文章编号:1000-5404(2005)06-0545-02

论著

牛磺酸对失血性休克复苏兔视网膜组织 NO 含量及 NOS 活性影响的初步研究

严灿荣,梁轩伟,冯晓津,郑　彪　　(广东医学院附属医院眼科,湛江 524001)

提　要: 目的　探讨兔失血性休克复苏时视网膜组织及血浆中一氧化氮合酶(NOS)活性、一氧化氮(NO)含量的变化及牛磺酸对其的影响。**方法**　新西兰兔 24 只随机分为 3 组($n=8$):对照组、休克复苏组、牛磺酸治疗组。采用失血性休克复苏动物模型分别于休克复苏后 3 h 活杀动物,采集血样及视网膜组织测定 NOS 及 NO 的活性和含量并观察视网膜组织学改变。**结果**　休克复苏组复苏后 3 h 视网膜组织中 NOS 活性、NO 含量升高($P<0.01$)。牛磺酸治疗组 NOS 活性及 NO 含量同对照相比无显著性改变,组织学观察牛磺酸治疗组动物视网膜病变明显轻于单纯休克复苏组动物。**结论**　牛磺酸对休克复苏所致的视网膜损伤可能具有一定保护作用。

关键词: 牛磺酸;休克;复苏;视网膜;一氧化氮;一氧化氮合酶
中图法分类号: R282.74; R322.91; R654.102　　**文献标识码**: A

Effects of taurine on NO and NOS activities of retina tissue after hemorrhagic shock and resuscitation in rabbit

YAN Can-rong, LIANG Xuan-wei, FENG Xiao-jin, ZHENG Biao (Department of ophthalmology, The Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang 524001, China)

Abstract: Objective　To investigate the NO and NOS activities of retina tissue after hemorrhagic shock and resuscitation in rabbit and the effects of taurine on them. **Methods**　Twenty four New Zealand rabbits were randomly divided into three groups: control group, shock and resuscitation (SR) group and taurine group. Chromatometry was used to detect the NOS activities. **Results**　The ON content and NOS activities, either in retina tissue or in plasm, increased significantly 3 h after hemorrhagic shock and resuscitation ($P<0.01$). The NO content and NOS activities in taurine group showed no significant difference as compared with control group. The histological changes of retina in taurine group were slight as compared with SR group. **Conclusion**　NOS activities and NO release play an important role in retina damage caused by hemorrhagic shock and resuscitation. Taurine has protective effects on retina injury.

Key words: taurine; shock; resuscitation; retina; nitric oxide; nitric oxide synthase

近年来,对 NO 的研究表明,NO 参与了许多疾病的病理过程。但是否参与了失血性休克复苏(hemorrhagic shock resuscitation, HSR)所致的视网膜损伤,以及视网膜损伤时 NOS 活性及 NO 含量的变化如何,尚少见报道。牛磺酸(Taurine, Tau)是细胞内含量最丰富的β自由氨基酸,具有调节细胞内钙稳态和抗脂质过氧化损伤等生物学效应[1]。牛磺酸跨膜运转是其发挥生物学效应的基础,已证实 NOS 的抑制剂可减少牛磺酸的释放[2],牛磺酸对 NOS 活性及 NO 含量的影响及对 HSR 所致的视网膜损伤的作用,国内报道较少。本研究旨在观察 HSR 所致视网膜损伤时血浆及视网膜组织中 NOS 活性、NO 含量的变化及牛磺酸对其的影响,探讨 NO 在 HSR 视网膜损伤中的作用及牛磺酸对 HSR 所致的视网膜损伤的保护作用及其作用机制。

1　材料与方法

1.1　动物分组及模型制作

1.1.1　动物分组　　新西兰大白兔 24 只,48 只眼,雌雄不限,体质量 2.0~2.5 kg,随机分为对照组(control group, C),休克复苏组(shock resuscitation group, SR)牛磺酸治疗组(taurine treutment group, TT)。每组 8 只动物,16 只眼。术后动物禁食 12 h,自由饮水。

1.1.2　实验模型制作　　所有动物采用 1%戊巴比妥纳(30 mg/kg)耳缘静脉麻醉。分离左颈总动脉和右颈外静脉,分别置管以备测平均动脉压、中心静脉压和给药补液用,左颈总动脉插管后与压力传感器相连后接 PM-6000 八道生理记录仪(日产)以监测血流动力学指标。右颈外静脉连接三通管,动物全身肝素化(静脉注射 3.0 mg/kg)。SR 组和 TT 组从左颈中动脉放血,使平均动脉压从休克前(110±5.2) mmHg 降至 48.87 mmHg,达到休克状态并维持休克状态 1.5 h。并分别妥善保存放出的血液,以备回输。C 组仅进行手术操作,不放血。1.5 h 后,TT 组通过右颈外静脉按 40 mg/kg 输入配置的牛磺酸溶液(购置北京世维他生物技术有限公司,并按实验要求配制成 4%的浓度),并回输自体肝素化血液和等量 0.9%的生理盐水。再观察

作者简介:严灿荣(1964-),男,广东省阳春市人,副主任医师,主要从事眼科临床方面的研究。电话:(0759)2387425

收稿日期:2004-08-12;修回日期:2005-01-17

3 h。SR组用等量生理盐水代替牛磺酸注射液，其余处理与TT相同。C组动物不作任何处理。

1.2 样品采集及指标测定

1.2.1 血样及视网膜组织采集 各组动物于复苏后3 h自左颈总动脉取血样，并分离血浆，随后即处死动物，立即取出眼球，经视神经矢状纵行切开眼球，分别切取每只眼球视网膜组织约0.5 g，制成10%的组织匀浆。采用硝酸还原法测定各组动物血浆和眼球视网膜组织匀浆中一氧化氮产物NO_2/NO_3含量。用化学比色法测定血浆及视网膜组织匀浆中NOS活性(试剂盒均购置武汉博士德公司，按说明书操作)。

1.2.2 病理标本制备 将取出的视网膜组织一部分固定于4%的甲醛溶液中，按常规石蜡包埋、切片、HE染色，光镜下观察。电镜标本切成1 mm×1 mm×1 mm大小。固定于3%戊二醛溶液中，按常规程序漂洗、脱水、环氧树酯812包埋，超薄切片，双铅液染色，透射电镜观察并照片。

1.3 统计学处理

实验数据用$\bar{x} \pm s$表示，以统计软件SAS 8.22进行完全随机设计的方差分析，再用最小有意义差异法(least significant difference, LSD)进行样本均数的两两比较。

2 结果

2.1 血浆中NOS活性及NO_2/NO_3含量的变化

休克复苏组NOS活性及NO_2/NO_3含量明显高于对照组($P<0.01$)；牛磺酸治疗组NOS活性、NO_2/NO_3含量明显低于休克复苏组($P<0.01$，表1)。

表1 各组血浆中NOS活性及NO_2/NO_3含量的变化($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Changes of NOS activities and NO_2/NO_3 content in plasma ($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

Group	NO_2/NO_3 (μmol/L)	NOS ($\times 10^3$ U/L)
C	90.88±4.42	12.35±0.90
SR	191.38±4.96*	36.74±1.12*
TT	97.50±10.75△△	13.42±1.02△

*: $P<0.05$, △: $P<0.01$, *vs* C; △△: $P<0.01$, *vs* SR

2.2 视网膜组织NOS活性及NO_2/NO_3含量变化

休克复苏组视网膜组织NOS活性及NO_2/NO_3含量明显高于对照组($P<0.01$)；牛磺酸治疗组视网膜组织NOS活性及NO_2/NO_3含量明显低于休克复苏组($P<0.01$，表2)。

表2 视网膜组织NOS活性及NO_2/NO_3含量变化($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Changes of NOS activities and NO_2/NO_3 content in retina tissue ($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

Group	NO_2/NO_3 (μmol/L)	NOS ($\times 10^3$ U/L)
C	0.95±0.15	1.18±0.15
SR	2.62±0.11*	4.10±0.31*
TT	1.10±0.17△	1.90±0.19△

*: $P<0.01$, *vs* C; △: $P<0.01$, *vs* SR

2.3 组织学改变

光镜下见SR组色素上皮层细胞排列紊乱，视网膜神经纤维层肿胀，视网膜内、外核层，亦显示程度不同的水肿，TT组光镜下所见组织学改变同SR组无明显差异，仅见其组织水肿程度略轻于SR组，C组未见异常改变。电镜下SR组细胞有较明显改变，尤其是视杆细胞有核偏移，胞浆肿胀、空化。视盘排列紊乱，甚至出现断裂崩解，线粒体明显肿胀空化。色素上皮细胞有明显的吞噬现象。TT组视细胞改变较轻，视锥和视杆细胞变性改变明显较轻。视盘损伤轻微，胞浆中线粒体等细胞器改变明显轻于SR组动物。C组未见改变。

3 讨论

牛磺酸是一种含硫的氨基酸，在人类、猫、猴体内几乎不能合成，完全依赖外源性饮食的供给。牛磺酸在视网膜具有多种生物学效应，其中的功效之一就是保护视网膜感光细胞免受化学损伤。

本实验初步表明家兔出血性休克1.5 h后，再回输自体血和等量生理盐水(复苏)3 h后，休克复苏组血浆及视网膜组织中NOS活性、NO_2/NO_3明显升高。说明此时HSR可致NOS的激活，NO的生成增多，与文献报道一致。

牛磺酸可能通过调节感光细胞的渗透压，改善膜的通透性，减轻视细胞水肿来保护膜的完整性，通过牛磺酸的抗氧化性，减轻细胞的氧化损伤来保护视网膜的光损伤，但确切的机制仍不清楚[3,4]。本实验采用牛磺酸对失血性休克动物进行输注并从细胞的功能与形态角度对失血性休克时兔的视网膜变化进行初步观察。发现视网膜组织及血浆中NOS活性、NO_2/NO_3亦明显低于单纯休克复苏动物，病理组织学改变亦明显减轻，提示牛磺酸对HSR所致视网膜损伤有保护作用，其机制可能与牛磺酸抑制NOS活性，减少NO生成有关[5]。另外，也可能同细胞处于缺血、低氧状态时，牛磺酸能保护胞膜磷酸免受降解，调节膜对离子的通透性，同时能减少氧自由基的生成并使谷胱甘肽增多，增加对自由基的清除，减轻对组织细胞的损伤有关[6]。

本研究提示牛磺酸可能通过发挥其细胞保护的作用，改善细胞的生长条件，使视网膜细胞的存活期限得以延长，从而为牛磺酸治疗HSR所致的视网膜损伤提供了新的依据和可能的干预措施。

参考文献：

[1] Huxtable R J. Physiological actions of taurine[J]. Physiol Rev, 1992, 72(2): 101-163.

[2] 石彦荣，唐朝枢. 牛磺酸的跨细胞转运[J]. 国外医学生理病理科学与临床分册，2001，21(5)：453-456.

[3] Lombardini J B. Taurine: retinal function[J]. Brain Rews Brain Res Rev, 1991, 16(2): 151-169.

[4] Keys S A, W F. Zimmerman Antioxidant activity of retinal glutathione, and taurine in bovine photoreceptor cell membranesp[J]. Exp Res, 1999, 68(6): 693-702.

[5] Hua T C, Moochhala S M. Influence of L-arginine, aminoguaniding, and NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-name) on the survival rate in a rat model of hemorrhagic shock[J]. Shock, 1999, 11(1): 51-57.

[6] 黄金保，王国洋. 牛磺酸对心血管的药理作用[J]. 中国药理学通报，1991，7(1)：8-9.

(编辑 龙 亮)