DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.05.009

放射损伤、烧伤及复合伤时肝线粒体功能障碍与脂质过氧化作用

熊 业 陈宗荣 （第三军医大学卫防系 复合伤研究室）630038

提 要 本文采用小鼠6 Gyγ射线全身照射和20%Ⅱ度凝固汽油烧伤模型，观察了伤后9 d内单伤和复合伤小鼠肝线粒体脂质过氧化物、维生素E及巯基含量、细胞色素氧化酶活力、呼吸控制率和磷氧比值的变化。结果表明脂质过氧化作用在复合伤组早期增加呈现复合效应。维生素E含量在单伤组下降更明显。巯基含量在各伤组变化总趋势是升高。细胞色素氧化酶活力在单放组第7天显著升高。呼吸控制率和磷氧比值以复合伤组下降更明显。实验结果提示伤后肝线粒体呼吸功能障碍与脂质过氧化损伤有一定关系。

关键词 辐射损伤；烧伤；过氧化脂类；抗氧化剂；细胞色素氧化酶类；线粒体

近年来，已有较多的研究表明自由基和脂质过氧化作用（Lipid peroxidation，LP）在多种疾病的发病机理中起重要作用。线粒体膜因含较多的不饱和脂肪酸，易受自由基攻击发生LP，导致能量产生障碍，影响细胞功能。放烧复合伤是核战争和核事故的常见伤类，尚无文献报道从LP方面对复合伤时线粒体功能障碍的研究。本文观察了单放、单烧和放烧复合伤时小鼠肝线粒体脂质过氧化物（LPO）、抗氧化剂类、细胞色素氧化酶活力和呼吸功能的变化，旨在对单伤和复合伤损伤机理的认识有所深化。

1 材料与方法

1.1 动物

健康雄性昆明种小白鼠，体重25±5 g，本校动物所提供。

1.2 致伤

放射伤组（$n=5\sim8$）：60Coγ线6 Gy全身一次照射；烧伤组（$n=5\sim8$）：凝固汽油致背部皮肤20%Ⅱ度烧伤；复合伤组（$n=5\sim8$）：6 Gy照射后30min内烧伤；对照组（$n=11\sim15$）：背部剪毛不致伤。各组动物于伤后立即腹腔注射生理盐水，不作其他处理。

1.3 指标

于伤后1 d、3 d、5 d、7 d、9 d按前文方法制备肝线粒体，测定脂质过氧化物（LPO）、维生素E和巯基含量[1]、呼吸控制率和磷氧比值[1]、细胞色素氧化酶活力[2]。

1.4 主要试剂及仪器

细胞色素C和还原型谷胱甘肽（Sigman），1，1，3，3-四乙氧基丙烷（Fluka）。MPF-4型荧光分光光度计（日立），DU-7HS紫外可见光光度计（贝克曼），溶氧测定装置（国产）。

1.5 统计处理

所有数据以$\bar{x}\pm s$表示，经本校数学教研室提供的医用统计程序（PDA-2和PDA-3）处理，以判别组间的差异和相关关系。

2 结果

2.1 各伤组小鼠肝线粒体LPO动态变化

单放组LPO伤后第3天开始升高，第7天达高峰（$P<0.01$）。单烧组仅在第7天显著升高（$P<0.05$）。

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

复合伤组伤后第第1、3和7天非常显著升高（$P<0.01$），但伤后第5和9天降低（$P<0.05$）。

2.2 各伤组小鼠肝线粒体维生素E含量变化

对照组维生素E含量为$7.83\pm4.09\times10^{-2}$μg/mg线粒体蛋白（$n=12$）。单放组伤后第5和7天下降显著（$P<0.05$），分别为对照组的56%和49%，第9天为对照组的144%（$P<0.05$）。单烧组第1、3和5天分别为对照组的26%、40%和45%（$P<0.01$）。复合伤组无明显变化。

2.3 各伤组小鼠肝线粒体非蛋白质巯基和总巯基的变化

对照组非蛋白质巯基含量为$0.73\pm0.17\times10^{-8}$mol/mg线粒体蛋白（$n=13$）。单放组以伤后第9天升高非常显著（$P<0.01$），为对照的386%。单烧组于伤后第5和第9天分别为对照的419%及236%（$P<0.01$）。复合伤组变化不明显。

对照组总巯基含量为$8.61\pm2.09\times10^{-8}$mol/mg线粒体蛋白（$n=14$）。单放组伤后第3天为对照的207%（$P<0.01$），第9天为对照的66%（$P<0.05$）。单烧组伤后第1、5和9天分别为对照的173%、209%和184%（$P<0.01$）。复合伤组伤后第1天为对照的222%（$P<0.01$），第3天为对照的62%（$P<0.01$）。

2.4 各伤组小鼠肝线粒体呼吸控制率变化

各伤组呼吸控制率见附表。

附表 各伤组肝线粒体呼吸控制率（$n=5$）

Tab. Respiratory control ratios in liver mitochondria from different groups($n=5$)

Days postinjury	Radiation injury $\bar{x}\pm s$	Burn injury $\bar{x}\pm s$	Combined injury $\bar{x}\pm s$
1	$4.75\pm0.69^{\Delta\Delta}$	$5.34\pm0.94^{\Delta\Delta}$	$3.14\pm0.37^{**}$
3	$4.89\pm0.95^{\Delta}$	4.63 ± 0.48	$3.92\pm0.44^{**}$
5	$5.56\pm0.88^{*\Delta\Delta}$	4.33 ± 0.94	$4.06\pm0.39^{*}$
7	4.64 ± 0.89	4.76 ± 0.21	4.84 ± 0.45
9	$3.99\pm0.80^{**}$	$3.71\pm0.20^{**}$	$4.05\pm0.25^{*}$

notes: Control values are 4.85 ± 0.89 ($n=15$)

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

$^{\Delta}P<0.05$, $^{\Delta\Delta}P<0.01$ vs combined injury

2.5 各伤组小鼠肝线粒体磷氧比值变化

对照组值为1.74 ± 0.33（$n=15$）。单放组伤后第7和9天非常显著下降（$P<0.01$）。单烧组变化无统计学意义。复合伤组伤后第1、5和9天非常显著下降（$P<0.01$）。复合伤组伤后第1、5和9天磷氧比值非常显著地低于单伤组（$P<0.01$）。

2.6 各伤组小鼠肝线粒体细胞色素氧化酶变化

对照组酶活力为氧化了31.63 ± 9.68μmol还原型细胞色素C·min^{-1}·mg^{-1}线粒体蛋白（$n=11$）。单放组伤后第7天升高为对照的227%（$P<0.01$）。单烧组伤后第3、5和9天分别为对照的40%、48%和51%（$P<0.01$）。复合伤组伤后第5和7天分别为对照的55%和47%（$P<0.05$）。

3 讨 论

3.1 放射伤后脂质过氧化作用与抗氧化剂变化的关系

本实验小鼠经6 Gy全身照射后，维生素E逐渐下降而脂质过氧化物逐渐升高，两者呈负相关（$r=-0.87$，$P<0.01$）。Brown发现提高健康人红细胞维生素E含量可增加红细胞对

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

照射引起的溶血的抵抗力[3]。这提示维生素E通过清除自由基而保护生物膜。本实验线粒体巯基总趋势是升高。Reichard等发现大鼠经650伦X线全身照射后脾组织非蛋白巯基(NPSH)持续升高，肾组织NPSH一直下降，而肝组织NPSH变化波动，认为肝脏合成的巯基入血被放射敏感组织优先利用[4]。外源性巯基可保护不饱和脂肪酸被射线引起的过氧化损伤[5]。照后巯基升高可能为细胞的代偿性抗自由基作用。照后脂质过氧化作用加速不仅与维生素E下降有关，而且与氧由自基产生增加和抗氧化酶活力下降有关[6]。本实验发现照后产生氧自由基的细胞色素氧化酶活力与LPO呈现显著相关（$r = +0.94$，$P<0.01$）。

3.2 烧伤后脂质过氧化作用与抗氧化剂变化关系

本文20% Ⅲ度烧伤后第7天小鼠肝线粒体LPO显著升高，而维生素E含量在伤后第1至5天已明显下降。说明抗氧化能力下降是LPO升高的原因之一。Nishigaki发现烧伤皮肤中LPO早期升高，内脏组织中LPO升高较晚，认为皮肤中LPO可入血，激活中性粒细胞NADPH氧化酶释放氧自由基，引起远离烧伤部位组织细胞损伤[7]。烧伤后细胞色素氧化酶活力下降，提示此酶产生的氧自由基有所减少。烧伤后巯基升高机理不清楚。

3.3 放烧复合伤脂质过氧化作用与抗氧化剂变化关系

本文见放烧复合伤第1天肝线粒体LPO明显高于单伤组，复合效应大于两伤之和；第3天复合效应小于两伤之和；第5和9天则小于单伤效应。复合伤组维生素E含量与单伤组比没有显示出差异。总巯基第1天升高，小于两伤之和；第3天显著下降，而单伤组升高。复合伤组细胞色素氧化酶活力下降，可能与该酶活力有关的脂类发生了过氧化损伤，以及酶蛋白降解和合成受阻有关。

3.4 伤后肝线粒体呼吸功能障碍与脂质过氧化作用的关系

LPO为不稳定氧化物，可均裂产生新的自由基，引起线粒体膜LP[1]。本文各伤组LPO高峰时或高峰后，呼吸控制率明显下降。单伤组呼吸功能障碍发生较晚；复合伤时早期就发生。磷氧比值在单放组第9天达最低值；单烧组早期下降，9天即恢复正常；复合伤组早、晚期均下降。说明线粒体发生LP损伤后，线粒体氧化磷酸化能力下降。LP损伤可以影响呼吸链复合物中脂类和酶活力。本实验见细胞色素氧化酶活力除单放组第7天升高外其余各时相点均下降，此酶活力下降可能是LP损伤所致。总之，本实验说明LP损伤是线粒体呼吸功能障碍的重要因素之一。

（致谢：本实验线粒体分离得到校离心机室潘峰同志支持，在此表示感谢！）

参考文献

1. 熊业　陈宗荣。氢过氧化枯烯引起离体线粒体脂质过氧化作用的初步研究。第三军医大学学报 1989；11（2）：117
2. Yonetani, T. Assay of cytochrome c oxidase. Methods in Enzymol 1967；10：332
3. Brown, MA. Resistance of human erythrocytes containing elevated levels of vitamin E to radiation-induced hemolysis. Radiat Res 1983；95（2）：303
4. Reichard, SM, Galvin, MJ. Tissue nonprotein sulfhydryl levels in rats following exposure to irradiation. Proc Soc Exptl Biol Med 1980；165：275
5. Konings, AWT, Oosteroloo, SK. Radiation effects on membranes. Radiat Res 1980；81（2）：200
6. Kergonou, J-F, Braquet M, Rocquet G. Influence of wholebody γ irradiation upon

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

rat liver mitochondrial function. Radiat Res 1981; 88 (2) :377
7. Nishigaki, I. Effect of thermal injury on lipid peroxide levels of rat. Biochem Med 1980; 24:185

(收稿: 1990.02.07; 修回: 1991.07.14)

Hepatic mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation after and radiation-burn injuries in mice

Xiong Ye, Chen Zongrong (Department of Radiation Medicine, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract Male mice were subjected to 6 Gy total body irradiation, 20% TBSA full thickness burns, or both the injuries respectively, and then lipid peroxides (LPO), vitamin E, sulfhydryl groups, respiratory control ratio (RCR), ADP/O ratio, and cytochrome oxidase activity of hepatic mitochondria were determined in the animals in the first 9 postinjury days. It was found that:

1. LPO level increased in the early postinjury stage in the combined radiation-burn injury group.
2. Vitamin E level decreased significantly in both the groups with either only irradiation or burns.
3. The sulfhydryl groups showed a tendency to increase in all the 3 groups.
4. The activity of cytochrome oxidase increased signficantly on the 7th postinjury day in the combined injury group.
5. RCR and ADP/O ratios decreased more significantly in the combined injury group than in either the single injury group.

These facts suggest that the suppression of the respiratory function of hepatic mitochondria results from the damage of mitochondrial membranes due to lipid peroxidation.

Key words radiation injury; burn injury; lipid peroxidation; antioxidant; cytochrome oxidase; mitochondrium

---

食管腔内息肉状恶性纤维组织细胞瘤一例

向杰 范士志 (第三军医大学大坪医院 胸外科) 630042

患者: 男, 63岁。90年6月下旬进食干饭出现梗噎, 感胸骨后疼痛, 持续1 min～2 min消失。自觉食物在下胸骨后受阻, 伴嗳气, 呃逆。继之上述症状逐渐加重, 仅能进半流质。1990年7月入院, 食管吞钡检查示: 相当于T_6水平处有8.0cm充盈缺损, 粘膜破坏, 病灶向食管腔内凸出, 局部管腔扩大, 僵硬, 蠕动消失。稀钡尚可缓慢通过。纤维胃镜检查示: 距门齿29cm处可见从食管壁向腔内突出肿瘤, 表面有约5 cm糜烂。活检病理报告为软组织细胞瘤性质待定。8月30日患者在全麻下行食管肿瘤切除, 胃食管吻合术, 切除肿瘤大小8cm×5 cm×4 cm, 主要向食管腔内凸出, 其表面有多处糜烂。显微镜下观察见瘤细胞多形性明显, 呈梭形、多角形、圆形及不规则形, 可见较多的多形性瘤巨细胞, 异型性明显, 核分裂像多

(下转450页)

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