

枸杞多糖对大鼠小肠缺血再灌注氧化应激的抑制作用

周爱国*, 李小兰

(石河子大学第一附属医院, 新疆 石河子 832008)

[摘要] 目的:探讨枸杞多糖对大鼠小肠缺血再灌注氧化损伤的影响。方法:将 30 只 Wistar 大鼠随机分为 3 组(假手术组、模型组、枸杞多糖组),每组 10 只。枸杞多糖组:枸杞多糖按 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ ig}$,假手术组和模型组予同体积生理盐水,连续 5 d 后,检测各组大鼠小肠黏膜中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 水平(IL-6),以及小肠黏膜和血液中的抗氧化酶活力和丙二醛(MDA)的含量。结果:模型组与假手术组比较,大鼠小肠黏膜中 TNF- α 、IL-6 水平明显升高($P < 0.01$),小肠黏膜和血液中抗氧化酶活力明显下降($P < 0.01$),MDA 水平明显升高($P < 0.01$);而枸杞多糖组与模型组比较,大鼠小肠黏膜中 TNF- α 、IL-6 水平明显下降($P < 0.01$),抗氧化酶活力明显升高($P < 0.01$),MDA 水平明显下降($P < 0.01$)。结论:枸杞多糖对大鼠小肠缺血再灌注氧化损伤有明显的保护作用。

[关键词] 小肠缺血再灌注;枸杞多糖;自由基;大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0221-02

肠缺血再灌注损伤(ischemia reperfusion, IR)是外科常见的组织器官损伤,在严重感染、损伤、休克、心肺功能不全等疾病的病理演变过程中起重要作用,其损伤产生的机制尚不清楚,目前已有研究证实氧自由基的过量产生与炎症的发生和发展具有密切的关系^[1]。现代医学研究发现枸杞多糖具有增强免疫功能、抗肿瘤、抗衰老及抗氧化等作用^[2]。本实验依据抗氧化、免疫调节等作用,以发生的脂质过氧化、炎症反应等机制探讨枸杞多糖对肠缺血再灌注大鼠小肠黏膜自由基防御体系的影响。

1 材料与方 法

1.1 试剂 肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-6 (IL-6),丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD),过氧化氢酶(CAT),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒均购于上海越研生物科技有限公司(批号 E03867)。

1.2 枸杞多糖的制备 枸杞干果从当地药材市场购买。将枸杞干果破碎、加定量蒸馏水浸泡后水煮 3 h,抽滤、浓缩、醇沉、洗涤、真空干燥得枸杞多糖粗品,4℃冰箱保存备用,测得多糖含量 48.35%。

1.3 分组给药与造模 Wistar 成年大鼠 30 只,雌雄各半,体重(232.17 ± 30.65)g,由本校实验动物中

心提供。实验前大鼠适应性喂养、观察 2 d 后,按雌雄各半原则随机将大鼠分为假手术组、模型组、枸杞多糖组,每组 10 只。枸杞多糖组 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ ig}$,假手术组、模型组生理盐水 2.5 mL/只 ,连续 5 d 后,模型组、枸杞多糖组造模。动物术前 12 h 禁食,不禁水。借鉴赵正维的方法^[2]造模以 2% 盐酸氯胺酮($120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)ip 麻醉,取正中切口入腹后分离肠系膜上动脉,以无创伤血管夹阻断肠系膜上动脉根部造成小肠完全缺血 60 min,然后松夹进行再灌注 60 min。假手术组:麻醉后,取正中切口入腹后分离肠系膜上动脉,但不作阻断。

1.4 样本采集及处理 大鼠肠缺血再灌注后,于腹主动脉取血 5 mL, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清于 -50°C 冰箱保存备用。迅速取小肠黏膜,经冷生理盐水漂洗、滤纸吸干黏液,玻片刮取黏膜并称重。组织匀浆、离心后取上清液于 -50°C 冰箱保存备用。

1.5 生化指标检测 小肠黏膜中 TNF- α 、IL-6 水平检测(用酶联免疫法测定),小肠黏膜和血清中 MDA, SOD, CAT, GSH-Px 检测(按说明书进行测定)。

1.6 数据处理 用 SPSS 12.0 软件处理数据,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 t 检验比较组间差异,检验显著性水平 $P < 0.01$ 。

2 结果

2.1 对大鼠小肠黏膜 TNF- α 、IL-6 水平的影响 模型组 TNF- α 、IL-6 水平增高,与模型组比较,枸杞多

[收稿日期] 2011-04-25

[通讯作者] *周爱国,主治医师,在读硕士, Tel: 13401050558, E-mail: 270909468@qq.com

糖组 TNF- α , IL-6 明显降低 ($P < 0.01$) 见表 1。

2.2 对大鼠小肠黏膜中 SOD, CAT, GSH-Px 活力和 MDA 水平的影响 模型组各氧化酶活力降低, MDA 升高 ($P < 0.01$), 枸杞多糖组可明显改善以上变化 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 1 枸杞多糖对大鼠小肠黏膜中 TNF- α , IL-6 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TNF- α / μ g·L ⁻¹	IL-6/ng·L ⁻¹
假手术	-	0.57 \pm 0.05 ¹⁾	147.63 \pm 7.32 ¹⁾
模型	-	3.82 \pm 0.38	894.83 \pm 30.16
枸杞多糖	6	1.71 \pm 0.09 ¹⁾	333.62 \pm 15.62 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

表 2 枸杞多糖对大鼠小肠黏膜中 SOD, CAT, GSH-Px 活力和 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SOD/U·g ⁻¹	GSH-Px/U·g ⁻¹	CAT/U·g ⁻¹	MDA /nmol·g ⁻¹
假手术	-	178.58 \pm 11.47 ¹⁾	34.27 \pm 4.03 ¹⁾	37.09 \pm 3.29 ¹⁾	0.93 \pm 0.08 ¹⁾
模型	-	99.82 \pm 4.11	13.63 \pm 1.33	16.37 \pm 0.84	1.83 \pm 0.07
枸杞多糖	6	159.79 \pm 9.25 ¹⁾	40.22 \pm 2.36 ¹⁾	41.37 \pm 2.66 ¹⁾	1.14 \pm 0.08 ¹⁾

2.3 对大鼠血液 SOD, CAT, GSH-Px 活力和 MDA 含量的影响 模型组血液中 SOD、CAT 及 GSH-Px

活力降低,MDA 含量明显升高 ($P < 0.01$), 枸杞多糖组可明显扭转以上变化 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 枸杞多糖对大鼠血液 SOD, CAT, GSH-Px 活力和 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SOD/U·mL ⁻¹	GSH-Px/U·mL ⁻¹	CAT/U·mL ⁻¹	MDA/nmol·mL ⁻¹
假手术	-	218.57 \pm 10.53 ¹⁾	37.53 \pm 3.04 ¹⁾	30.57 \pm 0.85 ¹⁾	1.79 \pm 0.08 ¹⁾
模型	-	121.65 \pm 7.85	11.37 \pm 1.09	13.66 \pm 0.39	5.46 \pm 0.19
枸杞多糖	6	225.67 \pm 15.64 ¹⁾	34.92 \pm 0.95 ¹⁾	29.44 \pm 0.72 ¹⁾	3.04 \pm 0.09 ¹⁾

3 讨论

肠缺血/再灌注不仅引起自身结构和功能的破坏,还可使远处器官组织继发损伤,而自由基是其中最重要的损伤因素之一^[3]。人体内总自由基中约 95% 以上属于氧自由基^[4],在缺血再灌注过程中, TNF- α , IL-6 水平显著增高,它们间接增加氧自由基、蛋白水解酶等释放造成肠黏膜上皮坏死脱落。实验结果显示枸杞多糖处理组小肠组织中 TNF- α , IL-6 水平显著低于缺血再灌注组。

氧自由基具有高度的氧化活性,可攻击细胞膜、线粒体膜,与膜中的不饱和脂肪酸反应,造成脂质过氧化增强,最终导致细胞变性和坏死。MDA 是脂质过氧化物的降解产物,MDA 的含量可间接反映氧自由基对细胞的损伤程度。在胃肠道的新陈代谢中,机体内的多种抗氧化防御体系能够对过多的氧自由基进行清除,避免了组织细胞损伤,这些防御体系主要包括: SOD, CAT, GSH-Px 等^[5]。本实验显示在缺血再灌注过程中,小肠黏膜组织中 MDA 水平显著上升,而抗氧化酶活力显著下降,而枸杞多糖可以

明显提高大鼠小肠黏膜组织和血液中 SOD, CAT, GSH-Px 抗氧化活性,降低 MDA 水平。

由此可见,枸杞多糖可提高机体抗氧化酶活力及清除过多自由基,对大鼠小肠缺血再灌注氧化损伤有明显的保护作用。

[参考文献]

[1] 吕莉,王利,韩国柱,等. 茶多酚对大鼠肠缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中草药, 2006,37(8):1203.

[2] 赵正维,王为忠,陈宏,等. 红景天对大鼠小肠缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国临床康复, 2006,43(10):117.

[3] Koksoy C, Ergun H, Kuzu M A. Intestinal is chemia andreperfusion impairs vasomotor functions of pulmonary vascular bed [J]. Ann Surg, 2000, 231(1): 1052111.

[4] 陈瑾敬,唐聪明. 氧自由基的研究进展[J]. 海南医学院学报, 2004,10(3):206.

[5] 王建英,任引哲,王迎新. 氧自由基与人体健康[J]. 化学世界,2006,47(1):61263.

[责任编辑 何伟]