

文章编号: 1000-5404(2013)12-1205-05

论著

## 谷氨酰胺对肝移植大鼠肠黏膜 NF- $\kappa$ B、ICAM-1、TNF- $\alpha$ 表达的影响

刘光艺<sup>1</sup> 朱继芳<sup>2</sup> 李 洋<sup>1</sup> (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院: 胃肠外科<sup>1</sup> 心血管内科<sup>2</sup>)

**[摘要]** 目的 研究谷氨酰胺(Glutamine, Gln)对原位肝移植(orthotopic liver transplantation, OLT)大鼠肠黏膜内核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )表达的影响。方法 选择健康雄性Wistar大鼠70只,按随机数字表法分为对照组( $n=10$ )、原位肝移植组(OLT组,  $n=30$ )和原位肝移植+Gln组(EEN组,  $n=30$ );对照组只分离肝十二指肠韧带,OLT组和EEN组按改良的两袖套法进行原位肝移植。EEN组受体在术前3d、术后3h开始给予肠内营养混悬液能全力+谷氨酰胺灌胃,OLT组及对照组受体仅给予肠内营养混悬液。对照组分离肝十二指肠韧带12h后,OLT组和EEN组肝移植后12、24、72h分别取回肠肠壁组织免疫组化测定肠组织NF- $\kappa$ B与ICAM-1的表达,荧光定量PCR(fluorescence quantitative-polymerase chain reaction, FQ-PCR)测定肠黏膜TNF- $\alpha$  mRNA表达、HE染色观察回肠组织的病理改变,测定微绒毛长度。结果 与对照组比较,OLT组和EEN组肝移植后12、24、72h, NF- $\kappa$ B、ICAM-1、TNF- $\alpha$  mRNA表达明显升高,肠黏膜损害明显加重,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );而肝移植后12、24、72h EEN组与OLT组比较, NF- $\kappa$ B、ICAM-1、TNF- $\alpha$  mRNA表达明显下降,肠黏膜损害明显减轻,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。结论 大鼠原位肝移植可引起肠组织中NF- $\kappa$ B活化,ICAM-1、TNF- $\alpha$ 表达上调导致肠黏膜屏障损伤,Gln能抑制肝移植大鼠肠黏膜NF- $\kappa$ B活性,减少ICAM-1、TNF- $\alpha$ 的表达而起到肠黏膜保护作用。

**[关键词]** 谷氨酰胺; 肝移植; 核转录因子- $\kappa$ B; 细胞间黏附分子-1; 肿瘤坏死因子- $\alpha$

**[中图分类号]** R322.45; R657.3; R977.4

**[文献标志码]** A

## Effect of glutamine on expression of NF- $\kappa$ B, ICAM-1 and TNF- $\alpha$ in intestinal mucosa after liver transplantation in rats

Liu Guangyi<sup>1</sup>, Zhu Jifang<sup>2</sup>, Li Yang<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Department of Gastrointestinal Surgery, <sup>2</sup>Department of Cardiovascular Diseases, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of glutamine (Gln) on the expression of nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in intestinal mucosa after orthotopic liver transplantation (OLT) in rats. **Methods** Seventy healthy male Wistar rats were divided randomly into three groups including a normal control group (control group,  $n=10$ ), an orthotopic liver transplantation group (OLT group,  $n=30$ ) and an early enteral nutrition group (EEN group,  $n=30$ ). Only hepatoduodenal ligament dissection was performed in the control group, and OLT was performed by modified two-cuff method in the OLT group and EEN group. For the EEN group, the recipients were supplied with Nutrison Fiber 125 mL/(kg·d) plus Gln 0.3 g/(kg·d) for 3 d by gastric perfusion before surgery, and Nutrison Fiber plus Gln was administered again until the animal was killed at 3 h after OLT. For the OLT group and control group, the same volume of the Nutrison Fiber was supplied by gastric perfusion at the same time. The expression of NF- $\kappa$ B and ICAM-1 in the ileal mucosa were determined by immunohistochemistry, the mRNA level of TNF- $\alpha$  in the ileal mucosa was detected with fluorescence quantitative-polymerase chain reaction (FQ-PCR), and the ultrastructural changes of the ileal mucosa were observed with transmission electron microscopy (TEM) at 12 h after hepatoduodenal ligament dissection in the control group and at 12, 24 and 72 h after OLT in the OLT group and EEN group. **Results** Compared with the control group, the levels of NF- $\kappa$ B, ICAM-1 and TNF- $\alpha$  mRNA significantly increased and the mucosal lesion significantly aggravated in the OLT group and EEN group at 12, 24 and 72 h after OLT ( $P < 0.01$ ). Compared with the OLT group, the levels of

**[基金项目]** 重庆市科委课题(CSTC2010BB5383)

**[通信作者]** 李 洋, E-mail: liyang\_68813@126.com

**[优先出版]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130108.1050.008.html> (2013-01-08)

NF- $\kappa$ B, ICAM-1 and TNF- $\alpha$  mRNA were significantly decreased and the mucosal lesion was significantly relieved in the EEN group at 12, 24 and 72 h after OLT ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** OLT can activate NF- $\kappa$ B in intestinal mucosa, and up-regulate the expression of ICAM-1 and TNF- $\alpha$  to induce the injury of intestinal mucosal barrier. Gln can protect the intestinal mucosal barrier through suppressing the activation of NF- $\kappa$ B and reducing the expression of ICAM-1 and TNF- $\alpha$  after OLT.

**[Key words]** glutamine; liver transplantation; nuclear factor- $\kappa$ B; intercellular adhesion molecule-1; tumor necrosis factor- $\alpha$

Supported by the Project of Chongqing Commission of Science and Fechnology (CSTC2010BB5383). Corresponding author: Li Yang, E-mail: liyang\_68813@126.com

肝移植术后早期(术后30 d内)感染仍为影响患者生存的重要因素,其发生率占肝移植受体总数的50%~68%,其中脓毒症一直是术后死亡的重要原因之一<sup>[1]</sup>,研究证实其发生可能与全肝血流阻断导致肠缺血再灌注损伤(intestinal ischemia reperfusion, IIR)、肠黏膜屏障损害引起的细菌移位和肠源性内毒素血症有关<sup>[2]</sup>。核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)作为一种转录因子,可调节多种炎症相关蛋白基因的表达,参与IIR损伤的炎症反应<sup>[3]</sup>;细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )均受NF- $\kappa$ B调控,在IIR损伤中起重要作用<sup>[3]</sup>。谷氨酰胺(Glutamine, Gln)是应激状态下小肠黏膜细胞唯一能量来源和肠道修复最重要的营养物质,对恢复正常的肠通透性、防止肠源性感染、提高免疫力、避免肠功能衰竭的发生、提高危重病人的预后有着重要意义。本研究采用大鼠OLT模型,观察肝移植后肠黏膜细胞NF- $\kappa$ B活性、ICAM-1、TNF- $\alpha$ 表达的变化及Gln的影响,探讨Gln肠保护肠黏膜的作用机制,为保护肝移植肠黏膜屏障、防止细菌和内毒素移位、减少肝移植并发症、提高受体存活率的有效措施提供实验依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物与材料

健康雄性Wistar大鼠70只,10~12周龄,体质量220~250 g,购自重庆医科大学实验动物中心。显微手术器械包(上海医疗器械集团有限公司)、双人双目手术显微镜(江苏镇江光学仪器厂)、9-0无损伤缝合线(宁波医用缝针有限公司)、光学显微镜(Olympus, Japan)、BI-医学图像分析软件(成都泰盟科技有限公司)、HPIAS-1000型医学彩色图像分析系统(武汉同济千屏影像公司)、ABI 7000型荧光定量PCR仪(ABI, USA)。兔抗鼠NF- $\kappa$ B单抗(稀释比例1:200)、兔抗鼠ICAM-1单抗(稀释比例1:200)、山羊抗兔SP试剂盒、免疫组化显色试剂DAB(武汉博士德生物工程有限公司)、RNA提取试剂盒(Qiagen公司)、FQ-PCR试剂盒(TaKaRa公司)。FQ-PCR引物和探针由上海基康生物技术有限公司设计和合成。TNF- $\alpha$ 引物:正义链5'-GCCACCACGCTCTTCTGTCTAC-3',反义链5'-GGGCCATG-

GAAGTATGAGA-3',片段大小417 bp, TNF- $\alpha$  Taq Man 探针:5'-GAGGAGAAGTCCCAAATG-3', $\beta$ -actin引物:正义链5'-CAT-TGCCGACAGGATGCA-3',反义链5'-CATCTGCTGGAAGGTGGA-CAG-3',片段大小670 bp,  $\beta$ -actin Taq Man 探针:5'-AGCAAT-GATCTTGATCTTCA-3'。

### 1.2 方 法

1.2.1 实验动物分组及原位肝移植模型的建立 实验过程中对动物的处置符合中华人民共和国科学技术部2006年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准。健康雄性Wistar大鼠,按随机数字表法分为对照组( $n=10$ )、原位肝移植组(OLT组,  $n=30$ )和原位肝移植+Gln组(EEN组,  $n=30$ )。对照组只分离肝十二指肠韧带,OLT组和EEN组按改良的两袖套法进行原位肝移植,受体门静脉阻断时间为(14.2 $\pm$ 2.1) min。术前3 d、术后3 h, EEN组受体给予肠内营养混悬液能全力125 mL/(kg $\cdot$ d)+谷氨酰胺0.3 g/(kg $\cdot$ d)灌胃,OLT组及对照组仅给予肠内营养混悬液能全力,每日总热量按文献[4]报道的731.5 kJ/kg,匀分6次给予,期间自由饮水,直至处死动物。对照组分离肝十二指肠韧带12 h后,OLT组和EEN组肝移植后12、24、72 h( $n=10$ )处死动物,距回盲部5 cm处取回肠组织用于指标测定。

### 1.2.2 免疫组织化学检测肠组织NF- $\kappa$ B、ICAM-1的表达

各组于相应时间点,距回盲部5 cm取回肠组织2 cm,经4%多聚甲醛固定,梯度酒精脱水,透明后石蜡包埋,每个石蜡组织块按冠状位4  $\mu$ m连续切片,分别对肠组织NF- $\kappa$ B、ICAM-1采用山羊抗兔S-P试剂盒,免疫组织化学抗链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶法(streptavidin-peroxidase, S-P法)进行免疫组织化学染色,按照说明书进行。结果判定:光学显微镜下观察,NF- $\kappa$ B阳性细胞为细胞核或细胞质内棕色或棕褐色颗粒;ICAM-1阳性细胞为细胞质或细胞膜上棕色或棕褐色颗粒。在400倍光镜下,用HPIAS-1000型医学彩色图像分析系统测量光密度值,每组选20个视野(每组10只大鼠各取1张片,每张切片取2个视野)分别测量,然后计算光密度值的均值作为此组的代表值。

1.2.3 TNF- $\alpha$  mRNA表达的FQ-PCR检测 分别收集各组冻存肠组织块,匀浆器匀浆后,提取总RNA,测定浓度,并反转录成cDNA。取RT产物作为模板,进行FQ-PCR检测。FQ-PCR反应体系:10 $\times$  PCR buffer 2.5  $\mu$ L, 2.5 mmol/L dNTP 2.0  $\mu$ L, 25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 2.0  $\mu$ L, 10 pmol/L上、下游引物各2.0  $\mu$ L, 10 pmol/L Taq Man probe 1.0  $\mu$ L, 1.0  $\mu$ L Taq 酶(1 U/ $\mu$ L), cDNA 5.0  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 7.5  $\mu$ L。反应条件:50 $^{\circ}$ C预变性120 s;再

95 °C 预变性 600 s; 然后 95 °C 变性 10 s; 60 °C 退火、延伸 60 s 共进行 40 个循环, 于 60 °C 收集荧光信号, 反应结束后利用荧光定量 PCR 软件分析。荧光定量 PCR 仪为 ABI 7000 型(ABI, USA)。根据标准曲线计算每个基因的拷贝数。最终结果结合内参  $\beta$ -actin 的量并以 1  $\mu$ g 总 RNA 所对应的 cDNA 拷贝数来表示。Qty( Qty 为 FQ-PCR 测得的浓度, / $\mu$ L)  $\times$  校准因子( 每个样本的  $\beta$ -actin 的 Qty / 所有样本的  $\beta$ -actin 的 Qty 的平均值)  $\times$  50( 1  $\mu$ g RNA 可得到 50  $\mu$ L cDNA)。

1.2.4 小肠黏膜组织学观察及微绒毛长度测定 各组于相应时间点, 距回盲部 5 cm 取回肠组织, 切成 1 cm<sup>2</sup> 标本, 用 10% 甲醛固定, 经梯度酒精系列脱水, 常规石蜡包埋 4  $\mu$ m 厚连续切片并进行 HE 染色, 作组织病理学观察, 利用 BI-2000 医学图像分析软件对所采集的图像进行肠黏膜绒毛长度的定量检测, 显微镜下每个切片取 3 个点进行绒毛的长度(  $\mu$ m) 测量, 取其均值表示。

### 1.3 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 10.0 统计软件行组间比较方差分析。

## 2 结果

### 2.1 各组肠组织 NF- $\kappa$ B、ICAM-1 表达变化

对照组 NF- $\kappa$ B、ICAM-1 基本无阳性表达( 少数仅有弱阳性表达); OLT 组阳性细胞表达显著增多, 24 h 最明显; EEN 组较 OLT 组阳性细胞明显减少( 图 1、2)。NF- $\kappa$ B 主要表达于表面上皮和隐窝上皮细胞, 亦表达于血管内皮细胞, 表现为细胞核或细胞质上不均匀的棕色或棕褐色颗粒状物; ICAM-1 主要表达于小血管内皮细胞和上皮细胞, 表现为细胞质或细胞膜上不均匀的棕色或棕褐色颗粒状物。NF- $\kappa$ B、ICAM-1 表达的光密度强度表明: OLT 组和 EEN 组 12、24、72 h 与对照组比较, 差异有

统计学意义(  $P < 0.01$ ); OLT 组和 EEN 组 12、24、72 h 比较, 差异有统计学意义(  $P < 0.01$ ), 见表 1。说明 Gln 能抑制肝移植大鼠肠黏膜 NF- $\kappa$ B 活性, 减少 ICAM-1 的表达。

表 1 各组大鼠肠黏膜 NF- $\kappa$ B、ICAM-1 的表达 (  $n = 10, \bar{x} \pm s$  )

组别	NF- $\kappa$ B	ICAM-1
对照组	0.0606 $\pm$ 0.0147	0.0464 $\pm$ 0.0053
OLT 组		
12 h	0.1494 $\pm$ 0.0167 <sup>a</sup>	0.1380 $\pm$ 0.0136 <sup>a</sup>
24 h	0.2018 $\pm$ 0.0139 <sup>a</sup>	0.1750 $\pm$ 0.0086 <sup>a</sup>
72 h	0.1623 $\pm$ 0.0142 <sup>a</sup>	0.1604 $\pm$ 0.0077 <sup>a</sup>
EEN 组		
12 h	0.1119 $\pm$ 0.0091 <sup>ab</sup>	0.1097 $\pm$ 0.0064 <sup>ab</sup>
24 h	0.1437 $\pm$ 0.0102 <sup>ab</sup>	0.1289 $\pm$ 0.0075 <sup>ab</sup>
72 h	0.1087 $\pm$ 0.0109 <sup>ab</sup>	0.1086 $\pm$ 0.0050 <sup>ab</sup>

a:  $P < 0.01$ , 与对照组比较; b:  $P < 0.01$ , 与 OLT 组比较

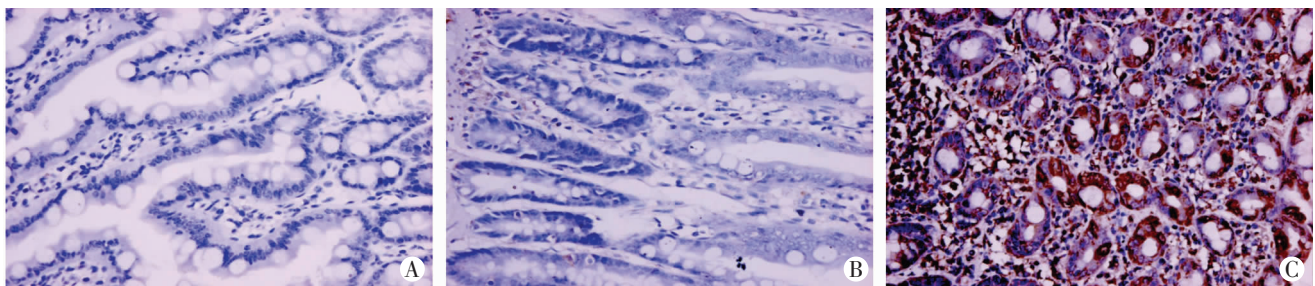
### 2.2 各组肠组织 TNF- $\alpha$ mRNA 表达变化

荧光定量 PCR 检测肠黏膜组织中 TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平显示, 肝移植后 12 h 肠黏膜组织 TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平升高, 24 h 达高峰, 72 h 有所下降; OLT 组和 EEN 组肝移植后 12、24、72 h 与对照组比较, 差异有统计学意义(  $P < 0.01$ ); EEN 组与 OLT 组肝移植后 12、24、72 h 比较, 差异有统计学意义(  $P < 0.01$ ), 分别下降 28.3%、41.1%、51.9%。见表 2。

表 2 各组大鼠肠组织 TNF- $\alpha$  mRNA 表达变化 (  $\times 10^4 / \mu$ g,  $n = 10, \bar{x} \pm s$  )

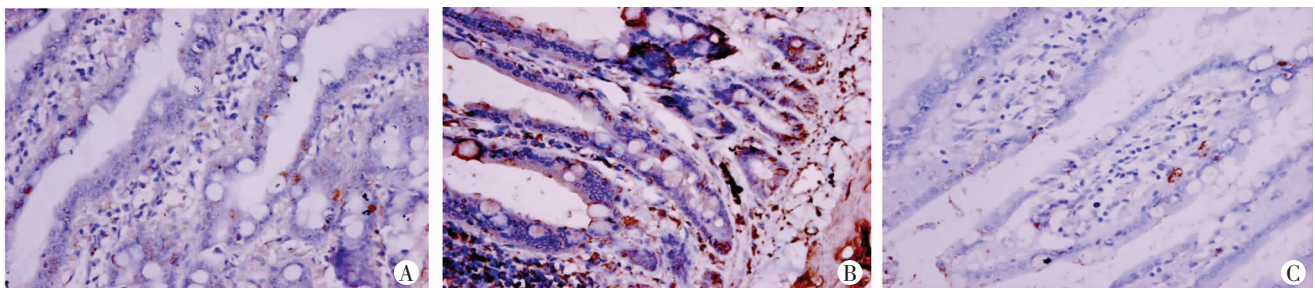
组别	12 h	24 h	72 h
OLT 组	4.20 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	9.40 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	5.43 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>
EEN 组	3.01 $\pm$ 0.10 <sup>ab</sup>	5.54 $\pm$ 0.19 <sup>ab</sup>	2.61 $\pm$ 0.14 <sup>ab</sup>

对照组 = ( 0.51  $\pm$  0.06 )  $\times 10^4 / \mu$ g; a:  $P < 0.01$ , 与对照组比较; b:  $P < 0.01$ , 与 OLT 组比较



A: 对照组; B: OLT 组肝移植后 24 h; C: EEN 组肝移植后 24 h

图 1 免疫组织化学检测各组大鼠肠黏膜 NF- $\kappa$ B 表达 ( S-P  $\times 400$  )



A: 对照组; B: OLT 组肝移植后 24 h; C: EEN 组肝移植后 24 h

图 2 免疫组织化学检测各组大鼠肠黏膜 ICAM-1 表达 ( S-P  $\times 400$  )

### 2.3 各组肠黏膜组织学观察及微绒毛长度变化

HE染色结果显示:对照组回肠绒毛结构完整,绒毛排列整齐,间质无水肿;而OLT组肝移植后12、24、72h回肠黏膜弥漫性重度糜烂、坏死脱落,绒毛长度缩短,宽度减小,绒毛间隙增宽,固有层水肿,大量炎性细胞浸润,黏膜变薄,以肝移植后24h最重,72h有所好转;而EEN组肝移植后12、24、72h轻度糜烂,绒毛长度变化较OLT组轻,只有轻度水肿和少量炎性细胞浸润,肝移植后24h只有局灶性坏死脱落。绒毛长度测量(表3):OLT组和EEN组肝移植后12、24、72h与正常组比较,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );EEN组与OLT组肝移植后12h相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而EEN组肝移植后24、72h绒毛长度分别是OLT组的1.50、1.45倍,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。说明Gln强化的EEN能维持肝移植后小肠绒毛的高度,减轻肠黏膜的损伤。

表3 各组大鼠回肠绒毛长度的变化 ( $\mu\text{m}$   $n=10$   $\bar{x} \pm s$ )

组别	12 h	24 h	72 h
OLT组	276.5 ± 16.9 <sup>a</sup>	152.1 ± 11.3 <sup>a</sup>	199.3 ± 11.6 <sup>a</sup>
EEN组	283.9 ± 15.7 <sup>a</sup>	228.1 ± 14.9 <sup>ab</sup>	289.9 ± 10.8 <sup>ab</sup>

对照组 = (383.3 ± 14.1)  $\mu\text{m}$ ; a:  $P < 0.01$ ,与对照组比较; b:  $P < 0.01$ ,与OLT组比较

### 3 讨论

肝移植无肝期,门静脉系统和胃肠道要经历45~60min或更长的淤血;再灌注期,缺血再灌注和血液中大量内毒素刺激肝脏和肠黏膜等机体巨噬细胞,经内毒素诱导的TLR4信号转导通路使NF- $\kappa$ B活化,导致TNF- $\alpha$ 、ICAM-1等一系列促炎症因子的转录和表达,进一步加重肠黏膜屏障受损,肠黏膜通透性增加,发生细菌和内毒素移位,引起内源性感染、引起SIRS和MODS,从而增加肝移植死亡率<sup>[5-6]</sup>。肠道不仅是MODS的靶器官,更是MODS的启动者。因此,维护肠黏膜屏障功能,改善肠黏膜的营养状态和减少肠源性感染,对于肝移植患者尤其是使用免疫抑制剂的患者非常重要。

NF- $\kappa$ B是真核细胞中普遍存在的一类具有多向性调节作用的诱导性核转录因子,广泛调控着免疫反应、应激反应和炎症反应相关的基因表达。外源性刺激如缺血/再灌注、脂多糖(LPS)、TNF- $\alpha$ 等通过一系列信号转导引起NF- $\kappa$ B的抑制蛋白I- $\kappa$ B(除Bcl-3)经磷酸化、泛素化和蛋白酶体途径而降解,导致NF- $\kappa$ B活化,借助于被暴露出来的核定位信号(NLS)进入细胞核,在核内与靶基因的特异序列结合并启动转录<sup>[7]</sup>。肝移植时肝、肠道缺血再灌注损伤产生的氧自由基可激活NF- $\kappa$ B,许多研究发现肠黏膜缺血再灌注后NF- $\kappa$ B活性显著性升高<sup>[8]</sup>。NF- $\kappa$ B的活化和转位增加肠上皮细胞对凋亡的敏感性,抑制NF- $\kappa$ B的活性,可以减少肠上皮细胞的凋亡<sup>[9]</sup>;同时,NF- $\kappa$ B的活化导致TNF- $\alpha$ 、ICAM-1等促炎症因子的转录和表达。本实验

结果显示肝移植再灌注期肠黏膜NF- $\kappa$ B表达增加,肠黏膜组织学损伤加重,肠微绒毛长度变短,提示NF- $\kappa$ B激活后通过调控细胞因子和黏附分子等炎症介质参与IIR的发生过程。

肠道作为细胞因子产生器官,是肠缺血-再灌注时TNF- $\alpha$ 产生的主要来源,TNF- $\alpha$ 是缺血-再灌注损伤细胞因子连锁反应中一个关键性介质,能诱导或上调血管内皮细胞和中性粒细胞(polymorphonuclear neutrophils, PMN)表达两种黏附分子ICAM-1和ELAM-1,由此促进PMN聚集、血管内皮对白细胞的黏附,有助于PMN释放活性氧和蛋白水解酶等物质,参与肠缺血-再灌注后肠黏膜局部和远隔器官的损害,加重缺血再灌注损伤程度<sup>[3,9]</sup>;TNF- $\alpha$ 还可激活巨噬细胞、补体系统加剧组织损伤;TNF- $\alpha$ 可通过直接抑制肠上皮细胞间紧密连接蛋白ZO-1表达引起肠黏膜上皮细胞间紧密连接破坏<sup>[10]</sup>。组织局部黏附分子ICAM-1表达上调是PMN和内皮细胞黏附、激活的基础,存在于多种细胞的表面。在肠组织,ICAM-1表达于内皮细胞、白细胞、肠表皮细胞,并在肠道炎症的白细胞运动和募集中起重要作用;肠缺血再灌注时,肠血管内皮细胞、表皮细胞ICAM-1表达增加,由此介导的PMN在局部聚集、活化是造成肠黏膜上皮细胞损伤和肠通透性增加的重要病理生理学基础<sup>[3,9]</sup>。本研究结果证实,OLT组12、24、72h TNF- $\alpha$ mRNA、ICAM-1表达水平与对照组有显著性差异,并与肠黏膜损伤程度有良好相关性,证明了TNF- $\alpha$ 、ICAM-1在IIR中的作用。

研究表明,Gln作为肠黏膜细胞蛋白、核酸合成的底物,在应激状态下成为小肠黏膜细胞唯一能量来源和肠道修复最重要的营养物质。但当机体受到如烧伤、肝移植、缺血再灌注等严重创伤时,血液和组织中的Gln浓度可显著减少,体内Gln池的耗竭会导致小肠上皮细胞的萎缩,并可能损害肠屏障功能,促进细菌移位。越来越多的研究表明,肠缺血再灌注、危重患者及严重创伤等应激情况下,早期给予Gln强化的肠内营养(肠内营养混悬液中加入Gln),不仅满足了机体对营养的需要,而且Gln为肠黏膜提供了营养底物,改善了肠黏膜血流供应,能维持肠道免疫活性和肠黏膜细胞的正常结构、细胞间连接和绒毛的长度,预防和减轻肠黏膜屏障损害;有利于防止内毒素释放,减少肠源性感染的发生,从源头上控制SIRS的发生,进而降低MODS的发生,提高生存率<sup>[11]</sup>。我们先前实验研究表明:大鼠原位肝移植后早期肠黏膜内NF- $\kappa$ B被激活,引起ICAM-1、TNF- $\alpha$ 表达增加,黏膜损伤加重<sup>[2]</sup>。本实验结果表明:加用Gln后,NF- $\kappa$ B活性明显被抑制,同时伴有ICAM-1、TNF- $\alpha$ 表达下降,黏膜损伤显著减轻。Gln抑制NF- $\kappa$ B的活化及ICAM-1、TNF- $\alpha$ 表达可

能与 Gln 参与抗氧化剂谷胱甘肽的合成有关,补充外源性的 Gln,将提高谷胱甘肽的水平,谷胱甘肽能抵抗氧自由基对生物膜氧化损伤,增加细胞生存率。因此 Gln 通过抑制 NF- $\kappa$ B 的活化,减少 ICAM-1、TNF- $\alpha$  表达而起到减轻肝移植后肠黏膜损伤,保护肠黏膜屏障功能的作用。这可能为对抗肝移植术后肠源性感染、减少 MODS 的发生提供了新的治疗途径。

### 参考文献:

[1] Gurusamy K S, Kumar Y, Davidson B R. Methods of preventing bacterial sepsis and wound complications for liver transplantation [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2008 (4): CD006660.  
[2] Li Y, Chen Y, Zhang J, et al. Protective effect of glutamine-enriched early enteral nutrition on intestinal mucosal barrier injury after liver transplantation in rats [J]. Am J Surg, 2010, 199(1): 35-42.  
[3] Takeshita M, Tani T, Harada S, et al. Role of transcription factors in small intestinal ischemia-reperfusion injury and tolerance induced by ischemic preconditioning [J]. Transplant Proc, 2010, 42(9): 3406-3413.  
[4] Zhao D, Letterman J, Schreiber B M. beta-Migrating very low density lipoprotein (beta VLDL) activates smooth muscle cell mitogen-activated protein (MAP) kinase via G protein-coupled receptor-mediated transactivation of the epidermal growth factor (EGF) receptor: effect of MAP kinase activation on beta VLDL plus EGF-induced cell prolifera-

tion [J]. J Biol Chem, 2001, 276(33): 30579-30588.  
[5] Xu H, Ye X, Steinberg H, et al. Selective blockade of endothelial NF-kappaB pathway differentially affects systemic inflammation and multiple organ dysfunction and injury in septic mice [J]. J Pathol, 2010, 220(4): 490-498.  
[6] Watson M J, Ke B, Shen X D, et al. Intestinal ischemia/reperfusion injury triggers activation of innate toll-like receptor 4 and adaptive chemokine programs [J]. Transplant Proc, 2008, 40(10): 3339-3341.  
[7] Li C, Kao R L, Ha T, et al. Early activation of IKKbeta during *in vivo* myocardial ischemia [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001, 281(3): H1264-H1271.  
[8] Hassoun H T, Kozar R A, Kone B C, et al. Intraischemic hypothermia differentially modulates oxidative stress proteins during mesenteric ischemia/reperfusion [J]. Surgery, 2002, 132(2): 369-376.  
[9] Crisafulli C, Mazzon E, Galuppo M, et al. Olprinone attenuates the development of ischemia/reperfusion injury of the gut [J]. Intensive Care Med, 2010, 36(7): 1235-1247.  
[10] Ma T Y, Iwamoto G K, Hoa N T, et al. TNF-alpha-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability requires NF-kappa B activation [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2004, 286(3): G367-G376.  
[11] Mondello S, Galuppo M, Mazzon E, et al. Glutamine treatment attenuates the development of ischaemia/reperfusion injury of the gut [J]. Eur J Pharmacol, 2010, 643(2/3): 304-315.

(收稿:2012-10-30;修回:2012-12-20)

(编辑 龙亮)

(上接 1196 页)

## 2 结果

在溶栓 3 个月后,试验组与对照组的 SAQ 评分和 SF-36 评分无统计学差异。溶栓 6 个月后,试验组 SAQ 评分中躯体受限程度、心绞痛稳定状态、心绞痛发作情况分别为(84.5±8.9)、(72.3±6.1)、(82.7±6.5),对照组 SAQ 评分中躯体受限程度、心绞痛稳定状态、心绞痛发作情况分别为(71.3±7.2)、(61.7±8.8)、(71.1±7.3),差异有显著性( $P < 0.01$ );试验组 SF-36 评分中总体健康、社会功能、情感性角色受限分别为(68.2±9.3)、(83.1±8.6)、(66.5±7.7),对照组 SF-36 评分中总体健康、社会功能、情感性角色受限分别为(60.2±11.1)、(78.2±9.1)、(56.9±10.2),差异有显著性( $P < 0.01$ )。溶栓 1 年后,试验组 SAQ 评分中躯体受限程度、心绞痛稳定状态、心绞痛发作情况分别为(92.2±8.1)、(82.6±7.1)、(90.2±7.4),对照组 SAQ 评分中躯体受限程度、心绞痛稳定状态、心绞痛发作情况分别为(78.5±6.3)、(70.9±4.6)、(83.3±6.9),差异有显著性( $P < 0.01$ );试验组 SF-36 评分中总体健康、社会功能、情感性角色受限分别为(79.5±12.8)、(92.5±7.9)、(78.3±9.6),对照组 SF-36 评分中总体健康、社会功能、情感性角色受限分别为(67.1±13.6)、(85.9±9.7)、(64.8±10.6),差异有显著性( $P < 0.01$ )。

## 3 讨论

AMI 溶栓治疗后,患者通过合理的康复锻炼可以:①改善身体能量储备,提高生活质量;通过适量运动可以增加骨骼肌线粒体的体积和数量,有利于骨骼肌的氧利用,提高心绞痛阈值和心脏运动储备能力<sup>[1-2]</sup>,从而提高生活质量。本研究中 SAQ 量表显示,患者通过康复锻炼后躯体受限程度明显改善。

②减少冠心病的危险因素:运动可以减轻体质量、降低血压、改善高血脂的状况,还可以增加骨骼肌胰岛素受体敏感性,改善体内代谢,最终延缓动脉粥样硬化的进程。③改善心理状态:康复锻炼可减少患者对疾病的忧虑,增强其战胜疾病的信心,通过乐观情绪促进患者进一步康复。研究中患者精神健康和社会功能经过康复后明显好转。

掌握康复运动的强度至关重要,本研究充分利用各种心电图检查的优缺点,为患者制定了合理的康复计划,以提高急性心肌梗死患者溶栓后的远期生存质量。心电图操作简便,安全且费用低廉,广泛用于心肌梗死的诊断和治疗过程中,用于随访也容易为患者接受。心电图可以通过观察 ST 段、T 波、U 波、Q-T 间期以及动态演变判断心肌有无缺血,还可以反映心肌梗死部位、范围、推断病情演变、评估治疗效果和预后<sup>[3]</sup>。动态心电图可以弥补普通心电图的不足,可以检测到无症状的心肌缺血,提高阳性率,还可以真实地记录溶栓后患者日常生活中心电图变化,是连续监测其运动强度的重要方法。心电图运动试验可以判断冠状动脉储备能力和心肌缺血程度,目前是溶栓后康复过程中定期检查的指标之一,它不仅用于冠心病的诊断,更多的用于判断病情和预后,预测心脏事件的危险性、制定运动方案,对于确定治疗方案效果和患者回归社会的时间至关重要。

### 参考文献:

[1] 江鳌峰,张福春,高炜,等.运动康复对急性心肌梗死患者左室重构和功能的影响[J].中华内科杂志,2006,45(11):904-906.  
[2] 马雪柏,蒋晓芳.心肌梗塞患者康复期运动锻炼效果的研究[J].心血管康复医学杂志,2009,18(3):219-221.  
[3] 宋昱,黄体钢,齐向前.心电图对急性心肌梗死溶栓效果的评价[J].中国心血管病研究杂志,2004,2(8):610-612.

(收稿:2013-03-15;修回:2013-06-10)

(编辑 冷怀明)