文章编号:1000-5404(2005)16-1697-03

论著

大鼠肾脏异丙酚代谢相关 *ugt1a6* 基因在无肝期表达变化的研究

顾健腾[1], 陶国才[1], 鲁开智[1], 吴 洲[2] (第三军医大学:[1]西南医院麻醉科,[2]高原军事医学系病理生理学与高原生理学教研室,全军高原医学重点实验室,重庆 400038)

提 要:目的 研究无肝期前后与异丙酚代谢相关的尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 *ugt1a6* 在大鼠肾脏中的基因表达变化,初步阐释异丙酚无肝期肝外代谢特点形成的原因。**方法** 15只雄性大鼠随机分为3组(5只/组),A组为对照组,B组阻断肝门30 min,C组阻断肝门60 min,截取各组大鼠肾脏组织,采用逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)技术,检测各组 *ugt1a6* mRNA 的表达。**结果** 大鼠肾脏组织 *ugt1a6* 的基因表达水平B、C组明显高于A组($P<0.05$);B组与C组相比,无显著差异($P>0.05$)。**结论** 大鼠肾脏组织 *ugt1a6* 基因表达在无肝期比无肝期前增多,这可能是异丙酚无肝期肝外代谢增强的机制之一。

关键词: 异丙酚;尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶;无肝期;基因
中图法分类号: R971.2; Q555 **文献标识码:** A

Study of gene expression variation of rat kidney *ugt1a6* related to propofol metabolism in anhepatic phase

GU Jian-teng[1], TAO Guo-cai[1], LU Kai-zhi[1], WU Zhou[2] ([1]Department of Anesthesiology, Southwest Hospital, [2]Department of Pathophysiology, College of High Altitude Military Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the gene expression variation of rat kidney uridine diphosphate glucuronatetransferase *ugt1a6* related to propofol metabolism in anhepatic phase and to primarily explain the reasons of extrahepatic metabolism characteristic of propofol. **Methods** A total of 15 male SD rats were distributed randomly to 3 groups ($n=5$ in each group): control group (group A), devascularization of the hepatic portal for 30 min (group B) and 60 min (group C). Kidney tissues of rats were taken and *ugt1a6* mRNA were detected by RT-PCR. **Results** Gene expression levels of kidney *ugt1a6* of groups B and C were significantly higher than group A ($P<0.05$). The gene expression levels between B and C were of no significant difference. **Conclusion** Gene expression levels of kidney *ugt1a6* of rats increased in anhepatic phase as compared with the phase of hepatic portal dissociation, which is one of the possible reasons that extrahepatic metabolism of propofol is increased in anhepatic phase.

Key words: propofol; uridine diphosphate glucuronyltransferase; anhepatic phase; gene

一般情况下异丙酚主要在肝脏代谢,但在肝移植无肝期的药代动力学研究表明异丙酚存在肝外代谢,并且在无肝期也能维持药代动力学的稳定[1],这说明无肝期异丙酚的肝外代谢可能增强,与异丙酚代谢相关的尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(*ugt1a6*)在肝外组织器官中基因表达可能增多,活性可能增强。本研究选择大鼠为动物模型,以 *ugt1a6* 分布较多的肾脏为研究器官,来验证此推测是否成立。这对于阐释异丙酚的肝外代谢机制具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

异丙酚由阿斯利康公司提供,DEPC购于美国Sigma公司,TRIZOL购于美国Invitrogen公司,合成引物、反转录酶、TaqDNA聚合酶等购于上海博亚公司。低温高速冷冻离心机(2K15型),-20 ℃低温冰箱(BCD-272型),PCR仪(PTC-15型),核

基金项目: 第三军医大学中青年科研基金资助项目(2004)
Supported by the Scientific Research Foundation for Young Scholars of Third Military Medical University (2004)
作者简介: 顾健腾(1976-),男,云南省蒙自县人,硕士,主治医师,主要从事肝移植围术期麻醉药物药代动力学方面的研究,发表论文7篇。电话:(023)65210185
通讯作者: 陶国才,电话:(023)68754197
收稿日期: 2005-06-02;**修回日期:** 2005-07-04

酸蛋白紫外分光光度仪(Smartspect3000 型),凝胶成像分析仪(BIO-RAD 型)。

1.2 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 15 只,12 ~ 14 周龄,体质量 340 ~ 380 g(第三军医大学实验动物中心提供),随机分成 3 组,每组 5 只,A 组为对照组,B 组阻断肝门 30 min,C 组阻断肝门 60 min。

1.3 无肝动物模型的建立及肾脏组织的取材

乙醚麻醉大鼠,右侧颈深静脉切开,置入 1.0 号硅胶管,用于注射药物和输液。A 组大鼠开腹后直接截取右肾,生理盐水洗涤;B、C 两组开腹后分离出第一肝门,分别夹闭 30 min 和 60 min,然后同 A 组一样截取右肾,生理盐水洗涤。

1.4 RNA 提取

将各组的肾脏组织剪取约 100 mg,置入匀浆器,冰浴中加入 1 ml TRIZOL,充分混匀,加入氯仿后低温高速离心,取上清加入异丙醇后再次低温高速离心,弃上清,经乙醇洗涤烘干,加无菌双蒸水溶解,紫外分光光度仪测定 RNA 密度,-20 ℃保存。

1.5 RT-PCR 分析

采用两步法,先将提取到的 RNA 反转录为 cDNA,加入 *ugt1a6* 特异性引物及内参引物 β-actin。*ugt1a6* Primer R: 5′-CCTTGTGCCTCATCACGTACTC-3′, Primer F: 5′-GTGGCGCTA-CACCGGAACTA-3′; Rat-β-actin-R: 5′-TCACCCACACTGTGC-CCATCTACTA-3′, Rat-β-actin-F: 5′-CATCGGAACCGCTCATTGC-CGATAG-3′。后经 PCR 仪循环扩增,扩增产物经琼脂糖凝胶电泳,紫外分光密度扫描,并以共同扩增的 β-action 蛋白基因作为内参照,二者扩增条带密度之比表示 *ugt1a6* mRNA 表达水平。

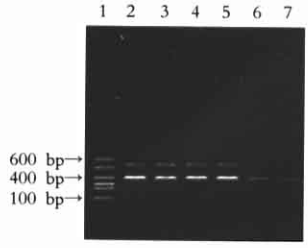
1.6 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SSPS 10.0 统计学软件采用组间差异用单因素方差分析检验。

2 结果

2.1 RT-PCR 扩增结果

如图 1 所示,3 组大鼠肾脏组织 RT-PCR 扩增出 2 条 cDNA。



1: Marker; 2, 3: Devascularization of hepatic portal for 60 min; 4, 5: Devascularization of hepatic portal for 30 min; 6, 7: Control

图 1 无肝期大鼠肾脏组织 *ugt1a6* mRNA 的表达

Fig 1 Expression of rat kidney *ugt1a6* mRNA in anhepatic phase

2.2 *ugt1a6* mRNA 表达密度扫描结果

以 *ugt1a6* 和 β-action 扫描密度值的比值为相对密度,代表各组大鼠 *ugt1a6* mRNA 的表达水平。阻断肝门 30 min(B 组)、60 min(C 组)时,大鼠肾脏组织 *ugt1a6* 的基因表达水平明显高于对照组(A 组)($P < 0.05$);B 与 C 两组相比较,大鼠肾脏组织 *ugt1a6* 的基因表达水平没有显著差异($P > 0.05$),见表 1。

表 1 无肝期大鼠肾脏组织 *ugt1a6* mRNA 表达密度

Tab 1 Relative density of rat kidney *ugt1a6* mRNA during anhepatic phase

Group	*n*	Relative density
A	5	0.412 ± 0.103
B	5	0.838 ± 0.062 *
C	5	0.853 ± 0.171 *

*: $P < 0.05$, *vs* group A

3 讨论

已有的研究证实异丙酚主要通过肝脏代谢,90% 以上的药物与肝内葡萄糖醛酸或硫酸结合,形成 1′或 4′-葡萄糖醛酸或硫酸根异丙酚,主要从尿液中排出,游离态的母核药物在尿液中的含量不到总量的 0.3%[2]。本实验显示无肝期异丙酚代谢相关 *ugt1a6* 在肾脏表达增多,暗示异丙酚的肝外代谢在无肝期可能增强,同时也较好解释为什么异丙酚失去肝脏的主要作用后,代谢未受明显影响,初步揭示异丙酚无肝期药代动力学维持稳定[3]的原因。

肾脏血流量占了心排量的 25%,所有从尿液中排出的药物必先经过肾脏处理,在药物的生物转化中肾脏扮演了重要角色。显微解剖、免疫组织化学及特异性抗体实验等方法均证实肾脏中含有 ugt 酶,人体肾脏中涉及异丙酚代谢的 ugt 酶主要是 *ugt1a6*、*ugt1a9*[4],大鼠肾脏中与异丙酚代谢相关的 ugt 酶只有 *ugt1a6*。Redegeld 等通过对大鼠肾脏离体灌注,研究肾脏对 1-萘酚的葡醛酸化和硫酸化作用以及对这些共轭化合物的清除作用,明确指出肾脏同肝脏一样可以代谢酚类化合物。肾脏的葡醛酸化能力比人们想像的要强大得多,肾脏是肝外异丙酚葡醛酸化的重要部位[5]。

ugt 表达水平是通过即时的、组织特异性的和环境因素影响的调节方式进行的[6]。饮食、性别、年龄以及妊娠分娩都可对 *ugt1a6* 的活性产生影响[7]。相关的研究表明,甲状腺素可在转录水平促进 *ugt1a* 家族的 mRNA 表达;切除腺垂体的大鼠,其肝外组织 *ugt1a6* 的活性明显下降,用生长激素治疗后活性可有一定程度的恢复[8]。肝移植进入无肝期,机体的内环境发生许多变化,各种激素的分泌调节、酸碱电解质的平衡紊乱等因素,极可能对肝外组织器官的 *ugt1a6* 活

性产生影响,从而影响异丙酚的代谢。本实验研究表明大鼠肾脏中 *ugt1a6* 的基因表达在无肝期 30 min、60 min 比无肝期前明显增强,这可能与无肝期前后内环境的急剧变化相关。

在大鼠体内 *ugt1a6* 不仅存在于肝脏、肾脏,在小肠、脑等许多组织器官中也有分布[9],提示这些组织器官也可能具有代谢异丙酚的能力。进入无肝期后,大鼠肾脏 *ugt1a6* 基因表达增多,从微观的角度阐释无肝期异丙酚肝外代谢增强的原因,若能检测无肝期前后 *ugt1a6* 酶活性变化,则能进一步说明和证实无肝期前后 *ugt1a6* 表达变化与异丙酚药代特点之间的关系。至于无肝期究竟哪些因素促使 *ugt1a6* 表达增强,需通过进一步研究才能确定。

参考文献:

[1] Veroli P, O'Kelly B, Bertrand F, *et al*. Extrahepatic metabolism of propofol in man during the anhepatic phase of orthotopic liver transplantation[J]. Br J Anaesth, 1992, 68(2): 183-186.

[2] Le Guellec C, Lacarelle B, Villard P H, *et al*. Glucuronidation of propofol in microsomal fractions from various tissues and species including humans: effect of different drugs[J]. Anesth Analg, 1995, 81(4): 855-861.

[3] 朱益贫, 杨立群, 俞卫锋. 小儿肝移植无肝期丙泊酚的药代动力学特点[J]. 第二军医大学学报, 2001, 22(9): 875-877.

[4] Ethell B T, Ekins S, Wang J, *et al*. Quantitative structure activity relationships for the glucuronidation of simple phenols by expressed human *ugt1a6* and UGT1A9[J]. Drug Metab Dispos, 2002, 30(6): 734-738.

[5] Raoof A A, van Obbergh L J, de Ville de Goyet J, *et al*. Extrahepatic glucuronidation of propofol in man: possible contribution of gut wall and kidney[J]. Eur J Clin Pharmacol, 1996, 50(1-2): 91-96.

[6] 李 新. 人体内的葡醛酸结合反应及其影响因素[J]. 中国临床药理学杂志, 2002, 18(5): 387-395.

[7] Gueraud F, Daveloose D, Vezin H, *et al*. *In vivo* modification of the UDP-glucuronosyltransferase functional state in rat liver following hypophysectomy and partial or complete hormonal restoration[J]. J Biochem (Tokyo), 2003, 134(5): 641-653.

[8] Hiroshi Y, Yohko K, Yasuko S, *et al*. Effects on extrahepatic UDP-glucuronosyltransferases in hypophysectomized rat[J]. J Biochem (Tokyo), 2002, 132(2): 265-270.

[9] Shelby M K, Cherrington N J, Vansell N R, *et al*. Tissue mRNA expression of the rat UDP-glucuronosyltransferase gene family[J]. Drug Metab Dispos, 2003, 31(3): 326-333.

(编辑 栾 嘉)

文章编号:1000-5404(2005)16-1699-01

个案与短篇

Eales 病所致并发症玻璃体手术疗效分析

Effectiveness of vitrectomy in managing the complications caused by Eales' disease

桂君民,陈少军,刘 勇,王 一 (第三军医大学西南医院全军眼科中心,重庆 400038)

Eales 病是 1880 年由 Henry Eales 提出的,特征是青年人反复视网膜和玻璃体出血,其病因尚不明确。目前普遍认为它是一种特发性闭塞性血管炎,主要侵犯周边视网膜血管。氩激光视网膜光凝对病变程度轻者能够有效地控制炎症复发和防止并发症,但对重型患者的疗效则明显降低[1]。对于玻璃体出血延迟不吸收或出现玻璃体视网膜增殖牵引甚至视网膜脱离则需行玻璃体手术治疗。本研究对 2000 年以来在我院眼科诊断为 Eales 病并行玻璃体手术治疗的患者资料进行回顾分析。

1 资料与方法

2000 年 1 月至 2004 年 8 月期间在我院眼科诊断为 Eales 病并行玻璃体手术治疗的患者 45 例 50 眼中,男性 41 例,女性 4 例,年龄 15~48 岁,平均 29.90 岁,病程半个月至 2 年,平均 6.3 个月。29 例(58.0%)双眼发病,11 眼(22.0%)术前曾有过氩激光视网膜光凝术史。并发牵引性视网膜脱离者 18 眼(36.0%),并发裂孔者 14 眼(28.0%),并发新生血管膜者 18 眼(36.0%)。有氩激光视网膜光凝术史患者并发牵引性视网膜脱离和裂孔各 2 眼(18.2%),并发新生血管膜 3 眼(27.3%)。

45 例 50 眼均行玻璃体手术,有 2 例 2 眼因术中发现玻璃体视网膜增殖严重而终止手术,其余 43 例 48 眼均完成玻璃体手术,术中全部行眼内光凝封闭无灌注区和新生血管,其中 4 眼联合行晶体切除,6 眼联合巩膜外环扎,33 眼(68.7%)行 15% C3F8 填充,2 眼(4.2%)行硅油填充,13 眼(27.1%)行 BSS 填充。术后随访 2 个月至 3 年。

2 结果

术后 2 例 2 眼因新裂孔形成致复发性视网膜脱离,1 例经

(下转 1710 页)

作者简介:桂君民(1966-),男,江西省鹰潭市人,硕士,主治医师,主要从事玻璃体视网膜疾病方面的研究。电话:(023)68754000-73097

收稿日期:2004-11-23;修回日期:2005-03-05