维普资讯 http://www.cqvip.com

中国局解手术学杂志 2001 年第 10 卷第 4 期
Chin J Regional Anat & Operative Surg,2001,Vol. 10,No.4

高压氧对脑损伤家兔线粒体膜酶活性影响的实验研究

齐 宇* 陈玉荣* 罗亚丹* 王 奕* 刘可俗* 宋健民*

【摘要】目的 研究外伤性脑水肿后线粒体 Na^+、K^+-ATP 酶、Ca^{2+}、Mg^{2+}-ATP 酶，Mg^{2+}-ATP 酶活性，MDA 含量在继发性脑损伤中的作用。以及高压氧治疗的机理。方法 应用家兔脑损伤模型进行高压氧治疗，观察伤后不同时间脑含水量，线粒体 ATP 酶活性、MDA 含量变化，以及高压氧治疗对它们的影响。结果 线粒体三种 ATP 酶活性在伤后 4h 即开始下降，至 48h 降到最低点，MDA 含量伤后显著增加，随时间延长增高更加明显，MDA 与脑含水量间呈正相关，ATP 酶活性与脑含水量之间呈负相关；高压氧组与对照组比较，上述指标变化均较轻。结论 脑外伤后线粒体自由基反应增强，ATP 酶活性受抑，促进脑水肿发生、发展，高压氧通过减少自由基、增强 ATP 酶活性，减轻脑水肿。

【关键词】脑损伤 脑水肿 氧自由基 高压氧 三磷酸腺苷酶

Experimental study on the effects of hyperbaric oxygenation on ATPase activities of cerebral mitochondria following traumatic brain edema in rabbits *Qi Yu, Chen Yurong, Luo Yadan, et al. Department of Neurosurgery, The Second Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154002*

【Abstract】**Objective** To study the effects of Na^+,K^+-ATPase, Ca^{2+}, Mg^{2+}-ATPase, Mg^{2+}-ATPase activities and the contents of MDA in cerebral mitochondria on secondary brain injury following traumatic brain edema and the mechanisms of hyperbaric oxygenation therapy. **Methods** The experimental rabbits of brain injury were exposed to HBO.The ATPase activities and the cotents of MDA in cerebral mitochondria were determined at different intervals after injury,the effects of HBO treatment were also observed.**Results** the Na^+,K^+-ATPase, Ca^{2+}, Mg^{2+}-ATPase, Mg^{2+}-ATPase activities of mitochondria decreased at 4h and minimized at 48h after injury,while the contents of MDA increased significantly and changed much more by the delay of time.There was positive correlation between the contents of MDA and brain water,negative correlation between the ATPase activities and the content of brain water. While the HBO group changes slighter than the control-group.**Conclusion** Oxygen free radicals derived from brain injury inhibit the activities of ATPase ,which is one of the important reason for the occurring and development of brain edema.HBO treatment reduces brain edema by lowering the contents of MDA and improving the ATPase activities.

【Key words】Brain injury; Brain edema; Oxygen free radicals; Hyperbricoxygenation; Adenosine triphosphatase

用高压氧(HBO)对实验性家兔颅脑损伤进行治疗，观察其疗效以及 HBO 对线粒体膜酶、脑水肿和脑组织脂质过氧化物(MDA)的影响，探讨 HBO 治疗颅脑损伤的机理。

材料与方法

1．动物分组：健康家兔 60 只，体重 1.7～3.6Kg，雌雄不拘，随机分为正常对照组(6 只)、假手术对照组(6 只)、单纯外伤组(24 只)、外伤后高压氧治疗组(24 只)，后二组又分为 4、8、24、48h 组，每组各 6 只。

2．颅脑损伤模型用 20% 乌拉坦麻醉，偏右额顶部开颅，骨窗直径为 2.2cm，保持硬膜完整，用自由落体以 1600g·cm 于硬膜外致伤。致伤后，动物心跳、呼吸停止，死亡 5 只，在治疗及观察过程中死亡 8 只，以生存者作为实验基数。假手术组暴露到硬膜后关颅，不致伤。经解剖发现动物致伤局部均形成脑挫裂伤。

3．神志观察：采用 6 级分法：1 级：深昏迷，对强刺激躯体双耳无活动反应；2 级：昏迷，对疼痛刺激有反应，四肢回缩，但不能站立；3 级：对疼痛刺激敏感，偶尔能站立；4 级：能站立，一耳或双耳不能竖直，活动少；5 级：能站立，双耳竖直，能跑动，但四肢运动不灵活；6 级：常态，按级定为 1～6 分。

* 作者单位：154002 黑龙江省佳木斯大学第二附属医院神经外科

维普资讯 http://www.cqvip.com

4．脑含水量测定：按规定时间处死动物，取伤区脑组织，称重，置110℃恒温干燥器24h至恒重，按Elliott公式计算，脑含水量=(湿重-干重)/湿重×100%。

5．脑细胞线粒体制备及鉴定：动物迅速断头处死，取伤区脑组织，用冰冷的生理盐水洗去血液拭干，称重，在预冷的介质IM_1(0.25M蔗糖1mMEDTANa_2 50mMTris-HCl pH7.5)中匀浆，将匀浆液以1000g离心10min，取上清液以15000g离心15min，沉淀即为线粒体，移入$1M_2$(0.25M蔗糖50mMTris-HCl pH7.5)中低温保存。在干净载玻片中央滴2～3滴中性红-詹纳氏绿B染液，让其酒精蒸发掉，挑取少许沉淀物涂布在染液中，盖上盖玻片，染色5min，在高倍傍晚下观察，被染成亮绿色颗粒即线粒体。

6．线粒体MDA及ATP酶活性测定：应用MDA测定试剂盒测定。单位nmol/mgpr应用ATP酶试剂盒测定。ATP酶活力单位：umolPi/mgpr/h。

7．超微结构观察：每组取伤区脑组织3块，3%戊二醛、1%锇酸固定，EPON812包埋，半薄片切片定位，超薄切片，电镜观察。

8、高压氧治疗方法：HBO组动物置于自制木箱中，将木箱置于高压氧舱内，氧气管插入木箱给纯氧，氧气管内压力0.3Mpa,舱内压力0.2Mpa，加压20min，减压20min，稳压50 min，总治疗时间90min。各组数据均用$\bar{x}\pm s$表示，组间比较用t检验，$P<0.05$示差异显著，$P<0.01$示差异具有非常显著性。部分数据采用相关回归分析。

结　果

1．神志状态、脑含水量及MDA含量变化(见表1)。

2．ATP酶活性改变(表2)：ATP酶活性伤后4h明显降低，与假手术组相比，分别降低了17.97%、28.40%、24.84%，至伤后48h分别降低了64.19、72.17%、72.94%；高压氧组与外伤组比较三酶活性均明显提高。

表1　各组动物神志状态、脑含水量、MDA含量比较（n=6，$\bar{x}\pm s$）

组　别	n	神志状态（分）	脑含水量（%）	MDA含量(nmol/mgdr)
正常对照	6	6	78.08±0.38	9.45±0.27
假手术组	6	6	78.30±0.68	9.53±0.22
外伤组	6			
4h	6		80.50±1.67$^{\triangle}$	13.38±0.30$^{\triangle}$
8h	6	1.50±0.55$^{\triangle}$	80.83±0.26$^{\triangle}$	15.40±0.44$^{\triangle}$
24h	6	2.67±0.82$^{\triangle}$	82.17±0.93$^{\triangle}$	23.93±0.57$^{\triangle}$
48h	6	2.33±0.82$^{\triangle}$	83.17±1.97$^{\triangle}$	34.55±0.77$^{\triangle}$
高压氧组				
4h	6	1.33±0.52$^{\triangle}$	79.42±0.67$^{\triangle}$	11.15±0.33$^{\triangle\star}$
8h	6	2.33±0.52$^{\triangle\star}$	79.25±0.27$^{\triangle\star}$	12.59±0.43$^{\triangle\star}$
24h	6	4.00±0.89$^{\triangle}$	79.17±0.68*	20.48±0.55$^{\triangle\star}$
48h	6	4.17±0.75$^{\triangle\star}$	79.92±1.46$^{\triangle\star}$	31.22±0.86$^{\triangle\star}$

注：与假手术组比较$^{\triangle}P<0.05$，$^{\triangle}P<0.01$；与外伤组比较$^{\star}P<0.05$，$^{\star}P<0.01$

3．相关回归分析：MDA含量与ATP酶活性间呈负相关(r分别为-0.946、-0.885、-0.883,$P<0.01$)；MDA与脑含水量之间呈正相关($r=0.617$,$P<0.01$)；Na^+,K^+-ATP酶、Ca^{2+},Mg^{2+}-ATP酶活性与脑含水量之间呈负相关(r分别为-0.646, -0.689, $P<0.01$)。

4．神经元、线粒体超微结构改变：外伤组皮层神经元胞浆水肿，细胞内线粒体高肿胀，基质中出现许多空泡，嵴减少或断裂，可见破裂的线粒体。高压氧组上述损害减轻，仅见少数皮层神经元胞浆水肿，细胞内个别线粒体肿胀。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表2 各组动物ATP酶活性的比较（n=6, $\bar{x}\pm s$, umolPi/mgpr/h）

分 组	Na^+ K^+—ATP酶	Ca^{2+} Mg^{2+}—ATP酶	Mg^{2+}—ATP酶
正常对照	42.55±1.53	34.28±1.50	26.12±1.70
假手术组	42.06±1.24	33.06±0.60	26.09±1.99
外伤组			
4h	$34.50\pm1.30^{\triangle}$	$23.64\pm1.61^{\triangle}$	$19.61\pm1.63^{\triangle}$
8h	$27.40\pm1.23^{\triangle}$	$17.92\pm1.64^{\triangle}$	$12.86\pm1.77^{\triangle}$
24h	$21.29\pm1.34^{\triangle}$	$12.19\pm1.52^{\triangle}$	$9.98\pm1.45^{\triangle}$
48h	$15.06\pm1.36^{\triangle}$	$9.20\pm1.52^{\triangle}$	$7.06\pm0.75^{\triangle}$
高压氧组			
4h	$39.25\pm1.79^{\blacktriangle\star}$	$28.52\pm2.20^{\triangle\star}$	$23.43\pm1.36^{\blacktriangle\star}$
8h	$33.74\pm1.70^{\triangle\star}$	$22.35\pm2.36^{\triangle\star}$	$17.13\pm1.26^{\triangle\star}$
24h	$24.41\pm1.32^{\triangle\star}$	$17.90\pm1.55^{\triangle\star}$	$12.19\pm1.60^{\triangle\star}$
48h	$17.43\pm0.94^{\triangle\star}$	$12.50\pm1.13^{\triangle\star}$	$8.16\pm0.91^{\triangle\star}$

注：与假手术组比较$^{\blacktriangle}P<0.05$, $^{\triangle}P<0.01$；与外伤组比较$^{\star}P<0.05$, $^{\star}P<0.01$

讨 论

1．重型颅脑损伤的死亡率居高不下，其中脑损伤后继发性脑水肿，颅内压升高是死亡率高的一个重要原因。脑外伤时的机械性创伤使脑组织结构遭破坏，由于缺血供氧不足，出现一系列病理变化，产生自由基，生成的自由基攻击细胞膜磷脂和不饱和脂肪酸，引起脂质过氧化反应，生成丙二醛（MDA）。本文测定MDA含量度间接反映自由基水平 。

临床上脑外伤病人血清中MDA升高，升高程度与病情有关，外伤严重、死亡者血中MDA升高更明显[1]。本实验也发现脑外伤后线粒体MDA含量显著增加，动物神态严重受损，与脑含水量平等，提示脑外伤后线粒体产生自由基增加，与脑水肿发生发展程度有关。

2、脑损伤区及其周围区域脑细胞相应处于缺血、缺氧状态，引起ATP消耗增加，而合成减少，导致ATP缺乏，转而使ATP酶活性降低[2]。本文发现，脑外伤早期线粒体钠泵活性明显降低，导致线粒体肿胀。同时线粒体Ca^{2+}、Mg^{2+}- ATP酶活性亦降低，该酶活性降低，无力将线粒体内的Ca^{2+}泵出，线粒体内发生Ca^{2+}超载。

Mg^{2+}- ATP酶活性也降低，导致线粒体内Mg^{2+}浓度降低，Mg^{2+}是Ca^{2+}内流的天然拮抗剂。Mg^{2+}缺乏加重线粒体内Ca^{2+}聚集，致线粒体肿胀，嵴断裂，亚细胞结构损害，进一步加重脑外伤后继发性脑水肿发展。

3．脑外伤后线粒体自由基增多，自由基是一种活性很强的基因，主要攻击线粒体膜，导致膜磷质降解和不饱和脂肪酸的过氧化，引起界面脂和膜流动性的改变，影响酶的活性，还可直接破坏蛋白结构影响ATP酶活性。本文应用相关回归分析发现线粒体MDA含量与ATP酶活性之间呈显著负相关，提示自由基可抑制ATP酶活性。

4．HBO对实验性脑缺血的研究证明能减轻缺血性神经元损伤和脑水肿[3]，一般认为HBO的治疗作用是增加血氧循环。因此HBO对损伤脑有保护作用。本实验资料表明，HBO能明显降低家兔脑外伤的死亡率，改善动物神志状态，减轻脑水肿。高压氧（HBO）组MDA含量，ATP酶活性改变以及电镜下神经细胞和线粒体的变化均比外伤组轻，说明HBO有清除MDA及提高ATP酶活性作用，将线粒体内过量的Na^{2+}、Ca^{2+}泵出，从而减轻线粒体肿胀和损伤[4]，稳定神经元细胞和线粒体的结构。HBO的上述作用，使三羧酸循环功能得以正常进行，能量供应随之恢复，打断脑缺血缺氧的病理状态，减轻脑水肿，此外，高压氧化可以引起脑血管收缩（尽管收缩，但血氧含量仍是增加的），减少脑血液容积，降低颅内压，有利于损伤脑的恢复，还可以通过增加脑干网状激活系统的氧分压，提高神志状态的评分[5]。本实验提示HBO对颅脑外伤有治疗作

维普资讯 http://www.cqvip.com

用，值得在临床推广应用。

参考文献

1.刘建民，越孟尧、王文仲，等. 氧自由基在颅脑损伤的作用. 中华外科杂志、1990,7:430.
2.徐如祥，易声禹. 外伤性脑水肿神经元胞浆游离钙浓度及Ca^{2+}-ATP酶活性变化. 中国神经精神疾病杂志，1993,3：129-132.
3.Kawamura S, Yasui N, Shirasawa M,et al. Therapeutie effcts of hyperbaric oxygenation on acute focal cerebral ischemia in rats. Surg Neurol, 1990,34：101-102.
4.Takahashi M,Iwatsuki N、Onok、et al. Hyperbaric oxygen therapy accelerates neurologic recovery after 15-minute complete global cerebral ischemia in dogs Crit Care Med 1992,20:1588-1594.
5.Richard BM, Andrew JD. Hyperbaric oxygen after global cerbral ischemia in rabbits reduces brain vascular permeability and blood flow. Strode, 1995、26(12):2307-2312.

（收稿：2001-09-04）

·个案与短篇·

浅谈手术室外科感染的途径与对策

李 珠*

常见的外科感染往往易通过手术这一途径感染或被感染。因此，加强手术室无菌消毒隔离制度，对控制外科感染有着重要作用。

一、途径

1.手术人员的手臂：污染的手是外科感染的主要传播媒介。

2.病人手术区皮肤：病人手术区皮肤上的细菌是切口感染的来源。

3.手术器械等及手术室空气：手术器械等和手术室空气是引起感染的重要途径。

4.手术时间和手术部位：微生物感染数量常随手术时间延长而增加，手术部位不同，发生感染率也不同。

5.各种侵入性操作：各种侵入性操作即可将微生物带入病人体内。

二、对策

1.手术人员手臂的消毒：手术中如手套有破损，应及时更换。

2.手术区皮肤准备：术中应保护切口。

3.手术器械等及空气消毒：定期对手术器械等及空气消毒进行监测。

4.手术技能和手术配合：手术技术熟练及医护之间配合默契，均可缩短手术时间。

5.合理使用抗菌素：应根据病情制定合理的抗菌素治疗计划。

综上所述，只要严格执行各种消毒隔离制度，同样地达到控制手术室各种感染的目的。

（收稿：2001-06-19）

*作者单位：310004 杭州市解放军一一七医院机杨路分院手术室

（接360页）

触及2 cm×3 cm×3 cm包块，质硬，边界不清，可活动，无触痛，皮肤外观正常，乳头无凹陷、无分泌物，右腋窝触及1.5cm×0.5cm×0.5cm淋巴结，可活动，其他检查未发现异常改变。入院诊断：右侧乳腺癌，拟定手术切除，术前常规胸透发现左肺上叶有一2.5 cm×2.5 cm密度增浓之病灶，后经胸部CT检查见该病灶为实质性占位性病变，以肺癌可能性大。电子支气管镜检查发现左肺上叶支气管开口处有菜花样肿物并且阻塞支气管，取活检送病理报告为：小细胞未分化癌。诊断：左肺癌右乳腺转移。3月15日开始用CE-CAP-CE方案化疗三周期后复查发现左肺上叶病灶消失，但右侧乳腺包块依然存在，未见继续增长。6月18日开始左肺门纵隔放疗，DT：50000CGY。9月15日进行右侧乳腺单纯切除术，病理报告：右乳腺腺癌，右腋窝淋巴结反应性增生，并非是左侧肺癌转移到右侧乳腺。12月份开始又采用Vm26、IFO、MTX化疗三周期，经随访未见复发。

二、结果和讨论

肺癌和乳腺癌同时发生，均为原发性，临床很少见，目前尚未见报道。本病例入院后曾一度误认为“左肺癌右乳腺转移”，可见缺乏根据。肺癌常因血循环转移到肝、脑或骨骼。乳腺癌也常转移到肝、肺、脑和骨骼。分析本病例左侧肺与右侧乳腺二个器官原发恶性肿瘤可能与其体内细胞免疫功能低下有关。在进行放、化疗的同时或之后进行免疫治疗对预防恶性肿瘤的复发和转移及多器官原发恶性肿瘤的发生是十分必要的。

（收稿：2001-05-24）