DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.02.019

自由基在休克时对肝脏亚细胞器的脂质过氧化损伤作用*

汪江淮 王 涛 陈惠孙 刁有芳 田昆仑 蒋建新 刘 韧
(第三军医大学野战外科研究所) 630042

提 要 本实验在大鼠内毒素、重度失血性休克模型上重点探讨氧自由基对肝脏亚细胞器的脂质过氧化损伤作用。结果发现,休克早期肝脏线粒体和溶酶体悬液 MDA 含量较对照均明显升高($P<0.05\sim0.01$),至休克后期升高更甚($P<0.01$)。休克早期肝脏线粒体悬液及溶酶体悬液 SOD 活力在内毒素休克时呈代偿性升高($P<0.05\sim0.01$),以后二种休克条件下肝脏亚细胞器 SOD 活力均明显下降($P<0.01$)。上述结果表明氧自由基在内毒素、重度失血性休克时能够引起肝脏线粒体、溶酶体等亚细胞器的脂质过氧化损伤。

关键词 游离基类;丙二醛;超氧化物歧化酶类;休克,脓毒性;大鼠

我们既往的工作已经证实氧自由基在肠系膜上动脉夹闭休克[1]、重度失血性休克[2]、内毒素休克[3]、创伤性休克[4]时对多个器官组织的脂质过氧化损伤作用,从而表明氧自由基在上 述休克条件下组织损伤的发生发展中具有重要作用。本实验在大鼠内毒素、重度失血性休克模型上通过测定肝脏线粒体和溶酶体悬液中氧自由基脂质过氧化反应代谢产物丙二醛(Malondialdehyde,MDA)含量和内源性超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase,SOD)活力的变化,重点探讨氧自由基在不同休克条件下对肝脏亚细胞器的脂质过氧化损伤作用。

1 材料和方法

1.1 动物准备

Wistar 种大鼠 58 只,性别不拘,称重 219±15g。实验前动物禁食过夜,自由饮水。3%戊巴比妥钠(3mg/100g 体重)腹腔麻醉后,动物固定于鼠台上,气管切开插管,自主呼吸。右颈总动脉插管接金属三通管按血压计或贮血瓶。

1.2 模型复制和分组

内毒素休克分为对照组($n=7$);休克 0.5 h 组($n=7$);休克 2 h 组($n=7$);休克 4 h 组($n=7$)。模型复制经大鼠尾静脉注入精制大肠杆菌($O_{111}B_5$)内毒素(3mg/kg 体重)(北京生物制品研究所产品),浓度 3mg/ml,同时经右颈总动脉放去相应容量血。重度失血性休克分为对照组($n=10$);休克 2 h 组($n=10$);休克 4 h 组($n=10$)。模型复制经大鼠右颈总动脉快速放血至贮血瓶,10min 内使平均动脉压下降到 4kPa,维持该血压水平至各实验时限。

1.3 指标测定

各组至各实验时限后经右颈总动脉快速放血致死,取肝组织匀浆,按差速离心法制成肝线粒体和溶酶体悬液,全部操作均 在 4℃条件下进行。肝脏线粒体和溶酶体悬液中 MDA 含量的测定按 TBA 荧光法[5],结果以 nmol/mg 蛋白表示。肝脏线粒体和溶酶体悬液中 SOD 活力的测定按化学发光法[3],化学发光测定系统为黄嘌呤氧化酶(Sigma),次黄嘌呤(Fluka)、Luminol(北京化工厂)和碳酸钠缓冲液(0.05mol/L,pH 10.2,EDTA 0.1mmol/L),结果以 u/mg 蛋白表示。

所有实验数据依 Student's 检验进行统计学处理,结果以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。

* 国家自然科学基金资助项目

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

2 结果

注入内毒素后平均动脉压10min内下降到7.73kPa，以后有所回升，3h后又复下降至9.60kPa，24 h 动物死亡率为75%。重度失血性休克模型的复制按改良 Wigger's 法，最大放血量 5.8±1.2ml，血液自动回输时间为低血压后 119±20min，休克 4 h 总回输血量 2.6±1.0ml，回输总血量占最大放血量的 44.8%，18 h 动物死亡率为 88%。

内毒素休克 0.5 h，肝脏线粒体和溶酶体悬液 MDA 较对照明显升高（$P<0.05$），休克 2 h 升高更甚（$P<0.01$），至休克 4 h 分别较对照升高 66%（$P<0.01$）和 51%（$P<0.01$）（表 1）。重度失血性休克时肝脏线粒体和溶酶体悬液 MDA 亦有明显升高，至休克 4 h 分别较对照升高 49%（$P<0.01$）和 49%（$P<0.01$）（表 2）。

表 1 内毒素休克时肝线粒体和溶酶体 MDA(nmol/mg 蛋白)的变化

Tab 1 Changes of MDA contents (nmol/mg protein) in hepatic mitochondria and lysosome suspension during endotoxic shock

	control	0.5 h after shock	2 h after shock	4 h after shock
mitochondria	70.1±5.0	82.4±6.0**	103.0±8.4△△**	116.2±9.9△**
lysosome	65.2±5.9	75.5±5.9*	91.4±7.9△**	98.4±7.1**

vs control *$P<0.05$, **$P<0.01$; *vs* neighboring △$P<0.05$, △△$P<0.01$.

表 2 重度失血性休克时肝线粒体和溶酶体 MDA(nmol/mg 蛋白)的变化

Tab 2 Changes of MDA contents (nmol/mg protein) in hepatic mitochondria and lysosome suspension during severe hemoorrhagic shock

	control	2 h after shock	4 h after shock
mitochondria	69.8±5.9	90.1±9.6**	104.1±9.4△**
lysosme	60.5±5.8	85.9±8.8**	90.1±8.1**

vs control **$P<0.01$;

vs neighboring △$P<0.05$.

内毒素休克时肝脏线粒体和溶酶体悬液：在休克后 0.5 h 较对照呈代偿性升高（$P<0.05$），以后逐渐明显下降（$P<0.05$～0.01）（图 1）。重度失血性休克 2 h，肝脏线粒体和溶酶体 SOD 较对照明显下降（$P<0.05$），休克 4 h 下降更甚（$P<0.01$）（图 2）。

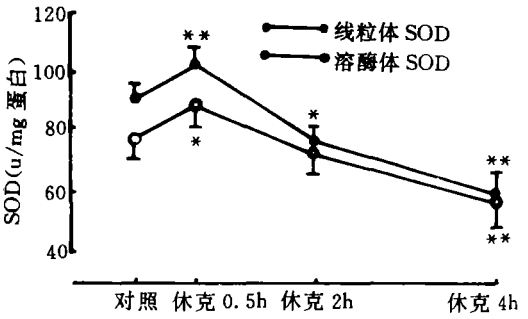


图 1 内毒素休克时肝线粒体和溶酶体 SOD 的变化

Fig 1 Changes of SOD in hepatic mitochondria and lysosome suspension during endotoxic shock

·—· SOD in mitochondria suspension,

◦—◦ SOD in lysosome suspension;

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

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

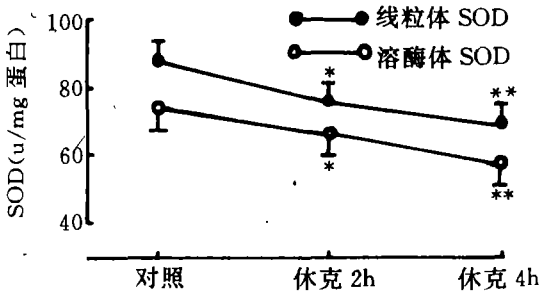


图 2 重度失血性休克肝线粒体和溶酶体 SOD 的改变

Fig 2 Changes of SOD in hepatic mitochondria and lysosome suspension during severe hemorrhagic shock

·—· SOD in mitochondria suspension,

◦—◦ SOD in lysosome suspension;

vs control, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$.

3 讨论

氧自由基是一类包括超氧自由基(O_2^-)、羟基(OH·)、过氧化氢(H_2O_2)、单线态氧($\dot{O}_2$)的自由基,在休克条件下主要通过与细胞或亚细胞器膜结构磷脂中多不饱和脂肪酸经链式或支链反应生成一系列脂质过氧化产物,从而导致细胞或亚细胞器的损伤[6]。MDA 是氧自由基与膜结构中多不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应所生成的一类终末代谢产物,因此测定 MDA 的含量不仅反映了氧自由基的生成多少,而且亦反映了细胞和亚细胞器膜结构脂质过氧化损伤的严重程度[7]。

本实验中,肝脏线粒体和溶酶体悬液 MDA 含量在内毒素休克后 0.5 h 和重度失血性休克后 2 h 已经较对照值明显升高,说明休克条件下氧自由基对肝脏亚细胞器的脂质过氧化损伤作用发生的早而严重。随着休克时相的延长和休克程度的加重,肝脏亚细胞器悬液中 MDA 含量越益升高,表明氧自由基介导的亚细胞器膜结构的脂质过氧化损伤越趋严重。组织内源性 SOD 是机体清除氧自由基的首要防线,其活力的高低反映了机体清除能力的强弱[8]。本实验中,内毒素休克后 0.5h 肝脏线粒体和溶酶体悬液 SOD 活力呈代偿性升高,但是分析此时相应亚细胞器悬液 MDA 含量,可以发现 SOD 活力的代偿性升高并不足以免除亚细胞器发生脂质过氧化损伤。内毒素、重度失血性休克 2 h 肝脏亚细胞器 SOD 活力均明显低于对照,以后下降更甚,表明休克后期内源性 SOD 活力严重受抑和损伤,此时肝脏亚细胞器的脂质过氧化损伤更趋严重。

本实验结果证实,氧自由基在内毒素、重度失血性休克时能够导致肝脏亚细胞器脂质过氧化损伤,而这种氧自由基介导的脂质过氧化损伤可能是休克时肝脏亚细胞器结构和功能破坏的重要原因之一。

参考文献

1. 汪江淮 陈惠孙 王 涛。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;5:325
2. 汪江淮 陈惠孙 王 涛,等。鼠重度失血性休克时自由基作用的研究。中华实验外科杂志,1989;6:116
3. Wang JH, Chen Huisun, Diao Youfang, et al. Changes of lipid peroxides and superoxide dismutase in visceral tissues during endotoxic shock in rats. J Med Colle PLA, 1990;5:141
4. 陈惠孙 汪江淮 刁有芳,等。促甲状腺素释放激素对创伤性休克大鼠脂质过氧化损伤的影响。中华医学杂志,1991;71:438
5. Ohkawa H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem, 1979;95:351
6. Freeman BA, Crapo JD. Free radicals and tissue damage. Lab Invest, 1982;47:412

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

7. Wang JH, Chen Huisun, Wang Tao, et al. Oxygen-derived free radicals induced cellular injury in superior mesenteric artery occlusion shock: Protective effect of superoxide dismutase. Circ Shock, 1990; 32: 31
8. Simmons K. Defence against free radicals has therapeutic implications. JAMA, 1984; 251: 2187

(收稿: 1992-06-08; 修回: 1993-02-15)

The effects of free radicals on lipid peroxidation injury of hepatic organelles during shock in rats

Wang Jianghuai, Wang Tao, Chen Huisun, et al (Research Institute of Field Surgery, Third Military Medical College, Chongqing, 630042)

Abstract The effects of oxygen-derived free radicals on the lipid peroxidation injury of the hepatic subcellular organelles were observed in rats after they were inflicted with endotoxic or hemorrhagic shock. It was found that in the early stage of shock, the content of malondialdehyde (MDA) of hepatic mitochondria and lysosome suspension were significantly increased ($P < 0.05 \sim 0.01$ vs the control values) and the activity of superoxide dismutase (SOD) in the hepatic mitochondria and lysosome suspension was compensatively elevated ($P < 0.05 \sim 0.01$); and in the late stage of shock, the hepatic organelle MDA content was markedly increased ($P < 0.01$) and their SOD activity decreased ($P < 0.01$). These findings suggest that oxygen-derived free radicals might be responsible for the lipid peroxidation injury of the hepatic subcellular organelles during endotoxic or hemorrhagic shock.

Key words free radicals; malondialdehyde; superoxide dismutase; shock, septic; rats

支气管粘液表皮样癌一例报告

张楚毅 黄 聪 (第三军医大学新桥医院呼吸中心) 630037

支气管粘液表皮样癌临床少见，文献报道不多；我科近期经手术切除并为病理检查证实一例，现报告如下。

男性，52 岁，住院号：130909。1992 年 6 月 19 日入院。患者因胸痛半年，咳嗽 2 月，在当地医院行胸部 X 线检查发现"左肺阴影"，诊断"左上肺炎"。经抗生素治疗吸收不明显，而来我院。既往无肺结核史，有嗜烟史 30 年，吸烟指数 600 年支。

查体：一般情况良好，无发绀、气急，体温 36.8℃，全身浅表淋巴结不肿大。胸廓对称，左上肺呼吸音减低，无罗音。心脏听诊无异常。腹平软，肝脾未触及。

实验室检查：血常规、血沉、肝肾功能均正常。痰抗酸杆菌阴性，痰癌细胞检查阴性。X 线胸片示左上肺块影，约 5cm×4.5cm 大小，有粗长毛刺；考虑为肺新生物。纤支镜检查示：左上叶 B^{1+2} 管口明显变窄，粘膜增厚，前壁可见外压性隆起，活检易出血。病理镜检示：粘膜纤维组织增生，有较多散在及灶性淋巴细胞浸润。

入院后拟诊左上叶肺癌，于 1992 年 7 月 13 日行术探查，左肺上叶有 8cm×6cm×6cm 大小的肿块，质硬，纵隔淋巴结肿大，疑诊癌肿行左肺上叶切除及纵隔淋巴结清扫。病理报告为左上肺粘液表皮

(下转 159 页)

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