

内毒素血症大鼠肝脏 RAS 表达与肝功能损伤的关系

李晶铃¹, 阴赅宏²

摘要 目的 探讨内毒素血症大鼠肝脏肾素-血管紧张素系统(RAS)的表达特点及其与肝功能损伤的关系。方法 将90只大鼠随机分为对照组和注射后2、4、8、12、24、48、72 h及7 d组。除对照组以外,均腹腔注射脂多糖(LPS)制备脓毒症模型。分别于注射2、4、8、12、24、48、72 h及7 d取10只,取心脏血,测肝功能标志物丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH),循环RAS标志物肾素(PRA)、血管紧张素转换酶(ACE)、血管紧张素Ⅱ(Ang Ⅱ);取肝脏组织,观察肝组织病理,测组织RAS标志物PRA、ACE、Ang Ⅱ及血管紧张素1型受体(AT1R)mRNA表达。结果 模型组大鼠的循环AST、ALT及LDH水平在LPS注射后逐渐升高,8 h达峰,AST与LDH在4~48 h均高于对照组,ALT在2~48 h均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。模型组大鼠的循环和肝脏PRA在注射后迅速升高,2 h达峰,48 h降至正常水平,中间时间段均高于对照组($P < 0.05$);ACE和Ang Ⅱ在注射后逐渐升高,8 h达峰,ACE在2~24 h高于对照组,Ang Ⅱ在2~48 h高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。模型组大鼠AT1R

mRNA表达在注射后逐渐升高,4~48 h均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 内毒素血症所致肝功能损伤可能与肝脏局部RAS激活有关系。

关键词 内毒素血症;肝脏;肾素-血管紧张素系统;炎症反应;应激反应

中图分类号 R 363.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)01-0116-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.01.022

内毒素血症是由于病原菌释放大量的内毒素至血液而引起的,以多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)为主要病理特征的一系列综合征^[1-2]。肝脏是人体内最大的解毒器官,也是内毒素代谢的主要场所,极易受到内毒素攻击,这也是内毒素血症常常并发肝功能障碍的主要原因^[3]。既往研究^[4-5]表明,肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)在脓毒症导致的器官损伤中起重要作用。在脓毒症动物模型中,有学者发现肝脏亦存在着局部RAS系统,该系统以血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, Ang Ⅱ)为主要效应分子,通过与肝细胞膜的血管紧张素1型受体(angiotensin type 1 receptor, AT1R)结合而增加血管紧张素原的转录与翻译,从而形成自身反馈机制,引起恶性循环和不断放大的炎症级联反应^[6]。该研究

2021-11-02 接收

基金项目:北京市自然科学基金(编号:7032017)

作者单位:¹ 清华大学医院内科,北京 100086

² 北京妇产医院内科,北京 100026

作者简介:李晶铃,女,硕士,主治医师;

阴赅宏,男,博士,教授,博士生导师,主任医师,责任作者,

E-mail:waijjwaijjwaijj@163.com

Western blot after ginsenoside treatment. **Results** qPCR detection showed that the expression of *CLDN18-ARHGAP26* fusion mutant gene in NSP cells transfected with overexpressed *CLDN18-ARHGAP26* fusion mutant gene was significantly higher than that of the non-transfected group, and the expression of *ABCG2* mRNA was significantly higher than that of the non-transfected group. Western blot showed that the expression of E-Cadherin protein in NSP cells with over-expressed *CLDN18-ARHGAP26* fusion mutation gene was lower than that in the non-transfected group, the expression of Vimentin protein was higher than that in the non-transfected group, and the sensitivity of transfected cells to oxaliplatin was lower than that in the non-transfected group. The survival rate of transfected cells treated with ginsenoside and oxaliplatin was significantly lower than that treated with oxaliplatin alone. The expression of E-Cadherin protein in the transfected cells treated with ginsenoside was higher than that in the untreated group, and the expression of Vimentin protein was lower than that in the untreated group. **Conclusion** Ginsenoside can reverse cell EMT transformation and oxaliplatin resistance induced by *CLDN18-ARHGAP26* fusion mutated gene expression in gastric cancer tissues.

Key words ginsenoside; *CLDN18-ARHGAP26* fusion mutated gene; epithelial-mesenchymal transition; drug resistance

重点分析肝损伤和 RAS 表达的相关性,以进一步明确其病理机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康清洁级 (specific pathogen free, SPF) Wistar 大鼠 90 只, 6~8 周龄, 体质量 250~280 g, 购自中国医学科学院实验动物中心 (动物合格证号: 44007200004126, 许可证号: SCXK (京) 2018-0005)。本研究方案经北京友谊医院动物伦理委员会审批 (批号: TUH18260001), 符合实验室动物管理与使用准则。

1.2 试剂与仪器 智能放免测量仪 (上海原子能研究所日环仪器厂); 小型垂直电泳与电转印装置 (美国 Bio-Rad 公司); 高速低温离心机 (美国 SIGMA 公司); 一氧化氮 (nitric oxide, NO) 化学法试剂盒、内皮素 (endothelin, ET)、一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS)、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST)、乳酸脱氢酶 (lactic dehydrogenase, LDH) 试剂盒购自南京建成生物工程研究所; 血管紧张素转换酶 (angiotensin converting enzyme II, ACE II) 试剂盒购自海军总医院; 血管紧张素 I (Angiotensin I, Ang I)、Ang II、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白介素 (IL)-10 试剂盒购自北京市福瑞生物工程公司; AT1R 及内参引物购自美国 Santa Cruz 公司; 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 购自美国 Sigma 公司。

1.3 模型制备与取样方法 所有大鼠, 适应性饲养一周, 随机分为 9 组, 对照组 10 只和模型组 8 个亚组 (注射后 2、4、8、12、24、48、72 h 和 7 d 共 8 个时间点), 模型组腹腔注射 10 mg/kg LPS, 对照组注射等体积无热原水。对照组于注射后 8 h 取样, 模型组各个亚组以注射时为 0 点计时, 分别于注射后 2、4、8、12、24、48、72 h 及 7 d 时取样, 1% 戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉, 取心脏血, 室温静置 2 h, 3 000 r/min 离心取血清, -20 °C 存储。之后摘取肝脏, 并分两种样本保存, 一种制备为石蜡切片样本, 另一种液氮保存。

1.4 血清学指标检测 所得血清, 采用内毒素测定仪测定内毒素水平; 采用硝酸还原酶法测定 NO 水平; 采用全自动放射免疫分析仪和 ELISA 试剂盒测定 NOS、TNF- α 、IL-10 的血清水平, 以及肝功能标志物 ALT、AST、LDH 的血清水平。

1.5 肝脏组织 HE 染色与病理评分 随机抽取大

鼠 1 只/组, 取肝脏组织, 制备病理切片, HE 染色, 显微镜下观察肝脏病理评分。评分标准: 0 分: 肝组织结构正常, 细胞排列规则, 无坏死和炎性浸润; 1 分: 肝细胞点状坏死, 存在散在的炎性浸润和嗜酸小体; 2 分: 肝细胞片状或灶状坏死, 但坏死范围在小叶 1/3 内; 3 分: 肝细胞广泛坏死, 占小叶 1/3~2/3; 4 分: 肝细胞广泛坏死, 超过小叶 2/3。

1.6 组织学指标检测 所得肝脏组织, 分为两部分, 一部分采用 ELISA 实验测定 ACE、Ang II、AT1R 水平; 另一部分采用 RT-qPCR 实验测定 AT1R mRNA 表达。RT-qPCR 实验的主要步骤: 采用 TRIzol 总 RNA 抽提试剂盒提取组织的总 RNA, 所得 RNA 以 DEPC 水配置为 1 μ g/ μ l 的溶液。采用核酸蛋白仪测定 A260/A280 的相对吸光度, 1.8~2.2 之间的为纯度良好。再取 2 μ l RNA 溶液, 进行 1.2% 琼脂糖凝胶电泳, 90 V 电泳 30 min, 采用凝胶成像分析系统观察 18S 和 28S 的条带亮度, 条带清晰且 28S/18S ≥ 2 为完整度良好。将合格产品纳入反转录实验, PCR 仪中操作, 常规反转录体系和条件生成 cDNA。进行 PCR 扩增实验, AT1R 引物上游序列: 5'-GGC GCG GGT TTG ATA TTT GAC A-3', 下游序列: 3'-CAA AGG GCC AGC GGT ATT CCA TAG-5'。扩增条件: 预变性, 95 °C、30 s; 95 °C、5 s, 60 °C、30 s, 共 40 个循环。反应结束后确认扩增曲线和融合曲线, 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算表达量。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件分析数据, 本组均为计量资料, 符合正态分布, 方差齐, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 行重复测量数据的方差分析, 有统计学差异者进一步采用 LSD-*t* 检验分析组间差异。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清应激和炎性介质的比较 模型组大鼠循环 LPS 在注射后迅速升高, 于 2 h 时达峰, 7 d 时降至正常水平, 中间时间段均高于对照组 ($P < 0.05$)。TNF- α 和 IL-10 在注射后也迅速升高, 于 2 h 时达峰; TNF- α 和 IL-10 分别在 8、12 h 时降至正常水平, 中间时间段均高于对照组 ($P < 0.05$)。NO 与 NOS 在注射后逐渐升高, 12 h 时达峰; NO 在 4~48 h 时高于对照组, NOS 在 2~48 h 时高于对照组 ($P < 0.05$)。见表 1。

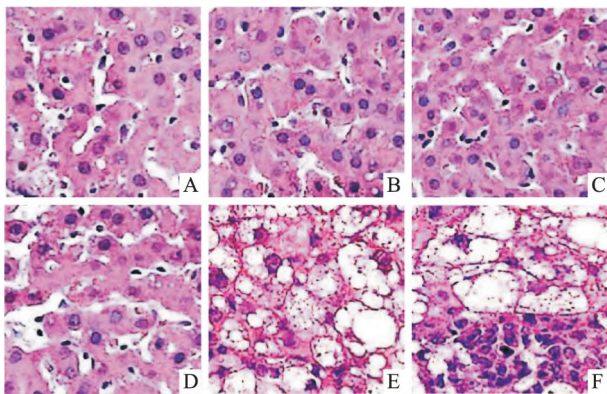
2.2 肝脏病理观察 对照组在注射前、注射后 48 h 和 7 d 三个时间点, 肝脏形态正常, 细胞排列整齐, 肝组织病理评分基本为 0, 均无肝细胞变性坏死

表1 各组大鼠应激和炎症介质水平变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	循环 LPS (Eu/ml)	循环 NO(μ mol/L)	循环 NOS(U/L)	循环 TNF- α (μ mol/L)	循环 IL-10 (μ mol/L)
对照	10	0.034 $\pm$ 0.022	35.993 $\pm$ 6.252	3.723 $\pm$ 0.21	35.436 $\pm$ 5.750	48.454 $\pm$ 6.185
模型						
2 h	10	0.685 $\pm$ 0.030 **	38.514 $\pm$ 8.521	4.022 $\pm$ 0.35 *	192.021 $\pm$ 177.714 **	152.086 $\pm$ 22.875 **
4 h	10	0.671 $\pm$ 0.043 **	169.179 $\pm$ 30.251 **	4.159 $\pm$ 0.55 *	215.595 $\pm$ 40.181 **	126.788 $\pm$ 20.525 **
8 h	10	0.505 $\pm$ 0.156 **	260.769 $\pm$ 38.657 **	4.821 $\pm$ 0.6 **	40.525 $\pm$ 9.860	58.561 $\pm$ 15.222 **
12 h	10	0.493 $\pm$ 0.104 **	366.538 $\pm$ 75.141 **	5.930 $\pm$ 0.781 **	40.081 $\pm$ 5.661	50.467 $\pm$ 10.754
24 h	10	0.272 $\pm$ 0.048 **	223.773 $\pm$ 56.852 **	4.710 $\pm$ 0.570 **	40.040 $\pm$ 4.720	49.027 $\pm$ 6.374
48 h	10	0.254 $\pm$ 0.036 **	183.664 $\pm$ 35.224 **	4.201 $\pm$ 0.660 **	37.290 $\pm$ 4.635	46.324 $\pm$ 4.555
72 h	10	0.232 $\pm$ 0.033 **	39.527 $\pm$ 5.685	3.884 $\pm$ 0.540	34.255 $\pm$ 4.874	41.210 $\pm$ 5.680
7 d	10	0.035 $\pm$ 0.026	32.536 $\pm$ 5.002	3.841 $\pm$ 0.490	34.332 $\pm$ 5.56	40.006 $\pm$ 3.424
F 值		99.817	104.132	15.996	327.916	107.986
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

现象;模型组注射前,大鼠肝脏形态正常,细胞排列整齐,注射后2 h和4 h时,也未发现明显病理改变,注射后48 h,细胞出现变形和坏死,胞核增大,炎性细胞灶状浸润,评分为(1.5 $\pm$ 0.5)分;注射后7 d,细胞广泛坏死,炎性细胞广泛浸润,评分为(3.3 $\pm$ 0.6)分。见图1。

图1 两组大鼠各个时间点肝脏病理 HE 染色后观察 $\times 200$

A:对照组;B:注射后2 h;C:注射后4 h;D:注射后8 h;E:注射后48 h;F:注射后7 d

2.3 肝功能标志物的比较 模型组大鼠的循环AST、ALT及LDH水平在LPS注射后即逐渐升高,8 h时达峰;AST与LDH在4~48 h时均高于对照组,ALT在2~72 h时均高于对照组($P < 0.05$)。见表2。

2.4 循环RAS水平的比较 模型组大鼠的循环PRA在注射后2 h显著升高,之后逐渐降低,在48 h内的水平均高于对照组($P < 0.05$)。ACE和Ang II在注射后也呈现出先增后减的变化趋势,ACE在2~24 h时,Ang II在2~48 h时均高于对照组($P < 0.05$)。见表3。

表2 各组大鼠肝功能标志物的比较(U/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	循环 AST	循环 ALT	循环 LDH
对照	10	67.500 $\pm$ 4.537	30.125 $\pm$ 4.012	527.429 $\pm$ 59.652
模型				
2 h	10	80.375 $\pm$ 5.254 **	53.250 $\pm$ 8.225 **	529.556 $\pm$ 66.355
4 h	10	179.429 $\pm$ 8.348 **	59.667 $\pm$ 7.615 **	792.222 $\pm$ 80.263 **
8 h	10	222.667 $\pm$ 11.685 **	79.000 $\pm$ 12.321 **	1162.125 $\pm$ 185.632 **
12 h	10	161.333 $\pm$ 7.526 **	58.875 $\pm$ 8.551 **	832.300 $\pm$ 71.521 **
24 h	10	121.000 $\pm$ 6.465 **	54.556 $\pm$ 7.524 **	575.667 $\pm$ 81.251 **
48 h	10	119.233 $\pm$ 9.017 **	46.513 $\pm$ 6.335 **	544.329 $\pm$ 66.334 **
72 h	10	71.394 $\pm$ 4.424	35.421 $\pm$ 5.628 *	537.342 $\pm$ 50.692
7 d	10	64.252 $\pm$ 5.455	33.750 $\pm$ 3.732	520.625 $\pm$ 44.351
F 值		149.873	42.639	62.810
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.5 肝组织RAS水平的比较 模型组大鼠肝脏PRA在注射后2 h显著升高,之后逐渐降低,在48 h内的水平均高于对照组($P < 0.05$)。ACE、Ang II、AT1R水平也呈现出先增后减的趋势;ACE在2~24 h,Ang II在2~48 h,AT1R在4~48 h时高于对照组($P < 0.05$)。见表4。

表3 各组大鼠循环RAS水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PRA[ng/(ml·h)]	ACE(U)	Ang II(ng/ml)
对照	10	0.373 $\pm$ 0.054	75.480 $\pm$ 12.164	78.329 $\pm$ 9.041
模型				
2 h	10	2.352 $\pm$ 0.385 **	204.686 $\pm$ 14.935 **	205.004 $\pm$ 29.574 **
4 h	10	1.493 $\pm$ 0.155 **	221.054 $\pm$ 29.652 **	496.376 $\pm$ 54.685 **
8 h	10	1.220 $\pm$ 0.155 **	242.620 $\pm$ 22.670 **	730.209 $\pm$ 102.523 **
12 h	10	0.776 $\pm$ 0.121 **	191.585 $\pm$ 27.210 **	432.383 $\pm$ 58.251 **
24 h	10	0.554 $\pm$ 0.111 **	90.273 $\pm$ 17.682 *	237.419 $\pm$ 32.521 **
48 h	10	0.375 $\pm$ 0.036	87.054 $\pm$ 18.990	142.656 $\pm$ 15.523 **
72 h	10	0.359 $\pm$ 0.029	86.043 $\pm$ 18.341	84.728 $\pm$ 12.352
7 d	10	0.371 $\pm$ 0.032	76.140 $\pm$ 12.681	75.401 $\pm$ 10.252
F 值		187.794	124.120	243.199
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表4 各组大鼠肝脏RAS水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PRA[ng/(ml·h)]	ACE(U)	Ang II (ng/ml)	AT1R mRNA 表达
对照	10	0.294 ± 0.057	52.311 ± 8.251	61.849 ± 8.521	0.616 ± 0.068
模型					
2 h	10	1.513 ± 0.213 **	156.078 ± 16.121 **	88.956 ± 13.254 **	0.705 ± 0.095 **
4 h	10	1.230 ± 0.147 **	188.058 ± 21.335 **	379.395 ± 38.625 **	0.978 ± 0.114 **
8 h	10	1.012 ± 0.233 **	219.141 ± 24.251 **	531.485 ± 66.254 **	1.137 ± 0.122 **
12 h	10	0.893 ± 0.156 **	166.854 ± 22.352 **	384.492 ± 41.352 **	1.011 ± 0.180 **
24 h	10	0.621 ± 0.096 **	132.660 ± 16.854 **	205.725 ± 33.251 **	0.835 ± 0.104 **
48 h	10	0.333 ± 0.057	60.341 ± 10.305 *	129.762 ± 19.251 **	0.784 ± 0.100 **
72 h	10	0.313 ± 0.056	56.374 ± 9.315	63.334 ± 8.551	0.671 ± 0.105 *
7 d	10	0.298 ± 0.043	43.205 ± 9.956	58.467 ± 8.252	0.645 ± 0.085
F 值		115.644	166.504	297.400	26.993
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 讨论

内毒素血症是一组由血液中内毒素积聚而引发的全身炎症反应综合征,极易引发多器官功能障碍综合征,RAS 过度激活是内毒素血症导致多器官功能障碍的重要机制之一^[7]。本研究在前期也已证实 LPS 诱导的内毒素血症中,肾脏损伤、心脏损伤均伴随有 RAS 的参与。肝脏亦存在着局部 RAS,以 Ang II 为主要效应分子,通过与肝细胞膜上面的 AT1R 结合增强血管紧张素原表达,进一步促进 ACE 合成和 Ang I、Ang II 的产生,形成一种肝脏内部的自身反馈机制,在包括肝纤维化、脂肪肝、病毒性肝炎、肝癌、化疗所致肝损伤等多种肝脏疾病中发挥了重要作用^[8-10]。然而,关于肝脏系统中 RAS 是否参与了内毒素血症所致肝功能损伤,目前报道较为少见。

研究表明,模型组大鼠在 LPS 注射后,应激和炎性介质成数十倍增长,这与其他学者的报道^[11]结果基本一致。既往研究^[12]指出,LPS 进入循环系统后被多种免疫细胞俘获并发生免疫应答,其中巨噬细胞活化后可产生大量炎性因子,包括 TNF- α 、IL-6 和 IL-10 等,其中 TNF- α 和 IL-6 还是凋亡信号通路的重要介质,NF- κ B/TNF- α 和 IL-6/STAT3 等信号的激活可进一步促进细胞凋亡与组织损伤。在内毒素血症中,炎性损伤与氧化应激相辅相成,共同参与组织破坏,TNF- α 积聚后可促进中性粒细胞脱颗粒释放氧自由基,诱发与加重氧化应激损伤,而氧化应激产生的大量中间产物如白三烯、血栓素 A2 等都是强效促炎介质,可促进炎性因子的产生,从而形成瀑布级联反应^[13]。因此应激和炎性介质的升高证实内毒素血症模型制备相对成功。

肝脏病理观察结果显示模型组大鼠在注射后 48 h,肝脏组织有较为严重的损伤,且注射结束后的 7 d 损伤程度并未见恢复,这说明内毒素血症引发的肝脏损伤可能是不完全可逆的。本研究显示模型组大鼠在 LPS 注射后肝功能标志物均有较大幅度的升高,注射后 4~48 h 之间的水平均高于对照组。有研究指出,作为代谢和解毒的主要场所,肝脏也是内毒素血症最易受累的器官之一,为分析肝脏内部的 RAS 变化,本研究进一步测定了循环系统和肝组织的 PRA、ACE、Ang II 及 AT1R。在 RAS 中,Ang I 来源于血管紧张素原,并进一步在 ACE 的催化作用下形成 Ang II,Ang II 是该系统的主要效应分子,可与受体结合,调节血压、血管张力和水电解质的代谢等活动^[14],这也是本研究选择 ACE、Ang II、AT1R 的重要原因。本研究结果显示 RAS 的变化趋势与肝功能损伤趋势基本一致,这说明在内毒素血症所致肝脏损伤机制中,RAS 可能也是重要的参与者。

综上所述,该研究分析了内毒素血症大鼠模型发病的不同时间点肝功能损伤及局部 RAS 的变化,结果显示肝脏损伤过程中均伴随着局部 RAS 表达异常。研究认为内毒素血症所致肝损伤中可能有局部 RAS 的参与。

参考文献

- [1] 赵国荣,陈研焰,毛娅男,等. 肝脾理论与肠源性内毒素血症肝损伤的相关性[J]. 中西医结合肝病杂志, 2016, 26(2): 91-2,98.
- [2] 向丽,王沛明,王平,等. 大黄-黄芩配伍对内毒素血症模型大鼠肝脏炎性损伤的保护作用及其机制研究[J]. 中药药理与临床, 2018, 34(1): 105-8.
- [3] 陈文,王沛明,张祎,等. 基于 TLR4 通路初探黄芩对内毒素血症大鼠肝脾组织中细胞因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 以及氧化

- 应激因子 MDA、SOD 水平的影响[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(3): 87–92.
- [4] Sai H J, Liao M H, Shih C C, et al. Angiotensin-(1-7) attenuates organ injury and mortality in rats with polymicrobial sepsis [J]. *Crit Care*, 2018, 22(1): 269.
- [5] Corrêa T D, Takala J, Jakob S M. Angiotensin II in septic shock [J]. *Crit Care*, 2015, 19(1): 98.
- [6] 李晶铃, 阴赓宏, 王超, 等. 内毒素血症时循环肾素-血管紧张素系统改变的实验研究[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(2): 92–5.
- [7] Rosa R M, Colucci J A, Yokota R, et al. Alternative pathways for angiotensin II production as an important determinant of kidney damage in endotoxemia[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2016, 311(3): F496–504.
- [8] Ahmadian E, Pennefather P S, Eftekhari A, et al. Role of renin-angiotensin system in liver diseases: an outline on the potential therapeutic points of intervention [J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 10(11): 1279–88.
- [9] Kim G, Kim J, Lim Y L, et al. Renin-angiotensin system inhibitors and fibrosis in chronic liver disease: a systematic review[J]. *Hepatol Int*, 2016, 10(5): 819–28.
- [10] Saber S, Mahmoud A A A, Helal N S, et al. Renin-angiotensin system inhibition ameliorates CCL4-induced liver fibrosis in mice through the inactivation of nuclear transcription factor kappa B [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2018, 96(6): 569–76.
- [11] McGarrity S, Anuforo ó, Halldórsson H, et al. Metabolic systems analysis of LPS induced endothelial dysfunction applied to sepsis patient stratification[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 6811.
- [12] Fouad D, Badr A, Attia H A. Hepatoprotective activity of raspberry ketone is mediated *via* inhibition of the NF- κ B/TNF- α /caspase axis and mitochondrial apoptosis in chemically induced acute liver injury[J]. *Toxicol Res (Camb)*, 2019, 8(5): 663–76.
- [13] Lee S Y, Hsin L W, Su M J, et al. A novel isoquinoline derivative exhibits anti-inflammatory properties and improves the outcomes of endotoxemia[J]. *Pharmacol Rep*, 2019, 71(6): 1281–8.
- [14] Simões E, Silva A C, Miranda A S, et al. Renin angiotensin system in liver diseases: friend or foe? [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(19): 3396–406.

Relationship between RAS expression and liver function injury in endotoxemia model rats

Li Jingling¹, Yin Chenghong²

(¹Dept of Medicine, Tsinghua University Hospital, Beijing 100086;

²Beijing Obstetrics and Gynecology Hospital, Beijing 100026)

Abstract Objective To investigate the changes of liver renin-angiotensin (RAS) system as well as its relationship with liver function in endotoxemia rats. **Methods** Totally 90 rats were randomly divided into control group and 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72 h and 7 d after injection group, which were prepared for sepsis model by tail vein injection of LPS except for the control group. Animals in the control group were collected samples at 8 h after injection, while animals in the model group were collected samples at each time points (2, 4, 8, 12, 24, 48, 72 h and 7 d). Heart blood was collected to measure liver markers alanine amine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), RAS markers renin-angiotensin (PRA), angiotensin converting enzyme (ACE) and angiotensin II (Ang II). Liver tissues were extracted to observe the pathology characteristics and detect PRA, ACE, Ang II and angiotensin type 1 receptor (AT1R) mRNA. **Results** The levels of AST, ALT and LDH in the model group gradually increased after LPS injection, and AST and LDH in the model group were higher than those in the control group at 4~48 h, ALT in the model group was higher than that in the control group at 2 to 48 h, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The circle and liver PRA level in the model group increased rapidly after injection, which was higher than that in the control group at 2 to 48 h. The circle and liver levels of ACE and Ang II increased after injection too, which were both higher than those in the control group at 2 to 28 h, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The expression of AT1R mRNA in the model group gradually increased after injection, which was higher than that in the control group at 4 to 48 h, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Liver function damage caused by endotoxemia may be related to the activation of local RAS in the liver.

Key words endotoxemia; liver; renin-angiotensin system; inflammatory response; stress response