

基础研究

DOI:10.11699/cyxh20130717

冷保存/再灌注损伤对大鼠移植肝术后胆汁酸代谢轮廓的影响

樊子勉¹,王 猛¹,邓 丹²,张晓清¹,崔 悦¹,丁 敏¹

(重庆医科大学 1. 检验医学院临床检验诊断学教育部重点实验室;

2. 公共卫生与管理学院卫生统计与信息管理学院,重庆 400016)

【摘要】目的:探讨大鼠移植肝脏经历冷保存/再灌注损伤(cold preservation reperfusion injury, CPRI)后早期胆汁酸的变化规律。**方法:**采用柱前衍生反相高效液相色谱荧光检测法对供肝冷保存 12 h 组、1 h 组和对照组大鼠术后胆汁中胆汁酸成分进行测定,并结合主成分分析法和偏最小二乘判别分析法对胆汁酸代谢轮廓进行分析。**结果:**胆汁中胆汁酸代谢轮廓可区分 CPRI 12 h 组、1 h 组和对照组,牛磺脱氧胆酸与胆管损伤密切相关且肝移植术后 CPRI 12 h 组的疏水指数明显增高,并与供肝冷保存时间呈正相关。**结论:**CPRI 影响肝移植大鼠胆汁中胆汁酸代谢轮廓。

【关键词】冷保存再灌注损伤;肝移植;胆汁酸;代谢轮廓分析

【中国图书分类法分类号】R657.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-09-07

Effects of cold preservation reperfusion injury on the metabolite profiling of bile acids in rats after liver transplantation

FAN Zimian¹, WANG Meng¹, DENG Dan², ZHANG Xiaoqing¹, CUI Yue¹, DING Min¹

(1. Key Laboratory of Clinical Laboratory Diagnostics, Ministry of Education, College of Laboratory Medicine;

2. Teaching and Research Section of Health Statistics and Information Administration,
School of Public Health and Management, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the effects of cold preservation reperfusion injury (CPRI) on the variation of bile acid composition in rats after liver transplantation. **Methods:** Reverse phase-high performance liquid chromatography with precolumn derivatization and fluorescence detection was used to determinate the bile acid composition in rat bile after the surgery by using the donor livers which were coldly preserved for 12 h, 1 h and the control livers. Metabolite profiling analysis of bile acid was performed by the methods of principal component analysis and partial least squares-discriminant analysis. **Results:** It was obvious that CPRI for 12 h, 1 h groups and the control group can be separated with the metabolite profile of bile acids and bile duct injury was probably closely related with taurodeoxycholic acid. Hydrophobicity index of CPRI for 12 h group was increased significantly after liver transplantation and was closely correlated with cold preservation time of the donor livers. **Conclusion:** Metabolite profiling of bile acids in rat bile after liver transplantation is significantly influenced by CPRI.

【Key words】 cold preservation reperfusion injury; liver transplantation; bile acid; metabolite profiling analysis

肝移植是治疗终末期肝病的最有效手段,而术后胆道并发症严重影响肝移植受者生存及生活质量,被公认为肝脏移植的薄弱环节。其中非外科技术导致的以移植胆管树损害为主要特征的供体胆管并发症则成为术后胆道并发症的主要类型。冷保存/再灌注损伤(cold preservation reperfusion injury, CPRI)被公认为缺血性胆管病变的始动因素,而后者是肝移植受者胆道并发症非外科性移植

胆管树损害的主要原因,但其机制尚不清楚^[1]。近年来,疏水性胆汁酸在胆道损伤中的作用受到人们的重视。

胆汁酸是由胆固醇在肝中转变而来的一类胆烷酸,是胆汁的重要成分。胆汁酸的立体构型具有亲水与疏水两个侧面,有助于脂质在肠道中的消化吸收。人的胆汁酸池 95%以上由疏水性胆汁酸组成。正常情况下,由于机体的自我保护机制,肝细胞分泌的各种胆汁酸成分的比例总是维持在一个相对恒定的范围内^[2],从而使得各种胆汁酸之间维持着亲水-疏水平衡^[3]。这种平衡机制一旦被破坏,就可能会对肝胆系统造成潜在的危害,如原发性胆汁

作者介绍:樊子勉,Email:296846394@qq.com,

研究方向:生物活性胆汁酸的分析研究。

通信作者:丁 敏,Email:dingmin@cqmu.edu.cn。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:20475069)。

性肝硬化、原发性硬化性胆管炎等。

本研究采用柱前衍生反相高效液相色谱荧光检测法(reverse phase high performance liquid chromatography-fluorescence detection, RP-HPLC-FD)测定不同供肝冷保存时间条件下肝移植大鼠术后早期分泌胆汁中胆汁酸的组分,并结合主成分分析法(principal component analysis, PCA)和偏最小二乘判别分析法(partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)对胆汁酸进行代谢轮廓分析,探讨其胆汁酸的变化规律。

1 材料与方法

1.1 实验器材

1.1.1 动物实验材料 超净工作台(美国 Speg Air Tech 公司)、XTS-4 双人双目手术显微镜(云南光学仪器厂)、显微外科手术器械包(上海手术器械厂)、Satinsky 钳(德国 AESCULAP)、腹腔穿刺套管针、22 号静脉穿刺针和腹腔穿刺套管针(上海医疗器械厂)、UW 液(美国 Bristol-Myers Squibb 公司)、硬膜外麻醉导管(嘉兴苏嘉医疗器械厂)、8-0 与 11-0 医用无损伤缝合针线(上海浦东金环医疗用品有限公司)、人体硅胶管(上海新亚医用橡胶)。大鼠手术台、限制性大鼠笼、门静脉和下腔静脉袖套、胆道支架、胆道外引流管和空肠造瘘管均为自制。

1.1.2 色谱实验材料 Waters Nova C18 色谱柱(3.9 mm × 150 mm, 5 μm, 美国 Waters 公司)、保护柱及 C18 柱芯(美国 Phenomenex 公司)、Chromabond C18 ec 固相萃取柱(3 ml/200 mg, 德国 Macherey-Nagel 公司)、Agilent LC-1100 高效液相色谱仪、附荧光检测器及自动脱气装置(美国 Agilent 公司)、HIMAC-cf 15 低温台式离心机(日立工机株式会社)、MILLIPORE 超纯水过滤装置及 MILLIPORE 真空泵(美国 Millipore 公司)、Shimadzu RF-540、Shimadzu UV-265、Shimadzu LBRO-RAEL-200 天平(日本岛津公司)、BF2000 氮气吹干仪、SB-3200 超声波清洗器(宁波新芝科器研究所)、DKZ-2 型电热恒温振荡水槽(上海一恒科技有限公司)。衍生剂 4-溴甲基-7-甲氧基香豆素(4-bromomethyl-7-methoxycoumarin, BMC)和催化剂 18-冠醚-6(dicuclohexano-18-crown-6, DCC)、胆汁酸标准品、胆酰甘氨酸水解酶均购自美国 Sigma 公司。甲醇、乙腈(色谱纯, 美国天地公司)、氢氧化钾、磷酸二氢钾和月桂酸均为国产分析纯。

1.2 实验动物与分组

1.2.1 实验动物 6~8 周龄雄性 SD 大鼠, 二级动物, 体质量 200~250 g, 上海西普尔必凯实验动物有限公司提供。大鼠饲养于恒温、清洁环境, 喂饲标准饲料, 维持 12 h 昼夜节律。

1.2.2 分组 将大鼠随机分为 3 组: CPRI 12 h 组($n=6$): 供肝获取后 UW 液 4 °C 保存 12 h 后行原位肝移植, 采用供体胸主动脉与受体腹主动脉直接吻合的方式重建肝动脉血供, 同时加行胆道外引流及空肠造瘘术。CPRI 1 h 组($n=6$): 供肝获

取后 UW 液 4 °C 保存 1 h, 手术方式同 CPRI 12 h 组。对照组($n=6$): 不施行肝移植, 仅施行胆道外引流加空肠造瘘术^[1,4]。

1.3 实验方法

按照文献[5]建立重建肝动脉血供的大鼠肝移植胆道持续外引流模型, 采集胆汁标本时, 将大鼠置于自制的限制性大鼠笼中, 利用胆道引流管采集胆汁。术后 2 周内每天上午 9:00 开始采集胆汁, 持续 0.5 h, 取样后将胆道外引流管与空肠造瘘管连接闭合, 保证大鼠正常活动和进食。每天的胆汁采集量约 0.5 ml, 胆汁标本置于 -70 °C 冰箱保存。胆汁的胆汁酸测定采用已建立的柱前衍生 RP-HPLC-FD^[6]。

1.3.1 色谱条件 流动相: A 相[甲醇:乙腈=1:2 (v/v)]; B 相(超纯水); 梯度洗脱程序: 65%A (0~8 min), 80%A (8~16 min), 90%A (16~20 min); 柱温: 20 °C; 流速: 1 ml/min; 激发波长(λ_{ex}): 330 nm, 发射波长(λ_{em}): 400 nm。

1.3.2 样品预处理与测定

1.3.2.1 样品预处理 取鼠胆汁 20 μl, 加入 120 μmol/L 月桂酸甲醇液 50 μl, 再加入乙腈 2 ml, 充分混匀, 超声 20 min, 10 000 g 离心 10 min, 取上清液, 在 60 °C 氮气下吹干。测定游离与甘氨酸结合型胆汁酸: 将预处理吹干后的胆汁样品溶于 2 ml 0.5 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.0), 加至已活化的固相萃取 C18 小柱上(用 2 ml 甲醇和 5 ml 蒸馏水依次活化 C18 小柱), 再用 10 ml 蒸馏水淋洗小柱, 最后用 3 ml 甲醇洗脱胆汁酸。洗脱液中加入 150 μl 1.8 mmol/L KOH 甲醇液于 60 °C 氮气下吹干, 然后加入 10 mmol/L BMC 乙腈液与 5 mmol/L DCC 乙腈液各 50 μl, 密闭, 37 °C 条件下反应 30 min, 取 10 μl 进样分析。

1.3.2.2 测定牛磺结合型胆汁酸 向预处理吹干后的胆汁样品中加入 1 mg 胆酰甘氨酸水解酶, 再加入 0.025 mol/L 的磷酸钾缓冲液(pH 5.6) 0.5 ml, 避光 37 °C 反应 30 min, 再加入 0.5 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.0) 2 ml 终止反应, 然后加至已活化的固相萃取 C18 小柱上, 其余步骤同测定游离与甘氨酸结合型胆汁酸。采用内标标准曲线法定量。

1.4 数据处理

采用 SPSS 18.0 软件包进行统计学处理。牛磺脱氧胆酸(taurodeoxycholic acid, TDCA)浓度以($\bar{x} \pm s$)表示。采用一般线性模型的重复测量过程, 实现重复测量资料的单变量方差分析, 并用多因素方差分析过程实现每个时间点上组间的两两比较。检验水准为 $\alpha=0.05$ (双侧)。采用 SIMCA-P11.5 软件对胆汁酸定量结果进行 PCA 和 PLS-DA 分析。

2 结果

2.1 大鼠术后存活率

CPRI 12 h 组大鼠手术成功率 100.0% (6/6), 术后 7 d 存活率 83.3% (5/6), 术后 14 d 存活率 66.7% (4/6); CPRI 1 h 组大鼠手术成功率 83.3% (5/6), 术后 7 d 存活率 66.7% (4/6), 术后 14 d 存活率 66.7% (4/6); 对照组大鼠手术成功率 100.0% (6/6), 术后 7 d 存活率 83.3% (5/6), 术后 14 d 存活率 83.3% (5/6)。

2.2 胆汁酸检测结果

柱前衍生 RP-HPLC-FD 可以从大鼠胆汁中共检出甘氨酸(glycocholic acid, GCA)、胆酸(cholic acid, CA)、 β -鼠胆酸(β -muricholic acid, β -MCA)、甘氨酸-鼠胆酸(tauro α -muricholate, T α -MCA)、甘氨酸- β -鼠胆酸(tauro β -muricholic acid, T β -MCA)、甘氨酸鹅脱氧胆酸(glycochenodeoxycholic acid, GCDCA)、牛磺熊脱氧胆酸(tauroursodeoxycholic acid, TUDCA)、牛磺胆酸(taurocholic acid, TCA)、牛磺猪脱氧胆酸(taurohyodeoxycholic acid, THDCA)、牛磺鹅脱氧胆酸(taurochenodeoxycholic acid, TCDCA)、和 TDCA 11 种胆汁酸。结果显示大鼠胆汁中胆汁酸总量的 95% 以上为牛磺结合型胆汁酸, 游离型与甘氨酸结合型胆汁酸所占比重不足 5%。

2.3 胆汁酸的 PCA 分析

为了比较 3 组间大鼠胆汁中胆汁酸代谢的差异, 利用 SIMCA 软件对差异有统计学意义的 10 种胆汁酸定量结果进行 PCA 分析, 3 组大鼠分泌的胆汁酸按照冷保存时间的不同, 能够较好地地区分。对照组分布在右上方, CPRI 12 h 组集中于左下角, 而 CPRI 1 h 组分布于两者中间, 说明随着供肝冷保存时间的延长, CPRI 对大鼠的胆汁酸代谢影响愈为严重, 即 CPRI 对大鼠胆汁酸代谢表现出时间依赖性(图 1)。

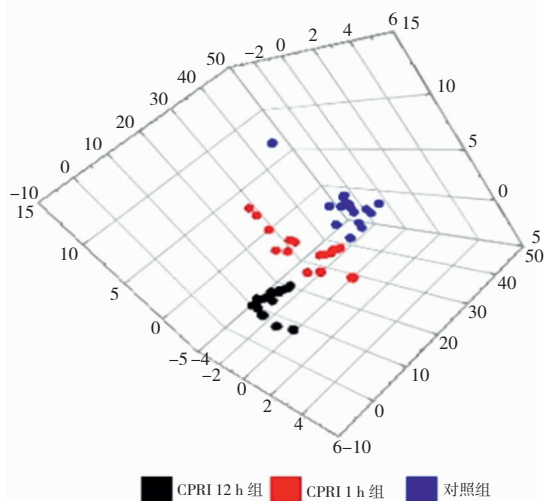


图 1 CPRI 组与对照组胆汁酸 PCA 得分

Fig.1 PCA scores of bile acids in CPRI groups and control group

2.4 胆汁酸的 PLS-DA 分析

利用 PLS-DA 模型对个体属性进行判断, 可较好的将 3 组大鼠分开(图 2)。用 $X_1 \sim X_{10}$ 分别表示 GCA、GCDCA、CA、T α -MCA、T β -MCA、TUDCA、TCA、THDCA、TCDCA、TDCA 的浓度($\mu\text{mol/L}$), 可得出偏最小二乘判别式: $Y_{\text{CPRI 12 h}} = 0.206X_1 - 0.632X_2 + 0.349X_3 - 0.014X_4 - 0.018X_5 - 0.119X_6 - 0.084X_7 - 0.233X_8 - 0.095X_9 + 0.153X_{10} + 0.711$; $Y_{\text{CPRI 1 h}} = -0.098X_1 + 0.750X_2 + 0.154X_3 - 0.222X_4 + 0.090X_5 + 0.163X_6 + 0.120X_7 + 0.073X_8 - 0.197X_9 - 0.312X_{10} + 0.711$; $Y_{\text{对照组}} = -0.110X_1 - 0.120X_2 - 0.511X_3 + 0.240X_4 - 0.074X_5 - 0.045X_6 - 0.037X_7 + 0.163X_8 + 0.296X_9 + 0.162X_{10} + 0.677$ 。

该模型变量的参数 $R^2X = 0.701$, $R^2Y = 0.643$, $Q^2(\text{cum}) =$

0.559, 表明模型具有较好的预测性和稳定性。图 2 显示 CPRI 可导致胆汁酸代谢发生紊乱, 且其胆汁酸代谢变化程度与 CPRI 时间呈正相关。

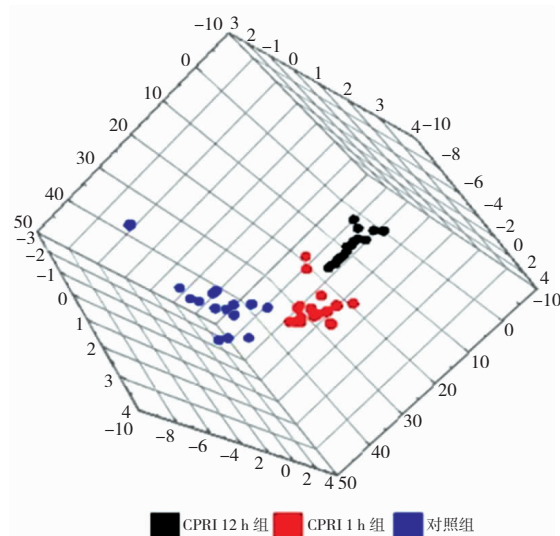


图 2 CPRI 组与对照组胆汁酸 PLS-DA 得分图

Fig.2 PLS-DA scores of bile acids in CPRI groups and control group

在 PLS-DA 模型中, 根据胆汁酸变量的重要性和各组在载荷图中的位置, 筛选潜在的标志物(图 3)。其中 TDCA 离 CPRI 12 h 组最近, 可能与胆管损伤密切相关, 可能是潜在的胆管损伤标志物。有研究表明, TDCA 作为主要的疏水性胆汁酸之一, 可使胆盐细胞毒性增加, 形成毒性胆汁, 造成胆管损伤^[7]。

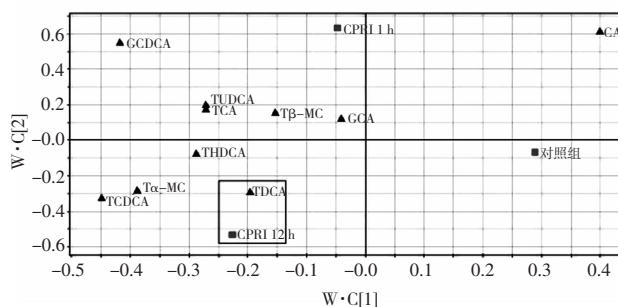


图 3 CPRI 组与对照组胆汁酸 PLS-DA 载荷图

Fig.3 PLS-DA load diagram of bile acids in CPRI groups and control group

TDCA 浓度分析结果如表 1 所示, 3 组间差异有统计学意义($F=20.058$, $P=0.008$)。结果显示胆管损伤早期, CPRI 12 h 组 TDCA 浓度的增高幅度明显高于另外两组, 第 3、5 天, CPRI 12 h 组与对照组间比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 第 3、5、8、11 天, CPRI 12 h 组与 CPRI 1 h 组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.5 胆汁酸的疏水指数

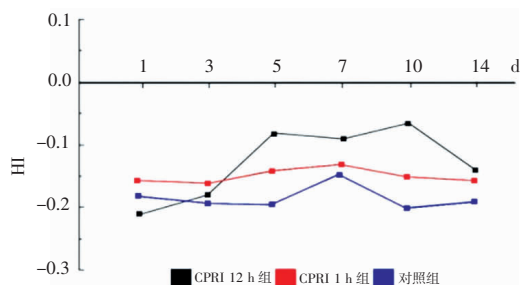
疏水指数(hydrophobicity index, HI)越高表明胆汁酸的疏水性越强。参考 Heuman 的方法^[8], 计算了 3 组大鼠胆汁中

表 1 胆汁酸中的 TDCA 的浓度 ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)Tab.1 Concentrations of TDCA in bile acids ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)

分组	第 3 天	第 5 天	第 8 天	第 11 天
CPRI 12 h 组	2 850.4 $\pm$ 144.9	1 210.4 $\pm$ 166.7	1 687.2 $\pm$ 842.9	1 005.1 $\pm$ 408.7
CPRI 1 h 组	524.3 $\pm$ 110.5	429.1 $\pm$ 13.4	387.8 $\pm$ 16.6	285.9 $\pm$ 20.6
对照组	775.5 $\pm$ 284.2	709.0 $\pm$ 234.3	613.0 $\pm$ 185.2	409.9 $\pm$ 164.4
P1 值	<0.001	0.014	0.042	0.038
P2 值	0.001	0.042	0.056	0.050
P3 值	0.280	0.174	0.606	0.595

注: P1, CPRI 12 h 与 CPRI 1 h 组间比较; P2, CPRI 12 h 与对照组间比较; P3, CPRI 1 h 与对照组间比较

胆汁酸的疏水指数。结果表明(图 4),肝移植术后第 1、3 天,各组 HI 无明显变化;第 5、7、10 天,CPRI 12 h 组和 CPRI 1 h 组的 HI 高于对照组($P_2 < 0.001$, $P_2 < 0.001$, $P_2 < 0.01$; $P_3 = 0.013$, $P_3 = 0.027$, $P_3 = 0.023$),且随着供肝冷保存时间的延长,HI 升高更加明显。术后 14 d 3 组大鼠胆汁酸的 HI 又恢复至较低水平,但 CPRI 12 h 组仍高于另外两组($P_1 = 0.049$, $P_2 = 0.016$)。



P1, CPRI 12 h 组与 CPRI 1 h 组比较; P2, CPRI 12 h 组与对照组比较; P3, CPRI 1 h 组与对照组比较

图 4 CPRI 组与对照组的胆汁酸 HI

Fig.4 HI of bile acids in CPRI groups and control group

3 讨论

影响移植肝存活率最重要的因素是供体年龄、热缺血时间和冷保存时间。特别是近年来因供体器官缺乏日益严重,来源地空间距离延长,而致移植肝冷保存时间延长,加重了供肝 CPRI。有研究表明,供肝 CPRI 与移植术后原发性移植肝脏无功能、淤胆性肝功能损害以及排斥反应密切相关^[9]。因此,探索供肝冷保存时间与再灌注损伤之间的关系具有重要的临床意义。

研究已经证实,胆汁酸的细胞毒性与其疏水性有关,疏水性越强其细胞毒性就越大^[10]。正常情况下,人类肝细胞分泌的各种胆汁酸之间维持着亲水-疏水平衡。当这种平衡机制一旦被破坏,就可能会对肝胆系统造成潜在的危害,如原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎等。本研究采用柱前衍生

RP-HPLC-FD 法可以检测出大鼠移植肝胆汁酸的 11 种组分,从而对 HI 进行分析显示,随着供肝冷保存时间的延长,HI 升高更加明显,即对胆管损伤的影响愈加显著。

肝移植术后肝内胆汁淤积是早期的普遍现象,且大多都有不同程度的肝内胆汁淤积^[11]。有研究表明,保存 1 h 组移植后第 1、3 天可见轻度胆管损伤的血清学及病理学表现,肝内胆管上皮细胞凋亡指数较小,且在移植后第 7 天即与对照组无明显差异。在保存 12 h 组移植后第 1、3、7 天,胆汁淤积征象明显,并伴有严重胆管损伤的病理学改变,且肝内胆管上皮细胞凋亡指数明显高于保存 1 h 组和对照组^[12]。很显然,其凋亡指数与 HI 关系密切,由此推测 HI 可以在早期提示肝内胆汁淤积的发生和胆管损伤的严重程度。

在机体内胆汁酸多以结合型胆汁酸的形式存在,游离胆汁酸的疏水性强于结合型胆汁酸,甘氨酸结合胆汁酸的疏水性强于牛磺结合胆汁酸^[13]。肝移植 CPRI 术后,胆道并发症的早期,胆汁酸之间的亲水-疏水平衡也被破坏,形成具有较强细胞毒性的“毒性胆汁”,最终对胆管造成损伤^[14]。本研究采用 PCA 和 PLS-DA 对不同供肝冷保存时间条件下肝移植大鼠术后胆汁中胆汁酸代谢轮廓进行分析,可以较好地将 3 组区分开来,且随着供肝冷保存时间的增加,CPRI 组与对照组之间分离得愈加明显。结合胆汁酸变量和不同供肝冷保存时间组在 CPRI 损伤 PLS-DA 载荷图中的位置,发现 TDCA 可能是与胆管损伤严重程度最相关的胆汁酸,可能成为潜在的胆管损伤标志物。近期有探讨 CPRI 的研究发现,检测注射 TDCA 后受者血清中碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、 γ -谷氨酰转移酶(γ -glutamyl-transferase, γ -GGT)、胆红素总量、直接胆红素与胆汁中 γ -GGT 和葡萄糖的含量均增高,且在荧光显微镜下观察到肝内胆管上皮细胞的凋亡情况最为

严重^[15]。作为一种疏水性胆汁酸,TDCA 可增加胆盐细胞的毒性,形成毒性胆汁,导致胆管损伤。

人在肝移植术后的胆汁酸分泌的情况是否存在类似的现象呢?在临床上,经常观察到肝移植病人术后早期反映胆管损伤的可靠指标,如血清 γ -GGT、ALP、5'-核苷酸酶,在肝移植术后早期缓慢上升,8~10 d 达高峰,2~3 周后方才恢复正常。有学者认为,术后血清转氨酶升高 24~48 h 后还未下降,就应考虑胆管损伤发生的可能性了^[16]。另外,有研究表明,肝脏疾病总胆汁酸增高比转氨酶更敏感,能更早地反映胆管损伤,当丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶不明显增高时,检测总胆汁酸更有意义^[17]。

参 考 文 献

- [1] 陈 耿.移植肝“毒性胆汁”形成及导致胆管损伤机制的实验研究[D].重庆:第三军医大学,2006.
Chen G.The study of mechanism of ‘endogenous toxic’ bile formation and its role in bile duct injury after liver transplantation[D].Chongqing: the Third Military Medical University,2006.
- [2] Verkade H J,Vonk R J,Kuipers F,et al.New insights into the mechanism of bile acid induced biliary lipid secretion[J].Hepatology,1995,21(4):1174-1189.
- [3] Asamoto Y,Tazuma S,Ochi H,et al.Bile-salt hydrophobicity is a key factor regulating rat liver plasma membrane communication:relation to bilayer structure,fluidity and transporter expression and function [J].Biochem J,2001,359(Pt 3):605-610.
- [4] Cui D X,Yin J Q,Xu W X,et al.Effect of different bile duct flush solutions on biliary tract preservation injury of donated livers for transplantation[J].Transplant Pro,2010,42(5):1576-1581.
- [5] 陈 耿,张玉君,杨 程,等.重建肝动脉血液供应和胆道外引流的大鼠原位肝移植模型的建立[J].中华器官移植杂志,2006,27(1):40-43.
Chen G,Zhang Y J,Yang C,et al.Construction of an arterialized rat liver transplantation model with biliary extra-drainage[J].Chin J Organ Transplant,2006,27(1):40-43.
- [6] 王 猛,张晓清,丁 敏.反相高效液相色谱法测定鼠胆汁中游离与结合型胆汁酸[J].分析测试技术与仪器,2007,13(1):1-4.
Wang M,Zhang X Q,Ding M.Determination of free and conjugated bile acids in bile of rat by high performance liquid chromatography[J].Analysis and Testing Technology And Instruments,2007,13(1):1-4.
- [7] 刘景丰.梗阻性黄疸胆汁成分失衡在胆管损伤中的作用[D].福州:福建医科大学,2010.
Liu J F.Experimental study of the effect of bile disequilibrium on biliary duct injury of obstructive jaundice[D].Fuzhou:Fujian Medical University,2010.
- [8] Heuman D M.Quantitative estimation of the hydrophilic-hydrophobic balance of mixed bile salt solutions[J].J Lipid Res,1989,30(5):719-730.
- [9] 朱新华.苦参碱对大鼠原位肝移植冷保存再灌注损伤的保护作用[D].南京:南京大学,2003.
Zhu X H.Study of protection effect of matrine in cold preservation reperfusion injury in rat after liver transplantation[D].Nanjing:Nanjing University,2003.
- [10] Attili A F,Angelico M,Cantafora A,et al.Bile acid-induced liver toxicity:relation to the hydrophobic-hydrophilic balance of bile acids [J].Med Hypotheses,1986,19(1):57-69.
- [11] 杨 翔,贺 强,邱繁荣,等.肝移植术后胆汁淤积的病因分析和防治[J].肝胆外科杂志,2001,9(6):416-419.
Yang X,He Q,Qiu F R,et al.Pathogenic analysis and prevention of cholestasis after liver transplantation[J].Journal of Hepatobiliary Surgery,2001,9(6):416-419.
- [12] 陈莉萍,李州利,戴睿武,等.冷保存-再灌注损伤对大鼠移植肝胆管上皮细胞凋亡及 bcl-2/bax 表达的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(5):857-861.
Chen L P,Li Z L,Dai R W,et al.Effect of cold preservation and reperfusion injury on the apoptosis of hepatobiliary epithelial cells and bcl-2/bax gene expression in rats [J].Journal of Clinical Rehabilitative Tissues Engineering Research,2009,13(5):857-861.
- [13] Araki Y,Fujiyama Y,Andoh A,et al.Hydrophilic and hydrophobic bile acids exhibit different cytotoxicities through cytotoxicity,interleukin-8 synthesis and apoptosis in the intestinal epithelial cell lines. IEC-6 and Caco-2 cells[J].Scand J Gastroenterol,2001,36(5):533-539.
- [14] 王 猛.应用高效液相色谱法研究冷保存再灌注损伤对大鼠移植肝胆胆汁酸代谢的影响[D].重庆:重庆医科大学,2007.
Wang M.Apply high performance liquid chromatography to study the effect of cold preservation reperfusion injury on bile acid metabolism of rat liver after liver transplantation[D].Chongqing:Chongqing Medical University,2007.
- [15] 杭化莲,仇毓东,吴亚夫,等.亲水性胆盐对减轻大鼠移植肝胆内胆管冷保存再灌注损伤的作用[J].中华器官移植杂志,2008,29(6):335-338.
Hang H L,Qiu Y D,Wu Y F,et al.Effect of hydrophilic bile salts alleviating cold preservation-reperfusion injury of graft intrahepatic bile duct in rats[J].Chin J Organ Transplant,2008,29(6):335-338.
- [16] 赵喜荣.医源性胆管损伤的早期诊断及治疗[J].肝胆胰外科杂志,2007,19(5):333-335,339.
- [17] Zhao X R.Early diagnosis and treatment of iatrogenic bile duct injury [J].Journal of Hepatopancreatobiliary Surgery,2007,19(5):333-335,339.
- [17] 周天龙.血清总胆汁酸测定在肝胆疾病中的检验分析[J].中国社区医师:医学专业,2010,12(8):150.
Zhou T L.Tests and analysis of total bile acids of serum in hepatobiliary disease[J].Chinese Community Doctor:Medical Professional,2010,12(8):150.

(责任编辑:唐秋姗)