

DOI:10.16781/j.0258-879x.2019.01.0043

· 论 著 ·

## 结肠参与慢性肾功能衰竭大鼠氧化应激的激活

郭织运<sup>1</sup>, 李和文<sup>2</sup>, 夏振娜<sup>3</sup>, 许静<sup>1</sup>, 董睿<sup>1\*</sup>

1. 海军军医大学(第二军医大学)长海医院肾内科, 上海 200433

2. 解放军第五医院心肾内科, 银川 750000

3. 海军军医大学(第二军医大学)药物安全检测中心, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 探讨慢性肾功能衰竭(CRF)胃肠道症状的发生机制, 明确结肠是否参与CRF氧化应激的激活。**方法** 将30只雄性SD大鼠随机分为对照组(10只)和CRF组(20只), CRF组大鼠予以5/6肾切除建立CRF模型, 对照组仅打开肾包膜后缝合。成模后10周处死大鼠, 收集2组大鼠的血清及回盲瓣附近结肠组织。检测大鼠肾功能指标血尿素氮(BUN)和血清肌酐(SCr)以评估造模是否成功, 检测大鼠血清及结肠组织中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(TAC)和8-羟脱氧鸟苷(8-OHdG)以评估氧化应激水平, 检测泛素细胞色素C诱导核心蛋白酶I(UQCRC1)mRNA和蛋白水平以评估线粒体功能。**结果** 与对照组相比, CRF组血清BUN及SCr水平升高, 提示造模成功; CRF组血清及结肠组织中MDA水平升高( $P<0.05$ ), 但2组间8-OHdG和抗氧化指标SOD、TAC差异无统计学意义( $P>0.05$ ); CRF组结肠组织中UQCRC1蛋白水平较对照组低( $P<0.05$ ), 但UQCRC1 mRNA水平与对照组相比差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** CRF大鼠的结肠组织中存在氧化与抗氧化反应失衡现象, 其机制可能涉及线粒体的功能障碍。

**[关键词]** 慢性肾功能衰竭; 胃肠道功能障碍; 氧化性应激; 线粒体

**[中图分类号]** R 692.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2019)01-0043-06

### Colon participates in activation of oxidative stress in rats with chronic renal failure

GUO Zhi-yun<sup>1</sup>, LI He-wen<sup>2</sup>, XIA Zhen-na<sup>3</sup>, XU Jing<sup>1</sup>, DONG Rui<sup>1\*</sup>

1. Department of Nephrology, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

2. Department of Cardiology and Nephrology, No. 5 Hospital of PLA, Yinchuan 750000, Ningxia Hui Autonomous Region, China

3. Center for Evaluation of Drug Safety, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the mechanism of gastrointestinal dysfunction caused by chronic renal failure (CRF), and to determine whether colon is involved in the activation of oxidative stress (OS) in CRF. **Methods** Thirty male SD rats were randomly divided into control group ( $n=10$ ) and CRF group ( $n=20$ ). The rats in the CRF group were treated with 5/6 nephrectomy to establish CRF model, and the rats in the control group were only sutured after opening renal capsule. The rats were sacrificed at 10 weeks after model administration, and the serums and colon tissues near ileocecal valve were collected. Blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (SCr) were measured to evaluate the success of the model. Malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), total antioxidant capacity (TAC) and 8-hydroxy deoxyguanosine (8-OHdG) in the serum and colon tissues were detected to evaluate the level of OS. The ubiquinol cytochrome C reductase core protein I (UQCRC1) was tested for the evaluation of mitochondrial function. **Results** Compared with the control group, the levels of BUN and SCr in serum of the rats in the CRF group were increased, suggesting that the model was successfully established. Compared with the control group, serum and colonic MDA levels were significantly increased in the CRF group ( $P<0.05$ ); however, there were no significant differences in 8-OHdG or anti-oxidative markers (SOD, TAC) in serum or colon tissues between the two groups ( $P>0.05$ ). The protein level of UQCRC1 in colon tissues was significantly reduced in the CRF group compared with the control group ( $P<0.05$ ). However, there was no significant difference in the mRNA level of UQCRC1 in colon tissues between the control and CRF groups ( $P>0.05$ ). **Conclusion** There is an imbalance between

**[收稿日期]** 2018-08-28 **[接受日期]** 2018-11-22

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81300613). Supported by National Natural Science Foundation of China (81300613).

**[作者简介]** 郭织运, 硕士, 住院医师. E-mail: zhiyunguo@163.com

\*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-31161412, E-mail: drdongr@163.com

oxidation and antioxidation in the colonic tissues of CRF rats, which may be related to mitochondrial dysfunction.

**[Key words]** chronic kidney failure; gastrointestinal dysfunction; oxidative stress; mitochondria

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(1): 43-48]

胃肠道症状是慢性肾功能衰竭 (chronic renal failure, CRF) 早期发生率较高的并发症之一, 长期合并胃肠道症状会进一步导致各种营养不良<sup>[1-2]</sup>, 进而增加患者住院率及病死率<sup>[3]</sup>, 但其发生和发展的病理生理机制目前尚不完全清楚。已有研究证实, 炎症和氧化应激参与 CRF 的进展<sup>[4-6]</sup>。机体氧化-抗氧化失衡可通过多种指标衡量。丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 是脂质过氧化作用的产物, 是描述脂质过氧化最好的标志物之一<sup>[7-8]</sup>。氧化应激也可引起 DNA 损伤, 8-羟脱氧鸟苷 (8-hydroxy deoxyguanosine, 8-OHdG) 被认为是目前氧化应激 DNA 损伤的标志物之一<sup>[8]</sup>。超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 是内源性抗氧化酶, 也是机体重要的自由基清除剂<sup>[9-10]</sup>。内源性和食物源衍生抗氧化剂的总和即为细胞外液的总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, TAC)。

结肠 (尤其回盲瓣附近的结肠组织) 是机体微生物群落聚集的场所。研究证实, 尿毒症毒素累积破坏肠道固有菌群的生态平衡, 进而损伤肠道黏膜屏障<sup>[11]</sup>。肠道微生物失调可导致机体微炎症、氧化-抗氧化失衡, 甚至氧化应激的激活<sup>[12]</sup>, 严重者损伤细胞膜, 影响线粒体呼吸链相关复合体 III 的编码基因——泛素细胞色素 C 诱导核心蛋白酶 I (ubiquinol cytochrome C reductase core protein I, UQCRC1) 的表达<sup>[13-14]</sup>, 从而影响能量的产生。因此各种菌群聚集的肠道可能是全身氧化应激激活的起始部位。结肠组织中是否存在氧化应激反应、是否参与胃肠道功能障碍的发生, 目前尚不清楚。本研究通过构建 CRF 大鼠模型, 探讨 CRF 条件下结肠组织中是否存在氧化应激反应, 并进一步探索其机制。

## 1 材料和方法

**1.1 动物模型构建与分组** 所有动物实验的操作均按照严格的操作步骤进行, 并通过海军军医大学 (第二军医大学) 动物伦理委员会审核。4~6 周龄的 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 30 只, 体质量 150~160 g, 购自海军军医大学 (第二军医大学)

实验动物中心 [动物使用许可证号: SYXK (沪) 2012-0003]。动物饲养在海军军医大学 (第二军医大学) 实验动物中心无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级实验室, 温度 20~25 °C, 相对湿度 65%~75%, 光照周期为 12 h/12 h。将大鼠随机分为对照组 (10 只) 和 CRF 组 (20 只)。通过 5/6 肾脏切除建立 CRF 模型<sup>[15]</sup>。对照组大鼠予以腹腔注射 10% 水合氯醛 (2.5 mL/kg) 麻醉后, 仅剥离肾外包膜后缝合; CRF 组大鼠麻醉后切除左侧肾脏上、下极各 1/3 肾组织, 1 周后再切除右侧肾脏, 完成 CRF 模型的建立<sup>[13]</sup>。所有大鼠手术后均未使用抗生素。成模后第 10 周, 所有大鼠予以腹腔注射 10% 水合氯醛 (4 mL/kg) 麻醉, 收集血液和近回盲瓣结肠组织标本。近回盲瓣结肠组织收集后立即放在 -80 °C 保存。血液标本经 4 °C 250×g 离心 10 min 取上清液, 之后于 -80 °C 保存。

实验过程中, CRF 组有 8 只大鼠死亡、对照组有 2 只大鼠死亡, 因此, 在第 10 周实验结束时, CRF 组有 12 只大鼠标本、对照组有 8 只大鼠标本用于研究。检测肾功能指标血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 和血清肌酐 (serum creatinine, SCr) 以评估造模是否成功。

**1.2 生物化学指标检测** 取 0.2 g 回盲瓣结肠组织, 切成小块, 放入玻璃管中, 加入冷生理盐水, 研磨成浆, 经 4 °C 440×g 离心 10 min 后, 取上清液待测。血清标本从冰箱取出后, 经 37 °C 水浴箱复温待测。使用硫代巴比妥酸 (thiobarbituric acid, TBA) 方法检测结肠组织中 MDA 的含量<sup>[16]</sup>, 使用 Bio-Assay 试剂盒 (美国 Hayward 公司) 检测血清中 MDA 含量; 使用 Randox-Ransod 酶试剂盒 (德国 Darmstadt 公司) 测定血清和结肠组织中 SOD 活性; 使用 TAC 检测试剂盒 (DTAC-100, 美国 BioAssay Systems 公司) 检测血清和结肠组织中的 TAC; 用 ELISA 法检测血清和结肠组织中 8-OHdG, ELISA 试剂盒购自艾美捷科技有限公司 (批号: 589320-96)。

1.3 实时荧光定量 PCR 检测 *UQCRC1* mRNA 的表达 取 25~30 mg 结肠组织放于离心管中, 在平底玻璃管中加入 1 mL TRIzol 液 (15596-026, Invitrogen 公司), 使用匀浆机匀浆后放于冰上, 之后加入 200  $\mu$ L 氯仿 [货号: 10006818, 基尔顿生物科技 (上海) 有限公司], 用震荡器剧烈振荡, 之后 4  $^{\circ}$ C 21 000 $\times$ g 离心 15 min 取上清液; 加入 600  $\mu$ L 异丙醇 [基尔顿生物科技 (上海) 有限公司, 货号: 40064360], 混合均匀, 4  $^{\circ}$ C 静置 1 h, 之后 4  $^{\circ}$ C 21 000 $\times$ g 离心 15 min 去上清液, 加入 1 mL 75% 的无水乙醇 [750  $\mu$ L 无水乙醇+250  $\mu$ L 焦碳酸二乙酯 (货号: 750024, 美国 Invitrogen 公司)] 漂洗, 4  $^{\circ}$ C 21 000 $\times$ g 离心 5 min, 用无水乙醇洗 2 次; 弃上清, 室温干燥 10 min 至沉淀透明, 加入焦碳酸二乙酯溶解 RNA。溶解后测 RNA 浓度, -80  $^{\circ}$ C 冰箱保存。将获得的 RNA 按照反转录试剂盒 (货号: K1622, 美国 Fermentas 公司) 的步骤, 获得 cDNA。以鼠的甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, *GAPDH*) 为内参, 检测 *UQCRC1* mRNA 的表达。*GAPDH* 上游引物: 5'-TGG AGT CTA CTG GCG TCT TG-3', 下游引物: 5'-TGT CAT ATT TCT CGT GGT TCA TC-3'; *UQCRC1* 上游引物: 5'-AGC AGT GTC TCC CAG GTG TAC-3', 下游引物: 5'-AGC CAC GTT GTC TGG GTT AGC-3'。实验过程中, 将上游引物和下游引物各取 10  $\mu$ L 加到 80  $\mu$ L 无酶水组成引物混合物。取 5  $\mu$ L 荧光染料 SYBR Green Mix (货号: CS7561, 美国 Invitrogen 公司)、1  $\mu$ L 引物混合物、3  $\mu$ L 无酶水、2  $\mu$ L 稀释后的 cDNA 构成实时荧光定量 PCR 扩增体系。将扩增体系分别加入 96 孔板, 使用荧

光定量 PCR 仪 (CFX96<sup>TM</sup> Real-Time System, 美国 Bio-Rad 公司), 设定反应程序。

1.4 蛋白质印迹法检测线粒体相关蛋白表达 使用添加有蛋白酶和磷酸酶抑制剂 (美国 Thermo Fisher 公司) 的 RIPA 裂解液和提取液 (美国 G-Biosciences 公司) 提取回盲瓣结肠组织蛋白, 使用 BCA 蛋白测定试剂盒 (美国 Thermo Scientific 公司) 测定蛋白质浓度, 进行蛋白质印迹实验<sup>[14]</sup>。*UQCRC1* 抗体购自英国 Abcam 公司 (货号为 ab197055, 稀释比例为 1:1 000), 荧光二抗购自美国 LI-COR Biosciences 公司 (稀释比例为 1:10 000)。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 18.0 软件进行数据分析。计量资料均以  $\bar{x}\pm s$  表示, 正态分布的连续变量组间比较采用两独立样本 *t* 检验。检验水准 ( $\alpha$ ) 为 0.05。

## 2 结果

2.1 肾功能检测结果 实验第 10 周结束后采集大鼠血清检测肾功能, 结果显示 CRF 组 BUN 为 (15.30 $\pm$ 5.64) mmol/L, 高于对照组 [(5.74 $\pm$ 0.77) mmol/L], 差异有统计学意义 ( $P=0.003$ ); CRF 组 SCr 为 (77.68 $\pm$ 23.51)  $\mu$ mol/L, 高于对照组 [(37.28 $\pm$ 10.10)  $\mu$ mol/L], 差异有统计学意义 ( $P=0.023$ )。检测结果表明造模成功。

2.2 血清和结肠组织氧化应激相关指标检测结果 与对照组相比, CRF 组血清及结肠组织中 MDA 含量升高, 差异有统计学意义 ( $P<0.01$ )。2 组血清及结肠组织中 8-OHdG、SOD、TAC 的差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 CRF 大鼠血清和结肠组织氧化应激相关指标的变化

Tab 1 Oxidative stress markers in serum and colon tissues of CRF rats in two groups

Sample	Group	<i>n</i>	$\bar{x}\pm s$				
			MDA $c_B/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	8-OHdG $\rho_B/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	SOD inhibition rate (%)	SOD activity <sup>a</sup>	TAC $c_B/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$
Serum	CRF	12	9.67 $\pm$ 1.98	1.90 $\pm$ 0.95	55.00 $\pm$ 11.28	1.36 $\pm$ 0.64	1.16 $\pm$ 0.05
	Control	8	17.60 $\pm$ 2.21**	1.96 $\pm$ 0.74	54.50 $\pm$ 11.31	1.32 $\pm$ 0.60	1.15 $\pm$ 0.13
Colon tissue	CRF	12	9.68 $\pm$ 1.69	3.16 $\pm$ 1.06	66.00 $\pm$ 3.37	1.95 $\pm$ 0.27	1.17 $\pm$ 0.11
	Control	8	13.88 $\pm$ 1.45**	3.04 $\pm$ 1.10	67.00 $\pm$ 1.41	2.02 $\pm$ 0.11	1.17 $\pm$ 0.04

<sup>a</sup>: The unit of SOD activity in serum is U/mL, and in colon tissue is U/g. CRF: Chronic renal failure; MDA: Malondialdehyde; 8-OHdG: 8-Hydroxy-deoxyguanosine; SOD: Superoxide dismutase; TAC: Total antioxidant capacity. \*\* $P<0.01$  vs CRF group

2.3 结肠组织中 UQCRC1 的表达 对照组大鼠结肠组织中 *UQCRC1* mRNA 相对表达量为  $0.433 \pm 0.056$ , CRF 组 *UQCRC1* mRNA 相对表达量为  $0.409 \pm 0.120$ , 2 组间差异无统计学意义 ( $P=0.57$ )。对照组和 CRF 组大鼠结肠组织中 UQCRC1 蛋白的表达结果见图 1, CRF 组 UQCRC1 蛋白的相对表达量 ( $0.49 \pm 0.23$ ) 较对照组 ( $1.37 \pm 0.19$ ) 下降, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。

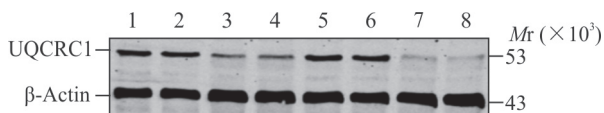


图 1 蛋白质印迹法检测 2 组 CRF 大鼠结肠组织中 UQCRC1 蛋白的表达

Fig 1 UQCRC1 protein expression in colon tissues of CRF rats in two groups detected by Western blotting

CRF: Chronic renal failure; UQCRC1: Ubiquinolcytochrome C reductase core protein I. 1, 2, 5, 6: Control group; 3, 4, 7, 8: CRF group

### 3 讨论

胃肠道功能障碍是 CRF 患者发生率较高的并发症, 目前已知的相关机制主要包括: (1) 胃肠道排空延迟<sup>[17]</sup>; (2) 腹膜透析患者腹腔内压力增加而食管下段压力降低<sup>[18]</sup>; (3) 结肠转运时间延长<sup>[19-20]</sup>; (4) 肠道菌群改变。然而, 越来越高的发病率<sup>[2]</sup>尚不能完全用以上传统的发病机制解释。研究表明, 氧化应激在 CRF 的发生和进展中发挥重要作用<sup>[21-22]</sup>。研究证实, 急性微炎症感染、细胞因子释放减少、CRF 相关的并发症 (慢性心力衰竭等) 以及血液透析相关因素均可导致 CRF 相关的氧化应激<sup>[12]</sup>。炎症和氧化应激作为非传统因素, 已经有报道证实其参与 CRF 的病变进展<sup>[4-6]</sup>。BUN 和其他毒素的聚集可能是氧化应激的主要来源<sup>[13,23-24]</sup>。而肠道是细菌繁殖的场所, 可能与诱导炎症、参与氧化应激的进展有关, 但具体机制尚不清楚。

本研究从菌群集中的肠道出发, 探究 CRF 时是否存在肠源性氧化应激的激活, 从非传统因素上探寻 CRF 相关胃肠道功能障碍的机制。MDA 是生物体内自由基作用于脂质发生过氧化反应而产生的氧化终产物, 可引起蛋白质、核酸等生命大分子的

交联聚合<sup>[7,25]</sup>, 同时影响线粒体呼吸链复合物及线粒体内关键酶活性<sup>[12-13]</sup>, 加剧细胞膜的损伤<sup>[13]</sup>, 是机体氧化应激的标志产物之一<sup>[7-8]</sup>。本研究证实, CRF 组大鼠与对照组相比结肠组织和血清中 MDA 水平升高, 表明在 CRF 状态下结肠组织中启动了氧化应激反应, 同时也存在系统性氧化应激的激活, 但结肠组织中氧化应激的激活是否为全身氧化应激激活的源头尚未可知。然而, 作为 DNA 氧化损伤标志物的 8-OHdG 在 CRF 大鼠中变化不明显, CRF 大鼠的抗氧化指标 (SOD 和 TAC) 改变也不明显。究其原因, 可能与以下几个方面有关。首先, MDA 是机体脂质过氧化的标志物, 是多不饱和脂肪酸级联氧化降解的产物<sup>[8]</sup>; 而 8-OHdG 是 DNA 氧化性损伤的标志物, 可以代表遗传物质的永久性修饰, 参与突变、致癌和衰老等机制<sup>[25]</sup>。进一步解读本研究结果, CRF 组大鼠发生了脂质过氧化, 但无明显的 DNA 氧化性损伤, 尚无遗传物质永久性修饰改变, 这可能与尿毒症的病程和严重程度有关。Kuchta 等<sup>[8]</sup>研究发现, CRF 患者氧化应激促进肾功能衰竭的发生和发展。实际上, 终末期肾病患者 SCr 水平通常为正常值上限的 10 倍以上。而动物实验研究发现, 在 5/6 肾脏切除术后 8 周就可导致动物出现肾功能损伤, 但由于存在个体差异, 其残存肾功能也各不相同。本研究中, 通过 5/6 肾切除建立的 CRF 模型组大鼠较对照组大鼠 SCr 水平升高 2~3 倍, 和临床上的尿毒症期尚有一定差距, 且肾功能损伤的时间较短, 未必能够达到长期、高浓度尿毒症毒素刺激造成的损伤结果, 其氧化损伤程度较低, 还未引发 DNA 的氧化损伤, 这可能是 2 组 8-OHdG 差异不大的原因。

其次, 机体正常情况下存在氧化-抗氧化的平衡, 该平衡是维持机体健康生存所必需的, 一旦平衡被打破将出现一系列的病理生理改变。但机体发生氧化损伤时, 抗氧化的防御也会随之开始。本研究发现, CRF 大鼠结肠组织发生氧化损伤, 但相应的抗氧化防御并未随之发生。这种氧化-抗氧化的失衡现象在 CRF 中并不常见。前期大量研究证实慢性肾脏病发生时伴有氧化产物的大量增加及抗氧化物质的减少<sup>[13,26-28]</sup>, 相关的具体机制尚未完全清楚。虽然有许多标志物可用于描述氧化与抗氧化失衡, 但是 CRF 状态下最有价值的标志物尚不明确。CRF 患者 TAC 的异常结果与其氧化反应参

数无关<sup>[8,29]</sup>。有学者提出, 通过 TAC 评估慢性肾脏病患者抗氧化能力可靠性不高<sup>[8]</sup>。本研究也发现, 2 组间血清及结肠组织中 TAC 水平差异无统计学意义。值得一提的是, 许多研究者已经提出尿酸、抗坏血酸或血浆蛋白可能干扰 TAC 的测定, 或者它们可能代表 TAC 的主要成分, 如尿酸水平的升高主要 (约 49%) 影响 TAC 值<sup>[30]</sup>。因此, 关于 CRF 抗氧化反应的指标还有待进一步研究, 以确立其代表性和可靠性。

本研究还评估了线粒体呼吸链相关蛋白的水平, 结果显示与对照组相比, CRF 组结肠组织中编码线粒体呼吸链复合体 III 的 UQCRC1 蛋白的表达明显下降, 但 2 组 UQCRC1 在 mRNA 水平上差异无统计学意义。对于结肠 UQCRC1 在蛋白和 mRNA 水平的非线性关系, 我们认为可能与以下原因有关: (1) 细胞内调节的问题, 这可能涉及更为复杂的细胞内代谢调节, 需要在转录组水平进行验证; (2) 蛋白质和 mRNA 的降解速度不一样, 影响了实验结果。之前有研究证实, 慢性肾脏病患者线粒体功能下降与氧化应激的激活有关<sup>[31]</sup>, 这与本研究结果一致。CRF 组大鼠结肠组织存在线粒体呼吸链蛋白表达下降, 影响线粒体功能。而众所周知, 线粒体是机体最为重要的能量来源, 其功能受损将导致机体能量供应减少, 这可能是 CRF 患者出现胃肠道功能障碍, 特别是低动力性功能障碍如厌食、便秘、嗝气等的机制之一。除此之外, CRF 状态下, 线粒体功能障碍与氧化应激伴发, 主要因为细胞内活性氧的产生与线粒体呼吸链上超氧阴离子的产生以及复合体 I 和 III 的产生有关<sup>[25]</sup>。Gamboa 等<sup>[32]</sup>研究证实发生慢性肾脏病时线粒体结构和功能明显损伤, 慢性肾脏病 5 期患者骨骼肌中线粒体数量减少、密度降低, 线粒体 DNA 拷贝数减少; 同时, 慢性肾脏病患者氧化应激相关的生物标志物升高。这一结果证实, CRF 时氧化应激的激活和线粒体功能障碍有一定的相关性。

综上所述, 本研究证实 CRF 大鼠血清及结肠组织中存在脂质过氧化反应, 但不伴有抗氧化相关酶水平的异常及 DNA 氧化损伤; CRF 大鼠结肠组织的氧化激活作为全身氧化应激反应的一部分参与到了氧化应激的启动中, 在激活氧化应激方面发挥重要作用。在 CRF 大鼠中, 无论是结肠组织局部

还是全身反应中, 都存在氧化-抗氧化的失衡。值得一提的是, 在 CRF 条件下, 结肠组织中线粒体呼吸链的功能异常与氧化应激的激活同时存在, 二者之间可能有一定的因果联系, 这可能是 CRF 患者出现胃肠道症状的非传统机制之一。由于本研究仅对 CRF 状态下的肠道氧化应激反应及线粒体功能进行了初步的探索性研究, 肠源性氧化应激是否为全身系统氧化应激的起源、氧化应激与线粒体功能之间究竟存在怎样的关联, 还需要进一步的深入研究。

### [参考文献]

- [1] YANG M, BAI Y H, WANG J S, JIANG H Y, HU S L. Preliminary study of Bim on the early diagnosis and prognosis of the elderly uremia with gastrointestinal nutrition combined with dialysis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22: 4598-4603.
- [2] YU M K, WONG S P Y, LIU C F, HEBERT P L, O'HARE A M. Clinical presentation at initiation of maintenance dialysis and subsequent survival: a retrospective cohort study[J/OL]. Hemodial Int, 2018. doi: 10.1111/hdi.12690. [Epub ahead of print].
- [3] SEGALL L, MOSCALU M, HOGAŞ S, MITITIUC I, NISTOR I, VEISA G, et al. Protein-energy wasting, as well as overweight and obesity, is a long-term risk factor for mortality in chronic hemodialysis patients[J]. Int Urol Nephrol, 2014, 46: 615-621.
- [4] VERA M, TORRAMADE-MOIX S, MARTIN-RODRIGUEZ S, CASES A, CRUZADO J M, RIVERA J, et al. Antioxidant and anti-inflammatory strategies based on the potentiation of glutathione peroxidase activity prevent endothelial dysfunction in chronic kidney disease[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 51: 1287-1300.
- [5] YEUN J Y, LEVINE R A, MANTADILOK V, KAYSEN G A. C-reactive protein predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients[J]. Am J Kidney Dis, 2000, 35: 469-476.
- [6] JANKOWSKA M, COBO G, LINDHOLM B, STENVINKEL P. Inflammation and protein-energy wasting in the uremic milieu[J]. Contrib Nephrol, 2017, 191: 58-71.
- [7] HASUIKE Y, NAGAI T, YORIFUJI S, TANAKA S, MATSUMOTO A, YAHIRO M, et al. The mitochondrial protein frataxin is downregulated in hemodialysis patients[J]. Clin Exp Nephrol, 2013, 17: 424-430.
- [8] KUČHTA A, PACANIS A, KORTAS-STEMPAK B, CWIKLIŃSKA A, ZIĘTKIEWICZ M, RENKE M, et al. Estimation of oxidative stress markers in chronic kidney

- disease[J]. *Kidney Blood Press Res*, 2011, 34: 12-19.
- [9] GHOSH S S, KRIEG R J, SICA D A, WANG R, FAKHRY I, GEHR T. Cardiac hypertrophy in neonatal nephrectomized rats: the role of the sympathetic nervous system[J]. *Pediatr Nephrol*, 2009, 24: 367-377.
- [10] BAI J, HAO J, ZHANG X, GUI H, HAN J, GAO N. Netrin-1 attenuates the progression of renal dysfunction by blocking endothelial-to-mesenchymal transition in the 5/6 nephrectomy rat model[J/OL]. *BMC Nephrol*, 2016, 17: 47. doi: 10.1186/s12882-016-0260-4.
- [11] DE ALMEIDA DUARTE J B, DE AGUILAR-NASCIMENTO J E, NASCIMENTO M, NOCHI R J Jr. Bacterial translocation in experimental uremia[J]. *Urol Res*, 2004, 32: 266-270.
- [12] RON-HAREL N, SANTOS D, GHERGUROVICH J M, SAGE P T, REDDY A, LOVITCH S B, et al. Mitochondrial biogenesis and proteome remodeling promote one-carbon metabolism for T cell activation[J]. *Cell Metab*, 2016, 24: 104-117.
- [13] TYLICKI L, RUTKOWSKI B, HÖRL W H. Antioxidants: a possible role in kidney protection[J]. *Kidney Blood Press Res*, 2003, 26(5/6): 303-314.
- [14] PENG H, CAO J, YU R, DANESH F, WANG Y, MITCH W E, et al. CKD stimulates muscle protein loss via Rho-associated protein kinase 1 activation [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27: 509-519.
- [15] KREN S, HOSTETTER T H. The course of the remnant kidney model in mice[J]. *Kidney Int*, 1999, 56: 333-337.
- [16] WILSON D W, METZ H N, GRAVER L M, RAO P S. Direct method for quantification of free malondialdehyde with high-performance capillary electrophoresis in biological samples[J]. *Clin Chem*, 1997, 43: 1982-1984.
- [17] STRID H, SIMRÉN M, STOTZER P O, ABRAHAMSSON H, BJÖRNSSON E S. Delay in gastric emptying in patients with chronic renal failure[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2004, 39: 516-520.
- [18] DEJARDIN A, ROBERT A, GOFFIN E. Intraperitoneal pressure in PD patients: relationship to intraperitoneal volume, body size and PD-related complications[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2007, 22: 1437-1444.
- [19] WU M J, CHANG C S, CHENG C H, CHEN C H, LEE W C, HSU Y H, et al. Colonic transit time in long-term dialysis patients[J]. *Am J Kidney Dis*, 2004, 44: 322-327.
- [20] LEFEBVRE H P, FERRÉ J P, WATSON A D, BROWN C A, SERTHELON J P, LAROUTE V, et al. Small bowel motility and colonic transit are altered in dogs with moderate renal failure[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2001, 281: R230-R238.
- [21] POESEN R, MEIJERS B, EVENEPOEL P. The colon: an overlooked site for therapeutics in dialysis patients[J]. *Semin Dial*, 2013, 26: 323-332.
- [22] MILLER L S, VEGESNA A K, SAMPATH A M, PRABHU S, KOTAPATI S K, MAKIPOUR K. Ileocecal valve dysfunction in small intestinal bacterial overgrowth: a pilot study[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18: 6801-6808.
- [23] WANG F, ZHANG P, JIANG H, CHENG S. Gut bacterial translocation contributes to microinflammation in experimental uremia[J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57: 2856-2862.
- [24] PERICO L, MORIGI M, BENIGNI A. Mitochondrial sirtuin 3 and renal diseases[J]. *Nephron*, 2016, 134: 14-19.
- [25] VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, CRONIN M T, MAZUR M, TELSER J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39: 44-84.
- [26] ARAUJO M, WELCH W J. Oxidative stress and nitric oxide in kidney function[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2006, 15: 72-77.
- [27] PRZEKWAŚ M, MAŁGORZEWICZ S, ZDROJEWSKI Z, DEBSKA-SLIZIENIŃ A, ŁYSIAK-SZYDŁOWSKA W, RUTKOWSKI B. Influence of predialysis oxidative stress on peroxidation processes after renal transplantation[J]. *Transplant Proc*, 2003, 35: 2170-2173.
- [28] VAZIRI N D. Roles of oxidative stress and antioxidant therapy in chronic kidney disease and hypertension[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2004, 13: 93-99.
- [29] ANTOLINI F, VALENTE F, RICCIARDI D, BARONI M, FAGUGLI R M. Principal component analysis of some oxidative stress parameters and their relationships in hemodialytic and transplanted patients[J]. *Clin Chim Acta*, 2005, 358(1/2): 87-94.
- [30] KAMPA M, NISTIKAKI A, TSAOUSIS V, MALIARAKI N, NOTAS G, CASTANAS E. A new automated method for the determination of the Total Antioxidant Capacity (TAC) of human plasma, based on the crocin bleaching assay[J/OL]. *BMC Clin Pathol*, 2002, 2: 3. doi: 10.1186/1472-6890-2-3.
- [31] DONG R, GUO Z Y, DING J R, ZHOU Y Y, WU H. Gastrointestinal symptoms: a comparison between patients undergoing peritoneal dialysis and hemodialysis[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20: 11370-11375.
- [32] GAMBOA J L, BILLINGS F T 4<sup>th</sup>, BOJANOWSKI M T, GILLIAM L A, YU C, ROSHANRAVAN B, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in patients with chronic kidney disease[J/OL]. *Physiol Rep*, 2016, 4. pii: e12780. doi: 10.14814/phy2.12780.