

# 一氧化氮及内皮素在肝硬化患者肝损害中的作用 及对肝门脉血流动力学的影响

王启之<sup>1</sup>, 郑玉宝<sup>2</sup>, 吴炎<sup>3</sup>, 燕善军<sup>1</sup>, 田怡<sup>4</sup>

[摘要]目的: 探讨一氧化氮(NO)、内皮素(ET)对肝硬化患者肝损害及门脉血流动力学的影响。方法: 对 51例肝硬化患者(其中 Child-Pugh A B C级分别为 19 21 11例)和 31名正常对照分别用硝酸还原酶及放射免疫法检测血浆中 NO ET水平; 用彩色多普勒检测受试对象门脉血流动力学的变化及用自动分析生化仪检测受试对象肝功能。结果: 肝硬化各组(Child-Pugh A B C级)血浆中 NO ET水平明显高于对照组( $P < 0.01$ ); 肝硬化各组患者血浆中 NO ET水平随肝功能恶化逐渐升高, 各级之间比较差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ); 在肝硬化患者血浆中 NO/ET较对照组升高( $P < 0.01$ ); NO/ET在 Child-Pugh A C级间差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), 但在 Child-Pugh B C级间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 肝硬化各组的门静脉血流量(PVBF)、脾静脉血流量(SVBF)显著高于对照组( $P < 0.01$ ), 肝硬化组 Child-Pugh C级升高更明显, Child-Pugh C级与 Child-Pugh A级比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )而 Child-Pugh C级与 B级比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 肝硬化组血浆中 NO ET含量与 PVBF SVBF呈显著正相关, 而对照组与上述各递质间无直线相关关系。肝硬化有腹腔积液组患者 NO ET含量明显高于对照组( $P < 0.01$ )和无腹腔积液组( $P < 0.05$ )。结论: 肝硬化患者血浆中 NO和 ET水平可反映肝硬化的严重程度, 对肝功能预测有重要意义。NO ET在肝硬化门脉血流动力学紊乱的形成机制起着重要作用。

[关键词] 肝硬化; 门脉高压; 一氧化氮; 内皮素; 肝功能试验

[中国图书资料分类法分类号] R 575.21 [文献标识码] A

## Influence of nitric oxide and endothelin on levels of liver function and portal hypertension in patients with liver cirrhosis

WANG Qizhi, ZHENG Yubao, WU Yan, YAN Shan-jun, TIAN Yi

(1. Department of Gastroenterology 2. Department of Geriatrics Affiliated Hospital of Bengbu Medical College Bengbu 233004

3. Department of Gastroenterology Central Hospital of Nanshan District Shenzhen 518052

4. Department of Gastroenterology Central Hospital of Minhang District Shanghai 201100 China)

[Abstract] Objective: To investigate the influence of nitric oxide(NO) and endothelin(ET) levels on liver function and portal hypertension in patients with liver cirrhosis. Methods: The plasma levels of NO and ET of 51 cirrhotic patients who were divided into group A (n=19), B (n=21) and C (n=11) according to the liver function, and 31 normal controls were measured by Griess and radioimmunoassay respectively. Color Doppler ultrasonography was used to measure the portal hypertension (including portal venous and splenic venous blood flow) and automatic biochemistry analyzer was used to measure the liver function. Results: The NO and ET level in the plasma of the cirrhotic patients (including Child-Pugh A B and C) was significantly higher than that of the controls ( $P < 0.01$ ). The NO and ET level in the plasma of the cirrhotic patients increased with the degeneration of the liver function and the difference was obvious between different grades ( $P < 0.01$ ). The ratio of NO/ET in the plasma of the cirrhotic patients (including Child-Pugh A B and C) was significantly higher than that of the controls ( $P < 0.05$ ). The difference of NO/ET levels was significant between group A and group C ( $P < 0.01$ ), but the difference was not obvious between group B and group C ( $P > 0.05$ ). The plasma level of portal venous and splenic venous blood flow (PVBF and SVBF) was significantly higher in the cirrhotic patients than that in the controls ( $P < 0.01$ ). The increase was more obvious in group C. The difference was significant between group C and group A ( $P < 0.01$ ) but there was no difference between group C and group B. The plasma of NO and ET had a positive correlation with portal venous and splenic venous blood flow (PVBF and SVBF) in the cirrhotic patients and it had a positive correlation with PVBF and SVBF in the controls. The plasma levels of NO and ET were significantly higher in ascites patients than those in the controls ( $P < 0.01$ ) and the no ascites patients ( $P < 0.05$ ). Conclusions: The serum levels of NO and ET are of great value in the evaluation of the liver function and the plasma levels of NO and ET may play an important role in the pathogenesis and promotion of portal hypertension in patients with cirrhosis.

[收稿日期] 2005-03-07

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学研究资助项目(2000 JL459)

[作者单位] 蚌埠医学院附属医院 1. 消化科, 2. 老年病科, 安徽蚌埠 233004 3. 广东省深圳市南山区中心医院 消化科, 518052 4. 上海市闵行区中心医院 消化科, 201100

[作者简介] 王启之(1963-)男, 主任医师, 副教授, 硕士生导师。

[Key words] cirrhosis; portal hypertension; nitric oxide; endothelin; liver function tests

近年来,血管活性物质与肝硬化的关系受到广泛关注,特别是一氧化氮(NO)和内皮素(ET)对肝硬化患者肝损害和门脉血流动力学的影响成为研究的热点。本文对51例肝硬化患者和31名正常人血浆中NO/ET进行检测及肝脏门脉血流动力学的检查,以探讨NO/ET对肝硬化患者肝功能的影响及在门脉高压(PIH)中所发挥的作用,为肝硬化肝损害和PIH治疗提供新的途径。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 肝硬化51例选自2003年6月~2004年1月我院住院患者,肝硬化诊断均符合2000年9月西安中华医学会传染病与寄生虫病学分会肝病分会联合修订的标准。其中男32例,女19例;平均年龄49岁。肝炎肝硬化46例,胆汁淤积性肝硬化2例,酒精性肝硬化2例,隐源性肝硬化1例。Child-Pugh分级:A级19例,B级21例,C级11例。无腹腔积液21例,伴有腹腔积液30例,其中中等20例,大量10例。平均病程16年。31名正常对照组为本院门诊体检人员,其中男20名,女11名;平均年龄44岁。两组均无原发性心肺肾疾病,无肿瘤病史,无消化道出血,近时无服用硝基类药物史;对照组无肝病史。

### 1.2 方法

1.2.1 肝脏门脉血流检测 所有受试者均于空腹休息1h后采用日本ALOKA公司生产的Aluka Prosound 3500型彩色多普勒检查门静脉主干及脾门处脾静脉的内径(SVD),并探测门、脾静脉的血流速度(PVV/SVV),用公式 $[\pi(D/2)^2 \cdot 60Vmean]$ 计算门脾静脉血流量(PVBF/SVBF)。所有测定均由专人专机操作。

1.2.2 标本采集及NO和ET测定 门脉血流动力学检测后立即采肘前静脉血2ml并置入2.5%

EDTA-Na<sub>3</sub> 30μg和抑肽酶40μg试管内混匀,4℃3600 r/min离心10 min分离血浆保存-20℃冰箱中待测。NO检测试剂盒由南京冷泉港科技中心提供,采用硝酸还原酶法检测血清NO水平;ET检测试剂盒由天津九鼎医学生物工程有限公司提供,放射免疫法检测血清中ET水平。以上所有检测均由专人专机统一检测,用同一批试剂盒,严格按照其试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法 采用方差分析和 $\chi^2$ 检验及直线相关分析。

## 2 结果

2.1 肝硬化组及对照组患者血中NO/ET水平及NO/ET比值和门脉血液动力学测定 (1)肝硬化各组(Child-Pugh A、B、C级)血浆中NO/ET水平明显高于对照组( $P < 0.01$ )。(2)肝硬化各组患者血浆中NO/ET水平随肝功能恶化逐渐升高,各级之间比较差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。(3)在肝硬化患者血浆中NO/ET较对照组升高( $P < 0.01$ );NO/ET在Child-Pugh A、C级间差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),但在Child-Pugh B、C级间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。(4)肝硬化各组的PVBF/SVBF显著高于对照组( $P < 0.01$ ),肝硬化组Child-Pugh C级升高更明显,Child-Pugh C级与Child-Pugh A级比较差异显著( $P < 0.01$ ),而Child-Pugh C级与Child-Pugh B级比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。(5)血浆中NO/ET含量与PVBF/SVBF呈显著正相关( $NO/ET = 0.67, P < 0.01$ ;  $ET = 0.87, P < 0.01$ ),而对照组与上述各递质间无直线相关关系( $NO/ET = -0.19, P > 0.05$ ;  $ET = 0.10, P > 0.05$ ) (见表1)。

2.2 对照组、肝硬化腹腔积液和无腹腔积液组NO/ET含量比较 有腹腔积液组NO/ET含量明显高于对照组及无腹腔积液组( $P < 0.01$ ) (见表2)。

表1 对照组与肝硬化组血浆NO/ET和门脉血流动力学测定结果比较( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	NO( $\bar{x} \pm s, \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	ET( $\bar{x} \pm s, \text{pg/L}$ )	NO/ET	PVBF( $\text{ml}/\text{min}$ )	SVBF( $\text{ml}/\text{min}$ )
对照组	31	17.89 ± 6.03	51.24 ± 7.53	0.36 ± 0.14	869.19 ± 280.95	463.91 ± 116.86
肝硬化组						
A级	19	36.10 ± 10.06**	84.88 ± 7.45**	0.43 ± 0.13*	1347.59 ± 222.18**	824.43 ± 337.71**
B级	21	57.77 ± 9.27***	76.97 ± 7.79***	0.75 ± 0.02***	1374.24 ± 259.47***	913.56 ± 243.99**
C级	11	68.57 ± 9.07***	92.46 ± 8.86***	0.75 ± 0.02***	1381.40 ± 305.95***	928.27 ± 392.37**
F	—	147.74	119.39	75.75	22.37	17.54
P	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
M <sub>S</sub> 组内	—	69.921	60.240	0.012	71.013.921	66.573.297

\*检验:与对照组比较 \*\*  $P < 0.01$ ;与A级比较 ▲  $P < 0.05$  ▲▲  $P < 0.01$ ;与B级比较 △△  $P < 0.01$

## 3 讨论

近年来,血管活性物质对肝脏疾病的影响越来

越受到关注,特别是NO与ET这对血管活性因子成为研究的热点。首先NO作为一种强有力的血管内皮细胞舒张因子具有强烈扩张血管作用,并广泛参

表 2 对照组和肝硬化伴腹腔积液组及无腹腔积液组血清 NO ET水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	NO( $\mu\text{mol/L}$ )	ET( $\text{pg/L}$ )
对照组	31	17.89 $\pm$ 6.03	51.24 $\pm$ 7.53
肝硬化组			
有腹腔积液组	30	54.24 $\pm$ 6.95 $\Delta\Delta$	87.24 $\pm$ 7.84 $\Delta\Delta$
无腹腔积液组	21	46.74 $\pm$ 6.63 $\Delta$	73.70 $\pm$ 7.16 $\Delta$
F	—	258.11	176.19
P	—	<0.01	<0.01
MS <sub>组内</sub>	—	42.668	57.074

$\Delta$ 检验:与正常对照组比较 \* \*  $P < 0.01$ ;与无腹腔积液组比较  $\Delta\Delta P < 0.01$

与机体生理机能的调节。肝脏作为人体内重要的代谢器官也是合成 NO及含有催化 NO合成的酶。本组研究结果表明,肝硬化患者血清 NO水平与对照组比较明显升高,且 Child-Pugh A B 级中呈递增效变化,说明血浆中 NO水平与肝硬化肝功能状态有关。Vallance等<sup>[1]</sup>指出在肝硬化时肝脏解毒功能下降和侧支循环形成引起肠源性内毒素血症,及其刺激产生的细胞因子特别是肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )可激活 NOS,导致全身或局部 NO水平升高。

肝硬化患者约有 40%~50%存在异常血流动力学表现,即高动力循环状态(HSC),表现为心输出量、内脏血流量增加,外周及腹腔血管阻力降低,末梢血管扩张等表现;门脉系统亦不例外,本资料显示肝硬化时门脉血流动力学与血清 NO水平呈显著正相关,即门静脉内径(PVD)、PVV、PVBF均与 NO水平呈正相关性,特别在 Child-Pugh C级与 Child-Pugh B级中 NO与门脉血流量(PVBF、SVBF)呈显著正相关,如表 1所示。肝硬化时血浆中 NO水平升高,随 NO水平升高,肝硬化病情在逐步加重,增多的 NO作用于外周血管平滑肌中鸟苷酸环化酶,合成 cGMP增加,介导血管扩张,促进门脉血流量增加,流速加快;同时可使交感神经活性增强,RA-A系统激活和抗利尿激素(ADH)分泌增加,致水钠潴留<sup>[2]</sup>。本组资料亦提示肝硬化伴腹腔积液者血浆中 NO较对照组及无腹腔积液者水平高。因此血中 NO水平的高低可作为判断肝硬化门脉压力的一个重要指标。

ET是由内皮细胞产生的一种 21氨基酸的多肽,具有缩血管和扩血管作用,分别由相应的 ETA受体和 ETB受体介导,肝内主要分布于肝星状细胞和肝细胞,从而调节肝脏血流量的变化<sup>[3]</sup>。还有文献报道 ET可加重肝细胞缺氧损伤,通过强烈收缩肝微循环使肝细胞缺氧,同时还可促进缺氧肝细胞脂质氧化、水肿加重,故 ET对肝细胞有直接损伤的作用。本组资料显示肝硬化患者血清中 ET水平随 Child-Pugh A B C级呈递增效变化,Child-Pugh B C

级患者血浆中 ET含量均明显高于对照组( $P < 0.01$ ),而 A级与 B C级, B级与 C级 ET含量差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ),说明 ET参与肝功能损害作用。

肝硬化患者血浆 ET含量同肝硬化门脉血流量呈显著性正相关( $r = 0.67 P < 0.01$ ),而正常对照组 ET与肝门脉血流无直线相关性,提示 ET水平对肝硬化 PII的形成及维持有一定作用。ET水平升高能作用于肝内 ET-AR[主要分布于肝窦内皮细胞(SEC和星状细胞(HSC)]引起 SEC和 HSC收缩,增加肝内血流阻力,导致肝脏微循环障碍,造成门脉高压<sup>[4]</sup>。本组肝硬化 Child-Pugh C级较 Child-Pugh A级门脉血流明显增加( $P < 0.01$ ),说明肝硬化门脉血流动力学变化同肝功能损害程度密切相关。

正常情况下,ET和 NO作为机体内重要的血管活性物质,它们之间存在着反馈调节机制:ET与血管内皮 ETB受体结合,可促进 NO释放<sup>[5]</sup>,而 NO又可抑制 ET释放,相互作用,相互依赖,维持着动态平衡,共同精确调节血管,一旦平衡被打破,就可能促进疾病发生、发展。本研究发发现肝硬化各组血浆中 NO及 ET水平及 NO/ET较对照组明显升高( $P < 0.01$ ),随肝功能恶化,NO ET水平逐渐升高,且 NO水平增高幅度大于 ET增高幅度,使 NO/ET比值逐渐升高,两者对血管总的效应是介导血管扩张,促使门脉血流量增加、交感神经活性增强,RA-A系统激活和 ADH分泌增加,致钠水潴留及心输出量加快,可促进门脉高压的形成。但 Child-Pugh B C级之间 NO/ET比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),可能与肝硬化损害达一定程度后,NO合成不再增加有关,或因病例数较少,需扩大病例数进一步观察。

综上所述,笔者认为 NO和 ET水平的升高与肝功能障碍密切相关。NO和 ET的测定对肝脏储备功能的评价有重要意义;血浆中 NO ET水平高低可反映肝硬化肝损害的程度。同时 NO ET对肝硬化 PII的形成和维持具有重要作用,并为门脉高压的治疗提供新的途径。

#### [参 考 文 献]

- [1] Vallance P, Moncada S. Hyperdynamic circulation in cirrhosis. *J. Lancet* 1991; 337(8 844): 776-778
- [2] 汤习锋, 康格非. L精氨酸:一氧化氮通路与肝病进展[J]. 重庆医科大学学报, 1994 19(2): 157-160
- [3] Camer EP, Sato K, Morio Y et al. Inhibition of K( ca) channels restores blunted hypoxic pulmonary vasoconstriction in rats with cirrhosis. *J. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000 279(5): 1903-1910
- [4] Rockey D. The cellular pathogenesis of portal hypertension. *J. Hepatol* 1997 25(1): 2-5
- [5] Kojima H, Sakurai S, Kuriyama S et al. Endothelin plays a major role in portal hypertension of biliary cirrhotic rats through endothelin receptor subtype B together with subtype A in vivo. *J. Hepatol* 2001 34(6): 805-811