DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.01.022

模拟高原出血性休克时谷胱甘肽过氧化物酶和脂质过氧化物的变化及维生素C的治疗作用

万 强 谢增柱 刘福玉 张国斌 (第三军医大学基础部高原医学研究室) 630038

提 要 15只山羊在模拟4 000 m高原减压24 h,然后放血引起出血性休克,获得结果如下:(1)失血期血压(BP)、心输出量(CO)、pH值均降低,谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力增高。(2)注射生理盐水对失血期羊的BP、CO、pH值无明显影响,输血输液后羊血浆中LPO明显增加,动物存活时间7.38±7.98h;(3)注射维生素C可使休克动物BP、CO及pH值明显增加,LPO和GSH-Px活力降低,还原型谷胱甘肽(GSH)明显增加,回输血输液后,CO、pH、LPO恢复正常,活存时间20.99±6.08 h。以上结果提示氧自由基可能在出血性休克的发病机制中起一定的作用,自由基清除剂维生素C对高原出血性休克有良好的治疗作用。

关键词 休克,出血性;高海拔;过氧化脂质类;抗坏血酸
中图法分类号 R605.971

近年来资料表明氧自由基可能在失血性休克的发生发展中起着重要作用,超氧化物歧化酶、过氧化氢酶及别嘌呤醇对出血性休克有一定治疗作用[1,2,3]。高原出血性休克发病机制研究不多,我们已研究了其血流动力学、氧运送及氧耗量的变化[4,5]。有关高原出血性休克时氧自由基及抗氧化酶的变化尚未见报道。维生素C是抗氧化剂,大剂量使用可降低对烧伤动物的输液量[6],对出血性休克有何作用尚未见有报道。本文观察了高原出血性休克羊血中抗氧化酶和LPO的变化以及维生素C对休克的治疗作用。

1 材料与方法

健康山羊15只,性别不拘,体重为14.5±2.5 kg,置于低压舱内减压至模拟4 000 m高原,24 h后进行休克实验:

在3%戊巴比妥钠麻醉下(30 mg/kg)从静脉注入肝素生理盐水(5 mg/kg)肝素化,进行股动脉及肺动脉插管,从股动脉放血至5.33 kPa,调节贮血瓶高度维持此血压60 min,随机将动物分为:(1)对照组,注入生理盐水45 ml;(2)维生素C治疗组,静脉注入维生素C(250 mg/kg,放入生理盐水中,总液体量为45 ml)。观察疗效30 min,然后将放出的血回输动物,最后输入失血量3倍的等渗糖盐水,血压回升至13.33 kPa时减慢滴速,维持滴注,观察动物死亡时间。分别于失血前、失血60 min、治疗30 min及回输血2 h,测定血压、用热敏法测心输出量,并采动脉血测生化指标:

按Kikugawa改良TBA法测定血浆过氧化脂质[7],用分光光度法测全血谷胱甘肽[8],用雷柏平改良紫外吸收法测全血过氧化氢酶的活力(CAT)[9],用DTNB比色法[10]测全血GSH-Px酶活力。为避免血液稀释的影响,所得结果均用血红蛋白浓度进行校正。所有结果均经t检验处理。

2 实验结果

放血后血压维持在5.33 kPa 60 min,盐水组失血量为279.3±88.0 ml(20.1 ml/kg),维生素C组失血量为310.8±63.6 ml(20.9 ml/kg),两组之间无明显差异。盐水组活存时间为7.38±7.96 h,维生素C组为20.99±6.08 h,维生素C组活存时间明显长于盐水组($P<0.01$)。

2.1 维生素C对BP、CO及pH值的影响

失血1 h的羊,输入生理盐水30 min后,血压、心输出量无明显变化,pH值进一步降低;而输入维生素C 30 min后,血压升高、CO及pH增加(表1)。

表1 Vc对血压、心输出量、pH值的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Effects of Vc on blood pressure, cardiac output and pH ($\bar{x}\pm s$)

	BP(kPa)		cardiac output (L/min)		pH	
	Saline	Vc	saline	Vc	saline	Vc
control	14.4±1.2	16.1±1.1	0.74±0.31	0.99±0.15	7.475±0.044	7.472±0.056
during hemorrhage	5.5±0.3△	5.6±0.5△	0.47±0.18△	0.53±0.13△	7.386±0.081	7.401±0.114
30 min after treatment	4.5±1.1△	9.9±1.1△※	0.57±0.17	0.93±0.26※	7.289±0.141△	7.392±0.080
2 h after retransfusion	10.8±3.7△	14.4±1.8※	1.06±0.25	1.24±0.39	7.226±0.173△	7.444±0.084
4 h after retransfusion	9.6±2.1△	13.8±2.3※	0.73±0.15	1.18±0.42※		

△: $P<0.05$, compared with control; ※: $P<0.05$, Vc vs saline.

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

2.2 维生素C对血浆脂质过氧化物的影响

失血1 h LPO并不增加，输入生理盐水后有增加趋势，输血输液后明显增加。维生素C治疗组LPO较失血前明显降低，且明显低于盐水组(表2)。

表2 维生素C对血浆脂质过氧化物(LPO)及全血还原型谷胱甘肽的影响

Tab 2 Effects of vitamin C on lipid peroxide and glutathione ($\bar{x} \pm s$)

	LPO (nmol/g Hb)		GSH (mg/g Hb)	
	saline	Vc	saline	Vc
Control	31.67±1.54	30.39±2.08	998.41±85.22	902.16±75.29
During hemorrhage	33.77±2.38	31.74±2.78	959.98±75.88	878.32±87.52
30 min after treatment	36.91±2.53	26.03±1.93△※■	1014.80±123.00	1211.28±134.57△■
2 h after retransfusion	43.88±1.16△■	28.61±1.35※	1273.40±160.83	1328.90±189.46△■

△: $P<0.05$, compared with control; ■: $P<0.05$, compared with 60 min after shock; ※: $P<0.05$, Vc vs Saline.

2.3 维生素C对全血GSH、GSH－Px和CAT的影响

失血后GSH含量无明显变化，回输血后稍增加，但无统计学意义。维生素C治疗后30 min及回输血2 h GSH含量均明显增加(表2)。

失血后GSH－Px活力明显升高，注射生理盐水30 min后GSH－Px无明显变化，注射维生素C 30 min时则可引起GSH－Px活力返回至失血前水平(表3)。全血过氧化氢酶的活力在休克前后及用药前后均无明显变化(表3)。

表3 维生素C对全血GSH－Px活力及全血CAT活力的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effects of vitamin C on the activity of GSH－Px and CAT in blood ($\bar{x} \pm s$)

	GSH－Px (μmol GSH/min/mg Hb)		CAT (k/g Hb)	
	Saline	Vc	Saline	Vc
Control	1022.20±73.99	1007.79±59.04	31.94±0.93	32.01±3.31
During hemorrhage	1186.12±62.73△	1119.88±59.68△	36.19±2.86	36.82±3.52
30 min after treatment	1223.10±65.46△	967.74±52.99■	32.09±3.78	32.4±2.92
2 h after retransfusion	1341.21±112.31△	1149.40±70.05△	34.95±4.08	32.13±3.48

△: $P<0.05$, compared with control; ■: $P<0.05$, compared with 60 min after hemorrhage.

3 讨论

Mayer等认为，出血性休克及其后的液体复苏过程是一种缺氧缺血——再灌注过程，可能存在着氧自由基介导的再灌注损伤[12]。实验表明，高原失血性休克时血浆中LPO明显增高，提示高原失血性休克时氧自由基的产生及其过氧化作用增强，且此作用可能主要发生在再灌注期。

我们观察到给予大剂量维生素C可以明显提高动脉血压、增加心输出量、改善组织灌流并延长活存时间，表明维生素C对高原出血性休克具有良好的救治作用。维生素C是一种水溶性抗氧化剂，其抗氧化能力远强于血浆中的其它抗氧化成分如硫醇蛋白、维生素E等。维生素C与维生素E、维生素A等都可通过供氢来达到清除自由基的作用，它不仅可有效地清除水中的各种自由基，而且也能通过增强维生素E(一种主要的脂溶性抗氧化剂)的活性，从而保护膜免受过氧化损伤[11,12]。给予维生素C后，LPO明显下降，提示维生素C抗休克作用与氧自由基的清除有关。此外，维生素C可通过刺激多巴胺羟化酶的活性，增强去甲肾上腺素的合成[13]，维生素C治疗后血压回升可能与此有关。

休克后，GSH呈上升趋势而GSH－Px活力明显增高，有人认为，当机体内抑制氧自由基产生的机制减弱或氧自由基生成量增加时，机体即进入所谓氧应激态(oxidative stress)而引发组织的应激反应，一系列具有清除氧自由基作用的酶类乃至某些低分子抗氧化物质的合成增加，以清除过多的氧自由基及其作用产物，保护组织免受氧化损伤[14]。高原失血性休克后LPO有上升的趋势，再灌流期且明显增加，提示氧自由基的生成增加，此可能刺激GSH含量增加，GSH－Px活力增强，而当使用维生素C后，因其可明显降低

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

LPO以及维生素C增多时GSH消耗减少，由此可能导致GSH和GSH－Px的改变。GSH亦是体内重要的水溶性抗氧化剂，其增高将有助于氧自由基的清除。

综上所述，高原失血性休克动物其脂质过氧化反应增强，提示氧自由基参与了高原失血性休克的发病机制；维生素C具有良好的抗高原失血性休克的作用，其机制可能与其加强对氧自由基的清除，减少LPO的生成的作用有关。

参考文献

1 Prasad K, Kapoor R, Kalra OJ. Methionine in protection of hemorrhagic shock: role of oxygen free radicals and hypochlorous acid. Cir Shock,1992,36:265

2 Mayer DC, Samuel JS, Hanson A, et al. Effect of hemorrhagic shock and retransfusion on catalase and superoxid dismutase activition in rabbit. Cir Shock,1992,36:147

3 Allan G, Cambridge L, Lee－Tsang－Tan, et al. The protective action of allopurinol in an experimental model of hemorrhagic shock and reperfusion. Br J Pharmac,1986,89:149

4 谢增柱，刘福玉，高旭滨. 高原出血性休克血流动力学变化. 中华创伤外科杂志，1991，7：95

5 谢增柱，刘福玉，高旭滨. 高原出血性休克羊的氧运送、氧耗量及心功能变化. 中国病理生理杂志，1994，10：266

6 Matsuda T, Tanaka H, Williams S, et al. Reduced fluid volume requirment for resuscitation of third degree burns with high dose vitamine c. J Burn Car,1991,12:525

7 Kikugawa K, Kojima T, Yamaki S, et al. Interpretation of the thiobarbituric acid reactivity of rat liver and brain homogenates in the presence of ferricion and ethylenediaminetetraacetic acid. Anal Biochem,1992,202:249

8 Jocelyn PC. Spectrophotometric assay of thiols. Method Enzymol,1987,143:44

9 雷柏平，周伯通，蔡宏伟，等. 过氧化氢酶活性的比色测定性. 临床检验杂志，1993，11(2)：73

10 夏奕明，朱莲珍. 血和组织中谷胱甘肽过氧化物酶活力的测定. 卫生研究，1987，16(4)：29

11 Sies H, Stahl W, Sundquist AR. Antioxidant functions of vitamins. Ann New York Acad Sci,1992,609:7

12 Frei B. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. Proc Natl Acad Sci,1989,86:6377～6381

13 Padh H. Vitamin C, newer insights into its biochemical function. Nut Rev,1991,49:65

14 李芳生. 自由基的生成与清除、组织氧化损伤与膜疾病. 见：方允中主编. 自由基生命科学进展. 北京：原子能出版社，1993：77～83

（收稿：1994-11-10；修回：1995-01-05）

Study of GSH－Px activity and lipid peroxide level during high altitude hemorrhagic shock and antishock effect of vitamin C in goats

Wan Qiang, Xie Zengzhu, Liu Fuyu, Zhang Guobin (Research Lab of High Altitude Medicine, Department of Pathophysiology, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract Goats were exposed to a simulated 4000 m high altitude in a hypobaric chamber for 24 hours and then hemorrhagic shock was inflicted to them through bleeding. The goats of the control group were treated with normal saline infusion and those of the experimental group with an injection of vitamin C. Cardiac output (CO), activity of GSH－Px, an antioxidant enzyme, and lipid peroxide (LPO) level were determined. The findings were as follows: (1)The mean arterial pressure, CO and pH were decreased and GSH－Px activity increased during hemorrhagic shock. (2)After the administration of normal saline, LPO level was increased significantly but no futher change of CO, arterial pressure and pH was observed. The survival time of the animals was 7.38±7.96 hours. (3)After a bolus injection of vitamin C, arterial pressure, CO and pH were elevated and LPO level and GSH－Px activity decreased significantly. Two hours after retransfusion, CO, pH and LPO were restored to the control value. The survival time of the goats was 20.99±6.08 hours. These findings indicate that vitamin C, a scavenger for oxygen-derived free radicles, is effective to treat hemorrhagic shock since free radicles seem to play an important role in the pathogenesis of hemorrhagic shock at high altitude.

Key words shock, hemorrhagic; altitude; pipid peroxides; ascorbic acid

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