DOI:10.16016/j.1000-5404.1999.06.021

N-乙酰半胱氨酸抗肠道缺血再灌注休克大鼠脂质过氧化损伤的作用

刁有芳* 肖 南 田昆仑 刘 萍 刘 韧 (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**:观察补充N-乙酰半胱氨酸(NAC)在大鼠肠系膜上动脉夹闭(SMAO)造成缺血再灌注损伤时,对肠道及远处器官脂质过氧化损伤的保护作用。**方法**:Wistar大鼠42只,分成NAC治疗组($n=21$)和生理盐水对照组($n=21$)。SMAO 45 min后松夹,于松夹后5 min给予NAC(50 mg/kg)或生理盐水。测定松夹后2、4、6 h肠、心、肝、肾、肺组织游离巯基(NPSH)、丙二醛(MDA)和髓过氧化酶(MPO)的改变。**结果**:给予NAC可明显增加组织NPSH的水平,降低MDA和MPO的含量。**结论**:NAC对肠道缺血再灌注引起的肠和远处器官的脂质过氧化损伤有保护作用。

关键词 N-乙酰半胱氨酸;缺血再灌注;脂质过氧化

中图法分类号 R340.5;R977.4

先前的实验证实,自由基在肠系膜上动脉夹闭(Superior mesnteric artery occlusion,SMAO)休克的演变过程中起着极为重要的作用[1],曾探讨过一些自由基清除酶(剂)对SMAO休克大鼠的保护作用[2,3]。本实验观察N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine,NAC)对SMAO大鼠自由基损伤的保护作用。

1 材料和方法

180~230 g Wistar大鼠42只,雌雄不拘,随机分成NAC治疗组和生理盐水对照组。实验前动物禁食过夜,自由饮水。3%戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔麻醉,腹正中切口,生理盐水纱布保护下找出并分离肠系膜上动脉根部,用无创动脉夹夹闭后关闭腹腔。动物全身肝素化(800 u/kg)。夹闭45 min后松夹。治疗组于松夹后5 min从尾静脉注入1% NAC(50 mg/kg,5 ml/kg),对照组动物于同一时间给予等量生理盐水。于松夹后2、4、6 h活杀动物,取肠、心、肝、肾、肺组织即刻匀浆处理,取上清检测游离巯基(NPSH)、丙二醛(MDA)、髓过氧化酶(MPO)的变化。

NPSH采用DTNB法测定,MDA按常规(TBA法)测定,MPO按罗武生[4]方法测定。结果以nmol/mg蛋白表示。全部数据按Student's t 检验进行统计学处理,结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示。

2 结果

SMAO 45 min再灌注2、4、6 h,对照组各器官MDA、MPO逐渐升高,NPSH有不同程度降低。给予NAC治疗后,NPSH明显升高,同时MDA和MPO水平明显降低,其中以肺最为明显,见表1、2。

表1 各器官组织MDA、MPO的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Changes of MDA、MPO in different organs and tissues($\bar{x}\pm s$)

Tissues	Time(h)	n	MDA(nmol/mg)		MPO(U/mg)	
			Control	NAC	Control	NAC
Intestine	2	7	23.7±9.7	18.0±8.7	6.83±2.49	9.69±5.29
	4	7	26.6±10.7	13.8±5.5	9.65±4.01	5.96±2.04*
	6	7	32.5±18.7	10.7±1.9*	13.41±7.47	7.59±1.59*
Heart	2	7	13.4±4.7	16.9±7.2	15.82±2.59	9.67±1.79**
	4	7	17.9±4.3	11.3±3.7*	10.65±3.84	8.74±2.78
	6	7	40.9±26.6	18.5±15.1*	8.63±2.14	5.08±1.48**
Liver	2	7	18.8±6.7	15.3±3.6	4.09±1.9	3.25±2.53
	4	7	15.9±7.3	9.0±3.2*	7.44±3.0	3.22±1.56**
	6	7	36.7±20.0	6.8±1.3**	9.46±5.04	3.86±1.24**
Kidney	2	7	28.1±12.6	15.1±4.9*	1.46±0.78	1.64±0.53
	4	7	20.9±6.4	13.9±6.0*	5.07±1.91	1.82±0.79**
	6	7	25.2±14.7	26.9±17	5.45±2.82	1.23±0.65**
Lung	2	7	16.4±3.5	15.2±5.3	35.71±6.99	27.18±11.97
	4	7	27.0±12.8	10.6±3.3**	43.78±7.42	26.84±13.74*
	6	7	45.4±14.1	9.3±1.2**	54.11±24.87	40.29±6.67**

*:$P<0.05$, **:$P<0.01$ *vs* control

* 刁有芳,女,57岁,高级实验师

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

表2 各器官组织NPSH的变化($\bar{x}\pm s$,nmol/mg)

Tab 2 Changes of NPSH in different organs and tissues($\bar{x}\pm s$,nmol/mg)

Tissues	Time(h)	n	Control	NAC
Intestine	2	7	11.1±6.3	21.2±9.1
	4	7	9.3±5.6	19.5±8.2*
	6	7	6.8±4.5	15.3±8.2*
Heart	2	7	6.9±0.9	10.3±6.9
	4	7	7.8±3.9	33.2±15.7**
	6	7	6.1±1.7	27.1±15.5**
Liver	2	7	15.7±5.1	21.8±5.3
	4	7	14.3±7.3	35.1±5.9**
	6	7	12.7±6.6	34.3±20.3
Kidney	2	7	27.5±8.3	29.7±11.4
	4	7	22.5±6.5	52.4±13.1**
	6	7	23.6±18.5	58.3±13.8**
Lung	2	7	13.9±9.3	11.4±9.8
	4	7	10.3±3.4	18.5±9.5*
	6	7)	9.1±5.6	23.1±14.5*

*:$P<0.05$, **:$P<0.01$ *vs* control

3 讨论

先前的研究已经证实SMAO休克时肠道组织的缺血再灌注损伤可使肠道通透性增加,肠道内的大量细菌毒素尤其肠道G^-细菌产生的毒素在松夹后大量释放[5],从而诱导肠道组织中有大量的氧自由基生成。这些过量的氧自由基不仅直接导致肠组织的脂质过氧化损伤,同时也可造成肠外器官如心、肝、肺的脂质过氧化损伤,表明氧自由基参与SMAO休克时细胞损伤过程[1]。

过去曾探讨一些自由基清除酶(剂)例如SOD及其配方能明显抑制SMAO休克动物的各个器官组织的MDA含量的升高,其作用机制主要是通过歧化反应使O_2^-生成为过氧化氢来清除超氧自由基(O_2^-)。而对组织损伤作用更强的羟自由基,脂酰过氧化物自由基,过氧化氢则主要靠过氧化氢酶和巯基氧化还原来清除[6]。有人报道,自由基损伤是自由基产生和清除失衡的结果,体内巯基氧化还原是维持细胞氧化还原稳态,抗氧化损伤的重要机制[7]。在创伤和休克时体内巯基物质往往被消耗,从而使自由基损伤加大[8]。本实验观察结果显示随肠道缺血再灌注时间延长,各器官组织NPSH水平逐渐下降,而MDA、MPO水平逐渐升高,说明巯基逐渐消耗,自由基脂质过氧化损伤逐渐加重。给予NAC治疗后,各器官组织自由基脂质过氧化损伤有不同程度的减轻,表现为NPSH水平升高,MDA和MPO水平降低,进一步说明了巯基对器官的缺血再灌注损伤的保护作用。MPO是中性白细胞的特有酶,组织中MPO升高提示中性白细胞扣押增多。中性白细胞可释放自由基等炎性介质而引起组织细胞损伤。

NAC是一种巯基的物质,是体内游离巯基的重要组成部分之一,也是谷胱甘肽(GSH)的前体物质,它可促进GSH的合成,增加GSH的含量。研究表明NAC可减轻内毒素造成的羊急性肺损伤[9],并用于ARDS的临床治疗。NAC的作用机制可能与补充游离巯基,清除自由基,提高白细胞内还原巯基水平,抑制白细胞激活和炎症介质的产生,改善微循环等有关[10~12]。

参考文献

1 汪江淮,陈惠孙,王 涛,等.自由基在大白鼠肠系膜上动脉夹闭休克中作用的研究.中国病理生理杂志,1989,5(6):325

2 汪江淮,王 涛,陈惠孙,等.大白鼠肠系膜上动脉夹闭休克时SOD抗脂质过氧化损伤的研究.第三军医大学学报,1989,11(2):95

3 汪江淮,陈惠孙,蒋建新,等.自由基清除酶(剂)对SMAO休克大鼠保护作用的研究.中国病理生理杂志,1992,8(2):195

4 罗武生.用髓过氧化酶法定量测定心肌组织中的中性白细胞.中国药理学通报,1990,6(4):264

5 马 利,黎 鳌,肖光夏,等.肠源性感染的实验研究:出血性休克与肠源性感染.第三军医大学学报,1990,12(1):15

6 Zimmerman B J, Granger D N. Mechanisms of reperfusion injury. Am J Med Sci,1994,307(4):284

7 Ueland P M, Mansoor M A, Guttormsen A B, *et al*. Reduced oxidized and protein-bound forms of homocysteine and other aminothiol in plasma comprise the redox thiol status—— a possible element of the extracelluar antioxidant defense system. J Nutr,1996,126(4 Suppl):1281

8 Hammarqvist F, Luo J L, Cotgreave J A, *et al*. Skeletal muscle glutathione is depleted in critically ill patients. Crit Care Med,1997,25(1):78

9 Bernard G R, Lucht W D, Niedrmeyer M E, *et al*. Effect of N-acetylcysteine on the pulmonary response to endotoxin in the awake sheep and upon *in vivo* granulocytes. J Clin Invest,1984,73(6):1772

10 Koeppel T A, Thies J C, Lehmann T, *et al*. Improvement of hepatic microhemodynamics by N-acetylcysteine after

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

warm ischemia. Eur Surg Res，1996，28(4)：270

11 Neusehwander Tetri B A，Bellezzo J M，Britton R S，*et al*. Thiol regulation of endotoxin-induced release of tumour necrosis factor alpha from isolated rat Kupffer cells. Biochem J，1996，320(Pt3)：1005

12 Laurent T，Markert M，Feihl F，*et al*. Oxidant-antioxidant balance in granulocytes during ARDS. Effect of N-acetyleysteine. Chest，1996，109(1)：163

（收稿：1998-07-11；修回：1999-01-24）

（编辑　冷怀明）

Effects of N-acetylcysteine on anti-lipid peroxidation injury during intestinal ischemio-reperfusion shock in rats

Diao Youfang，Xiao Nan，Tian Kunglun，Liu Ping，Liu Ren（Research Institute of Field Surgery，Daping Hospital Third Military Medical University，Chongqing，400042）

Abstract　**Objective**：To study the protective effects of N-acetylcyeteine (NAC) on intestinal ischemio-reperfusion shock and remote organ damages in rats. **Methods**：Adult wistar rats were randomized into NAC-treated group ($n=21$) and normal saline-control group (NS，$n=21$). The superior mesenteric artery was occluded for 45 min and then released. NAC 50 mg/kg and NS were administered respectively 5 min after reperfusion. Tissue samples from the intestine，heart，liver，kindeys and lungs were collected in the 2nd，4th and 6th h after reperfusion to determine the content of free thiol (NPSH)，malondialdehyde (MDA)，and the activity of myeloperoxidase (MPO). **Results**：NAC could increase tissue NPSH content and decrease MDA and MPO activity. **Conclusion**：NAC possesses protective effects on ischemio-reperfusion injury induced damages of the intestines and remote organs such as the heart，liver，kidneys and lungs.

Key words　N-acetylcyeteine；ischemio-reperfusion；lipid peroxidation injury

（上接 430 页）

髂骨块植骨，Kaneda 钉固定融合椎体，脊椎体高度恢复，成角畸形获得纠正，稳定性得到重建，承担负荷能力恢复。

2.2　彻底的脊髓减压

前路减压，有效解除了脊髓来自前方的压迫，恢复并扩大了椎管的管径。

2.3　神经功能恢复情况

15 例患者中，不全瘫痪 9 例，肌力均恢复 2 级以上，全瘫的 6 例患者，4 例的肌力恢复 2～3 级，2 例因脊髓损伤较重无恢复；大小便控制失常，手术前有 8 例，术后 4 例获较好恢复。

2.4　并发症

术中无一例损伤大血管、神经，也无一例神经症状加重，无早期并发症如肺不张、肺炎、伤口出血、切口感染等发生。4 例因尿路感染，行对症、膀胱冲洗，抗炎治疗好转。术后随访 3 月～1 年未发现断钉、植骨块松动、术后半年左右可见植骨融合。

3　讨论

脊髓损伤原因大多来自硬脊膜前方突向椎管的骨碎片，椎间盘及血肿等，行前路减压可直视彻底切除压迫组织，解除致压因素，为受伤的脊髓修复创造了良好的环境。后路减压术，只是在一定范围内恢复椎管的容积，而不能完全解除致压因素，故在脊髓修复过程中，不如前路减压彻底，在一定范围内必残存椎管狭窄。我们所作 15 例前路减压患者，由于是直视下切除致压物质，尽可能减少硬脊膜的牵动，所以无一例脊髓损伤加重，因而脊髓损伤修复方面获得较为满意的效果。

由于前路减压，切除了伤椎后 2/3 椎体及上下椎间盘组织其间隙用整块髂骨植入，并用 Kaneda 钉内固定，使受伤椎体生理曲线上获得满意恢复，伤椎与正常椎体由于固定融合而成为一个整体，在脊柱稳定性方面更加牢固，承受负荷能力相对更强，后路手术虽也能纠正生理曲线，受伤椎体的高度的恢复不完全是骨性高度的恢复，术后存在着高度的再次部分丧失而成角，稳定性也较直接前路椎体融合为差，承受负荷能力及早期功能训练不如前路固定融合。故我们认为，对于胸腰段不稳定性的椎体爆裂骨折或骨折脱位，特别是合并有脊髓不全性损伤患者，行前路减压，Kaneda 钉内固定更为优良。

关键词　胸腰椎爆裂骨折；前路减压；Kaneda 钉固定

中图法分类号　R683.2

参考文献

1 鄢　宏，农绍友，向香成，等. 前路减压内固定术治疗胸腰椎骨折合并截瘫. 中国骨伤，1997，10(6)：20

2 吴骏益，顾树春，姚　健，等. 前路减压 Kaneda 内固定治疗胸腰椎爆裂性骨折并不完全性截瘫. 骨与关节损伤杂志，1998，13(2)：73

（收稿：1999-01-27；修回：1999-03-05）

（编辑　冷怀明）

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