

文章编号: 1001-6325(2013)06-0775-02

左卡尼汀减轻大鼠小肠缺血再灌注损伤

劳华毅, 张靖岩, 蒋凯, 张峰, 佟立权*

(哈尔滨医科大学附属第五院 普外科, 黑龙江 大庆 163316)

中图分类号: R 656.7 文献标志码: A

小肠缺血再灌注(I/R)损伤,如肠系膜血管栓塞、肠扭转及小肠移植及休克等,是导致患者不能顺利康复的关键。既往研究表明L-carnitine对肾脏^[1]I/R损伤有保护作用,但对小肠的I/R损伤研究尚未见报道。本研究探讨L-carnitine对大鼠小肠I/R损伤的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂和动物: 雄性Wistar大鼠30只,体质量(250±30)g, [清洁级别,上海斯莱克实验动物有限公司许可证号: SCK(沪)2012-0002]。L-carnitine注射剂(山东瑞阳制药有限公司); SOD和MDA(上海越研生物科技有限公司)。DAO试剂盒(南京建成生物工程研究所)。BAX和BCL-2抗体(北京中山生物技术有限公司)。

1.2 动物分组及处理: 动物随机分3组($n=10$): 假手术组(S组)、缺血再灌注组(I/R组)、L-carnitine干预组(L组)。术前12h禁食,自由饮水。I/R组术前10min给予等量0.9%氯化钠注射液。L组成模术前10min于股静脉缓慢推注L-carnitine(200mg/kg)。S组仅切开腹部,游离肠系膜上动脉而不阻断,按文献方法制备小肠I/R模型^[2]。腹腔注射10%水合氯醛3mL/kg麻醉后,腹正中中线切开,夹闭肠系膜上动脉根部1h后,再灌注3h,再次麻醉后,下腔静脉采血5mL,注入离心管,然后立即活杀取材。

1.3 指标的检测

1.3.1 血清DAO、MDA及SOD测定: 按试剂盒说明书操作。

1.3.2 病理形态学检查: 冰冻机切片后,行HE染色。

1.3.3 Western blot法检测: BAX及BCL-2蛋白表达。

1.4 统计学分析: 采用SPSS18.0统计软件进行统计学处理,结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组血清SOD、MDA及DAO水平: 与S组相比,I/R组血清SOD值明显降低($P < 0.05$),MDA及DAO值明显升高

($P < 0.05$)与I/R组相比,L组各项指标均明显改善($P < 0.05$)(表1)。

表1 血清SOD、MDA及DAO的变化
Table 1 The serum concentrations of SOD, MDA and DAO($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

group	SOD(U/mL)	MDA(nmol/mL)	DAO($\times 10^3$ U/L)
S	105.5±15	5.85±2.34	4.5±0.6
I/R	60.3±10.0*	10.57±1.56*	15.8±0.5*
L	80.7±11.0#	7.56±2.54#	8.5±0.4#

* $P < 0.05$ compared with S; # $P < 0.05$ compared with I/R.

2.2 小肠组织形态学改变: S组绒毛排列整齐,血管周围结构正常,无出血,肌层纤维结构排列整齐,浆膜层正常,I/R组见部分小肠绒毛上皮断裂脱落,黏膜下水肿充血,大量炎性细胞浸润,基底层断裂;L组绒毛排列整齐,局部少量出血,坏死,中等量中性粒细胞浸润(图1)。

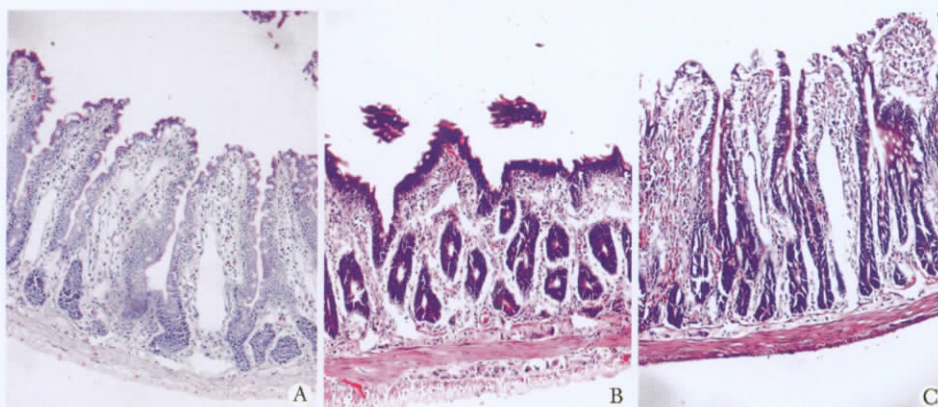
2.3 BAX及BCL-2蛋白表达: 与S组相比,I/R组BAX蛋白表达上调,BCL-2蛋白表达下调。与I/R组相比,L组BAX蛋白表达下调,而BCL-2蛋白表达上调($P < 0.05$)(图2)。

3 讨论

小肠I/R可引起的小肠及多器官损伤,其机制尚不清楚。近来,细胞凋亡和氧化应激在小肠I/R损伤中所起作用日益引起人们重视^[3]。其中细胞凋亡过程中BCL-2蛋白家族扮演重要角色,BCL-2蛋白家族有两类,一类具有抗细胞凋亡作用,如BCL-2,另一类是BAX,可促进细胞凋亡。另外氧化应激引起I/R损伤会导致SOD活性降低,而MDA、DAO在I/R损伤后含量会明显增加。既往研究表明L-carnitine通过降低氧自由基水平、对抗凋亡等^[3]多种作用来改善心肌I/R损伤。本实验观察到小肠蛋白BAX及BCL-2表达结果及氧化指标均与上述文献报道结果一致。

收稿日期: 2013-01-21 修回日期: 2013-03-27

*通信作者(corresponding author): tlq777666@163.com



A. sham; B. I/R; C. L-carnitine control

图1 小肠组织 HE 染色结果

Fig 1 HE staining of the rat's intestinal tissue of each group (×100)

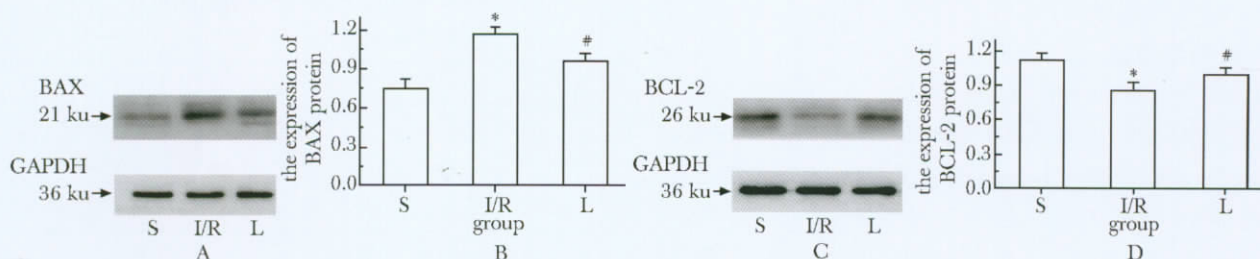
A. Western blot strip chart of BAX; B. quantitative results of BAX; C. Western blot strip chart of BCL-2; D. quantitative results of BCL-2; * $P < 0.05$ compared with S; # $P < 0.05$ compared with I/R

图2 各组小肠组织中 BAX 与 BCL-2 的表达水平

Fig 2 The expression levels of BAX and BCL-2 in intestinal tissue in each group

L-carnitine 减轻肠 I/R 损伤可通过如下机制: 1) 提高 SOD 活性, 清除氧自由基, 降低 MDA 及 DAO 含量, 抑制脂质过氧化反应, 对抗氧自由基的损伤, 改善小肠 I/R 损伤作用。

2) 上调 BCL-2 基因和下调 BAX 基因表达减轻大鼠小肠 I/R 时肠黏膜上皮细胞凋亡。

参考文献:

- [1] Idrovo JP, Yang WL, *et al.* Stimulation of carnitine palmitoyltransferase 1 improves renal function and attenuates tissue damage after ischemia/reperfusion. [J] Surg Res, 2012, 177: 157-164.
- [2] 佟立权, 乔海泉, 孟凡强. 牛磺酸对大鼠小肠缺血再灌注后肝、肾损伤的保护作用[J]. 中国普通外科杂志, 2006, 15: 512-515.
- [3] Liu Y, Yan S, Ji C, *et al.* Metabolomic changes and protective effect of (L)-carnitine in rat kidney ischemia/reperfusion injury. [J] Kidney Blood Press Res, 2012, 35: 373-381.