

# 同型半胱氨酸影响 Caco-2 细胞线粒体功能的实验研究

杨青,袁静静,石海梅,俏,许建明

**摘要** 目的 观察同型半胱氨酸(Hcy)对 Caco-2 细胞线粒体功能的影响。方法 在 Caco-2 细胞中加入不同浓度(0、10、25、50、100、500、1 000 μmol/L) Hcy 作用不同时间(3、6、12、24 h) 采用 MTT 法及检测乳酸脱氢酶活性,观察 Hcy 对 Caco-2 细胞生长活力的影响 检测丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、琥珀酸脱氢酶(SDH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、三磷酸腺苷酶(ATPase)水平及线粒体肿胀度观察 Hcy 对 Caco-2 细胞线粒体功能的影响。结果 随着 Hcy 作用时间延长及作用浓度的增加,Caco-2 细胞的生长活力受到明显抑制,MDA、SOD、GSH-Px 水平较对照组明显增加,SDH、ATPase 水平下降,线粒体肿胀度下降幅度较正常对照组降低。结论 Hcy 具有损伤 Caco-2 细胞线粒体功能的作用,可能与 Hcy 氧化损伤有关。

**关键词** 同型半胱氨酸;炎症性肠病;线粒体;氧化性应激;肠黏膜通透性

中图分类号 R 322; R 322.45; R 329.24; R 574.62

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)06-0810-05

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.06.007

研究<sup>[1]</sup>表明,炎症性肠病(inflammatory bowel disease,IBD)患者肠上皮细胞存在不规则嵴的肿大线粒体,结肠炎小鼠模型同样存在异常结构的线粒体,这些线粒体的形态学改变表现出细胞能量合成障碍,另外有研究<sup>[2]</sup>观察到在实验性结肠炎小鼠模型中,改变线粒体氧化磷酸化活动将会导致肠道炎症反应。

同型半胱氨酸(homocysteine,Hcy)参与多种慢性疾病包括神经肌肉病变、糖尿病、肥胖、心血管疾病的病理生理过程,机制包括改变线粒体功能,引起线粒体损伤<sup>[3]</sup>。既往研究<sup>[4]</sup>表明,Hcy 可损伤肠上皮细胞紧密连接,引起肠黏膜通透性增加,加重肠道炎症过程。Hcy 是否通过损伤线粒体功能引起肠黏

膜上皮细胞损伤目前尚不清楚,因此,该研究拟通过采用不同浓度 Hcy 作用于 Caco-2 细胞,探讨 Hcy 对结肠上皮细胞线粒体功能的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 主要试剂与仪器** 细胞培养基 DMEM 购自美国 Hyclone 公司;胎牛血清购自浙江天杭生物科技股份有限公司;非必需氨基酸、L-谷氨酰胺、胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司;Caco-2 细胞购自中科院上海细胞所;乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase,LDH)试剂盒(微板法)、总超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)测定试剂盒(WST-1 法)、丙二醛(malondialdehyde,MDA)测定试剂盒(TBA 法)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GSH-Px)测定试剂盒(比色法)、琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase,SDH)试剂盒(比色法)、超微量总 ATP 酶(adenosine triphosphate synthase,ATPase)测定试剂盒(比色法)、BCA 法微量蛋白检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;MTT、Hcy 购自美国 Sigma 公司;IX51 倒置显微镜购自日本 Olympus 公司;MQX200 酶标仪购自美国 Bio-tek 公司;UV-1800 紫外分光光度计购自日本 SHIMADZU 公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** Caco-2 细胞加入 5 ml DMEM 完全培养基(含 20% 胎牛血清、1% NEAA、1% L-谷氨酰胺)中,于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,每隔 2 d 更换培养基,细胞生长 4~5 d,显微镜下观察细胞汇合程度达到 80% 时,用 1 ml 胰蛋白酶消化液 37℃ 条件下消化 5 min,加入适量培养基吹打,收集细胞悬液离心,按 1:2 传代 Caco-2 细胞。利用倒置显微镜观察 Caco-2 细胞培养第 2、5 天的生长情况。

**1.2.2 给药方法** 实验设对照组、不同浓度 Hcy 处理组(10、25、50、100、500、1 000 μmol/L),Hcy 用 DMEM 完全培养基稀释,药物处理时间为 3、6、12、24 h。

**1.2.3 Caco-2 细胞生长检测** 采用 MTT 法和 LDH 水平检测进行观察。按实验分组进行处理的 Caco-2 细胞分别作用 3、6、12、24 h 后加入 20 μl MTT 4 h

2017-03-04 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81470809)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院消化内科,安徽省消化病重点实验室,合肥 230022

作者简介:杨青,女,硕士研究生;

石海男,副教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:shmdah@163.com

后弃上清液,加入 150  $\mu\text{l}$  DMSO 振荡,测 490 nm 处吸光度。按实验分组进行处理的 Caco-2 细胞分别作用 3、6、12、24 h 后收集细胞培养液,按 LDH 试剂盒说明书进行操作,测 450 nm 处吸光度。

**1.2.4 Caco-2 细胞 SOD、MDA、GSH-Px、SDH、ATPase 水平检测** 按实验分组后的 Caco-2 细胞用超声细胞破碎仪破碎,制备细胞匀浆。按 SOD、MDA、GSH-Px、SDH、ATPase 试剂盒说明书进行操作,检测 SOD、MDA、GSH-Px、SDH 和 ATPase 水平。

**1.2.5 线粒体提取** 按实验分组进行处理的 Caco-2 细胞分别作用 3、6、12、24 h 后用 PBS 洗 2~3 遍,胰酶消化,1 000 r/min 离心 5 min,收集细胞。按细胞线粒体提取试剂盒说明书进行操作。

**1.2.6 线粒体肿胀度** ① 肿胀度测定液 1 (pH 7.2): 250 mmol/L 蔗糖、3 mmol/L 琥珀酸盐、5 mmol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; ② 肿胀度测定液 2 (pH 7.2): 250 mmol/L 蔗糖、3 mmol/L 琥珀酸盐、5 mmol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、0.3 mmol/L  $\text{CaCl}_2$ 。将待测线粒体样品 0.5 mg 与 1 ml 测定液 1 或 2 混匀,以参比杯调零。于 25  $^\circ\text{C}$  在 0~10 min 内连续测定线粒体悬液在 520 nm 处吸收值,以吸光度降低值反映线粒体肿胀变

化<sup>[5]</sup>。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,实验数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组均数比较采用单因素方差分析,组间比较采用 LSD 法分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同浓度 Hcy 对 Caco-2 细胞生长的影响** 与对照组相比,随着 Hcy 浓度的增加,细胞 MTT 吸光度明显下降 ( $P < 0.05$ ),见表 1; LDH 吸光度较对照组明显增加 ( $P < 0.05$ ),见表 2。不同浓度 Hcy (10、25、50、100、500、1 000  $\mu\text{mol/L}$ ) 均具有一定程度的抑制 Caco-2 细胞生长的作用,随着浓度增加和作用时间的延长,抑制作用更加明显。

**2.2 Hcy 对 Caco-2 细胞 SOD、GSH-Px 和 MDA 水平的影响** 与对照组比较,Hcy 处理组细胞 SOD 和 GSH-Px 水平降低,MDA 水平增加,并且随着 Hcy 浓度的增加,SOD 和 GSH-Px 水平降低的幅度及 MDA 增加的幅度越大,见表 3。Hcy 具有一定抑制 SOD 和 GSH-Px 及促进 MDA 活性作用,且具有浓度依赖性。

表 1 不同浓度 Hcy 作用不同时间对 Caco-2 细胞活力的影响 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

时间 (h)	对照组	Hcy 处理组 ( $\mu\text{mol/L}$ )						F 值	P 值
		10	25	50	100	500	1 000		
3	1.11 $\pm$ 0.10	1.06 $\pm$ 0.03	1.05 $\pm$ 0.07	1.03 $\pm$ 0.02*	1.02 $\pm$ 0.07*	1.02 $\pm$ 0.06*	0.97 $\pm$ 0.11*	3.503	0.005
6	1.09 $\pm$ 0.12	1.01 $\pm$ 0.08	1.00 $\pm$ 0.12	1.00 $\pm$ 0.13	0.99 $\pm$ 0.11	0.97 $\pm$ 0.10*	0.93 $\pm$ 0.10*	2.315	0.043
12	1.06 $\pm$ 0.09	1.01 $\pm$ 0.12	0.98 $\pm$ 0.14	0.94 $\pm$ 0.12	0.91 $\pm$ 0.13	0.89 $\pm$ 0.17	0.86 $\pm$ 0.08*	2.289	0.047
24	0.93 $\pm$ 0.13	0.91 $\pm$ 0.07	0.87 $\pm$ 0.07*	0.86 $\pm$ 0.07*	0.85 $\pm$ 0.03*	0.84 $\pm$ 0.10*	0.82 $\pm$ 0.08*	2.764	0.018

与对照组比较: \*  $P < 0.05$

表 2 不同浓度 Hcy 作用不同时间对 Caco-2 细胞 LDH 水平的影响 ( $n=3$ )

时间 (h)	对照组	Hcy 处理组 ( $\mu\text{mol/L}$ )						F 值	P 值
		10	25	50	100	500	1 000		
3	302.51	305.78	314.72	360.20*	367.39*	376.92*	388.80*	3.216	0.010
6	343.43	355.98	364.90*	377.61*	380.47*	384.34*	396.16*	7.382	0.000
12	361.47	364.26	367.13	387.07	393.66	407.27	447.82*	3.079	0.020
24	366.67	386.30	398.33	415.25*	455.66*	468.33*	492.34*	5.079	0.010

与对照组比较: \*  $P < 0.05$

表 3 Hcy 对 Caco-2 细胞 SOD、GSH-Px、MDA 水平的影响 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

项目	对照组	Hcy 处理组 ( $\mu\text{mol/L}$ )			F 值	P 值
		10	50	100		
SOD (U/mg)	25.84 $\pm$ 0.02	24.20 $\pm$ 0.03	17.79 $\pm$ 0.02	11.41 $\pm$ 0.03*	10.467	0.000
MDA (nmol/mg)	0.92 $\pm$ 0.06	1.79 $\pm$ 0.03	2.25 $\pm$ 0.03*	2.39 $\pm$ 0.02*	33.667	0.000
GSH-Px (U/mg)	17.99 $\pm$ 0.03	14.94 $\pm$ 0.01*	11.27 $\pm$ 0.01	5.96 $\pm$ 0.02*	4.232	0.040

与对照组比较: \*  $P < 0.05$

表4 Hcy对Caco-2细胞ATPase和SDH水平的影响(n=3, x±s)

项目	对照组	Hcy处理组(μmol/L)			F值	P值
		10	50	100		
ATPase(U/mg)	3.44 ± 0.01	3.22 ± 0.02*	2.80 ± 0.07	2.56 ± 0.01*	5.730	0.010
SDH(U/mg)	10.57 ± 0.64	6.08 ± 0.68	5.64 ± 0.66	5.39 ± 0.70	0.002	1.000

与对照组比较: \* P < 0.05

**2.3 Hcy对Caco-2细胞ATPase和SDH水平的影响** 与对照组比较,Hcy处理组细胞ATPase水平降低,并且随着Hcy浓度的增加,ATPase水平降低的幅度越大。Hcy处理组细胞SDH水平减低,并且随着Hcy浓度的增加,SDH水平降低的幅度越大,差异无统计学意义,见表4。Hcy具有一定抑制ATPase作用,且具有浓度依赖性,可能具有一定抑制SDH作用。

**2.4 Hcy对Caco-2细胞线粒体肿胀度的影响**

对照组线粒体在527 nm处的吸光度缓慢下降,提示因渗透压异常,线粒体出现肿胀。Hcy处理组处理3 h及6 h后吸光度下降幅度比对照组低,提示线粒体功能受损,对环境pH值变化不敏感,见图1A与图2A。加入0.3 mmol/L的CaCl<sub>2</sub>反应缓冲液后,对照组线粒体吸光度明显下降,提示线粒体出现明显肿胀。Hcy处理组处理3 h后吸光度下降幅度较低,在4 min时达到平衡,见图1B;Hcy处理组处理6 h后吸光度下降幅度较正常组降低,在2 min时达

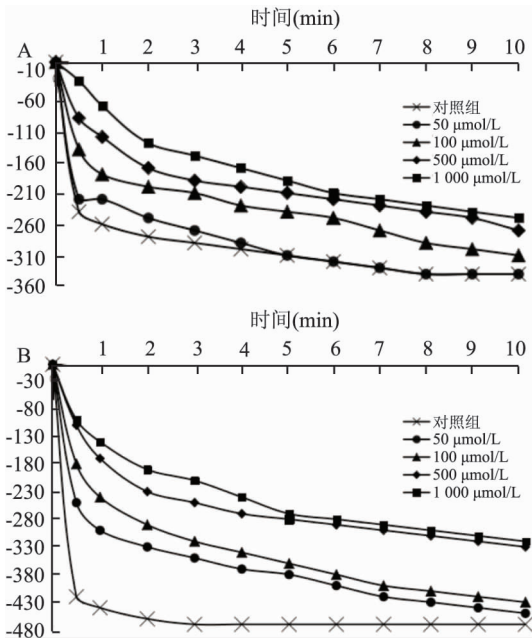


图1 Hcy作用Caco-2细胞3 h后线粒体肿胀度的改变 A:加入pH 7.2的反应缓冲液;B:加入含Ca<sup>2+</sup>反应缓冲液

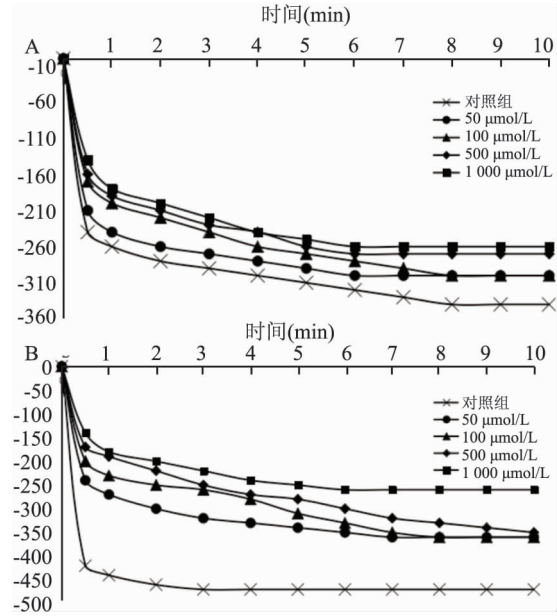


图2 Hcy作用Caco-2细胞6 h后线粒体肿胀度的改变 A:加入pH 7.2的反应缓冲液;B:加入含Ca<sup>2+</sup>反应缓冲液

到平衡,见图2B,提示由于Hcy作用,影响线粒体功能,干扰线粒体对环境高钙浓度的敏感性。

**3 讨论**

IBD是原因未明的肠道慢性炎症性疾病,包括溃疡性结肠炎和克罗恩病,肠道上皮损伤并伴有上皮屏障功能失调是IBD主要病理生理学特征之一<sup>[6]</sup>。线粒体功能在维持上皮连接完整的过程中具有重要作用。实验性结肠炎模型和肠道炎症患者的肠黏膜组织中可以显示结构异常的线粒体<sup>[1]</sup>,IBD易感因素如胃肠道感染,非甾体类抗炎药被证实具有影响线粒体功能的作用<sup>[7]</sup>。

IBD患者中肠上皮细胞氧代谢处于能量缺乏状态<sup>[8]</sup>。二硝基酚可引起上皮细胞线粒体损伤导致肠黏膜上皮细胞防御功能下降和细菌移位,肠道屏障功能受损<sup>[1]</sup>。肠黏膜上皮细胞受损时可能引起氧自由基和氮自由基产生,线粒体功能受损时ATP生成减少,呼吸链活动受抑<sup>[9]</sup>,因此,持续存在的氧化损伤抑制线粒体的生物合成和稳态维持。

Hcy引起病理损伤的主要机制是氧化损伤。

Yan et al<sup>[10]</sup> 研究发现 Hcy 通过促进活性氧的形成,引起血管平滑肌细胞内氧化应激导致细胞凋亡和炎症。Dai et al<sup>[11]</sup> 表明 Hcy 促进 ROS 形成,通过 NADPH 氧化酶促进 Ref-1 易位表达,增加 NF- $\kappa$ B 的活性和单核细胞趋化蛋白-1 的表达,加速动脉粥样硬化的发展。本研究显示,与对照组比较,随着 Hcy 作用浓度及时间的增加,抗氧化酶 GSH-Px、SOD 活性降低,清除氧自由基和抗氧化能力下降,反映机体脂质过氧化和细胞氧化损伤程度的 MDA 水平增加。因此,Hcy 作用于 Caco-2 细胞后,抑制 Caco-2 细胞抗氧化能力,促进 Caco-2 细胞氧化损伤。

Hcy 促进线粒体损伤并影响线粒体基因表达<sup>[12]</sup>。线粒体是细胞氧化损伤的重要部位,Gao et al<sup>[13]</sup> 发现 Hcy 与 NMDA-R 结合增加细胞内和线粒体  $Ca^{2+}$  水平,进一步降低线粒体膜电位,减少氧利用率,加重线粒体损伤,另一方面,Hcy 可以增加线粒体 NO 水平,促进线粒体通透性转换。内皮细胞中 Hcy 增高引起线粒体中 calpain-1 的激活和易位,导致线粒体损伤<sup>[14]</sup>。Aguilar et al<sup>[15]</sup> 发现在大鼠肝脏线粒体中 calpain 可以促进 MPTP 引起肝细胞坏死。本研究显示 Hcy 作用于 Caco-2 细胞引起 SDH 及 ATPase 水平明显降低,线粒体肿胀明显,表明在 Hcy 的作用下 Caco-2 细胞线粒体功能障碍,导致 Caco-2 细胞能量产生及利用受损。

因此,Hcy 可能通过促进脂质过氧化及抑制氧自由基清除作用,损伤 Caco-2 细胞线粒体功能,抑制 Caco-2 细胞生长,进一步引起肠黏膜屏障功能损伤,降低 Hcy 水平有助于改善 IBD 的肠黏膜上皮屏障功能。

### 参考文献

- [1] Rodenburg W, Keijer J, Kramer E, et al. Impaired barrier function by dietary fructo-oligosaccharides (FOS) in rats is accompanied by increased colonic mitochondrial gene expression [J]. *BMC Genomics*, 2008, 9: 144.
- [2] Bär F, Bochmann W, Widok A, et al. Mitochondrial gene polymorphisms that protect mice from colitis [J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(5): 1055-63.
- [3] Timkova V, Tatarkova Z, Lehotsky J, et al. Effects of mild hyperhomocysteinemia on electron transport chain complexes, oxidative stress, and protein expression in rat cardiac mitochondria [J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 411(1-2): 261-70.
- [4] 丁少桢,丁浩梅,肖等. 同型半胱氨酸调控 MEK-ERK-MLCK 通路影响结肠炎大鼠肠黏膜通透性的实验研究 [J]. *中国药理学通报*, 2016, 32(4): 498-502.
- [5] Halestrap A P, Davidson A M. Inhibition of  $Ca^{2+}$ -induced large-amplitude swelling of liver and heart mitochondria by cyclosporin is probably caused by the inhibitor binding to mitochondrial-matrix peptidyl-prolyl cis-trans isomerase and preventing it interacting with the adenine nucleotide translocase [J]. *Biochem J*, 1990, 268(1): 153-60.
- [6] Henderson P, van Limbergen J E, Schwarze J, et al. Function of the intestinal epithelium and its dysregulation in inflammatory bowel disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17(1): 382-95.
- [7] Schoultz I, Söderholm J D, McKay D M. Is metabolic stress a common denominator in inflammatory bowel disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17(9): 2008-18.
- [8] Saitoh T, Fujita N, Jang M H, et al. Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1 $\beta$  production [J]. *Nature*, 2008, 456(7219): 264-8.
- [9] Du G, Mouithys-Mickalad A, Sluse F E. Generation of superoxide anion by mitochondria and impairment of their functions during anoxia and reoxygenation *in vitro* [J]. *Free Radic Biol Med*, 1998, 25(9): 1066-74.
- [10] Yan S K, Chang T, Wang H, et al. Effects of hydrogen sulfide on homocysteine-induced oxidative stress in vascular smooth muscle cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 351(2): 485-91.
- [11] Dai J, Li W, Chang L, et al. Role of redox factor-1 in hyperhomocysteinemia-accelerated atherosclerosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2006, 41(10): 1566-77.
- [12] Austin R C, Sood S K, Dorward A M, et al. Homocysteine-dependent alterations in mitochondrial gene expression, function and structure. Homocysteine and  $H_2O_2$  act synergistically to enhance mitochondrial damage [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(46): 30808-17.
- [13] Gao X, Xu X, Pang J, et al. NMDA receptor activation induces mitochondrial dysfunction, oxidative stress and apoptosis in cultured neonatal rat cardiomyocytes [J]. *Physiol Res*, 2007, 56(5): 559-69.
- [14] Moshal K S, Metreveli N, Frank I, et al. Mitochondrial MMP activation, dysfunction and arrhythmogenesis in hyperhomocysteinemia [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2008, 6(2): 84-92.
- [15] Aguilar H I, Botla R, Arora A S, et al. Induction of the mitochondrial permeability transition by protease activity in rats: a mechanism of hepatocyte necrosis [J]. *Gastroenterology*, 1996, 110(2): 558-66.

## 钛网应用于即刻种植骨缺损骨再生的实验研究

王晨辰 刘向辉 孙卫革 尹伟 程义成 张磊

**摘要** 目的 通过动物实验观察钛网联合引导骨组织再生技术(GBR)在不同植体即刻种植周围骨缺损骨再生过程中的实际成骨效果。方法 6只成年健康比格犬,拔除双侧下颌2、3、4前磨牙,一侧植入韩国DIO植体4枚,另一侧植入ITI植体4枚。每颗植体周围制作垂直-水平联合型骨缺损,8枚植体按照处理方法不同分为4组:对照组、GBR组、钛网+骨粉组、钛网+GBR组。6个月后处死实验犬,通过直观测量、硬组织切片和新生骨形成率比较各组骨再生效果。结果 酸蚀喷砂(SLA)表面的植体周围骨再生各项指标均明显优于可吸收研磨介质(RBM)表面;组间相比差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),钛网+GBR组骨再生效果最佳,GBR组和钛网+骨粉组次之,对照组最差,其中GBR组和钛网+骨粉组差异无统计学意义。结论 SLA表面处理方法有利于即刻种植周围骨缺损的骨整合;钛网联合GBR技术作为一种即刻种植周围骨缺损骨再生的新方法,效果稳定可靠。

**关键词** 钛网;即刻种植;垂直-水平联合型骨缺损;引导骨

组织再生技术

中图分类号 R 782.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)06-0814-05  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.06.008

传统观点认为,拔牙后3~6个月行牙种植体植入术<sup>[1-2]</sup>。为了缩短患者缺牙的时间,拔牙后即刻种植近年来被临床广泛采用,由于拔牙后牙槽窝的形态难以与种植体外形相匹配,加上拔牙过程中造成的牙槽窝骨壁缺损对种植体早期稳定及远期效果均有不利的影响,因而探索一种使种植区骨缺损骨再生的方法成为国内外口腔种植医生关注的热点。引导骨组织再生技术(guided bone regeneration technique, GBR)因操作简单、效果稳定被广泛使用,但在垂直-水平联合型环状骨缺损时,植骨材料常发生移位吸收导致成骨效果差,而钛网能够为骨缺损区提供稳定的空间维持效果。该实验通过构建犬种植体周围骨缺损动物模型,观察并对比不同方法<sup>[3]</sup>处理后骨再生效果。

### 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 健康成年清洁型比格犬6只,雄性,由南京市浦口区莱芙养殖场提供,南京军区总医

2017-02-05 接收

基金项目:2014年度南京军区医学科技创新课题面上项目(编号:14MS045)

作者单位:安徽医科大学解放军八一临床学院口腔科,南京 210002

作者简介:王晨辰,男,硕士研究生;

刘向辉,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: njbyliuxh864234@sina.com

## Homocysteine induces mitochondrial dysfunction in Caco-2 cells

Yang Qing, Yuan Jingjing, Shi Hai, et al

(Dept of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University,

The Key Laboratory of Digestive Disease of Anhui Province, Hefei 230022)

**Abstract Objective** To investigate the effect of homocysteine (Hcy) on the growth of Caco-2 cells and the changes of mitochondrial function. **Methods** Caco-2 cells were cultured and treated with Hcy in different concentrations (0, 10, 25, 50, 100, 500, 1 000  $\mu\text{mol/L}$ ) and different times (3, 6, 12, 24 h). MTT method and LDH activity were examined to understand the change of cell growth viability. MDA, SOD, SDH, GSH-Px, ATPase and mitochondrial swelling degree were detected to understand the changes of mitochondrial function. **Results** After treatment with Hcy, the viability of Caco-2 cells were significantly inhibited with a dose and time dependent manner. Compared with the control group, the levels of LDH, MDA, SOD, GSH-Px increased significantly, and the levels of SDH and ATPase decreased. Compared to the normal control group, experimental groups mitochondria swelling degree was not decreased significantly. **Conclusion** Hcy has a significant inhibitory effect on the mitochondrial function of Caco-2 cells in a dose- and time-dependent manner.

**Key words** homocysteine; inflammatory bowel disease; mitochondria; oxidative stress; intestinal permeability