DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.15.007
第25卷第15期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 15
2003年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2003

文章编号:1000-5404(2003)15-1329-03

论著

参芪阻克方对失血性休克大鼠肠粘膜上皮细胞线粒体细胞色素和能荷的影响

伊远学,史成和,刘建仓,李 萍,陆松敏 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第二研究室,重庆 400042)

提 要:目的 研究参芪阻克方(简称参芪)对失血性休克大鼠小肠粘膜上皮细胞线粒体功能的影响。方法 采用Wigger's法建立失血性休克动物模型,分离小肠粘膜上皮细胞线粒体,检测细胞色素 aa_3、b、c、c_1 和能荷的水平。结果 失血性休克后小肠粘膜上皮细胞线粒体细胞色素 aa_3、b、c、c_1 和能荷均显著降低;而参芪治疗组小肠粘膜上皮细胞线粒体细胞色素 aa_3、b、c、c_1 和能荷均显著提高($P<0.05$ vs 休克组)。结论 失血性休克大鼠小肠粘膜上皮细胞线粒体呼吸链电子传递活性受到损伤,能量合成障碍,而参芪能显著改善线粒体的呼吸功能。

关键词:参芪阻克方;失血性休克;小肠粘膜;线粒体
中图法分类号:R289.5;R329.2+4;R605.971 文献标识码:A

Protective effect of compound herbal drug Shenji on mitochondrial function of intestinal mucosa in hemorrhagic shock rats

YI Yuan-xue, SHI Cheng-he, LIU Jian-cang, LI Ping, LU Song-min (Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of compound herbal drug Shenji on mitochondrial function of intestinal mucosa in hemorrhagic shock rats. **Methods** Animal model of hemorrhagic shock was established by using Wigger's method. Twenty-four male SD rats were divided into 3 groups: control group ($n=8$), hemorrhagic shock group ($n=8$) and treatment group ($n=8$). Mitochondria were isolated from the intestinal mucosa. Cytochromes aa_3, b, c and c_1 and energy production were determined for the evaluation of the function of respiratory chain of the mitochondria in intestinal mucosa. **Results** The levels of cytochromes aa_3, b, c and c_1 and energy production in hemorrhagic shock group were significantly lower than those in control group. Shenji could markedly prevent the loss of cytochromes aa_3, b, c and c_1 from the inner membrane of mitochondria in small intestinal mucosa, and could also improve the energy synthesis of mitochondria. **Conclusion** Shenji can markedly ameliorate the functions of mitochondria in intestinal mucosa damaged due to hemorrhagic shock.

Key words: Shenji; herbal drugs; hemorrhagic shock; mitochondria; intestinal mucosa

肠上皮细胞是构成肠道粘膜屏障的主要成分,它具有增殖代谢旺盛、更新周期短等生理特点,对缺血缺氧极为敏感。失血性休克后小肠粘膜上皮细胞的大量坏死、凋亡导致细胞间的紧密连接丧失,肠屏障功能受损,细菌或内毒素可通过细胞间隙直接入血或淋巴循环,是不可逆休克和多器官功能衰竭的重要因素,在失血性休克的病理演变过程中起重要作用[1]。本室研究表明:失血性休克5 h大鼠肠上皮细胞线粒体呼吸功能显著降低,能量代谢障碍,导致肠道功能严重受损[2]。参芪阻克方(以下简称参芪)是依据传统中医药理论及现代休克医学研究成果科学组成的中药复方,主要由人参、白芨、大黄等组成,对失血性休克造成的肠道屏障功能损伤具有特异性和非特异性的防护作用[3]。因此,本实验观察了参芪对失血性休克5 h大鼠小肠上皮细胞线粒体细胞色素和能荷的影响,旨在从能量代谢的角度,阐明参芪对失血性休克大鼠肠道保护的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组处理

健康成年雄性SD大鼠24只(第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供),体质量(250±20) g,随机分为正常对照组、失血性休克组和参芪治疗组,每组8只。实验前禁食,自由饮水过夜,用3%的戊巴比妥钠按30 mg/kg行腹腔注射麻醉,股动脉插管观察血压。将休克组和治疗组大鼠快速放血至平均动脉压(MAP)为40 mm Hg,维持2 h,补充一倍失血量的林格氏液(约30 min复苏),治疗组于液体复苏开始后经

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目("973"项目)(G1999054203)
作者简介:伊远学(1971—),男,福建省松溪县人,博士研究生,主治医师,主要从事创伤诊治和分子生物学方面的研究。电话:(023)68757432
通信作者:陆松敏,电话:(023)68757232
收稿日期:2003-05-08;修回日期:2003-07-08

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

胃管注入参芪水煎剂3 ml(1 ml药液相当于0.5 g药材);休克组经胃管注入等量蒸馏水。继续观察5 h,活杀大鼠采集小肠标本进行检测。正常对照组不放血,其他处理同休克组。

1.2 肠粘膜上皮细胞线粒体分离方法

按改良的Lamrence和Davies[4]方法进行。

1.3 细胞色素 aa_3、b、c和c_1含量测定

根据Willams[5]方法改良而成。

1.4 ATP、ADP、AMP和能荷的测定

采用高效液相法(HPLC)。样品制备:组织块称重、匀浆(按20 ml/mg加0.3 mol/L $HClO_4$);3 000× g 离心5 min,取上清加等体积0.5 mol/L KOH;3 000× g 离心5 min,上清上机检测。色谱条件:采用阶形梯度洗脱,在15 min内流动相B从20%升至100%,流速1 ml/min;检测波长254 nm;进样量25 μl。能荷=(ATP+0.5ADP)/(ATP+ADP+AMP)。

1.5 统计学处理

结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用方差分析,组内比较采用多组间方差分析。

2 结果

2.1 参芪对失血性休克大鼠小肠粘膜上皮细胞细胞色素 aa_3、b、c和c_1的影响

如表1所示,失血性休克组小肠粘膜上皮细胞线粒体细胞色素 aa_3、b、c和c_1均显著低于正常对照组;参芪治疗组与休克组比较,小肠粘膜上皮细胞细胞色素 aa_3、b、c和c_1丢失明显减少,但细胞色素c和细胞色素c_1仍然显著低于正常对照组。

表1 参芪对失血性休克大鼠小肠粘膜上皮细胞线粒体细胞色素 aa_3、b、c和c_1的影响($nmol \cdot mg^{-1}$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Effect of Shenji on cytochrome aa_3, b, c and c_1 of intestinal mucosa in hemorrhagic shock rats($nmol/mg$, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	aa_3	b	c	c_1
Shock	8	0.100±0.010*	0.112±0.013*	0.072±0.010*	0.070±0.011*
Treatment	8	0.128±0.010△	0.179±0.019△	0.103±0.009△	0.105±0.008△
Control	8	0.140±0.012	0.198±0.022	0.135±0.011	0.149±0.018

*: $P<0.05$ *vs* control; △: $P<0.05$ *vs* shock group

2.2 参芪对失血性休克大鼠小肠粘膜上皮细胞能荷的影响

如表2所示,失血性休克组大鼠小肠粘膜上皮细胞能荷显著低于正常对照组,仅为正常对照组的54%;而参芪治疗组大鼠小肠粘膜上皮细胞能荷显著高于失血性休克组,但仍显著低于正常对照组。

表2 参芪对失血性休克大鼠小肠粘膜上皮细胞线粒体内能荷的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Effect of Shenji on mitochondrial energy production of intestinal mucosa in hemorrhagic shock rats($\bar{x}\pm s$)

Group	n	(ATP+0.5ADP)/(ATP+ADP+AMP)
Shock	8	0.33±0.03*
Treatment	8	0.50±0.02*△
Control	8	0.61±0.02

*: $P<0.05$ *vs* control; △: $P<0.05$ *vs* shock group

3 讨论

参芪以加强内源性抗损伤的传统医疗思想为指导,依据现代医学和天然药物研究成果,在传统方剂"参附汤"的基础上制定了以扶正固脱、通瘀开闭为治疗原则的中药复方,目的在于特异性和非特异性保护肠道屏障功能、减少内毒素移位、阻止"二次打击"、减少SIRS和MODS发生。复方中大黄具有提高肠道屏障功能、减少细菌内毒素移位、改善微循环、保护肠上皮细胞、减少线粒体损伤等作用,中医认为大黄具有"开闭通瘀"的作用;人参具有提高肠道免疫屏障、保护线粒体呼吸功能等作用;白芪含有的粘液具有拮抗内毒素作用,以及白芪的粘液模拟了肠道粘液保护了肠屏障功能;丹参具有清除自由基和改善微循环等作用;黄芪具有非特异性提高机体免疫功能及调理细胞因子的作用。参芪通过改善肠道微循环、提高肠道免疫及黏液屏障功能,发挥天然药物综合防止休克的作用,参芪保持肠道屏障功能的完整性、减少肠道细菌移位(Bacterial translocation)或肠源性感染(Gut origin Septic states)发生是机体免受"二次打击"的关键[6]。本实验表明:参芪对失血性休克大鼠小肠粘膜上皮细胞线粒体功能具有特异性和非特异性的保护作用。

线粒体是细胞活动的主要供能场所,是物质代谢和能量转化的中心站,细胞内80%以上的ATP在线粒体合成。当能源物质合成障碍,其后果是:①胞内各种耗能的生物反应中断;②氧自由基生成增加,氧化蛋白质、核酸和生物膜等。③膜电位降低丧失,离子泵功能受损,细胞膜对离子的通透性高,细胞肿胀坏死[6];④细胞大量凋亡[7]。肠粘膜上皮细胞的更新十分迅速,它对于能量供应的变化十分敏感。失血性休克大鼠肠粘膜上皮细胞能量代谢障碍造成大量肠上皮细胞大量坏死、凋亡,肠屏障功能受损,是肠道细菌、内毒素移位的重要因素。

小肠粘膜上皮细胞内细胞色素 aa_3、b、c和c_1是同一呼吸链上的不同环节,只要一个环节出现问题就可能影响整条呼吸链的功能。和对照组比较,失血性休克组大鼠小肠粘膜上皮细胞细胞色素 aa_3、b、c和c_1均出现明显丢失,说明其呼吸链可出现显著的功能障碍。同时实验结果显示失血性休克组能荷明显下降,显著低于正常对照组,可见,失血性休克大鼠早期肠粘膜上皮细胞线粒体内能荷与呼吸链的变化是一致的。而参芪能显著提高失血性休克大鼠小肠粘膜上皮细胞线粒体细胞色素 aa_3、b、c和c_1含量,改善线粒体呼吸功能,提高能荷。提示应用参芪可以防止肠屏障功能受损,为失血性休克救治提供了重要方法。

参考文献:

[1] Massberg S, Eisenmenger S, Enders G, *et al*. Quantitative analysis of

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

small intestinal microcirculation in the mouse[J]. Res Exp Med(Berl), 1998, 198(1): 23—35.
[2] 柏干荣. 失血性休克大鼠肠上皮细胞线粒体 DNA COX 基因表达和功能改变[J]. 中国病理生理学杂志, 2003, 19(5): 639—641.
[3] 沈伟生, 沈文飞. 加用自拟"参芪饮"救治上消化道出血伴休克[J]. 中国中西医结合急救杂志, 1997, 12(4): 564—565.
[4] Lawrence C B, Davies N T. A novel, simple and rapid method for the isolation of mitochondria which exhibit respiratory control, from rat small intestinal mucosa[J]. Biochim Biophys Acta, 1986, 848(1): 35—40.
[5] Willams J W. A method for the simultaneous quantitative estimation of Cytochrome aa_3, b, c and c_1 in mitochondria[J]. Arch Biochem Biophys, 1964, 197: 537—541.
[6] Mitry B. Mitochondrial damage as a source of diseases and aging: a strategy of how to fight these[J]. Biochim Biophys Acta, 1996, 1275(1—2): 10—15.
[7] Green D R, Reed J C. Mitochondria and apoptosis[J]. science, 1998, 281(5381): 1309—1312.

(编辑 王 红)

文章编号: 1000-5404(2003)16-1331-01

个案与短篇

糖尿病酮症酸中毒并发急性肾功能衰竭 20 例临床分析

Clinical analysis of kenoacidosis in 20 diabetes mellitus patients complicated with acute renal failure

黄和银, 肖 蓉, 唐永忠 (重庆市涪陵中心医院内分泌科, 重庆 408000)

对住院的 20 例糖尿病酮症酸中毒(Diabetes mellitus kenoacidosis, DKA)并发急性肾功能衰竭(Acute renal failure, ARF)的患者临床资料分析表明, DKA 并发 ARF 多发生于血糖控制不满意, 严重感染, 酸中毒, 多脏器功能损害的患者, 早期诊断, 正确处理可降低其发生率和病死率。

DKA 是糖尿病的急性并发症, 在此基础上可并发 ARF, 而且 ARF 是 DKA 的主要死亡原因之一。本研究报道我院 1995 年至 2000 年收治的 DKA 并发 ARF 20 例, 现报告如下。

1 临床资料

本组病例均符合 WHO 糖尿病诊断标准和国内提出的 DKA 诊断标准[1] 以及 ARF 诊断标准[2]。20 例中男性 14 例, 女性 6 例, 年龄 23~60 岁, 平均 30.1 岁。有意识障碍者 14 例, 腹痛、呕吐 10 例, 呼吸困难 20 例, 少尿和(或)无尿 8 例, 合并感染 16 例, 低血压和休克 4 例, 腱反射减退或消失 20 例。

20 例 DKA 患者血糖均大于 26 mmol/L, 尿酮强阳性, CO_2CP < 15 mmol/L 者 8 例, 小于 8.98 mmol/L 者 12 例, 肾功能 BUN > 19 mmol/L, Cr > 265 mmol/L 者 12 例, 肝功能受损者 4 例, 电介质: 血清钾 > 5.5 mmol/L 者 12 例, 其中 > 6.0 者 2 例。20 例患者中 16 例经吸氧, 胰岛素应用、补液、抗生素的应用, 维持水电介质平衡, 防止合并症以及对 ARF 的治疗, 包括 1 例血液透析, 病情好转恢复正常。4 例抢救无效死亡。

2 讨论

2.1 并发 ARF 的诱因

①高血糖: 由于 DKA 时葡萄糖、酮体等排除, 出现渗透性利尿, 引起严重脱水, 丢失电介质, 当脱水严重, 循环衰竭时可引起急性肾功能不全, 本组病例血糖均增高。②酸中毒: DKA 时由于严重脱水及血粘度增高, 常有肾血流量及肾小球滤过率降低致暂时性的肾功能不全。③感染: 导致 DKA 感染多为急性感染或慢性感染急性发作, 本组合并感染 16 例, 严重感染可致循环障碍, 有效循环血量减少, 从而导致肾血流减少, 肾小球滤过率降低, 引起少尿或无尿。④多脏器功能衰竭: DKA 早期, 由于葡萄糖利用失常, 能量来源主要为游离脂肪酸及酮体, 此二者对 DKA 患者的脑功能有抑制作用, 使脑处于抑制状态, 晚期并发脑水肿, 而使病情加重。本组病例有 14 出现意识障碍, 腱反射减弱或消失 20 例。同时 DKA 本身可使心肌收缩力减弱, 并使周围血管扩张, 血液淤滞, 有效血容量减少, 从而诱发和加重心衰, DKA 严重时可引发多脏器功能衰竭, 而多脏器功能衰竭互为因果, 进一步加重肾衰。

2.2 并发 ARF 的防治

DKA 引起的 ARF 多为肾前性, 早期诊断及正确处理可以大大降低其发生率及病死率, 给予吸氧、补液、胰岛素应用, 纠正酸中毒, 选用对肾无毒性或毒性低的抗生素, 密切观察神志、脉搏、血压、尿量, 在抢救急性肾衰时, 少尿期应严格控制液体量, 给与低蛋白饮食, 严格限制钾盐摄入, 以防止高血钾。如有下列情况之一应尽早进行血液透析: ①血尿素氮 ≥ 28.56 mmol/L, 血肌酐 ≥ 530.4 mmol/L。②血钾 > 6.5 mmol/L, ③尿毒症症状: 如恶心、呕吐、精神症状等。④有体液潴留表现或充血性心衰迹象。⑤代谢性酸中毒, 不能用补碱纠正者。多尿期和恢复期注意水盐电介质平衡, 这样才能有利于病情的恢复。

关键词: 糖尿病酮症酸中毒; 肾功能衰竭
中图法分类号: R341.25 文献标识码: B

参考文献:

[1] 胡绍文. 实用糖尿病学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1998.155.
[2] 王海芝. 原发性肾小球疾病分型与治疗及诊断标准专题座谈会纪要[J]. 中华内科杂志, 1993, 32(2): 132.

(编辑 张大春)

作者简介: 黄和银(1950—), 男, 重庆市涪陵区人, 副主任医师, 主要从事内分泌疾病方面的研究, 发表论文 10 余篇。电话: (023)72220740

收稿日期: 2003-03-13; 修回日期: 2003-05-27

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net