

异丙酚对缺血再灌注大鼠肠黏膜的保护作用

李琳, 张丽, 赵京禹, 郝建华, 李平

李琳, 张丽, 赵京禹, 郝建华, 李平, 中国人民解放军总医院第一附属医院麻醉科 北京市 100037
通讯作者: 李琳, 100037, 北京市海淀区阜成路51号, 中国人民解放军总医院第一附属医院麻醉科. zoubai185@163.com
收稿日期: 2008-02-15 修回日期: 2008-03-25

Protective effect of propofol on intestinal mucosa in rats with gut ischemia-reperfusion

Lin Li, Li Zhang, Jing-Yu Zhao, Jian-Hua Hao, Ping Li

Lin Li, Li Zhang, Jing-Yu Zhao, Jian-Hua Hao, Ping Li, Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100037, China
Correspondence to: Lin Li, Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of General Hospital of Chinese PLA, 51 Fucheng Road, Beijing 100037, China. zoubai185@163.com
Received: 2008-02-15 Revised: 2008-03-25

Abstract

AIM: To investigate the effect of propofol on intestinal mucosa in rats with gut ischemia-reperfusion (I/R).

METHODS: Ninety-six Wistar rats were randomized into 3 groups: sham operation (SO) group, control group (I/R + saline) and treatment (I/R + propofol) group. Propofol (0.1 mg/kg) was injected into gut immediately after superior mesenteric artery occlusion in the treatment group. The pathological changes in intestinal mucosa were assessed by Chiu's scores. The contents of diamine oxidase (DAO) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in gut tissues were determined. All measurements were done 0, 30, 60, 120 and 240 min after reperfusion.

RESULTS: Pathological changes were observed both in the control group and in the treatment group, but those in the latter were lighter. In comparison with the control group, the TNF- α content was decreased dramatically in the treatment group, and the decrease was the most significant at 60 min (9.52 ± 2.82 vs 12.08 ± 3.64 , $P < 0.01$); the content of DAO in the treatment group was decreased obviously, and a significant de-

crease also occurred at 60 min (2.34 ± 0.42 vs 0.98 ± 0.49 , $P < 0.01$).

CONCLUSION: Enteral administration of propofol can protect intestinal mucosa against I/R injury in rats.

Key Words: Ischemia-reperfusion; Propofol; Intestinal mucosa

Li L, Zhang L, Zhao JY, Hao JH, Li P. Protective effect of propofol on intestinal mucosa in rats with gut ischemia-reperfusion. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(13): 1461-1464

摘要

目的: 研究缺血再灌注时异丙酚对大鼠肠黏膜的保护作用及可能机制。

方法: 96只成年雄性Wistar大鼠, 随机分为假手术组、缺血再灌注(I/R)+生理盐水组和I/R+异丙酚组。再灌注后0、30、60、120、240 min(每时间点8只)处死动物取肠袋组织, 采用病理学方法观察肠黏膜损伤指数, ELLSA检测检测肠黏膜TNF- α 中含量变化; 分光光度法测定肠组织中DAO含量的变化。

结果: 与I/R+生理盐水组相比, I/R+异丙酚组肠黏膜病理变化较轻, 肠黏膜中TNF- α 含量明显减少, 60 min最明显(9.52 ± 2.82 vs 12.08 ± 3.64 , $P < 0.01$), 肠袋组织DAO含量显著增加, 60 min时差异显著(2.34 ± 0.42 vs 0.98 ± 0.49 , $P < 0.01$)。

结论: 异丙酚能抑制缺血再灌注时肠黏膜中TNF- α 的表达, 减轻病理损害, 对肠黏膜具有保护作用。

关键词: 缺血再灌注; 异丙酚; 肠黏膜

李琳, 张丽, 赵京禹, 郝建华, 李平. 异丙酚对缺血再灌注大鼠肠黏膜的保护作用. *世界华人消化杂志* 2008; 16(13): 1461-1464
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/1461.asp>

0 引言

缺血再灌注是烧(创)伤后常见的病理生理过程,

背景资料
肠黏膜是肠屏障的重要组成部分, 直接与外界细菌及毒素直接接触。严重应激状态下, 肠黏膜的通透性增加, 造成细菌及内毒素的易位, 引起肠源性内毒素血症和脓毒症。这一过程与脓毒症和MODS的发生有密切关系。

同行评议者
黄志勇, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院普外科

研发前沿
严重的烧伤、创伤时,肠黏膜功能的保护是当前研究的一个热点,其涉及多个研究领域。

持续缺血再灌注造成肠上皮细胞损害,从而造成肠黏膜屏障功能下降,通透性增加,后者与脓毒症和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)的发生有密切关系^[1-4]。如何减轻肠黏膜损伤,减少细菌和内毒素易位一直是临床防治脓毒症和MODS亟待研究的重要课题。异丙酚是一种新型麻醉剂,除镇痛作用外,还有抗氧化损伤抑制钙超载,稳定细胞膜的作用。但肠异丙酚对缺血再灌注肠黏膜的影响尚无研究,本实验探讨缺血再灌注时异丙酚对肠黏膜的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 ♂ Wistar大鼠96只,由军事医学科学院实验动物中心提供,体质量230-250 g。异丙酚(0.1 mg/kg)为山东正大福瑞达制药有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 造模与分组:大鼠实验前适应性饲养1 wk,术前12 h禁食,自由饮水。30 g/L戊巴比妥钠腹腔麻醉(30 mg/kg),麻醉成功后,仰卧固定于手术台上,常规备皮消毒铺无菌洞巾。取腹部正中切口长约3-4 cm,将肠管外置并覆盖温盐水纱布,外用烤灯加温,保持肠管的湿润和温度。在距离十二指肠悬韧带后10 cm和18 cm处,分别用两根一号丝线结扎肠管,造成长约8 cm肠袋。无损伤动脉夹夹闭肠系膜上动脉(superior mesenteric artery, SMA)始部,阻断SMA血流45 min后,松夹恢复肠系膜血流,制成肠缺血再灌注模型。大鼠随机分为缺血再灌注+生理盐水组、缺血再灌注+异丙酚组和假手术组。缺血再灌注+异丙酚组阻断SMA血流45 min后肠袋内注射异丙酚,缺血再灌注+生理盐水组注射等体积生理盐水。假手术组行上述操作,而未夹闭SMA。以上各组分别在再灌注后0、30、60、120和240 min(每时间点8只)处死动物取肠袋组织。冲洗后用40 g/L的甲醛溶液固定48 h,脱水,常规石蜡包埋,切片。

1.2.2 苏木素-伊红染色:石蜡切片常规脱蜡至水后,进行HE染色,用于光镜下观察病理变化和肠上皮损伤。每份切片光镜下随机选择10视野(400×)由病理医师观察,根据Chiu's评分方法进行肠上皮损伤测定。采用黎君友 *et al*^[5]建立的分光光度法测定肠组织中DAO含量。准确称取组织质量,按质量:体积为1:9加生理盐水制备组织匀浆,然后2500 r/min,离心10 min,取上清,按试剂操作步骤进行测定。

统计学处理 数据均以mean±SD表示,用SPSS11.0软件进行t检验。

2 结果

2.1 光镜下病理改变 正常组肠黏膜呈柱状,刷状缘清晰,排列整齐。对照组从再灌注开始时肠黏膜略有肿胀,再灌注时间延长,肠黏膜肿胀逐渐加重,并出现坏死,脱落。黏膜层炎症细胞浸润,固有层红细胞增多。治疗组损伤变化趋势同对照组,但病变程度明显减轻。

2.2 肠黏膜上皮损伤指数 缺血再灌注+生理盐水组肠黏膜组织的损伤主要发生在缺血再灌注120 min和240 min,以再灌注120 min组最明显。缺血再灌注+异丙酚组的损伤的变化趋势与缺血再灌注+生理盐水组的基本相同,但损伤程度较缺血再灌注+生理盐水组轻($P<0.01$,表1)。

2.3 肠组织DAO的含量 缺血再灌注+生理盐水组肠组织DAO含量再灌注后前60 min稍有升高,后迅速降低,再灌注后120 min后最低,后逐渐上升,到再灌注240 min,基本接近正常。缺血再灌注+异丙酚组血浆DAO含量变化基本同缺血再灌注+生理盐水组相同,但程度要较缺血再灌注+生理盐水组小($P<0.01$,表2)。

2.4 肠黏膜中TNF- α 的含量 I/R+生理盐水组肠黏膜组织中TNF- α 含量从再灌注0 min开始逐渐升高,到再灌注60 min达到顶峰12.08 ng/g pro,后逐渐下降。各时间点I/R+生理盐水组肠黏膜组织中TNF- α 含量要显著高于假手术组TNF- α 含量。I/R+异丙酚组肠黏膜组织TNF- α 含量变化基本同I/R+生理盐水组相同,但各时间点I/R+异丙酚组肠黏膜组织TNF- α 含量要明显较I/R+生理盐水组低($P<0.01$,表3),到再灌注240 min与假手术组无明显差异。

3 讨论

肠道既是创伤、休克后损伤发生的靶器官,又是全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)的“启动器官”,肠黏膜缺血再灌注损伤是最终导致MODS的重要病因学基础及中心环节^[6]。休克、创伤及复苏过程中脏器尤其是肠道的缺血再灌注损伤的防治已成为相关学科研究的热点和难点。为此,寻找减轻肠黏膜损害的方法,对于临床上治疗全身SIRS和MODS有重要的意义。

异丙酚是一种新型静脉麻醉药,其除了麻醉作用外,现认为对缺血再灌注损伤有较强的保护作用。首先异丙酚可减少自由基的生成和维持细胞膜及线粒体功能稳定等作用,对缺血再灌注损伤具有保护作用^[7-9]。在化学结构上与

表 1 肠缺血再灌注时肠黏膜上皮损伤指数 (mean \pm SD)

分组	再灌注时间(min)				
	0	30	60	120	240
假手术组	0.80 \pm 0.12	0.83 \pm 0.13	0.81 \pm 0.12	0.79 \pm 0.10	0.81 \pm 0.17
I/R+生理盐水组	8.34 \pm 2.34 ^a	7.54 \pm 2.25 ^a	7.40 \pm 2.10 ^a	9.45 \pm 2.11 ^a	8.50 \pm 2.13 ^a
I/R+异丙酚组	8.29 \pm 1.34	4.84 \pm 1.23 ^b	4.64 \pm 1.30 ^b	6.25 \pm 1.11 ^b	5.90 \pm 1.42 ^b

^a P <0.01 vs 假手术组; ^b P <0.01 vs I/R+生理盐水组.表 2 肠缺血再灌注时肠组织DAO含量 (U/g pro, mean \pm SD)

分组	再灌注时间(min)				
	0	30	60	120	240
假手术组	3.54 \pm 0.98	3.52 \pm 0.85	3.58 \pm 0.96	3.57 \pm 0.86	3.58 \pm 0.89
I/R+生理盐水组	1.11 \pm 0.47 ^c	1.20 \pm 0.35 ^c	0.98 \pm 0.49 ^c	1.31 \pm 0.40 ^c	1.54 \pm 0.36 ^c
I/R+异丙酚组	1.52 \pm 0.43	2.67 \pm 0.48 ^d	2.34 \pm 0.42 ^d	2.71 \pm 0.44 ^d	3.20 \pm 0.49 ^d

^a P <0.01 vs 假手术组; ^b P <0.01 vs I/R+生理盐水组.表 3 各组肠黏膜组织TNF- α 的含量 (ng/g pro, mean \pm SD)

分组	再灌注时间(min)				
	0	30	60	120	240
假手术组	5.43 \pm 0.7	5.50 \pm 0.92	5.48 \pm 1.01	5.71 \pm 1.11	5.78 \pm 0.79
I/R+生理盐水组	8.61 \pm 1.5	9.25 \pm 2.86 ^e	12.08 \pm 3.64 ^e	9.42 \pm 2.31 ^e	8.20 \pm 2.53 ^e
I/R+异丙酚组	7.81 \pm 1.4	6.34 \pm 1.23 ^f	9.52 \pm 2.82 ^f	7.62 \pm 2.31 ^f	5.80 \pm 1.89 ^f

^a P <0.01 vs 假手术组; ^f P <0.01 vs I/R+生理盐水组.

内源性抗氧化剂维生素E和已知的抗氧化剂丁化羟基甲苯十分相似. 其抗氧化作用的结构基础也正是这种类似的酚羟基结构. 异丙酚可直接与自由基反应, 生成2, 6-二异丙基苯氧基团, 同时使自由基灭活. 其次, 异丙酚能抑制细胞因子的产生和释放. 大量研究证明, 异丙酚能够影响TNF- α 的产生和释放, 且在低浓度时便有较强的抑制作用^[10]. 另外, 异丙酚能抑制细胞内钙离子浓度. 有研究表明异丙酚可以心肌细胞钙离子通道有抑制作用, 降低细胞内钙超载.

DAO是人类和哺乳动物肠黏膜上皮细胞代谢不可缺少的酶, 是肠上皮细胞的标志酶, 其活性与上皮细胞的核算和蛋白合成有密切关系, 因此通过测定DAO在肠组织中的变化, 可以反映肠黏膜上皮细胞的损伤和修复情况^[5]. 肠上皮细胞是肠黏膜的重要组成部分. 本实验发现缺血再灌注+生理盐水组大鼠肠组织中DAO含量显著降低. 其原因可能是缺血再灌注时, 肠上皮

细胞损伤、坏死, 肠上皮细胞脱落进入肠腔. 缺血再灌注+异丙酚组肠组织中DAO含量较缺血再灌注+生理盐水组显著升高, 提示异丙酚对肠上皮细胞具有保护, 从而减轻肠黏膜缺血再灌注损伤.

国内外研究表明肠缺血再灌注时, 肠组织可分泌TNF- α , 引起局部和全身的炎症, 导致远隔器官的损伤, 促进MODS的发生. TNF- α 在局部可以加重肠上皮细胞的损害. van Lanschot *et al*研究发现, 给大鼠注射外源性重组TNF- α 可引起肠上皮细胞剥落、坏死, 肠黏膜固有层中性粒细胞浸润^[11-12]. 如果应用小鼠抗人TNF- α mAb被动免疫大鼠1 h后再注射TNF- α , 则黏膜损害明显减轻, 说明TNF- α 可引起肠黏膜的损伤. 本实验结果显示, 缺血再灌注+异丙酚组大鼠肠黏膜组织中TNF- α 含量明显低于缺血再灌注+生理盐水组, 显示减少肠黏膜TNF- α 的含量是异丙酚减轻肠黏膜的一条重要途径.

应用要点
异丙酚不但可以作为麻醉药, 更可以作为一种抗氧化剂, 具有减轻对缺血再灌注损伤的作用.

同行评价
本研究设计准确
简单,思路新颖,
结果正确,讨论条
理清晰,具有一定
的临床应用价值.

本实验结果显示,缺血再灌注+异丙酚组与缺血再灌注+生理盐水组相比DAO含量明显升高,而缺血再灌注+异丙酚组肠黏膜中TNF- α 含量明显低于缺血再灌注+生理盐水组,说明异丙酚可通过抑制炎症介质的释放减轻肠缺血再灌注时肠上皮细胞的损害,从而保护肠黏膜.因此异丙酚在防治肠缺血灌流引起的失控炎症反应和脓毒症中具有潜在的临床应用前景.

4 参考文献

- 1 盛新华, 石汉平. 肠道在多器官功能障碍综合征中的作用. 世界华人消化杂志 2005; 13: 2029-2032
- 2 Mole DJ, Taylor MA, McFerran NV, Diamond T. The isolated perfused liver response to a 'second hit' of portal endotoxin during severe acute pancreatitis. *Pancreatol* 2005; 5: 475-485
- 3 Shimizu K, Ogura H, Goto M, Asahara T, Nomoto K, Morotomi M, Yoshiya K, Matsushima A, Sumi Y, Kuwagata Y, Tanaka H, Shimazu T, Sugimoto H. Altered gut flora and environment in patients with severe SIRS. *J Trauma* 2006; 60: 126-133
- 4 张喜平, 张宇. 急性胰腺炎肠道屏障损害机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2006; 14: 417-421
- 5 黎君友, 吕艺, 付小兵, 晋桦, 胡森, 孙晓庆, 盛志勇. 二

- 胺氧化酶在创伤后肠道损伤中变化及意义. 中国危重病急救医学 2000; 12: 482-484
- 6 Deitch EA, Xu D, Kaise VL. Role of the gut in the development of injury- and shock induced SIRS and MODS: the gut-lymph hypothesis, a review. *Front Biosci* 2006; 11: 520-528
- 7 Zhou W, Fontenot HJ, Liu S, Kennedy RH. Modulation of cardiac calcium channels by propofol. *Anesthesiology* 1997; 86: 670-675
- 8 Karashima Y, Oike M, Takahashi S, Ito Y. Propofol prevents endothelial dysfunction induced by glucose overload. *Br J Pharmacol* 2002; 137: 683-691
- 9 Takahashi H, Puttick RM, Terrar DA. The effects of propofol and enflurane on single calcium channel currents of guinea-pig isolated ventricular myocytes. *Br J Pharmacol* 1994; 111: 1147-1153
- 10 Gillil HE, Armstrong MA, Carabine U. The choice of anesthetic maintenance technique in fluences the antinflammatory cytokine to abdominal surgery. *Anesth Analg* 1997; 85: 1394-1398
- 11 van Lanschot JJ, Mealy K, Wilmore DW. The effects of tumor necrosis factor on intestinal structure and metabolism. *Ann Surg* 1990; 212: 663-670
- 12 Yamamoto S, Tanabe M, Wakabayashi G, Shimazu M, Matsumoto K, Kitajima M. The role of tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β in ischemia-reperfusion injury of the rat small intestine. *J Surg Res* 2001; 99: 134-141

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}, V_{max}不能写Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et Arn.var.glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*ln*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*, *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*_{max}, *C*_{max}, *Vd*, *T*_{1/2} *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白. (常务副总编辑: 张海宁 2008-05-08)