文章编号:1000-5404(2013)23-2595-02

短篇论著

高湿环境对大鼠肝脏异柠檬酸脱氢酶及α-酮戊二酸脱氢酶的影响

李 昆,郭 鑫,杨 芸,李 薇,王 超,宋富强,呼永河 (610083 成都,中国人民解放军成都军区总医院中心实验室)

[摘要] **目的** 观察高湿环境对肝脏异柠檬酸脱氢酶(IDH)与α-酮戊二酸脱氢酶(α-KGDHC)含量的影响。**方法** 32只SD大鼠按随机数字表法分为常温常湿对照组及高湿环境20、30、40 d组,每组8只大鼠。采用人工气候箱模拟高湿环境,条件设置为温度25 ℃、相对湿度90% ~95% RH。实验组大鼠每天置于箱中10 h,其余时间与常温常湿对照组饲养于清洁环境(温度22 ~26℃,相对湿度40% ~60% RH)。动物模型制作完成后,取腹主动脉血及肝组织,酶联免疫法(ELISA)检测肝脏组织IDH及α-KGDHC,比色法检测血清乳酸含量,并行肝组织HE病理切片观察。**结果** 高湿环境20 d组,肝脏IDH、α-KGDHC及血清乳酸含量较常温常湿对照组无显著变化。高湿环境30、40 d组,肝脏IDH含量分别降至常温常湿对照组的75.98%和79.90%($P<0.05$),α-KGDHC含量分别降至常温常湿对照组的80.00%和81.01%($P<0.05$)。血清乳酸含量较常温常湿对照组分别升高了34.58%和23.33%($P<0.01$)。病理切片显示高湿环境40 d大鼠肝脏点状坏死灶增多。**结论** 高湿环境可致大鼠肝脏组织IDH、α-KGDHC含量降低,血乳酸升高,机体有氧代谢功能不足。

[关键词] 高湿;异柠檬酸脱氢酶;α-酮戊二酸脱氢酶;乳酸
[中图法分类号] R322.47; R339.56; R345 [文献标志码] A

自然环境与人类生存和活动密切相关,特殊的环境气候条件会对机体产生多方面的影响,诱发机体不适和相应的病理生理改变。高湿作为一种极端气候环境,当湿度大于60%以上,机体各器官功能将产生各种反应和病理改变[1-4]。异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase,IDH)与α-酮戊二酸脱氢酶(α-ketoglutarate dehydrogenase,α-KGDHC)是三羧酸循环过程中的关键酶,高湿环境对肝脏IDH与α-KGDHC含量会造成什么影响尚不清楚。本研究利用人工气候箱模拟高湿环境,观察大鼠肝脏IDH与α-KGDHC的变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物

32只3 ~4月龄清洁级健康雄性SD大鼠[成都达硕生物科技有限公司提供,实验动物许可证号:scxk(川)2008-24],体质量(180 ±10)g,饲养于清洁环境。

1.2 仪器及试剂

RXZ-1000A-zl多段编程人工气候箱(中国宁波江南仪器厂),KIA-T10组织匀浆器,Thermo Multiskan GO全波长酶标仪,Sorvell ST16R台式冷冻离心机,Excelsior ES自动组织脱水机,HistoStar组织包埋机,Finesse E + 石蜡切片机,SANYO MDF-U53V -80 ℃低温冰箱等。武汉伊莱瑞特生物科技有限公司IDH、α-KGDHC酶联免疫检测试剂盒,南京建成科技有限公司血乳酸测定试剂盒。

1.3 动物模型制作

大鼠按随机数字表法分为常温常湿对照组和高湿环境20、30、40 d组,每组8只动物。人工气候箱设置高湿环境模拟条件:25 ℃、相对湿度90% ~95% RH(空气中实际含量占同等温度下饱和含水量的百分比),高湿环境组动物每天置于箱内10 h,取出后置清洁环境中饲养,分别持续20、30、40 d。常温常湿对照组饲养于清洁环境,环境条件:22 ~26 ℃,相对湿度40% ~60% RH。动物模型制作完成后,乙醚麻醉,取腹主动脉血2 mL,离心分离血清,同肝组织标本保存于-80 ℃待测。另取肝脏组织作HE染色,光镜下观察病理改变。

1.4 指标检测

肝组织约100 mg制成组织匀浆,ELISA方法检测IDH与α-KGDHC含量,严格按说明书操作,酶标仪检测450 nm波长下光密度值,依据标准曲线计算样品中含量。比色法测定血清乳酸(LD)含量。

1.5 统计学分析

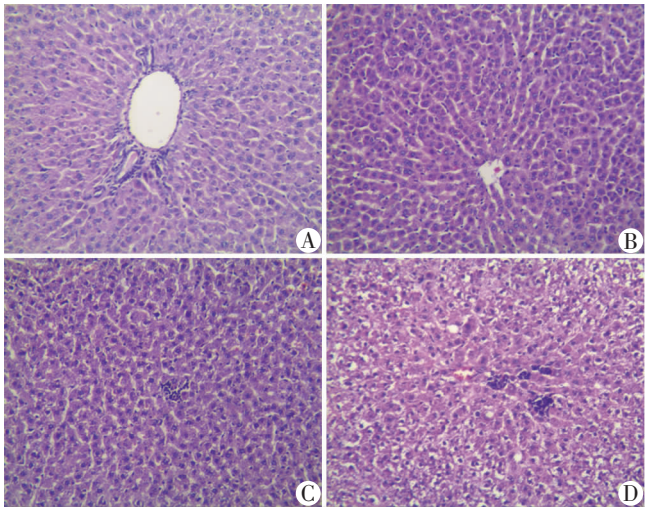
采用SPSS 13.0统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,结果满足方差齐性检验,两两比较采用最小显著差异法。

2 结果

2.1 常规病理切片观察

高湿环境各组肝脏组织汇管区、肝细胞板结构、肝窦及其细胞成分、中央静脉等均无显著形态学改变;高湿环境40 d组可见局部点状坏死灶(图1)。

[基金项目] 全军医学科技"十二五"重点项目(BWS11J067)
[通信作者] 呼永河,电话:(028)86570206,E-mail: huyonghe@vip.126.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20131014.1034.012.html(2013-10-14)



A:对照组;B:高湿环境20 d组;C:高湿环境30 d组;D:高湿环境40 d组

图1 光镜下观察各组大鼠肝脏组织病理学变化 (HE ×200)

2.2 肝脏IDH、α-KGDHC含量及血清乳酸变化

高湿环境20 d,肝脏IDH、α-KGDHC及血清乳酸含量较常温常湿对照组无显著变化。高湿环境30、40 d,肝脏IDH含量分别降至常温常湿对照组的75.98%和79.90%($P<0.05$),肝脏α-KGDHC含量分别降至常温常湿对照组的80.00%和81.01%($P<0.05$),血清乳酸含量较常温常湿对照组分别升高了34.58%和23.33%($P<0.01$),见表1。

表1 肝脏组织IDH、α-KGDHC含量及血清乳酸变化($n=8$, $\bar{x}\pm s$)

组别	IDH (ng/mg)	α-KGDHC (ng/g)	血清乳酸 (mmol/L)
对照组	1.353±0.237	592.81±95.48	4.419±0.329
高湿环境20 d组	1.376±0.204	565.26±68.92	4.875±0.479
高湿环境30 d组	1.028±0.249[a]	474.22±67.84[a]	5.947±0.617[b]
高湿环境40 d组	1.081±0.325[a]	480.23±110.40[a]	5.450±0.936[b]
*F*值	3.935	3.744	8.918

a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与对照组比较

3 讨论

IDH与α-KGDHC是三羧酸循环中物质代谢速率的重要调节点,在IDH和α-KGDHC催化下,异柠檬酸经过两次不可逆的氧化脱羧反应,由异柠檬酸→α-酮戊二酸→琥珀酰-CoA,组织中IDH与α-KGDHC含量的高低直接影响有氧氧化和能量代谢的速度和效率[5]。乳酸是糖酵解系统的终产物,也是有氧代谢供能系统的氧化基质,血乳酸水平的变化取决于乳酸生成与利用、消耗、清除过程的动态平衡。肝脏是机体清除乳酸的主要器官,乳酸作为糖异生的底物,在肝脏中重新合成葡萄糖进入线粒体氧化供能系统。研究[6]表明,高湿可致肝细胞线粒体肿胀,嵴变短、减少、紊乱,基底稀淡甚至呈空泡样,骨骼肌线粒体呼吸控制率和P/O降低,机体能量代谢功能紊乱。本实验结果显示,在没有其他复合因素的交互作用下,高湿环境可致大鼠肝脏局部点状坏死灶增多,IDH和α-KGDHC含量显著降低,线粒体氧化磷酸化效能减弱,导致体内乳酸蓄积增加,血乳酸水平升高。

高湿环境包含了较多的致病复合因素,不仅仅是高湿度一种单纯的物理因素。高湿度对人体的侵袭与温度相关,并有协同和交互作用。高湿环境的大量水汽使体表汗液蒸发困难,妨碍机体的散热过程,加重机体对温度的敏感度。研究[7]显示,高乳酸血症与组织灌注、营养代谢、机体内环境稳定等密切相关。暴露于不同的湿度环境,血浆肾上腺素、多巴胺含量会有显著改变[8]。环境应激引起的儿茶酚胺过量分泌,可降低组织器官局部血流,损害肝脏的乳酸摄取,导致乳酸升高,机体内环境酸碱平衡紊乱[9]。本研究中高湿环境对机体的刺激,可能作为一种特殊的环境始动因素及致病条件,引发机体神经内分泌系统、免疫系统等产生多种应对外界刺激的适应性变化,一旦这种适应性超出了机体的耐受和代偿能力,将导致神经递质、激素、细胞因子等改变,进而影响机体代谢功能和内环境的稳定。

综上所述,在没有其他复合因素的交互作用下,高湿环境可能导致机体有氧代谢功能不足,无氧代谢能力增加,乳酸清除能力不足,机体处于能量代谢异常及内环境失衡状态,这种改变一旦超过了机体代偿的可能,便会影响器官、细胞的结构和功能,导致相应的生理、病理变化,造成机体的直接损害。

参考文献:

[1] 陈刚, 张六通. 外湿模型大鼠胃肠激素变化的研究[J]. 中国现代医生, 2007, 45(10): 87-88.
[2] 章敏, 陈刚, 张六通, 等. 外湿模型大鼠肠道菌群及其黏附性研究[J]. 中医研究, 2007, 20(9): 9-11.
[3] 刘光华, 曲长江. 外湿对造模脾虚小鼠免疫学影响的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2003, 30(5): 421.
[4] 秦鉴, 金明华, 吴国珍, 等. 高湿环境对大鼠血液流变学、一氧化氮及内皮素的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(3): 211-212.
[5] 查锡良. 生物化学[M]. 7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 90-100.
[6] 张六通, 梅家俊, 黄志红, 等. 外湿致病机理的实验研究[J]. 中医杂志, 1999, 40(8): 496-498.
[7] Rachoin J S, Weisberg L S, McFadden C B. Treatment of lactic acidosis: appropriate confusion[J]. J Hosp Med, 2010, 5(4): E1-E7.
[8] 赖丽丽, 赵杰修, 崔书强, 等. 高温、湿度联合运动对血浆神经递质的影响[J]. 体育科学, 2010, 30(5): 61-66.
[9] 刘源, 许汪斌, 代冬梅. 血乳酸的生理代谢及临床意义[J]. 临床合理用药杂志, 2013, 6(5): 174-175.

(**收稿**:2013-07-03;**修回**:2013-09-10)

(编辑 黄 超)