

腹内高压条件下血红素加氧酶 1 基因表达对大鼠肠黏膜损伤的影响

程君涛 魏智艺 刘丁井 张勇 李小毅 陈昭宏 肖光夏



【摘要】 **目的** 观察促进或抑制血红素加氧酶 1 (HO-1) 基因表达对腹内高压 (IAH) 致肠黏膜损伤的影响。 **方法** (1) 促进或抑制 HO-1 基因表达大鼠模型的建立。选取 24 只健康成年 Wistar 大鼠, 采用随机数字表法分为 HO-1 特异性诱导剂钴原卟啉 (Co-PP) 2.5 mg 组、Co-PP 5.0 mg 组、HO-1 特异性抑制剂锡原卟啉 (Sn-PP) 2.5 mg 组、对照组, 每组 6 只。Co-PP 2.5 mg 组、Sn-PP 2.5 mg 组大鼠分别腹腔注射 Co-PP 2.5 mg/kg、Sn-PP 2.5 mg/kg, 每 12 小时 1 次, 共持续 3 d; Co-PP 5.0 mg 组大鼠腹腔注射 Co-PP 5.0 mg/kg, 每 24 小时 1 次, 共持续 3 d; 对照组大鼠同前 2 组注射等量生理盐水。于注射后第 4 天处死大鼠, 取肠黏膜组织检测 HO-1 mRNA 表达。选取 Co-PP 最佳剂量用于后续实验。(2) IAH 条件下促进或抑制 HO-1 基因表达对肠黏膜损伤的影响。另取 24 只健康成年 Wistar 大鼠, 按随机数字表法分为对照组、IAH 组、Co-PP + IAH 组、Sn-PP + IAH 组, 每组 6 只。Co-PP + IAH 组、Sn-PP + IAH 组大鼠分别以最佳剂量 Co-PP、Sn-PP 2.5 mg/kg 同前行腹腔注射; 对照组同法注射等量生理盐水。注射后第 4 天, 后 2 组大鼠腹腔充入氮气至腹内压达 20 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa), 持续作用 2 h。IAH 组大鼠同前制作 IAH 模型。对照组仅行腹腔穿刺置管, 不充入氮气。剖腹取空肠段 10 ~ 15 cm, 刮取肠黏膜组织检测 HO-1 mRNA 表达以及二胺氧化酶 (DAO) 含量; 抽取门静脉血检测 D 乳酸盐、TNF- α 和 IL-6 含量; 取空肠段 1 ~ 2 cm 行组织病理学观察。对数据进行单因素方差分析及 *t* 检验。 **结果** (1) Co-PP 2.5 mg 组大鼠的 HO-1 mRNA 表达水平明显高于对照组及 Co-PP 5.0 mg 组 (*t* 值分别为 4.756、3.175, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。Sn-PP 2.5 mg 组大鼠的 HO-1 mRNA 表达水平明显低于对照组 ($t = 4.880$, $P < 0.01$)。选择 2.5 mg/kg Co-PP 用于后续实验。(2) Co-PP + IAH 组大鼠 HO-1 mRNA 表达水平为 60 ± 5 , 明显高于 IAH 组 (49 ± 5 , $t = 3.811$, $P < 0.01$) 和对照组 (39 ± 4 , $t = 8.034$, $P < 0.001$)。IAH 组 HO-1 mRNA 表达水平高于对照组 ($t = 3.826$, $P < 0.01$)。Sn-PP + IAH 组 HO-1 mRNA 的表达水平为 29 ± 4 , 明显低于对照组 ($t = 4.330$, $P < 0.01$)。Co-PP + IAH 组 DAO、D 乳酸盐含量分别为 (0.52 ± 0.05) U/mL、 (1.9 ± 0.6) mg/L, 显著低于 IAH 组 [(0.88 ± 0.06) U/mL、 (4.3 ± 0.7) mg/L, *t* 值分别为 11.291、6.376, P 值均小于 0.01]; 但仍然高于对照组 [(0.34 ± 0.04) U/mL、 (1.2 ± 0.5) mg/L, *t* 值分别为 6.886、2.295, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$]。Co-PP + IAH 组大鼠 TNF- α 及 IL-6 分泌水平显著低于 IAH 组, 但仍高于对照组 (*t* 值为 3.781 ~ 18.557, P 值均小于 0.01)。Sn-PP + IAH 组的 DAO、D 乳酸盐含量和 TNF- α 及 IL-6 的分泌水平均高于其他各组 (*t* 值为 4.181 ~ 32.938, P 值均小于 0.01)。对照组肠黏膜上皮细胞结构完整, 排列整齐。IAH 组大鼠肠黏膜组织水肿, 肠绒毛顶端糜烂、坏死。Co-PP + IAH 组大鼠肠绒毛损伤减轻。Sn-PP + IAH 组大鼠肠绒毛的损伤加重。 **结论** 诱导肠道 HO-1 基因高表达, 可减轻 IAH 导致的肠道缺血缺氧性损伤, 对肠黏膜具有一定的保护作用。

【关键词】 血红素加氧酶-1; 肠黏膜; 基因表达; 腹内高压; 腹腔间隙综合征

Influence of haemoxygenase 1 (HO-1) gene expression on intestinal mucosa injury induced by intra-abdominal hypertension in rats CHENG Jun-tao*, WEI Zhi-yi, LIU Ding-jing, ZHANG Yong, LI Xiao-yi, CHEN Zhao-hong, XIAO Guang-xia. * Department of Burns and Plastic Surgery, the 180th Hospital of PLA, Quanzhou 362000, China

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2013.03.005

基金项目: 全军“十一五”医药卫生科研基金(06MA108)

作者单位: 362000 福建省泉州市, 解放军第一八〇医院烧伤整形外科(程君涛、魏智艺、刘丁井、张勇、李小毅); 福建医科大学附属协和医院烧伤科(陈昭宏); 第三军医大学西南医院全军烧伤研究所, 创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室(肖光夏)

[Abstract] Objective To observe the effects of up- or down-regulation of haemoxygenase 1 (HO-1) gene expression on intestinal mucosa injury induced by intra-abdominal hypertension (IAH).

Methods (1) Reproduction of rat model of up- or down-regulation of HO-1 gene expression. Twenty-four healthy adult Wistar rats were divided into Co-PP (HO-1 specific revulsive) 2.5 mg, Co-PP 5.0 mg, Sn-PP (HO-1 specific inhibitor) 2.5 mg, and control groups according to the random number table, with six rats in each group. Rats in groups Co-PP 2.5 mg and Sn-PP 2.5 mg were respectively given Co-PP 2.5 mg/kg and Sn-PP 2.5 mg/kg by intraperitoneal injection, once every 12 hours for 3 days. The rats in group Co-PP 5.0 mg were intraperitoneally injected with Co-PP 5.0 mg/kg, once a day for 3 days. The rats in control group were treated with equal volume of normal saline by intraperitoneal injection. All rats were sacrificed on post injection day (PID) 4, and intestinal mucosa tissues were collected for determination of HO-1 mRNA expression. Optimal dose of Co-PP was chosen for the following experiment. (2) The influence of up- or down-regulation of HO-1 gene expression on intestinal mucosa injury under IAH condition. Another 24 healthy adult Wistar rats were divided into control, IAH, Co-PP + IAH, and Sn-PP + IAH groups according to the random number table, with six rats in each group. The rats in groups Co-PP + IAH and Sn-PP + IAH were intraperitoneally injected with 2.5 mg/kg Co-PP and 2.5 mg/kg Sn-PP, once every 12 hours for 3 days. Equal volume of normal saline was intraperitoneally injected into the rats in control group, once every 12 hours for 3 days. Then, nitrogen gas pneumoperitoneum was used to establish the model of IAH in rats of the latter three groups on PID 4, with IAP at 20 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa), and it was maintained for 2 hours. Puncture and intubation were performed in rats of control group without inflating nitrogen gas. Jejunal segment in the length of 10-15 cm was harvested for collecting intestinal mucosa tissues to determine the HO-1 mRNA expression and diamine oxidase (DAO) content. Serum obtained from portal vein blood was collected to determine the D-lactate, TNF- α , and IL-6 contents. Another jejunal segment in the length of 1-2 cm was harvested for histopathological examination. Data were processed with one-way analysis of variance and *t* test.

Results (1) The HO-1 mRNA expression in group Co-PP 2.5 mg was significantly higher than that in control and Co-PP 5.0 mg groups (with *t* values respectively 4.756, 3.175, $P < 0.05$ or $P < 0.01$). The HO-1 mRNA expression in group Sn-PP 2.5 mg was significantly lower than that in control group ($t = 4.880$, $P < 0.01$). The optimal dose of Co-PP for the following experiment was 2.5 mg/kg.

(2) HO-1 mRNA expression in group Co-PP + IAH was 60 ± 5 , and it was obviously higher than that of group IAH (49 ± 5 , $t = 3.811$, $P < 0.01$) and control group (39 ± 4 , $t = 8.034$, $P < 0.001$). HO-1 mRNA expression was higher in group IAH than in control group ($t = 3.826$, $P < 0.01$). HO-1 mRNA expression in group Sn-PP + IAH was 29 ± 4 , which was obviously lower than that of control group ($t = 4.330$, $P < 0.01$). The contents of DAO and D-lactate in group Co-PP + IAH were (0.52 ± 0.05) U/mL and (1.9 ± 0.6) mg/L, which were significantly lower than those in group IAH [(0.88 ± 0.06) U/mL and (4.3 ± 0.7) mg/L, with *t* values respectively 11.291, 6.376, P values all below 0.01], but still higher than those in control group [(0.34 ± 0.04) U/mL, (1.2 ± 0.5) mg/L, with *t* values respectively 6.886, 2.295, $P < 0.05$ or $P < 0.01$]. The contents of TNF- α and IL-6 were much lower in group Co-PP + IAH than in group IAH, but still higher than in control group (with *t* values from 3.781 to 18.557, P values all below 0.01). The contents of DAO, D-lactate, TNF- α , and IL-6 in group Sn-PP + IAH were all higher than those in the other 3 groups (with *t* values from 4.181 to 32.938, P values all below 0.01). Structure of epithelial cells from intestinal mucosa was intact and regularly arranged in rats of control group. Intestinal mucosal tissue was edematous, and the top of villi was anabrotic and necrotic in rats of group IAH. Compared with that of group IAH, the degree of intestinal mucosa injury was alleviated in rats of group Co-PP + IAH, while the pathology was aggravated in rats of group Sn-PP + IAH.

Conclusions Up-regulation of HO-1 gene expression can ameliorate intestinal mucosa injury caused by IAH, thus protecting intestinal mucosa tissues.

[Key words] Heme oxygenase-1; Intestinal mucosa; Gene expression; Intra-abdominal hypertension; Abdominal compartment syndrome

腹内高压 (IAH) 及腹腔间隙综合征 (ACS) 是严重烧(创)伤、感染及其他多种临床危重病共同面临的严重并发症,近 10 年来逐渐引起国内外多个专业领域的重视和关注^[1-4]。烧伤并发 IAH 和 ACS,以及由于继发 ACS 而导致死亡报道不断增多^[5-8]。IAH 及 ACS 已成为严重烧伤患者继低血容量性休克、感染及脓毒症、MOF 等又一重要死亡因素和预测、判断危重病患者病死率的独立危险因素^[9-10]。

国际腹腔间隙综合征学会推出了统一的 IAH 和 ACS 的定义、腹内压测量方法及诊断标准、流程^[11-12]。但目前仍缺乏有关基础研究,特别是 IAH 对肠道功能的影响,以及 IAH 所造成的肠黏膜屏障功能损害在 ACS 及 MODS 发生、发展中的作用。笔者前期研究结果表明,IAH 可导致肠黏膜缺血缺氧性损害^[13]。本研究进一步从防治缺血再灌注损伤的角度入手,通过调控体内内源性保护性靶基因血

红素加氧酶 1 (HO-1) 的表达,以期达到改善 IAH 对肠黏膜损伤的目的,降低 ACS 发生率、提高治愈率。

1 材料与方法

1.1 实验动物、主要试剂及仪器来源

健康成年无特殊病原体级 Wistar 大鼠 48 只,雌雄不限,体质量 160 ~ 210 (183 ± 36) g,购自福建医科大学实验动物中心,实验前所有大鼠禁食 12 h,但不限制饮水。HO-1 特异性诱导剂钴原卟啉 (Co-PP) 和特异性抑制剂锡原卟啉 (Sn-PP) 购自美国 Frontier Scientific 公司;RT-PCR 试剂盒及相关产品购自美国 Promega 公司,引物由上海未尔生物科技有限公司提供并合成;二胺氧化酶 (DAO)、D 乳酸盐购自美国 Sigma 公司;TNF- α 、IL-6 ELISA 试剂盒购自南京建成生物工程研究所。紫外分光光度计购自美国 Biochrom 公司,PCR 仪、凝胶扫描成像系统购自美国 Bio-Rad 公司。

1.2 检测方法

1.2.1 促进或抑制 HO-1 基因表达大鼠模型的建立及剂量筛选 Co-PP 分为 2.5、5.0 mg/kg 2 个剂量进行实验,抑制 HO-1 基因表达仍然采用 Sn-PP 2.5 mg/kg^[14]。选取 24 只 Wistar 大鼠,采用随机数字表法分为 Co-PP 2.5 mg 组、Co-PP 5.0 mg 组、Sn-PP 2.5 mg 组、对照组,每组 6 只。Co-PP 和 Sn-PP 分别以无菌生理盐水稀释后配制 0.1 mg/mL 溶液。Co-PP 2.5 mg 组、Sn-PP 2.5 mg 组大鼠分别腹腔注射 Co-PP 2.5 mg/kg、Sn-PP 2.5 mg/kg,每 12 小时 1 次,持续 3 d;Co-PP 5.0 mg 组大鼠腹腔注射 Co-PP 5.0 mg/kg,每 24 小时 1 次,共持续 3 d;对照组大鼠每 12 小时注射 1 次等量生理盐水。注射后第 4 天处死大鼠,从屈氏韧带下 5 cm 处剖腹取空肠段 10 ~ 15 cm,4 °C 预冷 PBS 溶液冲洗 3 次,刮取肠黏膜组织 5 ~ 8 g 进行组织匀浆,Trizol 法提取 RNA,置液氮保存,行 HO-1 基因提取及检测,并筛选 Co-PP 的最佳剂量。

1.2.2 促进或抑制 HO-1 基因表达的 IAH 大鼠模型建立及标本采集 另取 24 只 Wistar 大鼠按照随机数字表法分为对照组、IAH 组、Co-PP + IAH 组、Sn-PP + IAH 组,每组 6 只。按照 1.2.1 方法建立促进或抑制 HO-1 基因表达模型,其中 Co-PP 选取最佳剂量 (2.5 mg/kg)。于注射后第 4 天,后 2 组大鼠经麻醉取仰卧位固定于操作台,从下腹部正中位置以 18 G 套管针行腹腔穿刺并缝合固定套管,连接三通管,三通管的一端连接氮气输入装置用于形成 IAH,

一端连接测压计,缓慢将氮气充入腹腔至腹内压达 20 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa),持续作用 2 h。IAH 组大鼠于该时相点同前制作 IAH 模型。对照组仅行腹腔穿刺置管,不充入氮气。通气完毕后,立即拔除腹部穿刺留置套管,从正中线剖开腹部,抽取门静脉血,离心后提取上清液分装于 EP 管备用;取空肠段 1 ~ 2 cm,以生理盐水冲洗干净后置于体积分数 10% 甲醛固定,待行组织病理学观察;另取空肠段 10 ~ 15 cm,部分同 1.2.1 步骤提取 RNA,检测 HO-1 mRNA 表达,部分用于检测 DAO 含量。

1.2.3 RT-PCR 检测 HO-1 mRNA 的表达 以 β 肌动蛋白为内参照基因,上游引物:5'-CGTGC GGGA-CATCAAGGA-3',下游引物:5'-AGGAAGGAGGGCTG-GAACA-3',大小为 177 bp。HO-1 上游引物:5'-AAA-CAAGCAGAACCCAGTC-3',下游引物:5'-AGAGGT-CACCCAGGTAGCG-3',大小为 399 bp。PCR 反应条件:48 °C 45 min;94 °C 2 min;94 °C 30 s、60 °C 1 min、68 °C 2 min,30 个循环;68 °C 延伸 7 min。取反应产物 3 μ L,经 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳,采用 Quantity One 软件对电泳产物进行分析,结果以目的基因与内参照基因灰度值比值表示。

1.2.4 肠黏膜组织 DAO 及门静脉血中 D 乳酸盐、TNF- α 、IL-6 含量检测 采用分光光度法,检测肠黏膜组织 DAO 的含量及门静脉血中 D 乳酸盐的含量,操作参照试剂盒说明书进行。按照 ELISA 试剂盒说明书步骤检测门静脉血中 TNF- α 、IL-6 含量。

1.2.5 组织病理学观察 对空肠标本进行常规石蜡切片、HE 染色,于光学显微镜下观察。

1.3 统计学处理

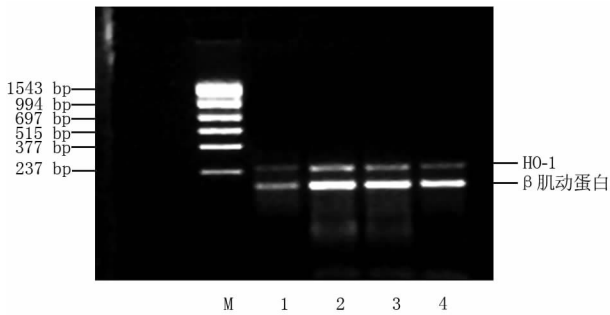
数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 19.0 统计软件进行单因素方差分析,组间两两比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肠黏膜组织中 HO-1 mRNA 表达及 Co-PP 的最佳剂量筛选

4 组大鼠 HO-1 mRNA 表达总体差异有统计学意义 ($F = 24.144, P < 0.001$)。Co-PP 2.5 mg 组大鼠的 HO-1 mRNA 表达水平为 54 ± 6 ,显著高于 Co-PP 5.0 mg 组 ($43 \pm 6, t = 3.175, P = 0.010$) 和对照组 ($40 \pm 4, t = 4.756, P = 0.001$)。Sn-PP 2.5 mg 组大鼠的 HO-1 mRNA 表达水平为 30 ± 3 ,明显低于对照组 ($t = 4.880, P = 0.001$)。见图 1。提示每 12 小时腹腔注射 1 次 2.5 mg/kg Co-PP 的方法能更

好促进 HO-1 mRNA 表达,选取该剂量作为 Co-PP 最佳剂量用于后续实验。

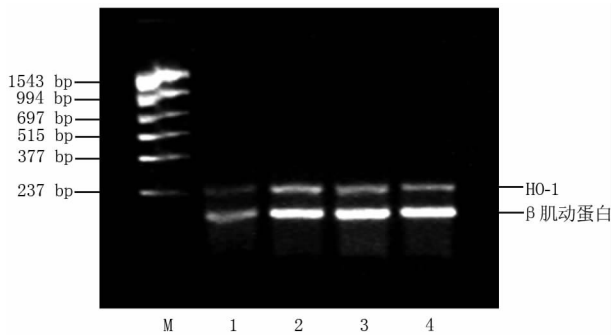


注: M. marker; 1. 对照组; 2. 钴原卟啉 (Co-PP) 2.5 mg 组; 3. Co-PP 5.0 mg 组; 4. 锡原卟啉 2.5 mg 组

图 1 各组大鼠血红素加氧酶 1 (HO-1) mRNA 的表达情况

2.2 IAH 对大鼠肠黏膜组织中 HO-1 mRNA 表达的影响

4 组大鼠 HO-1 mRNA 表达水平总体差异具有统计学意义 ($F = 51.781, P < 0.001$)。Co-PP + IAH 组大鼠 HO-1 mRNA 表达水平为 60 ± 5 , 明显高于 IAH 组 ($49 \pm 5, t = 3.811, P = 0.003$) 以及对照组 ($39 \pm 4, t = 8.034, P < 0.001$)。IAH 组大鼠 HO-1 mRNA 表达水平高于对照组 ($t = 3.826, P = 0.003$)。Sn-PP + IAH 组大鼠 HO-1 mRNA 表达水平为 29 ± 4 , 明显低于对照组 ($t = 4.330, P = 0.002$)。见图 2。



注: M. marker; 1. 锡原卟啉 + 腹内高压 (IAH) 组; 2. 钴原卟啉 + IAH 组; 3. IAH 组; 4. 对照组

图 2 各组大鼠血红素加氧酶 1 (HO-1) mRNA 的表达情况

2.3 调控 HO-1 基因表达对 IAH 大鼠肠黏膜组织 DAO 及门静脉血中 D 乳酸盐含量、TNF- α 及 IL-6 分泌水平的影响

IAH 组大鼠 DAO、D 乳酸盐含量显著高于对照组 (P 值均小于 0.01)。Co-PP + IAH 组该 2 项指标含量显著低于 IAH 组 (P 值均小于 0.01), 但仍高于对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。Sn-PP + IAH 组的 DAO、D 乳酸盐含量均高于其他各组 (P 值均小于 0.01)。IAH 组大鼠 TNF- α 及 IL-6 分泌水平显著高

于对照组 (P 值均小于 0.01); Co-PP + IAH 组大鼠 TNF- α 及 IL-6 分泌水平显著低于 IAH 组, 但仍高于对照组 (P 值均小于 0.01); Sn-PP + IAH 组大鼠 TNF- α 及 IL-6 分泌水平均明显高于其他各组 (P 值均小于 0.01)。见表 1。

表 1 各组大鼠肠黏膜组织中 DAO 及门静脉血中 D 乳酸盐、2 种致炎因子含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数 (只)	DAO (U/mL)	D 乳酸盐 (mg/L)	TNF- α (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)
对照组	6	0.34 ± 0.04	1.2 ± 0.5	18 ± 3	115 ± 10
IAH 组	6	0.88 ± 0.06	4.3 ± 0.7	42 ± 6	420 ± 31
Co-PP + IAH 组	6	0.52 ± 0.05	1.9 ± 0.6	27 ± 5	271 ± 18
Sn-PP + IAH 组	6	1.14 ± 0.14	7.8 ± 0.7	71 ± 7	553 ± 31
F 值		115.714	133.937	108.706	365.404
P 值		<0.01	<0.001	<0.001	<0.001
t_1 值		18.343	8.827	8.764	22.936
P_1 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
t_2 值		6.886	2.295	3.781	18.557
P_2 值		<0.001	0.045	0.004	<0.001
t_3 值		13.459	18.793	17.047	32.938
P_3 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
t_4 值		11.291	6.376	4.704	10.182
P_4 值		<0.001	<0.001	0.001	<0.001
t_5 值		4.181	8.660	7.705	7.431
P_5 值		0.002	<0.001	<0.001	<0.001
t_6 值		10.216	15.675	12.529	19.270
P_6 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

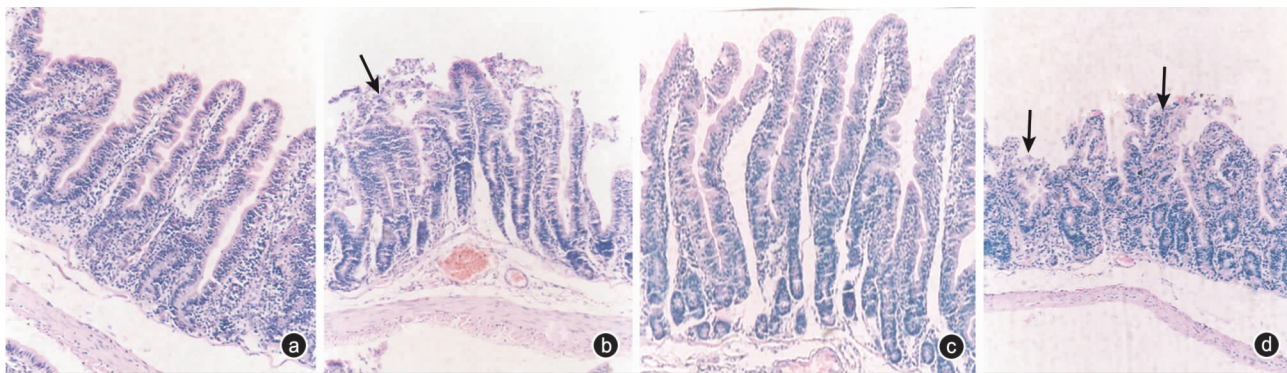
注: DAO 为二胺氧化酶; F 值、 P 值为组间总体比较所得, t_1 值、 P_1 值为腹内高压 (IAH) 组与对照组比较所得, t_2 值、 P_2 值为钴原卟啉 (Co-PP) + IAH 组与对照组比较所得, t_3 值、 P_3 值为锡原卟啉 (Sn-PP) + IAH 组与对照组比较所得, t_4 值、 P_4 值为 Co-PP + IAH 组与 IAH 组比较所得, t_5 值、 P_5 值为 Sn-PP + IAH 组与 IAH 组比较所得, t_6 值、 P_6 值为 Sn-PP + IAH 组与 Co-PP + IAH 组比较所得

2.4 IAH 及调控 HO-1 基因表达对肠黏膜组织病理形态学的影响

对照组大鼠肠黏膜上皮细胞结构完整, 排列整齐 (图 3a)。IAH 组大鼠肠黏膜组织水肿, 肠绒毛顶端糜烂、坏死 (图 3b); Co-PP + IAH 组大鼠肠黏膜组织损伤明显减轻, 中性粒细胞浸润仍然明显 (图 3c); Sn-PP + IAH 组大鼠肠黏膜组织中肠绒毛的糜烂、坏死现象加重 (图 3d)。

3 讨论

国外一项最新研究观察了 ICU 中 100 例各类危重病患者 IAH 平均发生率高达 38%, ACS 发生率占 4%^[15]。严重烧伤并发 IAH 以及 ACS 具有较高的病死率。2007 年, Hershberger 等^[5] 报道了 25 例烧伤面积为 $(65 \pm 19)\%$ TBSA 且需要剖腹减压的 ACS



注:箭头所示为肠绒毛

图 3 各组大鼠肠黏膜组织病理形态学观察 HE $\times 100$ 。a. 对照组大鼠肠黏膜上皮细胞结构完整,排列整齐;b. 腹内高压 (IAH) 组大鼠肠黏膜组织水肿,肠绒毛顶端糜烂、坏死;c. 钴原卟啉 + IAH 组大鼠肠绒毛轻度水肿,中性粒细胞浸润仍然明显;d. 锡原卟啉 + IAH 组大鼠肠绒毛广泛糜烂、坏死

患者,其中 22 例死亡,病死率高达 88%。严重烧伤后,由于大量液体复苏以及血管通透性增加,蛋白丢失、液体渗出,往往致使内脏器官广泛水肿、功能紊乱、腹水形成,导致腹内压短时间内急剧升高,发生 IAH 及 ACS,并在此基础上形成恶性循环,引起多器官功能障碍或 MOF,是导致高病死率的重要因素。

目前在 IAH 和 ACS 的治疗方面,仍处于十分被动的局面,预后差。早期监测和预防已成为降低其发生率和病死率的关键。胃肠道是腹腔体积最大的内脏器官,其水肿及功能损害对腹内压的升高起着重要作用,因此,减轻烧伤及 IAH 导致的胃肠道缺血缺氧性损害,保护和改善胃肠道黏膜屏障功能,对于预防 ACS 的发生以及提高治愈率具有重要的临床意义。

近年来,HO-1 对各组织器官在缺血再灌注损伤中的细胞保护作用引起人们极大的兴趣^[16-18]。HO 是血红素降解的限速酶和关键酶,在体内以 HO-1、HO-2、HO-3 形式存在。其中 HO-1 为诱导型,又称热休克蛋白 32,被认为是体内一种保护性应激反应蛋白。HO-1 催化血红素降解生成一氧化碳 (CO)、胆绿素,后者进一步分解成胆红素。研究表明,CO 作为体内重要的细胞信息分子,除具有调节血管张力作用外,还具有抗炎、抗凋亡和抑制血管平滑肌增生等作用;胆绿素和胆红素则是体内重要的抗氧化物质。当组织细胞受低氧、氧化应激、炎性细胞因子、内毒素、重金属等刺激时,HO-1 表达增高,通过抗氧化、抗炎、改善微循环以及抗凋亡对组织细胞起重要的保护作用。应用药物或基因工程等手段使 HO-1 靶基因过表达,以减少心脑血管的缺血性疾病、动脉粥样硬化以及肝、肾等器官移植的缺血再灌注损伤,是当前的研究热点^[19]。有关 HO-1 基因表

达在 IAH 致肠黏膜损伤中的作用,目前国内外鲜见报道。我们推断,诱导 HO-1 基因高表达对 IAH 导致的肠黏膜屏障损害可能具有重要的改善作用,从调控 HO-1 靶基因表达的思路出发,诱导肠道 HO-1 基因及蛋白表达,减轻 IAH 导致的肠道缺血缺氧性损伤,保护肠道功能,可能成为一条新的治疗途径。

本研究采用 HO-1 特异性诱导剂 Co-PP 和特异性抑制剂 Sn-PP 建立了促进或抑制 HO-1 基因表达的大鼠模型,并在此基础上观察 IAH 对肠黏膜的影响,从正、反 2 个方面验证 HO-1 基因表达对肠黏膜的保护作用。

在建立促进 HO-1 基因表达方面,我们对国外所采用的方法进行改进,即每日应用 2 次 2.5 mg/kg Co-PP,效果更优。本研究应用 20 mm Hg IAH 作用 2 h,肠黏膜组织 HO-1 mRNA 表达高于对照组,可能与 IAH 作为致伤因素导致的反应性、代偿性增高有关,应用 Co-PP 可进一步上调 HO-1 的基因表达,而 Sn-PP 则作用相反。

DAO 是肠黏膜损伤标志酶,可特异性反映肠道损伤程度;D 乳酸盐是细菌代谢产物,哺乳动物组织不产生 D 乳酸盐而且缺乏代谢 D 乳酸盐所需的酶类,因此血中 D 乳酸盐的蓄积和升高可反映严重创伤、全身感染或某些胃肠道疾病时的肠黏膜损伤以及由于肠黏膜屏障功能损害而导致的肠黏膜通透性增高。本研究结果表明,应用 Co-PP 上调 HO-1 基因表达,可明显减少 IAH 大鼠的 DAO 和 D 乳酸盐含量;而应用 Sn-PP 下调 HO-1 基因表达,则可显著增加 IAH 大鼠的 DAO 和 D 乳酸盐含量。由此说明,HO-1 基因高表达具有保护作用,可减轻 IAH 导致的肠黏膜损伤。这一保护作用,在随后 TNF- α 及 IL-6 分泌检测以及组织病理形态学检测上也得到进一步

的证实。

总之,本研究表明诱导 HO-1 基因高表达可减轻 IAH 动物模型的肠黏膜损伤。对存在继发 IAH 及 ACS 高危因素的严重烧伤患者,寻求有效可用的药物上调 HO-1 基因表达,保护并改善肠黏膜屏障功能,可能对降低 IAH 和 ACS 的发生率具有一定的临床意义。在 IAH 条件下,促进 HO-1 基因及蛋白表达对其他腹腔脏器功能的影响有待进一步研究。

参考文献

- [1] Cheatham ML, Safcsak K. Intra-abdominal hypertension and abdominal compartment syndrome: the journey forward. *Am Surg*, 2011,77 Suppl 1:S1-5.
- [2] Kausen T, Steinau G, Srinivasan PK, et al. Recognition and management of abdominal compartment syndrome among German pediatric intensivists: results of a national survey. *Ann Intensive Care*, 2012,2 Suppl 1:S8.
- [3] 钱何布,郑志群,陆骏灏,等.危重患者并发腹内高压 40 例临床分析. *中华实用诊断与治疗杂志*,2009,23(11):1124-1125.
- [4] 金平,王冰.重症急性胰腺炎并发腹腔高压/腹腔室隔综合征 109 例临床分析. *内科急危重症杂志*,2008,14(6):318-319.
- [5] Hershberger RC, Hunt JL, Arnoldo BD, et al. Abdominal compartment syndrome in the severely burned patient. *J Burn Care Res*, 2007,28(5):708-714.
- [6] Burke BA, Latenser BA. Defining intra-abdominal hypertension and abdominal compartment syndrome in acute thermal injury: a multicenter survey. *J Burn Care Res*, 2008,29(4):580-584.
- [7] 潘拥军,柏士平,张守忠.烧伤并发腹腔间隙综合征五例报告. *江西医学院学报*,2007,47(4):63,66.
- [8] 张祥运,廖毅.烧伤并发腹腔间隙综合征二例. *华西医学*, 2011,26(10):1476-1477.
- [9] Santa-Teresa P, Muñoz J, Montero I, et al. Incidence and prog-

nosis of intra-abdominal hypertension in critically ill medical patients: a prospective epidemiological study. *Ann Intensive Care*, 2012,2 Suppl 1:S3.

- [10] Luckianow GM, Ellis M, Governale D, et al. Abdominal compartment syndrome: risk factors, diagnosis, and current therapy. *Crit Care Res Pract*, 2012,2012:908169.
- [11] Malbrain ML, Cheatham ML, Kirkpatrick A, et al. Results from the International Conference of Experts on Intra-abdominal Hypertension and Abdominal Compartment Syndrome. I. Definitions. *Intensive Care Med*, 2006,32(11):1722-1732.
- [12] 程君涛.腹内高压及腹腔间隙综合征的诊断和治疗. *人民军医*,2011,54(1):64-67.
- [13] 程君涛,肖光夏,冯智,等.腹内高压致肠黏膜屏障损伤的实验研究. *中华烧伤杂志*,2006,22(2):83-87.
- [14] Eipel C, Eisold M, Schuett H, et al. Inhibition of heme oxygenase-1 protects against tissue injury in carbon tetrachloride exposed livers. *J Surg Res*, 2007,139(1):113-120.
- [15] Kim IB, Prowle J, Baldwin I, et al. Incidence, risk factors and outcome associations of intra-abdominal hypertension in critically ill patients. *Anaesth Intensive Care*, 2012,40(1):79-89.
- [16] Ke B, Shen XD, Gao F, et al. Small interfering RNA targeting heme oxygenase-1 (HO-1) reinforces liver apoptosis induced by ischemia-reperfusion injury in mice: HO-1 is necessary for cytoprotection. *Hum Gene Ther*, 2009,20(10):1133-1142.
- [17] Morse D, Lin L, Choi AM, et al. Heme oxygenase-1, a critical arbitrator of cell death pathways in lung injury and disease. *Free Radic Biol Med*, 2009,47(1):1-12.
- [18] Sass G, Barikbin R, Tiegs G. The multiple functions of heme oxygenase-1 in the liver. *Z Gastroenterol*, 2012,50(1):34-40.
- [19] Wu ML, Ho YC, Lin CY, et al. Heme oxygenase-1 in inflammation and cardiovascular disease. *Am J Cardiovasc Dis*, 2011,1(2):150-158.

(收稿日期:2012-10-16)

(本文编辑:莫愚)

· 消息 ·

国际学术期刊《Burns & Trauma》即将全球发行

国际学术期刊《Burns & Trauma》(ISSN:2321-3876)将于 2013 年 6 月正式在线发行。该刊由第三军医大学西南医院全军烧伤研究所吴军所长担任主编,常务副主编由国际烧伤学会前任主席 David Mackie 担任,副主编分别由国际麻醉、疼痛、重症及急诊医学研讨会(A. P. I. C. E)主席 Antonio Gullo 教授、《Burns》杂志主编 Steven E. Wolf, Harvard 大学李宪昌教授担任,另有来自英、美、日、韩、意大利、澳大利亚、以色列以及中国等多国杰出专家组成编委会。《Burns & Trauma》作为国内惟一一本烧伤专业英文期刊,采取完全开放获取的模式,所有刊载内容将被全球医学领域覆盖最广的平台 Ovid SP 收录并可在线免费浏览与下载。本刊旨在以最快的速度传播烧(创)伤领域的前沿信息,为海内外烧(创)伤学者搭建展示其优秀临床及科研成果的学术交流国际平台。

《Burns & Trauma》网址为 www.burnstrauma.com, 邮箱地址: editorial@burnstrauma.com。欢迎投稿,敬请关注!

《Burns & Trauma》编辑部