DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.06.008
第22卷第6期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 6
2000年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 2000

文章编号:1000-5404(2000)06-0527-03

论著

大鼠肠道缺血再灌注损伤对肺磷脂的影响

夏培元,屠伟峰,郑 江,周 红,王 裴,王 翔,陈 军,肖光夏,黎 鳌 (第三军医大学附属西南医院烧伤研究所,重庆 400038)

提 要:目的 观察肠道缺血再灌注(IIR)损伤对肺磷脂的影响。方法 制作IIR大鼠模型;肺磷脂组份采用毛细管电泳法分析。结果 肠道缺血60 min再灌注可引起肺磷脂组份的明显改变。PC和PE在再灌注后出现降低,其中PC降低明显,于72 h较缺血前降低35.1%;而PI于再灌注后48 h、PS在24 h分别增加29.0%和37.9%;SM在再灌注后6 h增加达峰值后下降,至72 h接近缺血前水平;其它磷脂在再灌注后明显升高,较缺血前增加1倍以上。相关分析提示PC的改变与其他组份无明显相关性,PE、PS的变化则与SM呈显著负相关。结论 肠道IIR可致肺磷脂组份的明显改变,可能是肠道IIR后肺损伤的重要机制之一。

关键词:肠道;缺血再灌注损伤;肺损伤;磷脂
中图法分类号:R344.5;R619.9 文献标识码:A

Effects of intestinal ischemia-reperfusion injury on pulmonary phospholipid in rats

XIA Pei-yuan, TU Wei-feng, ZHENG Jiang, ZHOU Hong, WANG Pei, WANG Xiang, CHEN Jun, XIAO Guang-xia, LI Ao (Institute of Burn Research, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To observe the changes of the components of pulmonary phospholipid after intestinal ischemia-reperfusion injury (IIR) in rats. Methods Rat model of intestinal ischemia-reperfusion injury was established. The components of pul-monary phospholipid was determined with micellar electrokinetic capillary chromatography (MECC). Results Significant changes of percentages of pulmonary phospholipd components occurred after IIR injury. Among them, phosphatidylcholin and phosphatidylethanolamine were decreased in the period of reperfusion and phosphatidylcholin was 35.1% lower than its preischemic level 72 hours after ischemia. Phosphatidylinoside was increased by 29.0% in the 48th hour and phosphatidylserine was increased by 37.9% in the 24th hour after ischemia. Sphingomylin was increased to the peak in the 6th hour after ischemia and then declined and restored its preischemic level 72 hours after ischemia. Other components of phospholipid was increased nearly by twofold after reperfusion as compared with the preischemic level. Correlation analysis showed that the changes of phosphatidylcholin showed no correlation to other components and those of phosphatidylethanolamine and phosphatidylserine were negatively correlated to those of sphingomylin. Conclusion The percentages of the components of pulmonary phospholipid can be changed with IIR injury, which may play an important role in the pathological mechanism of acute lung injury.

Key words: intestine; ischemia-reperfusion injury; acute lung injury; phospholipid

肺表面活性物质在肺泡Ⅱ型细胞内合成,贮存于细胞板层体,然后分泌到肺泡腔,具有降低肺泡气液面表面张力的作用,是维持正常呼吸生理和肺气体交换功能必不可少的物质,可防止呼气时肺泡塌陷及肺水肿的发生[1,2]。肺表面活性物质的主要组份是二棕榈

基金项目:全军"九五"指令性攻关项目(96L042)
作者简介:夏培元(1963-),男,重庆市人,博士,副研究员,主要从事新药临床药理方面的研究,发表论文5篇。电话:(023)68753780
收稿日期:1999-11-30;修回日期:2000-03-24

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

酰磷脂酰胆碱(DPPC),其结构中的磷酸胆碱(Phosphoxylcholine)是表面活性物质的极性所在[1]。在病理状态和急性呼吸窘迫综合征(ARDS)下,常伴有肺表面活性物质代谢异常,进而损害肺的生理功能[3,4]。为探索肠道缺血再灌注损伤(Intestinal ischemia-reperfusion injury, IIR)导致肺损伤可能的机制,我们观察了肠道IIR大鼠模型肺磷脂成份的变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康Wistar大鼠,雌雄不限,体重为(320±30) g,由第三军医大学实验动物中心提供。

1.2 分组

36只大鼠复制全肠道缺血再灌注损伤模型后,随机分为缺血前30 min、再灌注后3、6、24、48 h和72 h 6个小组(n=6)。

1.3 模型制作

实验大鼠术前禁食12 h,自由饮水。麻醉诱导用2%氯胺酮(Ketamine)和6 mg/L阿托品(Atropine)混合液3 ml/kg。待麻醉起效后,用电推剪剃净手术区域的鼠毛,常规消毒、铺巾,上腹部沿正中线切一长4~6 cm切口,暴露肠系膜前动脉,距其根部约0.5~0.8 cm,游离约0.4~0.6 cm肠系膜前动脉,用小动脉夹夹闭,并记时,60 min后松开肠系膜前动脉夹。在进行肠系膜前动脉夹闭期间,间断地向腹腔内注射约15~20 mg/kg生理盐水,以预防松开动脉夹后出现的一过性低血容量反应。关腹后再向腹腔内追加25~30 ml/kg生理盐水(内含32万单位庆大霉素/L),以达到既扩容又预防腹腔操作时污染的目的。术毕放回鼠笼饲养观察。一鼠一笼,自由进食、饮水。

1.4 肺组织中磷脂的抽提

处死大鼠后,立即剖胸取约200 mg肺组织,制备成10%肺组织匀浆。取匀浆0.5 ml,加预冷氯仿甲醇(2∶1)混合抽提液1 ml,剧烈振荡后,室温下静置30 min,离心500 r/min×5 min,取氯仿层转移至另一洁净试管;在原试管中再加氯仿甲醇混合抽提液0.5 ml,剧烈振荡后,室温下静置30 min,2 500 r/min离心5 min,收集氯仿层转移至同一洁净试管中,该步操作重复1次。吹干氯仿,将抽提的肺组织中磷脂密封后冷藏保存。

1.5 肺组织磷脂的测定

采用高效毛细管电泳法(High-performance capillary electrophoresis, HPCE)。取100 μl样本稀释液[5%胆酸钠(116 mmol/L)溶于50%正丁醇中]重溶已抽提的磷脂,在PACE5010全自动毛细管电泳仪(Gold软件控制仪器操作和数据采集系统,美国Beckman)进行分析。电泳条件:熔融石英毛细管为470mm×0.075 mm(中国河北永年光纤厂产品);分离缓冲液为75 mmol/L胆酸钠、10 mmol/L Na_2HPO_4、6 mmol/L四硼酸钠、30%(pH 8.5)正丁醇;分离电压为18 kV、检没波长为200 nm、毛细管温度为45℃。用不同浓度的磷脂标准品进行同步检测,绘制标准曲线。每次进样前,毛细管先用1.0 mol/L NaOH冲不4 min,后用分离缓冲液冲洗10 min。

1.6 统计学分析

所列计量资料均采用$\bar{x}\pm s$表示,应用统计软件包STATISTICA/W5.0进行分析。

2 结果

2.1 毛细管胶束电动色谱法分离的磷脂毛细管电泳图,见图1

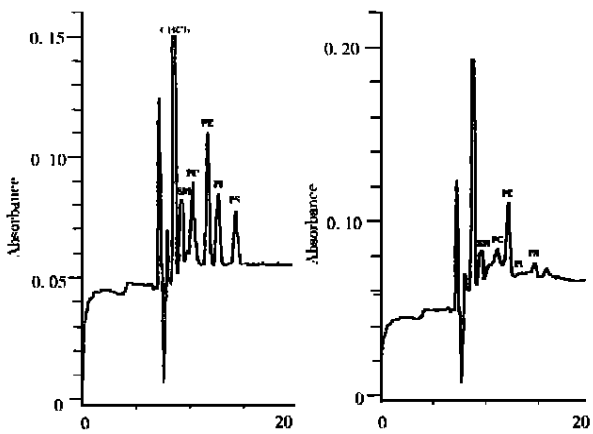


图1 肺磷脂毛细管电泳分析图谱

Fig 1 Chromatograph of pulmonary phospholipids with HPCE

A: standard pulmonary phospholipids; B: pulmonary phospholipids 72 h after reperfusion. SM: sphingomylin; PC: phosphatidylcholin; PE: phosphatidylethanolamine; PI: phosphatidylinoside; PS: phosphatidylserine

2.2 肠道缺血再灌注损伤对肺组织磷脂构成的影响

如表1所示,肠道IIR损伤可引起肺磷脂组份构成发生明显改变。PC呈逐渐下降趋势,至再灌注后72 h较缺血前下降约35.1%;PE在再灌注后6 h期间下降约1/4,此后逐渐恢复;PI在再灌注后48 h上升29.0%;PS于24 h增加37.9%;SM在再灌注后6 h增加达峰值后下降,至72 h已接近缺血前水平;其它磷脂在再灌注后升高明显,较缺血前增加1倍以上,见表1。

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

表 1　IIR 对大鼠肺磷脂组份(%)的影响

Tab 1　Effects of IIR on components (%) of pulmonary phospholipid

Components of phospholipid	Control *	Time after of reperfusion(h)				
		3	6	24	48	72
PC	10.66±1.54	8.32±3.70	7.30±4.62	7.13±5.74	8.14±4.01	6.92±3.17△
PE	60.48±9.80	45.82±15.93	43.45±17.83	48.39±3.37	49.27±6.33	56.19±3.44
PI	3.31±2.39	3.44±2.39	3.36±3.34	4.26±1.17	4.27±1.43	3.17±1.35
PS	6.94±3.16	8.22±2.78	6.82±5.08	9.57±1.49	9.09±5.68	7.58±3.20
SM	13.95±7.83	22.77±12.72▲	30.45±27.47▲	24.02±7.74▲	24.89±5.53	16.07±2.50
Others	4.65±1.29	11.44±1.66▲	8.62±2.52△	6.63±2.31	8.34±5.07	10.06±1.56▲

*: Prior to ischemia. △: $P<0.05$, ▲: $P<0.01$ *vs* control; PC: phosphatidylcholing; PE: phosphatidylethanolamine; PI: phosphatidylinositol; PS: phosphatidylserine; SM: sphingomyelin

2.3　磷脂各组份间构成百分比的相关分析

结果显示, 磷脂各组份间构成百分比变化中, PC 构成百分比的改变与其它各磷脂组份间无明显相关性, PE、PS 的变化则与 SM 呈显著负相关, 见表 2。

表 2　肺磷脂组份(%)相关性分析

Tab 2　Correlation analysis of contents(%) of pulmonary phospholipid components

	PC	PE	PI	PS	SM	Others
PC	1					
PE	−0.2187	1				
PI	−0.0921	0.1070	1			
PS	−0.0304	0.4420*	0.0585	1		
SM	0.0421	−0.9411*	−0.1722	−0.4999*	1	
Others	−0.1447	−0.0537	−0.1010	−0.2573	−0.1418	1

*: $P<0.001$

3　讨论

肺表面活性物质的绝大部分为磷脂, 是维持正常呼吸生理和肺气交换不可缺少的物质。其中的组份 PC 与肺表面活性物质的功能密切相关[4]。因此, 肺磷脂的定量和组份分析可从一侧面反映肺表面活性物质的功能情况。本研究显示, 肺磷脂组份的构成在肠道 IIR 损伤时可发生明显改变, 见表 1。PC 和 PE 呈现下降, 而以 PC 下降最为显著; SM、PS 和 PI 呈增加趋势, 与文献[6]报道的急性肺损伤观察结果基本一致。由于在实验观察的肠道缺血再灌注全程中, PC 含量减少一直存在, 表明在肠道缺血再灌注状态下, 可能发生严重的肺损伤。同时我们对肠道 IIR 损伤后磷脂中各组份的构成百分比作了相关分析, 结果显示 PC 构成百分比的改变似乎与其它各磷脂组份间无明显相关性; PE、PS 的变化则与 SM 的改变呈显著负相关, 见表 2, 提示在肠道缺血再灌注状态下, 肺磷脂构成百分比的改变存在不匹配的量的改变, 因此可能是肺损伤的重要病理生理机制之一。

参考文献:

[1] Hildebran J N, Goerke J, Clement J A. Pulmonary surface film stability and composition[J]. J Appl Physiol, 1979, 47(3): 604—611.

[2] Bredenberg C E, Paskanik A M, Forte T, *et al*. High surface tension pulmonary edema[J]. J Surg Res, 1983, 34(6): 515—523.

[3] Li J J, Sanders R L, McAdam KPW J, *et al*. Impact of Creactive protein on surfactant function[J]. J Traumm, 1989, 29(12): 1 690—1 697.

[4] 傅国辉, 菊池尚子, 秋野豆明. 大鼠肺表活性物质磷脂在急性肺泡损伤时的变化[J]. 中国病理生理学杂志, 1982, 8(4): 419—424.

[5] Ingvardsen L, Michaelsen S, Sorensen H. Analysis of individual phospholipids by high-performance capillary electrophoresis[J]. JAOCS, 1994, 71(2): 183—189.

[6] Kennedy M, Phelps D, Ingenito E. Mechanisms of surfactant dysfunction in early acute lung injury[J]. Exp Lung Res, 1997, 23(3): 171—189.

(编辑　王　红)

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