生理盐水和空白为对照组, 观察术后 1 周存活率、1 h 的尿量, 测定血浆肌酐、尿素氮和肾组织中丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 含量, 肾组织病理检查。**结果** PGE1 治疗组术后 1 h 尿量较对照组明显增加, 肌酐和尿素氮水平均较对照组降低, PGE1 治疗组肾组织中 GSH 含量显著高于两对照组, MDA 含量低于两对照组。病理检查 PGE1 治疗组肾脏组织形态学损伤明显减轻。**结论** 术中应用 PGE1 能显著改善大鼠肝移植后的肾功能, 其机制可能与对抗氧自由基损伤作用有关。

【关键词】 前列腺素 E1; 肾功能; 肝移植; 大鼠

【中图法分类号】 R657.3 **【文献标识码】** A

Protective effect of prostaglandin E1 on renal function of rats after liver transplantation KAN Tong, YANG Jia-mei, YAN Yi-qun, WU Meng-chao. Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Shanghai 200438, China

【Abstract】 Objective To assess the protective effect of prostaglandin E1 (PGE1) on renal function of rats after liver transplantation. **Methods** PGE1 treatment group was established by infusing PGE1 into internal jugular vein at 0.5 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$ during liver transplantation. Normal saline group and sham operation group were established as control. One-week survival rates were observed and urinary output 1 hour after liver reperfusion was recorded. Postoperative plasma creatinine (CRE) and urea nitrogen (UN) were determined every day during the first week. The levels of glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) in kidney tissues were measured to assess ROI injury. Kidney tissue sections were stained with hematoxylin and eosin for histological examination. **Results** Compared with the control groups, the urinary output 1 hour after liver transplantation in PGE1 group increased significantly, while the levels of CRE and UN decreased; the levels of GSH in kidney tissues in PGE1 group were significantly higher than those in control group, while the MDA was comparatively lower. Histological examination of kidney demonstrated beneficial effects of PGE1 on nephric tubule. **Conclusions** Application of PGE1 during operation can promote the renal function of rats after liver transplantation, which may be related to the resistance of injury from oxygen free radical.

【Key words】 Prostaglandin E1; Renal function; Liver transplantation; Rats

肝移植术后肾功能损害是导致肝移植失败的重要原因之一。任何能够减轻肝移植术中肾功能损害的药物和手段都有重要意义。本研究旨在进一步探讨术中应用前列腺素 E1 (prostaglandin E1, PGE1) 对大鼠肝移植术后肾功能的保护作用, 为临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

雄性 Wistar 近交系大鼠, 由中国科学院上海实验动物中心提供。体质量 200 ~ 220 g 为供体, 220 ~ 250 g 为受体。供体组与受体组大鼠随机配对后分

为 PGE1 治疗组、生理盐水和空白对照组, 每组 13 对, 8 对用于观察生存率和取血生化检测; 5 对用于急性期实验, 组织标本取材。PGE1 治疗组受体术中经颈内静脉插管滴注 PGE1 [0.5 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$]; 生理盐水对照组大鼠术中经颈内静脉插管滴注生理盐水, 滴注速率均为 50 $\mu\text{l}/\text{min}$ 。空白对照组经颈内静脉插管后不滴注任何液体, 术毕经阴茎背静脉注射生理盐水 1.5 ~ 3.0 ml。

1.2 试剂

PGE1 由白求恩医科大学制药厂生产, 使用前用生理盐水将其质量浓度调至 2.5 mg/L, 置 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷藏。谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 与丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所。匀浆介质: pH 7.5, 0.25 mol/L 蔗

糖, 0.025 mol/L Tris-HCl, 0.0001 mol/L EDTA2Na 溶液。置 4 °C 冰箱中冷藏。

1.3 仪器

微电脑输液泵 (WE-50c) 购自浙江医科大学; 全自动生化分析仪 (7710A) 购自日本日立公司; 低温离心机 (ZK15) 购自美国 Sigma 公司。

1.4 移植手术

供体手术和供肝修整参照 1979 年 Kamada 等介绍的方法。肝上下腔静脉吻合参照 1996 年严以群等报道的改良 Kamada 术式, 采用一针连续缝合法。右侧颈内静脉插管, 连接到微电脑输液泵。滴注开始立即阻断下腔静脉和门静脉, 进入无肝期, 于无肝期 10 min 时开始植入肝脏。供肝植入后无肝期时间达到 30 min 时再开放门静脉血流, 结束无肝期。

1.5 标本采集和测定

受体大鼠分别于术前、移植肝再灌注后 1 h、术后 1 ~ 7 d 每日经尾静脉采血 0.6 ml, 37 °C 水浴 15 min, 2500 r/min 离心 10 min。取血浆加入全自动生化分析仪测定肌酐、尿素氮。急性期实验大鼠, 无肝期开始前膀胱造瘘, 收集无肝期开始至再灌注后 1 h 的尿量。再灌注后 2 h, 动脉放血处死, 迅速切取左肾, 在冰生理盐水中漂洗干净, 滤纸拭干。于左肾切取 3 g 左右的肾组织置液氮中冻存, 用于组织匀浆 GSH 和 MDA 测定。操作按南京建成生物研究所测定试剂盒说明书进行。切取 1.0 cm × 1.5 cm 的肾组织块, 用 10% 甲醛固定。肾组织形态学采用肾组织石蜡切片苏木精-伊红染色, 光镜观察。

1.6 统计学分析

计数资料应用 χ^2 检验, 计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组间以 Student-Newman-Keuls 检验作比

较。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠肝移植术后 1 周生存率

空白对照组有 5 例存活超过 1 周, 生理盐水对照组有 7 例存活超过 1 周, PGE1 治疗组全部长期存活。

2.2 血浆尿素氮

术后 1 h 各组血浆尿素氮水平即有增高, 但是 PGE1 治疗组升高的幅度明显小于两对照组; 1 ~ 7 d 两对照组血浆尿素氮水平均显著高于 PGE1 治疗组; 术后第 2 天时各组血浆尿素氮水平均开始下降, 第 5 天 PGE1 治疗组已降至正常范围, 但空白对照组第 7 天仍显著高于术前 (表 1)。

2.3 血浆肌酐

PGE1 治疗组术后 1 h 到 7 d 的血浆肌酐水平均低于空白和生理盐水对照组, 在第 1 天差异最为显著。各组血浆肌酐水平在术后 1 h 即有升高, 术后第 1 天最高, 第 5 天 PGE1 治疗组已基本降至正常范围, 但生理盐水和空白对照组到第 7 天仍有轻度增高 (表 2)。

2.4 移植肝再灌注后 1 h 尿量

再灌注后 1 h 的尿量差别明显, PGE1 治疗组为 $(0.5186 \pm 0.1192) \mu\text{L}/(\text{h} \cdot \text{g})$, 生理盐水和空白对照组分别为 $(0.3038 \pm 0.0437) \mu\text{L}/(\text{h} \cdot \text{g})$ 和 $(0.2074 \pm 0.0574) \mu\text{L}/(\text{h} \cdot \text{g})$, 两对照组大鼠在无肝期开始后尿量即明显减少, 与 PGE1 治疗组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.5 肾组织氧自由基检测结果

再灌注后 2 h, PGE1 治疗组肾组织中 GSH 含量显著高于两对照组, MDA 含量低于两对照组 (表 3)。

表 1 术后 1 周血浆尿素氮变化 ($\bar{x} \pm s$, mol/L)

组别	例数	术前	术 后							
			1 h	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
PGE1 治疗组	8	4.00 ± 1.85	6.80 ± 1.94 ^{ac}	14.21 ± 2.93 ^{ac}	8.68 ± 1.19 ^{ac}	7.5 ± 1.11 ^{bc}	6.51 ± 1.10 ^{ac}	5.29 ± 0.92 ^a	4.66 ± 1.29 ^b	4.21 ± 1.37 ^b
生理盐水对照组	7	4.75 ± 1.28	10.20 ± 2.03 ^c	21.53 ± 3.97 ^{bc}	15.59 ± 4.37 ^c	9.51 ± 3.39 ^c	7.79 ± 0.84 ^c	6.79 ± 1.01 ^c	6.20 ± 1.16 ^c	5.45 ± 1.82
空白对照组	5	4.25 ± 1.28	11.28 ± 2.60 ^c	31.43 ± 6.56 ^c	17.56 ± 3.28 ^c	10.88 ± 2.51 ^c	8.56 ± 1.15 ^c	7.56 ± 1.44 ^c	7.22 ± 1.89 ^c	6.70 ± 1.80 ^c

a: $P < 0.05$, 与生理盐水和空白对照组比较; b: $P < 0.05$, 与空白对照组比较; c: $P < 0.05$, 与术前比较

表 2 术后 1 周血浆肌酐变化 ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)

组别	例数	术前	术 后							
			1 h	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
PGE1 治疗组	8	14.00 ± 4.96	25.25 ± 4.95 ^{ac}	36.00 ± 7.73 ^{ac}	25.88 ± 7.45 ^{ac}	23.13 ± 7.36 ^{bc}	21.38 ± 6.50 ^{ac}	15.38 ± 4.69 ^a	15.13 ± 5.06 ^a	13.88 ± 3.91 ^a
生理盐水对照组	7	14.00 ± 5.13	37.13 ± 7.64 ^c	59.38 ± 12.89 ^c	40.75 ± 15.77 ^c	31.00 ± 7.62 ^c	28.43 ± 7.07 ^c	26.71 ± 5.85 ^c	25.14 ± 5.98 ^c	24.14 ± 5.11 ^c
空白对照组	5	12.63 ± 4.10	41.88 ± 9.25 ^c	68.29 ± 10.92 ^c	49.6 ± 13.59 ^c	36.00 ± 9.22 ^c	32.40 ± 5.27 ^c	31.20 ± 5.72 ^c	27.80 ± 4.09 ^c	28.20 ± 4.92 ^c

a: $P < 0.05$, 与生理盐水和空白对照组比较; b: $P < 0.05$, 与空白对照组比较; c: $P < 0.05$, 与术前比较

表 3 再灌注后 2 h 肾脏组织中谷胱甘肽、丙二醛含量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	谷胱甘肽 (mg/g)	丙二醛 (nmol/g)
PGE1 治疗组	0.58 ± 0.10 ^a	158.04 ± 42.38 ^b
生理盐水对照组	0.45 ± 0.08	195.00 ± 18.97
空白对照组	0.33 ± 0.04	210.45 ± 15.54

a: $P < 0.05$, 与生理盐水和空白对照组比较; b: $P < 0.05$, 与空白对照组比较

2.6 病理检查

根据 Jablonski 等 1983 年制定的肾脏近曲小管坏死程度分级标准分为 5 级: 0 级为正常; 1 级为单个细胞的坏死伴核分裂; 2 级为相邻近曲小管所有细胞的坏死, 但周围小管存活; 3 级为限于近曲小管远端 1/3 细胞的坏死并扩展到皮质和髓质交界处; 4 级近曲小管整段坏死。光镜下 PGE1 治疗组 0~1 级的肾脏多于生理盐水和空白对照组, 2~4 级的肾脏显著少于生理盐水对照组。PGE1 治疗组肾脏形态学损伤明显减轻。

3 讨论

肝移植术后急性肾功能不全是常见的并发症, 部分患者不得不接受透析治疗。因此, 肝移植术中和术后的肾功能保护有特别重要的意义。术中下腔静脉和门静脉阻断引起血压下降和肾静脉淤血, 导致肾脏的缺血、缺氧损害。肾小球动脉压力升高、肾血管收缩、肾小球滤过率下降是肝移植术中肾脏血流动力学的特征性变化。部分患者在手术无肝期时完全无尿或少尿。肝血流再通后可产生大量的氧自由基和炎症介质, 不仅引起移植肝的再灌注损伤, 同样能引起肾脏损害。Huk 等^[1]报道氧自由基损伤、血流动力学改变、细胞内钙超载, 白细胞等炎症细胞的浸润和细胞因子的释放, 血管内皮细胞分泌的内皮因子的作用等均与缺血再灌注损伤密切相关, 其中最主要的为氧自由基的大量产生和中性粒细胞浸润而造成的肾损伤。MDA 是细胞生物膜和血浆脂蛋白磷脂 C-2 位上多不饱和脂肪酸在羟自由基攻击下进行脂质过氧化的代谢终产物。测定血清 MDA 的含量, 可以间接反映细胞膜损害程度。而 GSH 是机体保护酶和其他蛋白质巯基, 对抗氧自由基损害的一种重要的抗氧化剂。GSH 水平一定程度上反映了机体的抗氧化机制的强弱。

国外两组大样本临床前瞻性研究发现, 肝移植术中 PGE1 治疗对肾脏功能有显著的保护作用, 术

后严重肾衰的发生率与进行透析治疗的比率较对照组均明显下降^[2-3]。Dell 等^[4]报道应用 PGE1 可以减轻环孢霉素的肾脏毒性。Tauber 等^[5]的研究表明, PGE1 减轻缺血再灌注损伤的作用机理不是改善微循环的“无灌流”现象, 而是通过对抗再灌注后的过氧化损伤实现的。本研究结果发现, 无肝期开始后大鼠尿量明显减少, 特别是空白对照组, 基本处于无尿状态。受体术中 PGE1 治疗可以显著增加尿量, 再灌注后 1 h, PGE1 治疗组为 (0.518 6 ± 0.119 2) $\mu\text{L}/(\text{h} \cdot \text{g})$; 生理盐水和空白对照组分别为 (0.303 8 ± 0.043 7) $\mu\text{L}/(\text{h} \cdot \text{g})$ 和 (0.207 4 ± 0.057 4) $\mu\text{L}/(\text{h} \cdot \text{g})$, 与 PGE1 治疗组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。其作用可能是通过增加肾血流量和肾小球滤过率实现的。术后 1 周内 PGE1 治疗组的肌酐和尿素氮水平均较对照组降低, 而且在第 5 天迅速降至正常范围。病理检查肾小管损伤明显减轻。这说明 PGE1 除能维持术中尿量外, 尚有减轻肾脏组织损伤的作用。我们通过测定肾组织中的 GSH 和 MDA 含量证明 PGE1 可以对抗氧自由基损伤, 同时能起到肾脏保护作用。此外, Hariharan 等^[6]研究表明无肝期术中的门静脉阻断可以导致肠源性内毒素释放和移位。PGE1 同样具有改善内脏微循环的作用。但它是否能够减少内毒素的产生和释放, 对抗内毒素造成的损害, 尚有待于进一步研究证实。

参考文献

- [1] Huk I, Brovkovich V, Nanobashvili J, *et al*. Prostaglandin E1 reduces ischemia/reperfusion injury by normalizing nitric oxide and superoxide release. *Shock*, 2000, 14(2): 234-242.
- [2] Klein AS, Cofer JB, Pruett TL, *et al*. Prostaglandin E1 administration following orthotopic liver transplantation: a randomized prospective multicenter trial. *Gastroenterology*, 1996, 111(3): 710-715.
- [3] Henley KS, Lucey MR, Normolle DP, *et al*. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of prostaglandin E1 in liver transplantation. *Hepatology*, 1995, 21(2): 366-372.
- [4] Dell K, Bohler T, Gaedeke J, *et al*. Impact of PGE1 on cyclosporine A induced up-regulation of TGF-beta1, its receptors, and related matrix production in cultured mesangial cells. *Cytokine*, 2003, 22(6): 189-193.
- [5] Tauber S, Menger MD, Lehr HA. Microvascular in vivo assessment of reperfusion injury: significance of prostaglandin E1 and I2 in postischemic “no-reflow” and “reflow-paradox”. *J Surg Res*, 2004, 120(1): 1-11.
- [6] Hariharan S, McBride MA, Cherikh WS, *et al*. Post-transplant renal function in the first year predicts long-term kidney transplant survival. *Kidney Int*, 2002, 62(1): 311-318.

(收稿日期: 2007-02-27)

(本文编辑: 陈敏)