

谷氨酰胺对急性肝功能不全大鼠的防治作用

刘寿荣, 黄文豹(杭州市第六人民医院, 浙江 杭州 310014)

摘要:目的 探讨谷氨酰胺对大鼠实验性急性肝功能不全的防治作用。方法 腹腔注射 *D*-氨基半乳糖(GalN)建立急性肝功能不全大鼠模型,并测定血清生化指标和肝组织病理检查。结果 肝功能检测显示:造模后 24,48h 肝脏损伤程度,与模型组相比,防治组的肝损较轻($P<0.05$)。肝脏病理切片结果:防治组的损伤程度明显轻于模型组,两者差异显著($P<0.05$)。结论 谷氨酰胺对 GalN 致急性肝功能不全大鼠有明显的保护作用。

关键词:谷氨酰胺;急性肝功能不全

中图分类号:R969.4 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2005)06-0508-03

Protective effects of glutamine on rats with acute hepatic failure

LIU Shou-rong, HUANG Wen-bao(*The No. 6 People's Hospital of Hangzhou, Hangzhou 310014, China*)

ABSTRACT:OBJECTIVE The present experiments were designed to study the protective effects of glutamine on rats with acute hepatic failure. **METHODS** Establishing the acute hepatic failure models by intraperitoneal injection of galatosamine. Biochemical indexes and histopathological examination were determined. **RESULTS** At 24 hours,48 hours after intraperitoneal injection of galatosamine, biochemical indexes(ALT,AST,TBIL) level in the glu-treated group were significantly lower than those of the model group ($P<0.05$). Histopathological examinations indicated that the glu-treated group had much slighter lesion compared with the model group($P<0.05$). **CONCLUSION** The present results showed that glutamine can effectively lighten galatosamine-induced liver necrosis.

KEY WORDS: glutamine; acute hepatic failure

谷氨酰胺(glutamine, Gln)是机体内含量最丰富的氨基酸,对机体的蛋白质、核酸代谢起着至关重要的作用。已有众多的临床研究及动物实验均证实它对危重症如严重创伤、肿瘤、多脏器功能衰竭等的治疗作用。迄今为止,对于谷氨酰胺能否有效保护肝脏,缺乏相关文献报道,笔者通过其对实验性急性肝功能不全大鼠的治疗研究,探讨它对肝脏的保护作用,旨在为 Gln 在临床应用提供理论依据。现将结果报

告如下。

1 实验材料

1.1 动物

Spargue-Dawley 系(SD)雄性大鼠,体重(200±20)g,清洁级,由浙江中医学院实验动物中心提供。所有大鼠饲养于本院动物房,22℃,55%相对湿度,12h 昼夜节律。适应环境 3d 后开始实验。

1.2 药品

L-谷氨酰胺(*L*-glutamine, Gln),分析纯,上海捷倍思基因技术有限公司生产。*D*-氨基半乳糖(GalN),购于重庆医科大学生物化学教研室,批号为 020226;使用时配制成 10% 溶液,并用 1mol/L 的 NaOH 调 pH 至 7.0,配制完成后立即进行大鼠腹腔注射。

1.3 仪器

日本日立公司生化自动分析仪

2 实验方法

SD 大鼠 50 只,随机分成 3 组,即正常对照组成 10 只、模型组 20 只、防治组 20 只。适应性喂养 3d 后正式实验,实验前 1d 均经检测肝功能,符合试验标准(ALT < 60U)。动物造模:按文献方法^[1]使用 10% 的 GalN 1500mg/kg 鼠重一次性腹腔注射,注射完毕后自由饮水进食。注射后第 1 天、第 2 天、第 3 天经眼眶静脉取血检测肝功能 ALT, AST, TBIL。防治组于造模前 2d 予 10% Gln 0.75mL/100g 鼠重灌胃每 12h 一次。造模组和对照组予 0.9% 生理盐水 0.75mL/100g 鼠重灌胃每 12h 一次。第 4 天后摘眼球取血 2mL 测肝功能,颈椎脱臼法处死动物,取部分肝右叶常规包埋切片,HE 染色,显微镜下观察组织病理改变,肝脏炎症活动度的评估采用 2002 年中华医学会肝脏病学分会制定的半定量计分系统(SSS)^[2]。

表 1 各组大鼠肝功能结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The results of liver function test($\bar{x} \pm s$)

组 别	时间 (d)	ALT (U/L)	AST (U/L)	TBIL (UMOL/L)
正常组	1	36.60 ± 17.29	98.80 ± 67.14	0.62 ± 0.37
	2	25.80 ± 6.18	135.30 ± 32.43	0.52 ± 0.53
	3	22.50 ± 7.66	101.60 ± 10	0.76 ± 0.39
	4	41.20 ± 5.81	164.00 ± 71.82	1.07 ± 0.40
模型组	1	404.25 ± 247.29 *▲	915.25 ± 932.58 ▲*	1.95 ± 0.90 *▲
	2	2038.88 ± 1955.52 *▲	3621.88 ± 2683.83 ▲*	36.08 ± 33.13 *▲
	3	413.44 ± 755.07 *	135.38 ± 2110.61 *	26.35 ± 34.20 *
	4	52.75 ± 17.94	207.88 ± 2372.89	4.79 ± 4.92
防治组	1	195.00 ± 218.97 *	379.00 ± 391.68 *	0.81 ± 0.59
	2	435.00 ± 847.97 *	1462.91 ± 2372.90 *	11.91 ± 19.91 *
	3	128.27 ± 224.08 *◆	431.55 ± 620.73 *◆	10.94 ± 24.00 *◆
	4	43.18 ± 13.56	276.82 ± 74.55	1.85 ± 2.21

注:与正常组同期相比,*表示 $P < 0.05$;模型组与防治组相比,▲表示 $P < 0.05$;防治组与模型组相比,◆表示 $P > 0.05$

Note: Compare with the control group, * $P < 0.05$; compare model group with the treatment group, ▲ $P < 0.05$; compare treatment group with model group, ◆ $P > 0.05$

3.2 Gln 对大鼠肝组织学的影响

在光镜下,模型组较正常对照组的肝小叶结构模糊,肝索排列紊乱,肝细胞肿胀明显,胞浆疏松,大部分肝血窦变窄,甚至闭塞,有淤血改变,呈桥接或带状坏死,坏死范围较大;Gln 防治组的病变肝损伤明显减轻,肝细胞轻度肿胀,病变限于肝小叶周边区,呈点状或局灶样坏死。其炎症活动度积分见下表 2。防治组积分明显低于模型组。表明 Gln 能保护肝脏,减轻 GalN 对肝组织的损害。

采用 SPSS11.5 for windows 软件在微机上进行数据处理。数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,据不同情况采用 χ^2 检验、单因素方差分析及秩和检验。

3 实验结果

3.1 大鼠死亡率观察

对照组大鼠处死前全部存活。防治组大鼠死亡 9 只,死亡率为 45%,死亡时间为 24 ~ 48h。模型组大鼠在 24 ~ 72h 之间死亡 12 只,死亡率为 60%。解剖 21 只死亡大鼠,肝脏病理均证实有肝细胞大片坏死(面积 > 60%)表明 GalN 复制肝衰模型是成功的。大鼠在造模后 48h 内伴有不同程度的精神萎靡,进食减少和反应迟钝;48h 后出现精神好转,嗜睡症状消失,饮食增加并伴随活动增加;。3 组大鼠死亡率比较, $\chi^2 = 13.583, P < 0.01$,模型组与防治组比较, $\chi^2 = 0.902, P > 0.05$ 。

3.2 谷氨酰胺对大鼠血清 ALT, AST 和 TBIL 的影响

动物造模后第 1 天、第 2 天模型组和防治组血清 ALT, AST 和 TBIL 显著高于正常对照组($P < 0.01$)。防治组低于模型组($P < 0.05$)。提示 Gln 可影响肝功能,并且能降低 GalN 所致大鼠肝坏死的血清转氨酶及总胆红素,见表 1。第 3 天后,模型组与防治组肝功能指标均明显下降,两者之间无差异($P > 0.05$)但与对照组比较差异显著,4d 后各组之间已无差异,大鼠肝功能渐近恢复,这与文献报告相似。

表 2 3 组肝脏炎症活动程度积分($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 The pathological scores of liver of 3 groups($\bar{x} \pm s$)

组 别	例数	炎症积分
正常组	10	0
模型组	8	7.38 ± 1.40
防治组	11	3.18 ± 1.16 *

注:与模型组比较,* $P < 0.01$

Note: Compare with the model group, * $P < 0.01$

4 讨论

Gln 是体内含量最丰富的非必需氨基酸,约占总游离氨基酸的 50%,是合成氨基酸、蛋白质、核酸和许多其它生物分子的前体物质,在肝、肾、小肠和骨骼肌代谢中起重要的调节作用,是机体内各器官之间转运氨基酸和氮的主要载体,也是生长迅速细胞的主要燃料。近年来,越来越多的动物实验和临床研究均证实,Gln 强化的营养支持具有改善机体代谢、氮平衡,促进蛋白质合成,增加淋巴细胞总数,改善机体免疫状况,并能维持肠道功能的效果^[3,4]。在烧伤、严重创伤、恶性肿瘤等危重病人治疗中,Gln 同样起着重要作用^[5]。由于 Gln 可有效穿过细胞膜,并在活化的 Gln 酶作用下,于细胞内产生氨和谷氨酸,可能致血氨升高,所以临床对于肝功能不全用之谨慎。Gln 对急性肝衰竭有无护肝作用,未见相关报道。通过 GalN 造大鼠肝衰模型,使用 Gln 治疗,防治组大鼠死亡率较模型组低,但两者差异无统计学意义($P>0.05$);造模后 1d,2d 肝功能指标模型组较防治组高,两者差异显著($P<0.05$);肝脏病理切片显示:模型组肝小叶结构模糊,肝索排列紊乱,肝细胞呈桥接或带状坏死,坏死范围较大;防治组的病变肝损伤明显减轻,肝细胞轻度肿胀,病变限于肝小叶周边区,呈点状或局灶样坏死。炎症活动度积分示防治组明显低于肝衰组。揭示了它能有效地保护肝脏。GalN 是一种氨基酸糖,主要在肝脏代谢导致尿嘧啶核苷耗竭及肝脏转录功能障碍,致肝细胞核酸、蛋白质代谢紊乱,肝脏 Gln 合成酶减少,使谷氨酰胺减少^[6]。急性肝功能不全时机体内存在明显的肠源性毒素血症,除直接对肝脏造成损伤外,内毒素还可激活肝库普弗细胞病产生大量的自由基、氧自由基,由其引起的脂质过氧化加速肝损。而研究证明 Gln 可增加肠道

屏障^[7],减少内毒素的吸收。另外,Gln 还是肝细胞合成谷胱甘肽(GSH)的重要前体物质之一,而 GSH 是细胞内重要的抗氧化剂,其主要功能为保护生物膜、核苷酸和多种蛋白质免受自由基攻击所致的损伤^[8]。因此,通过补充 Gln,可保持和增加肝细胞内 GSH 的储备,提高机体抗氧化能力,稳定细胞膜和蛋白质结构,而起到保护肝脏的作用。但具体保护机制尚不十分明确,有待进一步的研究。

参考文献

- [1] Hickman TJ. Animal models of Fulminant hepatic failure [J]. Dig Dis Sci, 1991, 36: 770.
- [2] 肝纤维化诊断及疗效评估共识[J]. 中华肝脏病杂志, 2002, 10: 328.
- [3] 施鑫,黎介寿. 谷氨酰胺与巨噬细胞的代谢及免疫调节作用[J]. 肠外与肠内营养, 2003, (7): 332.
- [4] 王正国,朱佩芳. 谷氨酰胺对手术病人细胞免疫功能的影响[J]. 中华实验外科杂志, 1999, 2(16): 154.
- [5] 林宗秀,张安,罗争春,等. 谷氨酰胺对危重患者肠粘膜保护作用的临床研究[J]. 重庆医学, 1999, 3(28): 386.
- [6] Sharma Rp, He Q, Meredith FI, et al. Paradoxical role of tumor necrosis factor alpha in fumonisin-induced hepatotoxicity in mice [J]. Toxicology, 2002, 180: 221.
- [7] Salvalaggio PR, Umpleby AM, Carroll PV, et al. Nutrition, 2002, 18(5): 433.
- [8] Hong RW, Rounds JD, Helton WS, et al. Glutamine preserves liver glutathione after lethal hepatic injury [J]. Ann Surg, 1992, 215 (2): 114.