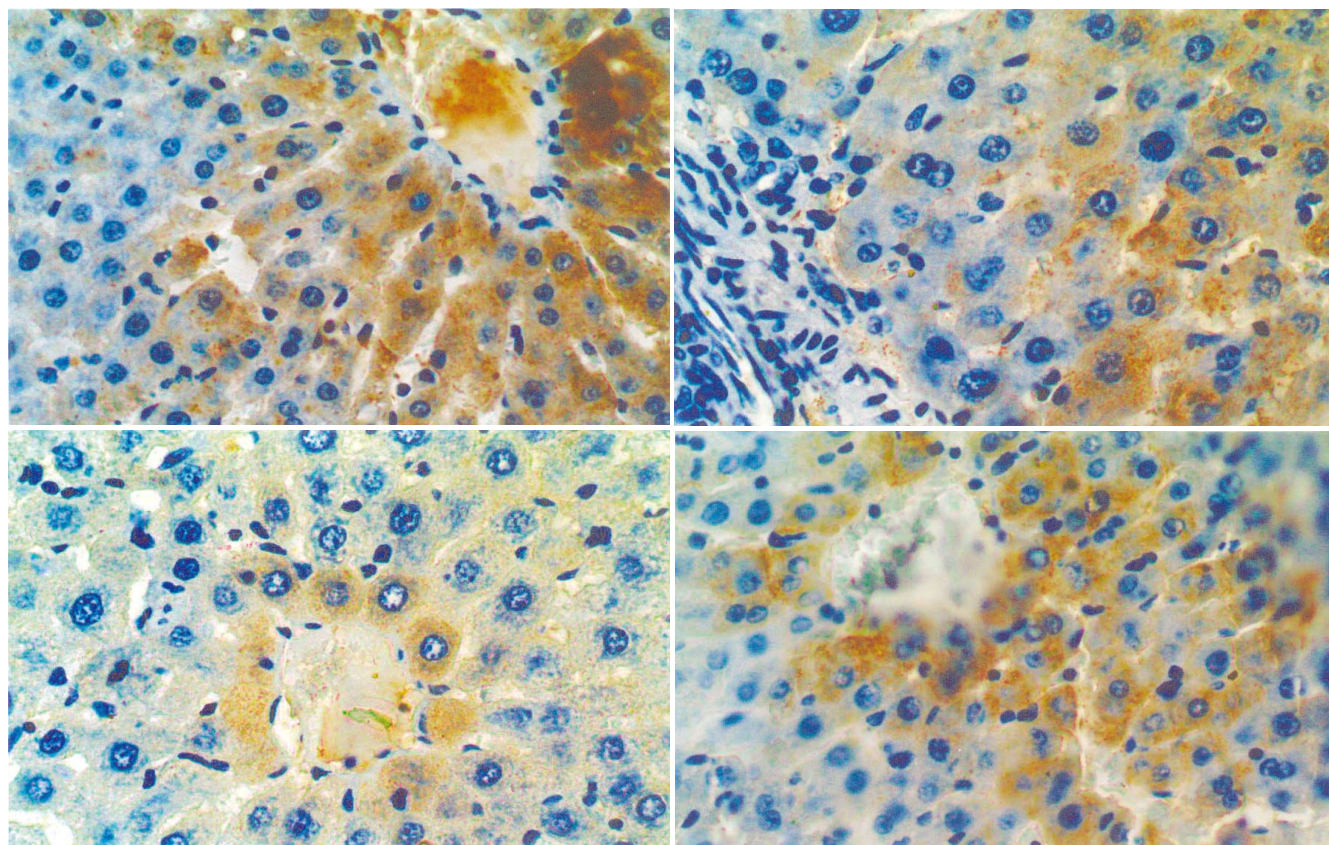


世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2005 年 10 月 15 日 第 13 卷 第 19 期 (Volume 13 Number 19)



19/2005

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,
2003年百种中国杰出学术期刊,

《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊.

世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,
俄罗斯《文摘杂志》收录.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

目次

2005年10月15日

第13卷

第19期

(总第147期)

述

评

- 2289 胃癌表遗传学的研究进展 滕玥, 戴冬秋
2294 胃肠癌术后应用抗生素致伪膜性肠炎 马振海, 戴冬秋, 徐惠绵

基础 研究

- 2297 谷氨酰胺对大鼠肝脏缺血再灌注损伤时肝组织谷胱甘肽含量和Bcl-2、Bax蛋白表达的影响
贾昌俊, 戴朝六, 张旭, 徐锋, 崔凯, 许永庆
2302 生存素siRNA表达质粒对MGC-803细胞增殖的影响
赵伟红, 郭俊明, 肖丙秀, 管忠, 肖东升
2306 人F3-GRIM19基因的克隆与表达 孙厚良, 刘洋, 李甲初, 曾昭淳
2310 解偶联蛋白-2在大鼠非酒精性脂肪肝中的表达
顾小红, 张云东, 冯爱娟
2314 COX-2在Barrett食管和食管腺癌中的表达及意义
刘心娟, 王邦茂, 阎雪燕, 刘文天, 吕宗舜, 张洁
2318 奥曲肽联合汉防己甲素对人胃癌细胞增殖的影响
王龙, 朱金水, 陈维雄, 朱励, 达伟, 王秀玲
2323 EB潜伏膜蛋白表达与肠上皮化生胃黏膜幽门螺杆菌感染的相关性
刘东屏, 于继红, 李茵茵, 王炳元
2327 瘦素及硬脂酰CoA去饱和酶-1在高脂饮食大鼠非酒精性脂肪肝发病中的作用
陆元善, 范建高, 方继伟, 丁晓东, 杨兆瑞
2332 从肠肌间神经丛抑制性神经递质的改变探讨IBS不同亚型的发病机制
徐俊荣, 罗金燕, 尚磊, 孔武明

临 床 研究

- 2339 便秘型肠易激综合征结肠黏膜组织蛋白质组双向凝胶电泳分析
彭丽华, 杨云生, 孙刚, 王巍峰
2343 生理盐水冲洗提高多层CT门脉造影图像质量的临床研究 肖亮, 徐克

文 献 综 述

- 2349 与胃癌相关的DNA甲基化研究进展 张晔, 袁媛
2355 胃肠黏膜抗损伤和修复新进展 王玮, 孙梅
2360 钙和维生素D预防结直肠癌的机制及其临床应用 陆嵘, 房静远
2364 重症急性胰腺炎并发肾损害的发病机制 张喜平, 王蕾

研究 快报

- 2371 应用抑制性消减杂交技术克隆乙型肝炎病毒DNA PTP1的反式调节基因
高学松, 成军, 甄真, 郭江, 张黎颖, 陶明亮
2375 活血健脾补肾法对结肠炎小鼠结肠组织TNF- α 及其mRNA表达的影响
张永锋, 陈如山, 吴正治, 李明, 陈曼茵
2378 蜜调通关散及其拆方对家兔肠道作用机制 梁劲军, 黄阳勇, 庆方
2381 复方甘草甜素下调细胞周期素依赖性激酶1启动子表达
王志凌, 成军, 张连峰, 邵凤娟, 刘蔚, 刘妍, 陶明亮

临 床 经 验

- 2386 内镜下双重色素法联合超声内镜对食管早期癌及癌前病变的诊断价值
刘一品, 黄留业, 李延青
2389 中医药对乙型肝炎患者肝癌前期状态的干预17例
屠红, 张菁, 成伟中, 韩镭, 陆敏, 曹宏伟, 陈复华, 耿沁
2392 奥沙拉秦钠对溃疡性结肠炎一氧化氮合酶表达的影响 郝俊鸣, 江学良, 佟艳铭
2395 应用SELDI-TOF-MS技术建立直肠癌筛选血清蛋白质指纹图谱模型
闫志勇, 钱冬萌, 丁守怡, 宋旭霞, 王斌
2398 消化道肿瘤CT动脉造影分析83例 朱晓玲, 冯妹婷
2401 脐血与新鲜冰冻血浆治疗慢性重型肝炎的疗效比较
卢家桀, 唐红, 王晓辉, 刘真真, 叶慧

致 谢	2404 致谢世界华人消化杂志编委
消 息	2293 欢迎订阅2006年《世界华人消化杂志》 2301 第11届全国中西医结合结直肠肛门病学术会议征文通知 2309 2006年世界华人消化杂志由半月刊改为旬刊出版发行 2317 第一届全国临床营养支持学术会议通知 2326 2006年即将召开的国际会议 2331 消化道肿瘤外科治疗2006高级论坛征文通知 2338 《世界华人消化杂志》欢迎投稿 2348 WJG和世界华人消化杂志全文网站免费开通 2363 首届北京地坛感染病学术会议 2385 2006年第5届全国肝脏疾病学术研讨会议征文通知
封面故事	贾昌俊, 戴朝六, 张旭, 徐锋, 崔凯, 许永庆. 谷氨酰胺对大鼠肝脏缺血再灌注损伤时肝组织谷胱甘肽含量和 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响. 世界华人消化杂志 2005;13(19):2297-2301 http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2297.asp
国际会议	13th United European Gastroenterology Week, UEGW October 15-20, 2005 American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting October 28-November 2, 2005 ISGCON 2005 November 11-15, 2005 isgcon2005@yahoo.co.in isgcon2005.com Advanced Capsule Endoscopy Users Course November 18-19, 2005 www.asge.org/education II Latvian Gastroenterology Congress November 29, 2005 gec@stradini.lv www.gastroenterologs.lv 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases December 1-3, 2005 c.chase@imedex.com www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus February 22-25, 2006 isde@sapmea.asn.au www.isde.net

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(半月刊)

创 刊 1993-01-15
改 刊 1998-01-25
出 版 2005-10-15
原刊名 新消化病学杂志

名 誉 总 编 辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生
编 辑 部 主 任 张海宁 中文 编 辑 潘伯荣 张海宁
英 文 编 辑 张海宁 排 版 校 对 张敏 张勇 李琪

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街77号
出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市2345信箱
E-mail: wcjd @ wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>
电话: 010-85381901
传真: 010-85381893
印刷 北京科信印刷厂
发行 国内: 北京报刊发行局
国外: 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京市399信箱)
订购 全国各地邮电局
邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市2345信箱)
电话: 010-85381901
传真: 010-85381893

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊. 世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

2005年版权归世界胃肠病学杂志社所有

ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

邮发代号 82-262
国外代号 M 4481

国内定价
每期24.00元 全年576.00元

广告经营许可证
1401004000050

www.wjgnet.com

World Chinese Journal of Digestology

October 2005 Contents in Brief Volume 13 Number 19

EDITORIAL

Advancement in research of gastric cancer epigenetics

Teng Y, Dai DQ 2289

Pseudomembrane colitis induced by usage of antibiotic after gastric intestinal cancer operation

Ma ZH, Dai DQ, Xu HM 2294

BASIC RESEARCH

Effects of glutamine on glutathione content and expression of Bcl-2 and Bax protein during hepatic ischemia and reperfusion injury in rats

Jia CJ, Dai CL, Zhang X, Xu F, Cui K, XU YQ 2297

Effects of survivin siRNA expression plasmid on proliferation of MGC-803 cells

Zhao WH, Guo JM, XIAO BX, Guan Z, Xiao DS 2302

Cloning and expression of human F3-GRIM19 gene

Sun HL, Liu Y, Li JC, Zeng ZC 2306

Expression of uncoupling protein 2 in nonalcoholic fatty liver of rats

Gu XH, Zhang YD, Feng AJ 2310

Expression of COX-2 in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma and its significance

Liu XJ, Wang BM, Yan XY, Liu WT, LV ZS, Zhang J 2314

Inhibitory effects of tetrandrine combined with octreotide on proliferation of gastric cancer cell lines cultured *in vitro*

Wang L, Zhu JS, Chen WX, Zhu L, Da W, Wang XL 2318

Relationship between expression of Epstein-Barr virus latent membrane protein and *H pylori* infection in gastric mucosa with intestinal metaplasia

Liu DP, Yu JH, Li YY, Wang BY 2323

Roles of leptin and stearyl-CoA desaturase-1 in pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease induced by a fat-rich diet

Lu YS, Fan JG, Fang JW, Ding XD, Yang ZR 2327

Role of inhibitory neurotransmitter of myoenteric plexus in carcinogenesis of irritable bowel syndrome with different subtypes

Xu JR, Luo JY, Shang L, Kong WM 2332

CLINICAL RESEARCH

Proteomic analysis of colonic mucosa by two-dimensional gel electrophoresis in constipation-predominant irritable bowel syndrome

Peng LH, Yang YS, Sun G, Wang WF 2339

Clinical application of normal saline flush in multi-detector CT photography on portal vein

Xiao L, Xu K 2343

REVIEW

Advancement in research of gastric cancer related DNA methylation

Zhang Y, Yuan Y 2349

New advancement in rehabilitation and anti-damage of gastric intestinal mucosa

Wang W, Sun M 2355

Mechanism and clinical usage of calcium and vitamin D in prevention of rectal cancer

Lu R, Fang JY 2360

Mechanism of severe acute pancreatitis combined with renal damage

Zhang XP, Wang L 2364

BRIEF REPORT

Cloning of hepatitis B virus DNA PTP1 transactivating genes by suppression subtractive hybridization technique

Gao XS, Cheng J, Zhen Z, Guo J, Zhang LY, Tao ML 2371

Effects of *Huoxue*, *Jianpi* and *Bushen* recipe on expression of TNF- α and its mRNA in mice with colitis

Zhang YF, Chen RS, Wu ZZ, Li M, Chen MY 2375

Effects of *Mitiao Tongguansan* decoction and its different ingredients on function of intestinal tract in rabbits

Liang JJ, Huang YY, Qing F 2378

Down-regulatory effects of glycyrrhizin on expression of cyclin-dependent kinase 1 gene promoter

Wang ZL, Cheng J, Zhang LF, Shao FJ, Liu W, Liu Yan, Tao ML 2381

CLINICAL PRACTICE

Evaluation of double staining combined with endosonography in detection of early esophageal cancer and precancerous lesions

Liu YP, Huang LY, Li YQ 2386

Traditional Chinese Medicine intervention for development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B: an analysis of 17 cases

Tu H, Zhang J, Cheng WZ, Han L, Lu M, Cao HW, Chen FH, Geng Q 2389

Effects of olsalazine sodium on expression of nitric oxide synthase in patients with ulcerative colitis: an analysis of 36 cases

Hao JM, Jiang XL, Tong YM 2392

Establishment of serum protein pattern model for screening rectal carcinoma by SELDI-TOF-MS

Yan ZY, Qian DM, Ding SY, Song XX, Wang B 2395

Analysis of artery computed tomography angiography for digestive tumor in 83 cases

Zhu XL, Feng ST 2398

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica and Abstract Journals

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

World Chinese Journal of Digestology Monthly
Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date October 15, 2005

Honorary-Editor-in-Chief

Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief

Lian-Sheng Ma

Edited by Editorial Board of

World Chinese Journal of Digestology
PO Box 2345, Beijing 100023, China

Published by The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Overseas Distributor

China International Book Trading Corporation
PO Box 399, Beijing 100044, China

Code No.M4481

Mail-Order Circulation Section, The WJG Press
PO Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381901

Fax: +86-10-85381893

Email: wjcd @ wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

Copyright © 2005 by The WJG Press

谷氨酰胺对大鼠肝脏缺血再灌注损伤时肝组织谷胱甘肽含量和 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响

贾昌俊, 戴朝六, 张旭, 徐锋, 崔凯, 许永庆

贾昌俊, 戴朝六, 张旭, 徐锋, 许永庆, 中国医科大学附属第二医院(盛京医院)肝胆外科 辽宁省沈阳市 110004
崔凯, 沈阳医学院附属中心医院普通外科 辽宁省沈阳市 110024
贾昌俊, 男, 1977-07-24生, 辽宁省沈阳市人, 汉族, 中国医科大学附属第二医院(盛京医院)肝胆外科医师, 主要从事肝胆外科临床与基础研究。
辽宁省自然科学基金资助项目, No. 20022063
通讯作者: 戴朝六, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属第二医院(盛京医院)肝胆外科。daicl-sy@tom.com
电话: 024-83955232 传真: 024-83955092
收稿日期: 2005-09-21 接受日期: 2005-09-30

Effects of glutamine on glutathione content and expression of Bcl-2 and Bax protein during hepatic ischemia and reperfusion injury in rats

Chang-Jun Jia, Chao-Liu Dai, Xu Zhang, Feng Xu, Kai Cui, Yong-Qing Xu

Chang-Jun Jia, Chao-Liu Dai, Xu Zhang, Feng Xu, Yong-Qing Xu, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital (Shengjing Hospital) of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Kai Cui, Department of General Surgery, the Affiliated Central Hospital of Shenyang Medical College, Shenyang 110024, Liaoning Province, China
Supported by the Natural Science Foundation of Liaoning Province, No. 20022063
Correspondence to: Professor Chao-Liu Dai, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital (Shengjing Hospital) of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. daicl-sy@tom.com
Received: 2005-09-21 Accepted: 2005-09-30

Abstract

AIM: To investigate the effect of alanyl-glutamine dipeptide (Ala-Gln) on the content of glutathione (GSH) and the expression of Bcl-2 and Bax protein during hepatic ischemia and reperfusion injury (HIRI) in rats.

METHODS: A total of 48 Wistar rats were randomly divided into glutamine group (group G) and control group (group C), which were pretreated with Gln and normal saline, respectively. The liver was subjected to warm ischemia by Pringle method for 30 min, and then reperfusion. The serum samples were collected 1 and 24 h after the reperfusion, and the level of serum ALT was measured. The GSH content and histopathological changes were detected in the liver tissues. The expression of Bcl-2 and Bax protein in the liver tissues were

detected by immunohistochemistry.

RESULTS: The level of serum ALT was significantly lower in group G than that in group C 1 and 24 h after the reperfusion ($8.3 \pm 2.0 \mu\text{kat/L}$ vs $13.7 \pm 5.5 \mu\text{kat/L}$, $P < 0.05$; $2.9 \pm 2.5 \mu\text{kat/L}$ vs $9.1 \pm 4.3 \mu\text{kat/L}$, $P < 0.01$), but the GSH content was significantly higher in group G than that in group C ($1216.09 \pm 152.78 \mu\text{g/g}$ vs $856.68 \pm 117.64 \mu\text{g/g}$, $P < 0.01$; $899.73 \pm 57.75 \mu\text{g/g}$ vs $800.50 \pm 94.79 \mu\text{g/g}$, $P < 0.05$). The histopathological changes were significantly slighter in group G than those in group C. One and twenty-four h after the reperfusion, the positive rate of Bcl-2 protein expression was significantly higher in group G than that in group C (100.0% vs 37.5% , $P < 0.05$; 87.5% vs 25.0% , $P < 0.05$), while the positive rate of Bax protein expression was significantly lower in group G than that in group C (25.0% vs 87.5% , $P < 0.05$; 25.0% vs 87.5% , $P < 0.05$).

CONCLUSION: Ala-Gln (Gln) can protect rats against HIRI, and the mechanism may relate to the enhancement of GSH content and the regulation of Bcl-2, Bax protein expression.

Key Words: Glutamine; Hepatic ischemia and reperfusion injury; Glutathione; Bcl-2; Bax

Jia CJ, Dai CL, Zhang X, Xu F, Cui K, Xu YQ. Effects of glutamine on glutathione content and expression of Bcl-2 and Bax protein during hepatic ischemia and reperfusion injury in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(19):2297-2301

摘要

目的: 探讨谷氨酰胺(glutamine, Gln)对大鼠肝脏缺血再灌注损伤(HIRI)时肝组织谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量和细胞凋亡相关基因Bcl-2和Bax蛋白表达的影响。

方法: 将48只健康♂Wistar大鼠随机分为谷氨酰胺组(G组)和对照组(C组)。预置中心静脉导管后经此输液通道分别注入谷氨酰胺溶液和生理盐水行预处理(3 d)。采用Pringle法夹闭肝十二指肠韧带致肝脏缺血30 min后,去夹恢复血流为再灌注。分别于再灌注后1、24 h抽血检测ALT的水平,然后快速切取肝组织检测其还原型GSH的含量,切取部分肝组织用于组织病

理学检查, 并采用S-P免疫组织化学染色方法检测肝组织细胞凋亡相关基因Bcl-2和Bax的蛋白表达情况。

结果: 再灌注后1、24 h, G组血清ALT水平皆显著低于C组($8.3 \pm 2.0 \mu\text{kat/L}$ vs $13.7 \pm 5.5 \mu\text{kat/L}$, $P < 0.05$; $2.9 \pm 2.5 \mu\text{kat/L}$ vs $9.1 \pm 4.3 \mu\text{kat/L}$, $P < 0.01$)。肝脏组织GSH的水平: 再灌注后1、24 h, G组肝组织GSH水平皆明显高于C组($1216.09 \pm 152.78 \mu\text{g/g}$ vs $856.68 \pm 117.64 \mu\text{g/g}$, $P < 0.01$; $899.73 \pm 57.75 \mu\text{g/g}$ vs $800.50 \pm 94.79 \mu\text{g/g}$, $P < 0.05$)。肝组织损害的病理学改变: G组明显轻于C组。再灌注后1、24 h, G组肝组织Bcl-2蛋白阳性表达率明显高于C组(100.0% vs 37.5% , $P < 0.05$; 87.5% vs 25.0% , $P < 0.05$)。再灌注后1、24 h, G组肝组织Bax蛋白阳性表达率明显低于C组(25.0% vs 87.5% , $P < 0.05$; 25.0% vs 87.5% , $P < 0.05$)。

结论: Gln对大鼠HIRI具有保护作用, 其作用机制可能与维持体内GSH含量和影响肝组织细胞凋亡相关基因Bcl-2和Bax蛋白的表达有关。

关键词: 谷氨酰胺; 肝脏缺血再灌注损伤; 谷胱甘肽; Bcl-2; Bax

贾昌俊, 戴朝六, 张旭, 徐锋, 崔凯, 许永庆. 谷氨酰胺对大鼠肝脏缺血再灌注损伤时肝组织谷胱甘肽含量和Bcl-2、Bax蛋白表达的影响. 世界华人消化杂志 2005;13(19):2297-2301

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2297.asp>

0 引言

肝脏缺血再灌注损伤(hepatic ischemia and reperfusion injury, HIRI)始终是肝脏外科发展中的一个难题, 其具体发生机制尚未完全明确, 多数学者认为与氧自由基和钙离子超载等多种因素有关^[1]。

目前研究表明, 谷氨酰胺(Gln)在肠道、心肌和骨骼肌等组织的缺血再灌注损伤过程中具有保护作用^[2-4], 而这种保护作用部分是与其维持组织中谷胱甘肽(GSH)含量的相对高水平有关。

细胞凋亡是受基因调控的一种细胞主动死亡形式, 其过程受凋亡抑制基因**bcl-2**和凋亡刺激基因**bax**等众多细胞凋亡相关基因的影响^[5]。已有研究证实, 体内GSH的缺乏可导致**bcl-2**基因表达减少, 加重组织细胞的凋亡程度^[6], 而肝细胞中**bcl-2**基因表达的增强则对大鼠HIRI具有保护作用^[7]。

目前对于Gln在HIRI中的保护作用以及Gln对肝组织GSH含量和细胞凋亡相关基因Bcl-2、Bax蛋白表达的影响等方面的研究报道尚不多见。因为Gln的溶解度低及性质的不稳定, 目前在临床中, 多采用丙氨酰-谷氨酰胺(alanyl-glutamine, Ala-Gln)双肽代替Gln^[8]。我们通过建立大鼠静脉营养输液模型和HIRI模

型, 观察术前给予Gln对大鼠肝脏的保护作用以及对肝组织GSH的含量和细胞凋亡相关基因Bcl-2和Bax蛋白表达的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 健康♂Wistar大鼠48只, 体质量200-300 g, 由中国医科大学盛京医院动物实验中心提供。大鼠分单笼喂养1 wk, 期间随意进食(普通混合饲料, 不含Gln), 自由饮水, 12 h照明, 以充分适应环境。丙氨酰-谷氨酰胺二肽(力太), 购自德国费森尤斯卡比(Fresenius Kabi)华瑞制药有限公司(SINO-SWED PHARMA-CEUTICAL CORP. LTD.)。GSH试剂盒购自南京建成生物工程研究所。Bcl-2兔抗鼠单克隆抗体和Bax兔抗鼠单克隆抗体均购自北京中山生物技术有限公司, 为美国SANTA CRUZ公司产品。

1.2 方法 (1)大鼠静脉输液模型的建立: 参照第三军医大学静脉营养模型^[9], 并稍加改动。大鼠术前禁食12 h, 100 g/L乌拉坦按0.1 mL/kg ip麻醉。经右侧颈外静脉置入中心静脉插管。术后将大鼠置于代谢笼中, 允许自由活动, 期间随意食水。插管后2 h始用微量泵持续输注生理盐水(速率为2 mL/h), 观察3 d。(2)实验分组: 48只大鼠随机分为Gln组(G组, $n = 24$), 对照组(C组, $n = 24$)。G组给予含Gln溶液(Ala-Gln+生理盐水配制质量比为30 g/L的溶液, 相当于20 g/L Gln溶液, 输液速率为2 mL/h), C组给予同等量的生理盐水(输液速率为2 mL/h), 共3 d, 期间仍随意食水。(3)大鼠HIRI模型的建立: 第7 d再次相同方法麻醉成功后, 将大鼠置于电热毯上以保持体温在 $36.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。取正中切口入腹, 离断肝周韧带, 用无创伤微血管夹完全阻断入肝血流(Pringle法), 30 min后松开血管夹, 松动肝门恢复肝血供, 关腹。(4)取材: 再灌注后1和24 h, 分别抽3 mL腹主动脉血, 然后用镊子快速夹取肝组织, 用锡箔纸包裹置于液氮中保存, 再转至 -80°C 冰箱中保存, 待测GSH含量。再分别取1 cm×1 cm×0.5 cm大小肝组织, 置于40 g/L甲醛溶液中固定, 备作组织病理学和细胞凋亡的免疫组化检查。血液静置20 min后, 离心10 min(2 500 r/min), 用微量移液器将上清液移至预冷弹头中, 置于 -30°C 冰箱中冷冻保存, 待测生化指标。最后处死大鼠。

1.2.1 血清ALT水平的测定 用全自动生化分析仪测定血清ALT水平。

1.2.2 肝组织GSH含量的测定 按GSH试剂盒的说明书进行操作, 计算出肝组织匀浆中GSH含量。

1.2.3 肝组织病理学改变 肝组织块切片后常规HE染色并行光镜观察。

1.2.4 肝组织细胞凋亡相关基因蛋白表达的测定 采

用S-P免疫组织化学方法检测肝组织Bcl-2和Bax蛋白的表达. 结果判断标准参照王剑明 *et al*^[10]报道: 胞质出现棕黄色颗粒为染色阳性细胞, 切片内无阳性细胞为阴性表达(-), 阳性细胞率小于1/3为弱阳性表达(+), 1/3-2/3为中等阳性表达(++), 大于2/3为强阳性表达(+++).

统计学处理 计量资料用统计软件SPSS 11.0进行 t 检验, 结果用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, $P < 0.05$ 为差别有显著性.

2 结果

2.1 血清ALT水平 再灌注后1 h, G组血清ALT水平显著低于C组($P < 0.05$). 再灌注后24 h, 两组血清ALT水平均较前显著下降, 而G组仍显著低于C组($P < 0.01$)(表1).

2.2 肝组织GSH含量 再灌注后1、24 h, G组肝组织还原型GSH的含量均明显高于C组($P < 0.01$, $P < 0.05$)(表1).

2.3 肝组织病理学改变 再灌注后1 h, G组肝细胞仅有轻度肿胀, 少量脂肪变性, 组织结构尚清晰, 无明显炎症细胞浸润; 而C组肝细胞则明显肿胀, 胞质内脂肪及空泡样变性较重, 肝窦腔隙变窄或消失, 窦内可见大量红细胞, 局部有炎症细胞浸润, 肝包膜下可见出血. 再灌注后24 h, G组肝细胞肿胀变性略有加

表1 大鼠血清ALT的水平 ($\mu\text{kat/L}$) 和肝组织还原型GSH的含量 ($\mu\text{g/g}$, prot) ($n = 8$)

组别	ALT		GSH	
	再灌注1 h	再灌注24 h	再灌注1 h	再灌注24 h
G组	8.3 ± 2.0^a	2.9 ± 2.5^b	216.09 ± 152.78^d	899.73 ± 57.75^c
C组	13.7 ± 5.5	9.1 ± 4.3	856.68 ± 117.64	800.50 ± 94.79

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs C组.

重, 但肝脏结构尚规整, 局部有点状坏死, 可见核分裂相; 而C组肝脏结构紊乱, 可见片状肝细胞坏死, 窦内充满红细胞, 肝窦腔隙消失, 局部炎症细胞浸润明显, 肝包膜下可见出血.

2.4 肝组织免疫组织化学染色 再灌注后1 h和24 h, Bcl-2蛋白阳性表达率在G组明显, C组不明显, 差别有显著性($P < 0.05$, $P < 0.05$). 再灌注后1 h和24 h, Bax蛋白阳性表达在C组明显, G组不明显, 差别有显著性($P < 0.05$, $P < 0.05$)(表2, 图1A-D).

表2 大鼠肝组织Bcl-2和Bax蛋白阳性表达情况

组别	Bcl-2蛋白					Bax 蛋白				
	阳性表达程度				总表达情况 n 百分数(%)	阳性表达程度				总表达情况 n 百分数(%)
	-	+	++	+++		-	+	++	+++	
G组(1 h)	0	0	0	8	8 100.0 ^a	4	2	1	1	2 25.0 ^c
C组(1 h)	5	0	0	3	3 37.5	0	1	3	4	7 87.5
G组(24 h)	1	0	0	7	7 87.5 ^e	5	1	1	1	2 25.0 ^f
C组(24 h)	5	1	1	1	2 25.0	0	1	4	3	7 87.5

^a $P < 0.05$, ^c $P < 0.05$, ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.05$ vs C组.

3 讨论

在健康人体中, Gln是血浆中最为丰富的游离氨基酸之一, 是一种条件必需氨基酸, 应激后其循环和组织中的浓度显著下降. 当体内Gln储备减少时可以导致严重的并发症, 如感染、伤口愈合不良、免疫功能下降、肠黏膜通透性增加和最后可能发生的多器官功能衰竭^[11,12]. 已有研究证实Gln在肠道、心肌及骨骼肌的缺血再灌注损伤过程中具有保护作用^[2-4]. 本实验中, 在肝脏缺血再灌注后不同时点G组血清ALT水平均显著低于C组, 且G组肝组织的病理学损害程度亦显

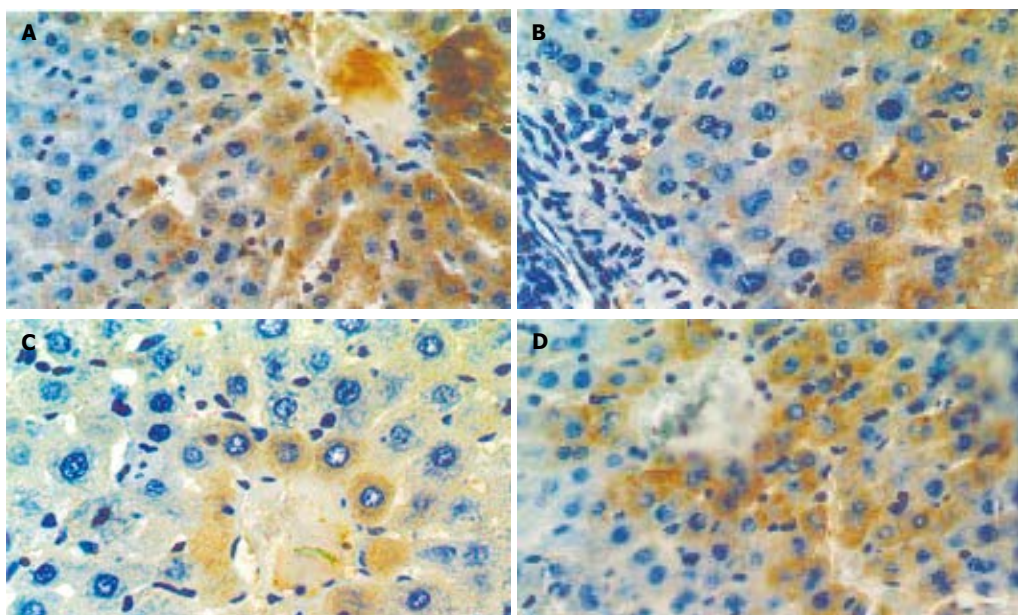


图1 再灌注后24 h肝组织细胞凋亡相关基因的蛋白表达 (S-P免疫组织化学染色 $\times 400$). A: G组Bcl-2; B: C组Bcl-2; C: G组Bax; D: C组Bax.

著低于C组,说明术前给予Gln对HIRI过程同样具有保护作用。

Gln是肠道细胞的主要代谢燃料,术前给予Gln可维持入肝血流完全阻断所致门静脉系统淤血时小肠黏膜细胞、淋巴细胞及巨噬细胞的代谢和功能,促进肠黏膜细胞分裂增殖,加快上皮增生与修复,保护肠黏膜屏障,减轻肠道细菌及内毒素易位,进而抑制了淤滞的门静脉血再灌注对肝脏枯否氏细胞的激活,抑制了TNF- α 、IL-1等细胞因子的释放和氧自由基的产生,从而减轻了对肝脏的损伤^[13,14]。

Gln是合成GSH的重要前体物质,而GSH是机体保护酶和其他蛋白质巯基、对抗氧自由基损害的一种重要的抗氧化剂。研究表明Gln对肠道、心肌及骨骼肌等器官缺血再灌注损伤过程中的保护作用与其提高机体内GSH的含量密切相关,而提高体内GSH的含量对HIRI具有保护作用^[2-4,15]。本实验中再灌注后1 h和24 h, G组肝组织中GSH的含量均显著高于C组($P<0.01$, $P<0.05$)。这提示Gln对HIRI的保护作用和肠道等器官一样,与提高体内GSH含量,加强对抗缺血再灌注过程中氧自由基的损害作用等有关。

近年来实验表明,细胞凋亡在HIRI过程中起着重要作用,其发生与氧自由基、细胞因子、能量代谢等有密切关系^[16]。*bcl-2*基因是最重要的抗凋亡基因之一,其蛋白位于核膜、粗面内质网和线粒体膜上,能防止多种原因引起的细胞凋亡,而*bax*基因是近年来新发现的一种促凋亡基因,其与*bcl-2*基因的氨基酸编码有21%的同源性。*bcl-2*和*bax*是一对正负调节基因,当*bax*同源二聚体形成时,可诱导细胞凋亡;随着Bcl-2蛋白表达量上升,越来越多的*bax*二聚体分开,与*bcl-2*形成比*bax-bax*同源二聚体更稳定的*bax-bcl-2*异源二聚体,“中和”了*bax-bax*同源二聚体诱导细胞凋亡的作用^[5]。通过腺病毒介导基因转染的方式增强肝组织细胞中*bcl-2*基因的表达对大鼠热缺血再灌注损伤具有保护作用^[7]。我们发现,再灌注后1 h和24 h, G组肝组织Bcl-2蛋白阳性表达明显高于C组($P<0.05$, $P<0.05$),而Bax蛋白阳性表达则明显低于C组($P<0.05$, $P<0.05$)。这说明Gln对HIRI的保护作用可能与其影响细胞凋亡相关基因Bcl-2和Bax蛋白的表达有关。其原因可能为Gln的抗氧化作用中和了缺血再灌注损伤时产生的活性氧,减少其对肝细胞和内皮细胞等的效应细胞的氧化损伤,相对稳定了细胞膜及核膜结构基础,从而加强了对肝细胞膜的屏障保护作用,抵御*bax*跨膜结构,有利于相对稳定膜上*bcl-2*编码的Bcl-2蛋白的结构基础,增强了Bcl-2蛋白的表达,协同发挥抑制凋亡信号传导、抗细胞凋亡的作用。体外研究表明, Gln可在氧化应激过程中保护 α -酮戊二酸脱氢酶,使其活性不

被抑制,维持正常的三羧酸循环; Gln是合成ATP的前体,从理论上讲,可增加ATP含量; Gln能刺激糖原合成,提高肝细胞糖原储备,这些皆使得在HIRI期间可产生较多的ATP,这对保持Na⁺-K⁺-ATP酶和Ca²⁺-ATP酶生物活性,稳定细胞膜,减轻钙离子超载程度,维持细胞内外环境稳定起决定性作用^[17,18]。另有实验表明体内GSH的缺乏可导致*bcl-2*基因表达减少,加重组织细胞的凋亡程度^[6],所以Gln对Bcl-2等基因蛋白表达的影响,可能与其维持肝组织中GSH含量的相对高水平有关。

总之,术前给予Gln对大鼠HIRI具有保护作用,这种作用可能与维持肝组织中GSH的含量和影响肝组织细胞凋亡相关基因Bcl-2和Bax蛋白的表达有关。

4 参考文献

- 1 Arai S, Teramoto K, Kawamura T. Current progress in the understanding of and therapeutic strategies for ischemia and reperfusion injury of the liver. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2003; 10: 189-194
- 2 Harward TR, Coe D, Souba WW, Klingman N, Seeger JM. Glutamine preserves gut glutathione levels during intestinal ischemia/reperfusion. *J Surg Res* 1994; 56: 351-355
- 3 Wischmeyer PE, Jayakar D, Williams U, Singleton KD, Riehm J, Bacha EA, Jeevanandam V, Christians U, Serkova N. Single dose of glutamine enhances myocardial tissue metabolism, glutathione content, and improves myocardial function after ischemia-reperfusion injury. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2003; 27: 396-403
- 4 Prem JT, Eppinger M, Lemmon G, Miller S, Nolan D, Peoples J. The role of glutamine in skeletal muscle ischemia/reperfusion injury in the rat hind limb model. *Am J Surg* 1999; 178: 147-150
- 5 Li SM, Yao SK, Yamamura N, Nakamura T. Expression of Bcl-2 and Bax in extrahepatic biliary tract carcinoma and dysplasia. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2579-2582
- 6 Celli A, Que FG, Gores GJ, LaRusso NF. Glutathione depletion is associated with decreased Bcl-2 expression and increased apoptosis in cholangiocytes. *Am J Physiol* 1998; 275: G749-757
- 7 Bilbao G, Contreras JL, Eckhoff DE, Mikheeva G, Krasnykh V, Douglas JT, Thomas FT, Thomas JM, Curiel DT. Reduction of ischemia-reperfusion injury of the liver by *in vivo* adenovirus-mediated gene transfer of the antiapoptotic Bcl-2 gene. *Ann Surg* 1999; 230: 185-193
- 8 Griffiths RD, Jones C, Palmer TE. Six-month outcome of critically ill patients given glutamine-supplemented parenteral nutrition. *Nutrition* 1997; 13: 295-302
- 9 彭曦, 汪仕良, 谭银铃, 尤忠义, 王凤君. 大鼠静脉输液装置的设计和制作. 第三军医大学学报 1999; 21: 532-533
- 10 王剑明, 孙宏武, 邹倩, 邹声泉. 阻塞性黄疸大鼠肝组织细胞凋亡及相关基因*bcl-2*、*bax*的表达. 中华实验外科杂志 2000; 17: 32-33
- 11 Souba WW. Glutamine: a key substrate for the splanchnic bed. *Annu Rev Nutr* 1991; 11: 285-308
- 12 Wilmore DW. Catabolic illness. Strategies for enhancing recovery. *N Engl J Med* 1991; 325: 695-702
- 13 Zhang W, Frankel WL, Bain A, Choi D, Klurfeld DM, Rombeau JL. Glutamine reduces bacterial translocation after small bowel transplantation in cyclosporine-treated rats. *J Surg Res* 1995; 58: 159-164
- 14 Yasuhara M. L-glutamine-induced heme oxygenase-1 protects small intestine from warm ischemia and reperfusion injury in the rat. *Hokkaido Igaku Zasshi* 2001; 76: 21-34
- 15 Schauer RJ, Kalmuk S, Gerbes AL, Leiderer R, Meissner H, Schildberg FW, Messmer K, Bilzer M. Intravenous admini-

- stration of glutathione protects parenchymal and non-parenchymal liver cells against reperfusion injury following rat liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 864-870
- 16 Sun K, Liu ZS, Sun Q. Role of mitochondria in cell apoptosis during hepatic ischemia-reperfusion injury and protective effect of ischemic preconditioning. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1934-1938
- 17 Ahmad S, White CW, Chang LY, Schneider BK, Allen CB. Glutamine protects mitochondrial structure and function in oxygen toxicity. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280: L779-791
- 18 汤礼军, 田伏洲, 王雨, 闫勇, 李旭, 高晓美, 邢庆蓉. 肝细胞糖原在阻断肝血流行肝部分切除中的作用及相关机制. *中国实用外科杂志* 2001; 21: 350-352

电编 张敏 编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

•消息•

第11届全国中西医结合结直肠肛门病学术会议征文通知

本刊讯 第11届全国中西医结合结直肠肛门病学术会议定于2006-03在广东省深圳市召开, 本次会议由中国中西医结合学会主办, 现将有关征文事项通知如下。

1 征文内容

本次会议的征文内容包括: (1) 介绍结直肠肛门基础研究的新动态、新进展、新成果; (2) 结直肠肛门肿瘤疾病的诊断及治疗的新技术、新成果, 直肠癌扩大根治术式和疗效, 中低位直肠癌保肛手术方法、适应症和效果, 肛管直肠癌会阴肛门重建术的术式、方法、效果; (3) 中西医结合治疗结肠慢传输型、出口梗阻型及结肠、直肠、盆腔、盆底解剖生理功能异常等便秘疾病的诊断治疗方法、适应症、临床疗效和经验教训; (4) 中西医结合治疗炎症性肠病的经验及手术方式选择; (5) 中西医结合预防、治疗肛肠常见疾病的新方法、新经验; (6) 采用中西医结合治疗结直肠肛门疾病的临床护理及造口护理的新方法、新经验; (7) 肛门、结直肠损伤及异物处理的经验; (8) 介绍国内外肛肠疾病检查、治疗的新器械、新设备、新药物。

2 征文要求

文章应有临床实用性, 基础研究应具有科学性和先进性; 全文4000字以内, 要求寄打印稿(欢迎用软盘或电子信箱投稿), 并附500字以内的摘要一份, 关键词3-5个; 征文稿件请寄: (1) 广东省公安边防总队医院(深圳武警医院)肛肠外科柯玮收, 邮编518029, 电话: 0755-82699768, 手机: 13714327555, Email: keweil968@126.com; (2) 深圳市第二人民医院肛肠科舒洪权收, 邮编: 518039, 电话: 0755-26250353, 手机: 13923803457, Email: ssshhhqqq66@163.com。

3 其他

本次会议可授予国家级继续教育I类学分6分, 会议具体日期及详细地址另行通知。欢迎广大相关领域工作及研究人员参加。