维普资讯 http://www.cqvip.com

重庆医科大学学报 1993年第18卷第3期

急性肝功能衰竭时自由基的意义及作用地位的实验研究

人工肝研究室 彭 惠 钮 振

提 要 本实验采用D-氨基半乳糖(GaCN)诱致大鼠FHF模型，旨在观察肝、肾组织中MDA含量、SOD活性及血清SGPT动态变化及外源性补充SOD和CAT后的结果和影响。注射GaCN后6h、12h、24h、48h、肝组织MDA和血清GDT呈持续显著升高，而SOD有逐渐下降趋势，肾组织MDA和SOD的变化均较肝组织出现晚而轻。结果提示，自由基参与GaCN FHF形成，或可经远距离效应发挥远端器官的损伤

关键词 FHF；MDA；SOD；SGPT；脂质过氧化；自由基

中图分类号 R-33；Q5

采用D-氨基半乳糖（GaCN）形成实验性大鼠急性肝功能衰竭（Fulminant Hepatic Failure，FHF)[1]，已被公认为比较理想的动物模型。近代研究表明，仅从生化代谢和内毒素血症的观点[2,3]恐难圆满解释GaCN引起肝损害的机理。国内外学者已相继证明各种肝脏疾患与自由基有关。本实验者在通过GaCN注射后不同时间内肝、肾组织丙二醛（Malondialdehyde，MDA)、超氧化物歧化酶（Surperoxide diomutase，SOD）的测定及它们与血清谷丙转氨酶（SGPT）变化间关系的分析，探讨自由基在GaCN FHF中的意义。

材料与方法

1. **实验模型及方法** 采用雄性Wistar大鼠74只，体重190—250g，按1,000mg/kg·bd·WT的10%GaCN腹腔一次注射形成大鼠FHF。

实验分为二大系列。第一系列大鼠50只，随机等分为5组，即正常对照组、6、12、24、48，分别于各时点将大鼠放血处死，取肝、肾组织及血清测定MDA、SOD、GPT。第二系列大鼠24只，随机等分为3组，各组于注射GaCN 1小时前分别经腹腔注射生理盐水1ml，SOD50,000u/kg·bd·wt或过氧化氢酶（Catalase，CAT）2mg/kg·bd·wt+SOD50,000u/kg·bd·wt，第2、3组并在GaCN注射同时给予SOD5,000u/kg·bd·wt[4]，三组均在注射后24h取肝和血清测MDA和GPT。

2. **检测及统计方法** 组织MDA含量采用八木国夫改良法[5]，SOD活性采用化学发光法[6]，GPT采用常规赖氏法。数据先经方差齐性分析，根据情况采用F'和t'检验。

结 果

第一系列在GaCN注射后6、12、24、48小时，肝组织MDA含量分别较对照组增加86%、138%、274%及904%，P均<0.001；SOD活性除6小时外，其余各时点分别下降5%（$P<0.05$）、15%（$P<0.01$）及22($P<0.01$)，血清GPT随时间延长呈持续明显升高（表1，图1)。经肝组织MDA和血清GPT直线相关检验，$r=0.9336$，在$\alpha=0.05$水平上有很好正相关。

肾组织MDA除48小时增加155%（$P<$

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 肝组织MDA,SOD和血清GPT的动态改变

指 标	正 常	6 h	12 h	24 h	48 h
MDA	1.013	1.888***	2.410***	3.783***	10.171***
(nmol/mg)	(0.266)	(0.647)	(0.766)	(0.880)	(1.352)
SGPT	32	118***	286***	796***	1215***
(u/ml)	(1.8)	(7.6)	(36)	(101)	(145)
SOD	133.716	129.059	126.704*	112.345**	103.650**
(u/mg)	(10.481)	(5.093)	(4.025)	(9.061)	(9.243)

MDA与SGPT作直线相关检验 直线相关系数$r=0.9336$ $\alpha=0.05$ *$P<0.05$
**$P<0.01$ ***$P<0.001$, 括弧内数字为SD

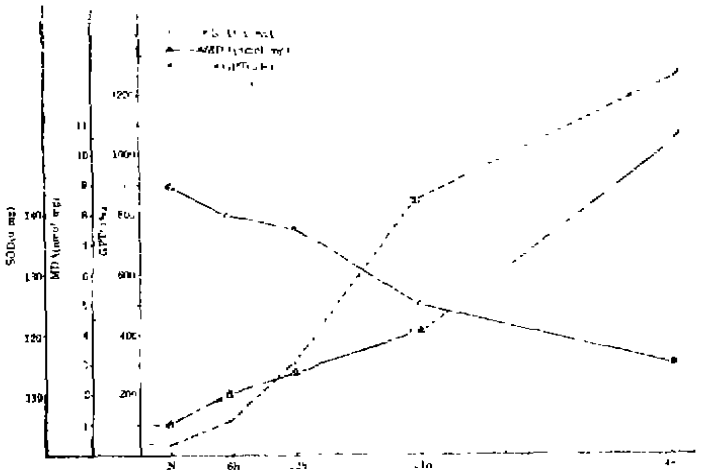


图1 肝织织SOD、MDA及血清GPT动态变化

0.001) 外，余各时点无显著变化(表2)。

生理盐水+GaCN、SOD+GaCN、SOD+CAT+GaCN在GaCN注射后24h，肝组织MDA及血清GPT均无显著意义的改变 (表3)。

表2 肾组织MDA和SOD的改变

指 标	正常	6h	12 h	24 h	48 h
MDA	0.986	0.981	1.132	1.235	2.511**
(nmol/mg)	(0.246)	(0.353)	(0.364)	(0.248)	(0.726)
SOD	135.399	134.589	130.74*	126.650*	123.76*
(u/mg)	(7.560)	(5.892)	(6.926)	(3.184)	(4.196)

*$P<0.01$ **$P<0.001$, 括弧内数字为SD

表3 自由基清除剂注射后肝组织MDA和血清GPT的变化

指 标	生理盐水+GalN	SOD+GalN	SOD+CAT+GalN
肝组织MDA(nmol/mg)	3.749±0.660	3.563±0.330	3.700±0.740
血清GPT(u)	766.625±133.104	763.250±116.575	750±110.37

维普资讯 http://www.cqvip.com

讨　论

1. 自由基在GaCN大鼠FHF中的作用

本实验结果表明，GaCN注射后12小时开始，肝组织SOD逐渐下降，提示有O_2^-堆积，O_2^-可经多种途径产生，同时又是其它氧自由基的主要来源[7]。因自由基化学活性活跃，很易从生物膜上获得一个氢原子，启动脂质过氧化反应，影响了生物膜的结构及功能，使细胞受损。脂质过氧化反应的最终代谢产物是MDA，故MDA的定量测定，不仅可以反映是否有自由基生成，而且也是自由基触发生物膜脂质过氧化反应的直接证据和膜结构受损程度的指标[8]。本实验结果显示，肝组织MDA随着时间的延长呈持续显著升高，表明肝脏生物膜脂质过氧作用的持续性和严重性。且肝细胞受损指标——血清GPT检测表明，GPT与MDA一样，也呈持续增加，经MDA和GPT直线相关检验，肝功能受损与脂质过氧化作用呈显著负相关。本实验结果提示，自由基不仅参与了GaCN大鼠FHF形成，而且由它介导的脂质过氧化作用可能是造成FHF的主要因素之一。

2. 自由基与GaCN FHF的关系

由于GaCN注射后有内源性SOD的下降，故设想通过外源性补充SOD、CAT来观察是否有肝细胞保护作用。本实验SOD和CAT的注射剂量参考国外文献略加修改。结合本实验的具体情况，注射途径由皮下注射改为腹腔注射。据文献报道[9]，SOD在体内的药代动力学与注射途径有关，其疗效与注射途径无关。因此我们认为注射途径的改变并不影响本实验结果。

虽然SOD和SOD CAT的应用，并未获得预期的结果，但并不能否认自由基在本实验中发挥的作用。因为SOD是O_2^-特异清除剂，CAT是H_2O_2特异清除剂，而自由基包括氧自由基（O_2^-、H_2O_2、OH^-）和某些特殊自由基如三氯甲基自由基（$CCl_3\cdot$），它是CCl_4所致肝损伤的主要因素。OH^-是O_2^-与H_2O_2在特定条件下即铁离子环境中迅速形成的，它具有极大组织细胞破坏能力。氧自由基活性度依次为$OH^- > H_2O_2 > O_2^-$，从本实验结果显示SOD活性下降与脂质过氧化程度不成比例，且与其它模型的SOD先有代偿性升高尔后明显下降有所不同，似乎SOD所清除的O_2^-在本实验中并不起主要作用。可能与多种自由基特别是那些破坏能力较强的自由基如OH^-有关，从而间接提示多种特异自由基清除剂联合应用，可能有减轻肝损伤作用，对此尚需进一步研究。另外，自由基种类与肝损伤模型的关系有待深入探讨。

3. 自由基触发的脂质过氧化的代谢产物在本实验中的意义

本实验结果表明，GaCN注射后肾组织MDA仅在18小时升高，SOD在24、48小时下降，提示肝外其它组织有脂质过氧化作用。但肝、肾组织MDA升高的时间和程度不平行，即肾组织仅在18小时升高135%，而肝组织6小时就升高85%，48小时已升高904%，提示肝脏脂质过氧化发生早而严重，而肾脏发生晚而轻。由于自由基化学活性活跃，半衰期和作用半径较小，常局限于组织附近。然而自由基介导的脂质过氧化产物是有毒的，可从胞膜上脱漏，进入细胞外间隙，发挥远距离效应[11]。因此，我们认为肾组织晚期脂质过氧化可能是肝细胞膜脂质过氧化产物大量进入血循环发挥远距离效应所致，也可能是内毒素经过解体激活中性粒细胞释放自由基有关[12]。而不是GaCN的直接作用，从而提示自由基参与GaCN FHF的细胞损伤过程，当然，FHF大鼠肝外器官发生脂质过氧化，其机制及意义有待进一步研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

[1] Keppler D, et al. Exp Mol Pathol 1968; 15:212

[2] Popper H and Schaffner F. Progress in liver disease. Vol 4. New York: Grune and Stratton, 1972:183

[3] Grun M, et al. Acta Hepato-gastroenterol 1979; 23:64

[4] Sakagami Y. 日本消化器病学杂志 1988; 85(11):2474

[5] 李建武, 等. 第二军医大学学报 1987; 8(5):371-73.

[6] 李盖新, 方允中. 生物化学与生物物理进展 1983; (2):59

[7] McMord JM. Surgery 1983; 94(3):412

[8] Slater TF. Biochem J 1984; 222:1

[9] 殷培华, 张天民. 中国药学杂志 1989; 24(7):392

[10] Tribble DL, et al. Hepatology 1987; 7(2):377

[11] Freeman BA, et al. Lab Invest 1982; 47:412.

[12] Cri sham MB,et al. Am J Physiol 1988; 254:H1017-22

(收稿日期 1992-11-03)

STUDIES ON THE SIGNIFICANCE OF FREE RADICALS IN EXPERIMENTAL FULMINANT HEPATIC FAILURE

Peng Hui, et al

Artificial Liver Research Laboratory

In this present study the dynamic changes of the level of malondialdehyde (MDA), the activity of superoxide dismutase (SOD) in liver and kidney and the value of SGPT in plasma of the experimental Fulminant Hepatic Failure-(FHF) rats, as well as the effects and influences of SOD and CAT given parente rally in FHF model rats were observed. Our results revealed that after the formation of FHF the level of MDA in liver and the value of SGPT in plasma were markedly elevated, the activities of SOD in liver was decreased graduaally but the change of the values determined in the kidney was not so notable as compared with those in the liver. According to our data the FHF rats revealed no-positive response to the administration of SOD and CAT.

It is suspected that the action of lipid peroxidation mediated by free radicals might take part in the formation of FHF and probably develop a distant effect of the injury on the kidney

KEY WORDS fulminant Hepatic Failure; Free radical; Lipid peroxidation, Superoxide dismutase