



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.10.023
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.10.023
Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(10):1468-1470.

· 简要论著 ·

TH、DDC、DAD₂R 在大鼠术后肠粘连模型中的表达

龚土平¹, 姜淮芜², 胥润¹, 张毅¹, 刘林波¹, 李建¹, 赵凌凌¹

(1. 四川省绵阳市第三人民医院 普通外科, 四川 绵阳 621000; 2. 川北医学院第二附属医院 普通外科, 四川 绵阳 621000)

摘要

目的: 观察酪氨酸羟化酶 (TH)、多巴胺脱羧酶 (DDC)、多巴胺 D₂ 受体 (DAD₂R) 在 SD 大鼠肠粘连模型中的表达, 探讨多巴胺与术后肠粘连的关系。

方法: 选取 SD 雄性大鼠 96 只, 随机分为 3 组: 正常对照组 (n=14), 假手术组 (n=42), 肠粘连模型组 (n=42), 采用 Ellis 法制备肠粘连模型。假手术组及模型组分别在术后第 2、5、8 天分批处死, 动物处死后取盲肠行免疫组化染色。

结果: TH、DDC、DAD₂R 在模型组术后第 2、5、8 天的表达, 较正常对照组及假手术组均有升高 (P<0.05), 随着时间的变化并逐渐降低。

结论: 术后肠粘连形成过程中, TH、DDC、DAD₂R 表达增高, 提示多巴胺及其受体参与了术后早期肠粘连的形成。

关键词

多巴胺; 肠粘连; 疾病模型, 动物

中图分类号: R574.2

术后肠粘连是腹部手术后常见的并发症, 其发病机制尚未完全清楚^[1-3], 目前研究认为术后肠粘连形成主要涉及组织损伤与修复, 纤维蛋白的生成与溶解等, 同时胃肠道神经系统也参与了术后肠粘连的形成^[4]。多巴胺 (dopamine, DA) 是公认的胃肠道神经递质, 主要通过多巴胺受体 (dopamine receptor, DR) 结合发挥广泛的胃肠功能调节作用^[5], 而多巴胺 D₂ 受体 (dopamine D₂ receptor, DAD₂R) 是胃肠道 DA 的主要受体。本实验通过检测大鼠术后肠粘连模型盲肠组织内 DAD₂R 及生成 DA 的关键酶即酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH)、多巴胺脱羧酶 (dopamine decarboxylase, DDC) 的表达, 探讨多巴胺与术后肠粘连的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SD 雄性大鼠, 体质量 250~300 g。由重庆腾鑫科技有限公司实验动物中心提供。动物适应性喂养 1 周, 将动物随机分为三组: 正常对照组 (14 只), 假手术组 (42 只), 肠粘连模型组 (42 只)。

1.2 试剂

抗酪氨酸羟化酶、抗多巴胺脱羧酶、抗多巴胺 D₂ 受体均购自北京博奥森生物技术有限公司, 免疫组化试剂盒购自北京中衫金桥公司。

1.3 实验方法

1.3.1 动物模型 肠粘连模型组及假手术组动物术前禁食 12 h, 自由饮水, 用 3% 的戊巴比妥钠溶液按 30 mg/kg 进行腹腔注射麻醉, 麻醉满意后将大鼠仰卧固定于手术板上。下腹部予以 8% 的硫化钠酒精脱毛剂脱毛, 经碘伏消毒, 铺无菌巾; 在下腹部正中行一约 2 cm 的竖行切口, 找到大鼠盲肠, 将其放在无菌干纱布上致其浆膜干燥, 然后用解剖刀片轻刮整个盲肠浆膜 10 遍, 使其轻度渗血。再

收稿日期: 2015-03-15; 修订日期: 2015-09-05。

作者简介: 龚土平, 四川省绵阳市第三人民医院主治医师, 主要从事胃肠外科方面的研究。

通信作者: 姜淮芜, Email: 690314881@qq.com

滴 1~2 滴无水乙醇于创面上, 形成化学刺激损伤; 然后以无齿镊夹住盲肠系膜动脉约 2 min, 造成暂时局部缺血, 最后将盲肠回纳入腹腔原位, 用止血钳夹伤相应腹壁, 关闭腹腔。

假手术组动物仅行简单的开关腹手术, 正常对照组动物不做处理, 所用手术均由一组人员进行。术后第2天所有试验动物开始进食。

1.3.2 结果测定 肠粘连模型组及假手术组分别在术后第2、5、8天予以颈椎脱臼法处死, 每次随机选取 14 只动物, 正常对照组动物饲养 3 d 后一次性全部处死, 取盲肠组织行免疫组化染色。免疫组化采用 SP 染色、DAB 显色的方法。每张切片置于 200 倍镜下随机选取阳性表达细胞 (阳性表达为棕色颗粒) 不同的 5 个视野, 用 IPP 5.1 图像分析系统测定每张图片的平均光密度值 (OD), 5 张图片的平均 OD 值即为标本所代表的 OD 值,

OD 值越大说明阳性表达越高。

1.4 统计学处理

数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析。结果用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组间采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

TH、DDC、DAD₂R 主要弥散表达在肠管黏膜固有层及绒毛间质内 (图 1)。与正常对照组比较, 模型组术后第2、5、8天 TH、DDC、DAD₂R 表达较正常对照组明显增高 ($P < 0.01$), 而与假手术组比较上述指标结果无明显差异 ($P > 0.05$) (表 1)。

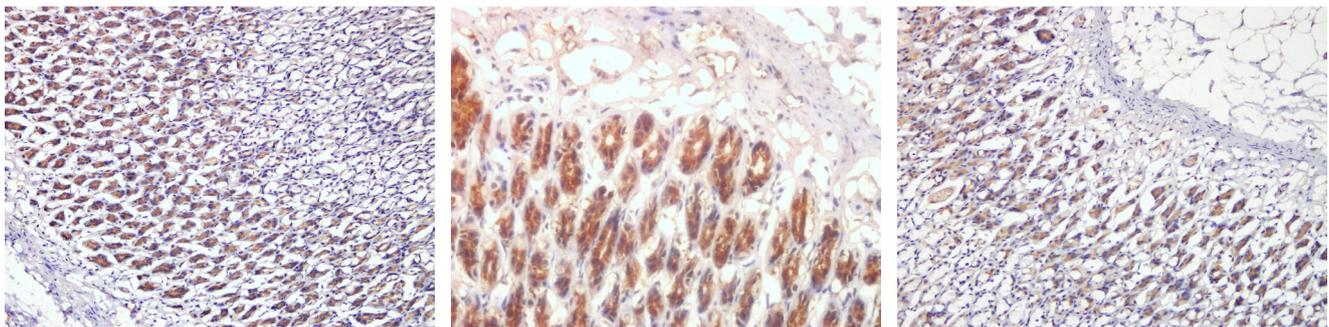


图 1 模型组术后第 5 天大鼠盲肠 TH、DDC、DAD₂R 的表达 (SP \times 200)

表 1 正常对照组、假手术组、模型组术后第 2、5、8 天盲肠 TH、DDC、DAD₂R 表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	TH	DDC	DAD ₂ R
正常对照组	0.26 \pm 0.03	0.23 \pm 0.03	0.16 \pm 0.03
术后第 2 天			
假手术组	0.28 \pm 0.02 ²⁾	0.26 \pm 0.04 ²⁾	0.20 \pm 0.04 ¹⁾
模型组	0.36 \pm 0.03 ¹⁾	0.34 \pm 0.03 ¹⁾	0.34 \pm 0.03 ¹⁾
术后第 5 天			
假手术组	0.27 \pm 0.02	0.23 \pm 0.03	0.17 \pm 0.04 ¹⁾
模型组	0.33 \pm 0.02 ¹⁾	0.30 \pm 0.04 ¹⁾	0.22 \pm 0.03 ¹⁾
术后第 8 天			
假手术组	0.26 \pm 0.03	0.24 \pm 0.02	0.15 \pm 0.03
模型组	0.31 \pm 0.02 ¹⁾	0.25 \pm 0.03 ¹⁾	0.18 \pm 0.02 ¹⁾

注: 与正常对照组比较, 1) $P < 0.01$, 2) $P < 0.05$

3 讨论

神经系统在术后肠粘连发生中的作用机制尚

不清楚, 可能主要通过术后早期影响胃肠道功能从而参与肠粘连的形成^[6], 由于腹部手术 (包括创伤、麻醉、感染等因素) 的影响^[7-9]。常可反应性抑制胃肠蠕动, 从而增加了肠粘连形成过程中肠管之间的接触时间, 进而增加了术后肠粘连形成的机会^[10-11]。多巴胺及其受体系统在肠道中有着广泛的分布^[12-13], 其主要作用是抑制胃肠道蠕动, 而 TH、DDC 是生成多巴胺的关键酶, DAD₂ 受体主要在胃肠道表达。因此我们通过对术后这三个指标的测定, 可以在一定程度上反映胃肠道神经活动强度。从表 1 可以看出, 较正常对照组、假手术组比较, 模型组生成多巴胺的关键酶及 DAD₂ 受体均有不程度的升高 ($P < 0.05$)。由此我们推断在肠粘连 SD 大鼠模型中, 术后早期胃肠道蠕动减弱是通过多巴胺实现的。随着时间的推移逐渐降低, 上

述指标逐渐降低,我们推断多巴胺主要在术后早期抑制胃肠道活动度。

本实验提示术后肠粘连形成与多巴胺在一定因果关系,由于手术创伤及炎症介质影响,多巴胺及其受体表达增高,降低了胃肠道活动度。关于其如何参与人与动物的胃肠运动调节的,目前有两种解释^[14],一方面多巴胺可能只作为一种局部神经递质,作用于相应的多巴胺受体起作用;另一方面多巴胺也可能通过生成去甲肾上腺素后与胃肠道的肾上腺素能受体结合发挥抑制胃肠道活动的作用。然而多巴胺通过抑制胃肠道活动参与术后肠粘连的作用是肯定的。炎症介质在术后肠粘连中的关键作用为大多学者公认^[15-16],甚至有研究通过炎症指标预测肠粘连的发生率^[17-18],多巴胺不仅作为抑制胃肠运动的神经递质参与术后肠粘连形成,同时还可能一定程度上参与炎症过程,有研究^[19-20]证实多巴胺可以通过增加前列腺素E2 (prostaglandin E2, PGE2) 而加重炎反应,而两者之间的具体关系有待进一步的探讨。

参考文献

- [1] Schnüriger B, Barmparas G, Branco BC, et al. Prevention of postoperative peritoneal adhesions: a review of the literature[J]. *Am J Surg*, 2011, 201(1):111-121.
- [2] 王斌,李宏艳. 术后早期炎性肠梗阻的诊断与治疗[J]. *中国普通外科杂志*, 2002, 11(8):479-480.
- [3] Arung W, Meurisse M, Detry O. Pathophysiology and prevention of postoperative peritoneal adhesions[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(41):4545-4553.
- [4] Tokita Y, Yuzurihara M, Satoh K, et al. The cholinergic nervous system plays an important role in rat postoperative intestinal adhesion[J]. *Surgery*, 2008, 143(2):226-232.
- [5] 张冬红,刘国永,郭长青. 多巴胺及其受体系统与胃肠道疾病[J]. *国外医学:消化系疾病分册*, 2005, 25(2):103-105.
- [6] Cali RL, Meade PG, Swanson MS, et al. Effect of Morphine and incision length on bowel function after colectomy[J]. *Dis Colon Rectum*, 2000, 43(2):163-168.
- [7] 秦新裕,刘凤林. 术后胃肠动力紊乱的研究进展[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2005, 8(3):193-195.
- [8] 石帅,罗于海,文光瑞,等. 腹部手术后肠梗阻的影响因素与诊疗对策[J]. *中国普通外科杂志*, 2012, 21(8):1041-1042.
- [9] Ay AA, Kutun S, Ulucanlar H, et al. Risk factors for postoperative ileus[J]. *J Korean Surg Soc*, 2011, 81(4):242-249.
- [10] Fukudo S, Kuwano H, Miwa H. Management and pathophysiology of functional gastrointestinal disorders[J]. *Digestion*, 2012, 85(2):85-89.
- [11] Brochhausen C, Schmitt VH, Planck CN, et al. Current strategies and future perspectives for intraperitoneal adhesion prevention[J]. *J Gastrointest Surg*, 2012, 16(6):1256-1274.
- [12] 陈金兰,张巧稳. 多巴胺D2样受体的功能研究进展[J]. *中国医药导刊*, 2010, 12(6):1007-1009.
- [13] Boland GM, Weigel RJ. Formation and prevention of postoperative abdominal adhesions[J]. *J Surg Res*, 2006, 132(1):3-12.
- [14] 邓小英,郑芝田,叶嗣懋,等. 多巴胺受体在大鼠胃和十二指肠的定位及表达[J]. *中华医学杂志*, 1997, 77(2):103-105.
- [15] Munireddy S, Kavalukas SL, Barbul A. Intra-abdominal healing: gastrointestinal tract and adhesions[J]. *Surg Clin North Am*, 2010, 90(6):1227-1236.
- [16] Kim MJ, Min GE, Yoo KH, et al. Risk factors for postoperative ileus after urologic laparoscopic surgery[J]. *J Korean Surg Soc*, 2011, 80(6):384-389.
- [17] 朱鹏程,梁中林,王光辉,等. 血浆降钙素原对结直肠癌术后肠梗阻中的预测作用[J]. *中国普通外科杂志*, 2013, 22(10):1319-1323.
- [18] Chachkhiani I, Gürlich R, Maruna P, et al. The postoperative stress response and its reflection in cytokine network and leptin plasma levels[J]. *Physiol Res*, 2005, 54(3):279-285.
- [19] Nagahata Y, Urakawa T, Saitoh Y. Effect of dopamine on prostaglandin E2 content in gastric mucosa[J]. *Gastroenterol Jpn*, 1990, 25(6):681-684.
- [20] Kalf JC, Schraut WH, Billiar TR, et al. Role of inducible nitric oxide synthase in postoperative intestinal smooth muscle dysfunction in rodents[J]. *Gastroenterology*, 2000, 118(2):316-327.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 龚土平, 姜淮芜, 胥润, 等. TH、DDC、DAD₂R 在大鼠术后肠粘连模型中的表达[J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(10):1468-1470. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.10.023
 Cite this article as: GONG TP, JIANG HW, XU R, et al. The expression of TH、DDC、DAD₂R in SD rats with postoperative intestinal adhesion[J]. *Chin J Gen Surg*, 2015, 24(10):1468-1470. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.10.023