DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.16.021
第25卷第16期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 16
1454 2003年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2003

文章编号:1000-5404(2003)16-1454-02

论著

海水浸泡对失血性休克大鼠肠粘膜上皮细胞线粒体功能的影响

伊远学,陆松敏,刘建仓,史成和,李 萍 (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 研究海水浸泡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 采用雄性Wistar大鼠24只,分为正常对照组、平原休克组和海水休克组,每组8只。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 海水休克组小肠粘膜上皮细胞线粒体细胞色素aa_3、c、c_1和能荷均显著低于对照组和平原休克组。结论 海水浸泡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全面损伤,能量合成障碍,伤情显著加重。

关键词:海水;失血性休克;小肠粘膜;线粒体
中图法分类号:R322.4+5;R605.971;R83 文献标识码:A

Effects of sea water immersing on mitochondrial function of intestinal mucosa in hemorrhagic shock rats

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

Abstract: Objective To study the effects of sea water immersing on mitochondrial function of intestinal mucosa in hemorrhagic shock rats. Methods Twenty-four male Wistar rats were divided into 3 groups: control group (n=8), hemorrhagic shock group on land (Group A, n=8) and sea water immersing hemorrhagic shock group (Group B, 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, c and c_1 and energy production in group B were significantly lower than those in group A and the control group. Conclusion Sea water immersing can damage the function of mitochondria in intestinal mucosa.

Key words: seawater; hemorrhagic shock; intestinal mucosa; mitochondria

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。创伤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[1],在海水浸泡失血性休克的病理演变过程中可能起重要作用。因此,我们在本实验中观察了海水浸泡对大鼠小肠粘膜上皮细胞线粒体呼吸链的影响,旨在从能量代谢的角度,阐明海水浸泡失血性休克大鼠肠粘膜上皮细胞损伤的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组处理

健康成年雄性Wistar大鼠24只(第三军医大学附属野战外科研究所实验动物中心),体质量(250±20) g,随机分为正常对照组、平原休克组和海水浸泡失血性休克组(海水休克组),每组8只。实验前禁食,自由饮水过夜,用30 g/L的戊巴比妥钠按30 mg/kg行腹腔注射麻醉,气管插管,股动脉插管观察血压。将大鼠平原休克组大鼠快速放血至平均动脉压(MAP)为40 mmHg,维持1 h,然后于室温(21 ℃)下继续观察5 h后采集小肠标本进行检测;海水休克组大鼠放血至MAP为40 mmHg,维持1 h,然后将大鼠浸入海水池中(海盐质量分数为2.535%,水温为21 ℃),头部露于水面,观察5 h后采集小肠标本;正常对照组不放血,不放入海水中,其它处理同前两组。

1.2 肠粘膜上皮细胞线粒体分离方法

按改良的Lamrence和Davies方法进行[2]。

基金项目:全军"十五"指令性课题(01L011)
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:2003-06-05;修回日期:2003-07-12

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

1.3 细胞色素 aa_3、b、c 和 c_1 含量测定

根据 willams 方法改良而成[3]。

1.4 ATP、ADP、AMP 和能荷的测定

采用高效液相法(HPLC)。样品制备: 组织块称质量、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%, 流速每分钟 1 ml; 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。

2 结果

2.1 海水浸泡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, 海水休克组小肠粘膜上皮细胞线粒体细胞色素 aa_3、c 和 c_1 均显著低于对照组和平原休克组; 海水休克组小肠粘膜上皮细胞细胞色素 b 与平原休克组无显著差异, 但显著低于正常对照组。

表 1　海水浸泡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 sea water immersing on cytochromes aa_3, b, c and c_1 of the intestinal mucosa in hemorrhagic shock rats ($nmol\cdot mg^{-1}$, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	aa_3	b	c	c_1
Control	8	0.142±0.011	0.181±0.013	0.133±0.010	0.141±0.011
A	8	0.092±0.016 *	0.102±0.017 *	0.090±0.013 *	0.095±0.018 *
B	8	0.061±0.009 *△	0.098±0.012 *	0.057±0.006 *△	0.061±0.008 *△

*: $P<0.05$ *vs* control; △: $P<0.05$ *vs* A

2.2 海水浸泡对失血性休克大鼠小肠粘膜上皮细胞能荷的影响

如表 2 所示海水休克组大鼠小肠粘膜上皮细胞能荷显著低于正常对照组和平原休克组, 仅为正常对照组的 59%和平原休克组的 73%。

表 2　海水浸泡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 sea water immersing on mitochondrial energy production of intestinal mucosa in hemorrhagic shock rats ($\bar{x}\pm s$)

Group	n	(ATP+0.5ADP)/(ATP+ADP+AMP)
Control	8	0.59±0.02
A	8	0.48±0.02 *
B	8	0.35±0.02 *△

*: $P<0.05$ *vs* control; △: $P<0.05$ *vs* A

3 讨论

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[4]; ④细胞大量凋亡[5]。正常情况下, 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。能量代谢障碍造成肠粘膜上皮细胞大量坏死、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, 海水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
膜上皮细胞内呼吸链可出现显著的功能障碍。同时实验结果显示海水休克组能荷明显下降, 显著低于正常对照组和平原休克组, 可见, 海水浸泡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。与平原休克组比较, 海水休克组小肠粘膜上皮细胞线粒体细胞色素 aa_3、c 和 c_1 均显著降低, 加重能量代谢障碍, 使能荷下降。

在海水浸泡条件下失血性休克大鼠伤情明显加重, 低温、高渗、血液中高氯、高钾等因素均是造成伤情加重的致伤因素。由于肠道在失血性休克的病理演变过程中起重要作用, 提示我们在低温海水浸泡失血性休克的复苏中应注意加强肠道保护, 改善小肠粘膜上皮细胞线粒体呼吸功能, 防止肠屏障功能受损。

参考文献:

[1] Massberh S, Eisenmenger S, Enders G, *et al*. Quantitative analysis of small intestinal microcirculation in the mouse[J]. Surgery, 1998, 198(1): 23—35.

[2] Lawrence C B, Davies N T. A novel, simple and rapid method for the isolation of mitochondrial, which exhibit respiratory control, from rat small intestinal mucosa[J]. Biochim Biophys Acta, 1986, 848(1): 35—40.

[3] 伊远学, 史成和, 刘建仓, 等. 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[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(15): 1329—1331.

[4] Zorov D 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.

[5] Gree D R, Reed J C. Mitochondria and apoptosis[J]. Science, 1998, 281(28): 1309—1312.

(编辑　张　宁)

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