DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.04.005

γ射线及烧伤复合伤对鼠肝LPO作用和相关酶活性的影响

徐 辉 陈宗荣（第三军医大学卫防系 复合伤研究室） 630038

提 要 本文观察了γ射线及烧伤复合伤后 1d～10d 内大鼠肝线粒体MDA含量、细胞色素氧化酶、NADH-细胞色素C还原酶、CAT和SOD活力的动态变化，以反映肝线粒体内氧自由基、MDA产生和抗氧化机制的变化。结果表明线粒体MDA含量在烧伤、γ射线损伤和放烧复合伤后第2天、6天明显升高，其中烧伤组第10天有第3次高峰出现。细胞色素氧化酶和NADH-细胞色素C还原酶活力在3种损伤后有明显上升，而CAT和SOD活力在3种损伤后有明显下降。γ射线、烧伤及复合伤造成线粒体内产生O_2^-和H_2O_2的酶活力增加，同时伴有清除O_2^-和H_2O_2的CAT和SOD酶活力下降，这是造成线粒体膜脂质过氧化作用加速的原因之一。

关键词 辐射损伤；烧伤；脂过氧化脂类；游离基类；线粒体

肝线粒体是细胞的能量发生器，膜中含大量不饱和脂肪酸，是脂质过氧化作用（Lipid peroxidation，LPO）的多发部位[1]。目前有关γ射线造成线粒体损伤已有文献报道，但尚未见γ射线复合烧伤时大鼠肝线粒体LPO及酶学变化方面的报道，因此有必要对其进行深入的研究。本文观察了γ射线、烧伤及放烧复合伤后大鼠肝线粒体MDA含量、细胞色素氧化酶、NADH-细胞色素C还原酶、过氧化氢酶（catalase，CAT）和超氧化物歧化酶（Superoxide dismutase，SOD）活力的动态变化，以求对放射损伤、烧伤以及放烧复合伤的损伤机理有进一步的认识。

1 材料和方法

1.1 动物模型

雄性Wistar种大白鼠，体重200g～300g，分4组：对照组20只；放射损伤组60只；烧伤组60只；放烧复合伤组60只。放射组大鼠以本室^{60}Co γ射线作一次性全身照射，距离3.2m，剂量率0.1547GY/min，总剂量为5GY。烧伤组在乙醚轻度麻醉下以5kw溴钨灯行背部皮肤光辐射烧伤，距离50cm，时间28s，总面积15%TBSA，深度达Ⅱ度。放烧损伤组大鼠按上法先照射后烧伤，两次伤最大间隔时间不超过40min。各组于致伤后1d～10d分天活杀进行观察，共10个时相点。

1.2 观察指标

肝线粒体制备按Aprille法[2]；线粒体蛋白测定用Lowry法；MDA含量测定采用Ohkawa的TBA显色法[3]；细胞色素氧化酶及NADH-细胞色素C还原酶活力的测定采用Beaufay法[4]；CAT活力测定用Aebv法[5]；SOD活力测定用Elstner的亚硝酸盐形成法[6]。

1.3 资料处理

数据以平均值±标准差表示，用Student t检验作统计分析。

2 结 果

实验结果表明γ射线、烧伤及放烧复合伤后鼠肝MDA含量在第2天、6天有高峰出现，其中烧伤组在伤后第10天有第3次高峰出现。细胞色素氧化酶和NADH-细胞色素C还原酶活力有升高，CAT和SOD活力有下降，详见表1～表5。

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

表1　3种伤情MDA含量动态变化以及正常对照的百分比值 ($n=6$)

Tab.1 Dynamic changes of MDA concentriation in rat liver mitochondria inflicted by burn, irradiation and combined burn-radiation injury ($n=6$)

Days after injury	Burn group		Radiation group		Combined burn-radiation group	
	$\bar{x}\pm s$	%	$\bar{x}\pm s$	%	$\bar{x}\pm s$	%
1	0.184±0.027	106	0.192±0.027	111	0.176±0.047	102
2	*0.231±0.045	143	*0.218±0.025	126	*0.229±0.016	132
3	0.188±0.017	109	0.161±0.026	93	0.178±0.026	103
4	0.179±0.020	103	0.176±0.016	102	0.181±0.064	105
5	0.134±0.019	77	0.166±0.032	69	0.164±0.049	94
6	**0.258±0.074	149	*0.237±0.059	137	**0.248±0.024	143
7	0.157±0.029	91	0.176±0.030	102	0.162±0.026	94
8	0.168±0.036	97	0.145±0.041	84	0.187±0.047	108
9	0.131±0.078	76	0.146±0.066	95	0.169±0.065	98
10	*0.230±0.032	133	0.154±0.026	89	0.174±0.043	101

Note: Normal value is 0.173±0.059 nmol MDA/mg pro ($n=18$) .*$P<0.05$, **$P<0.01$

表2　3种伤情细胞色素氧化酶活力动态变化以及与正常对照的百分比值 ($n=6$)

Tab.2 Dynamic changes of cytochrome oxidase activity in rat liver mitochondria with three kinds of injury ($n=6$)

Days after injury	Burn group		Radiation group		Combined burn-radiation group	
	$\bar{x}\pm s$	%	$\bar{x}\pm s$	%	$\bar{x}\pm s$	%
1	6.99±1.78	120	7.26±2.93	124	7.11±1.57	122
2	**9.76±2.37	167	**12.14±3.43	208	**12.94±3.41	220
3	6.07±1.33	104	*12.28±0.78	210	6.82±2.51	117
4	**16.02±3.85	274	**10.72±3.35	184	**11.99±3.80	205
5	**10.32±2.52	176	7.58±2.82	130	7.31±2.21	125
6	6.32±2.02	108	**10.11±3.26	173	7.04±2.31	121
7	**11.00±1.87	188	**12.56±1.23	215	**10.71±1.82	183
8	**10.93±5.99	187	**11.09±5.01	171	** 9.19±3.53	157
9	** 9.72±3.74	166	7.49±1.76	128	**10.52±2.07	180
10	** 9.93±9.93	170	**12.78±0.91	219	**11.99±3.37	205

Note: Normal value is 5.84±2.28u/mgpro ($n=16$) .*$P<0.05$, **$P<0.01$

1u表示每分钟吸光度变化的对数差为1。

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

表3 3种伤情NADH-细胞色素C还原酶活力动态变化以及与正常对照的百分比值 ($n=6$)

Tab.3 Dynamic changes of NADH-cytochrome C reductase activity in rat liver mitochondria with three kinds of injury ($n=6$)

Days after injury	Burn group		Radiation group		Combined burn-radiation group	
	$\bar{x}\pm s$	%	$\bar{x}\pm s$	%	$\bar{x}\pm s$	%
1	127.65±29.43	111	101.31±13.00	88	101.71±21.32	96
2	134.89±48.53	117	*147.69±28.49	128	*150.43±29.92	131
3	88.63±27.79	77	133.94±45.46	116	132.48±55.01	115
4	141.55±88.80	123	**176.58±33.40	153	**172.61±15.53	150
5	118.99±27.58	103	*148.40±17.03	129	138.73±21.98	121
6	110.12±39.03	96	124.95±48.72	108	127.56±36.69	111
7	143.83±32.73	125	119.85±20.73	104	143.23±27.49	124
8	129.95±41.45	113	123.08±28.65	107	123.59±56.27	107
9	130.62±41.67	113	137.28±36.37	119	133.19±15.34	116
10	78.41±43.22	98	132.68±22.33	115	131.03±23.29	114

Note: Normal value is 115.12±29.65 μmol oxidocytochrome C min/mg pro ($n=18$) .*$P<0.05$ **$P<0.01$

表4 3种伤情CAT活力动态变化以及与正常对照的百分比值 ($n=6$)

Tab. 4 Dynamic changes of catalase activity in rat liver mitochondria with three kinds of injury ($n=6$)

Days after injury	Burn group		Radiation group		Combined burn-radiation group	
	$\bar{x}\pm s$	%	$\bar{x}\pm s$	%	$\bar{x}\pm s$	%
1	17.43±7.56	76	21.90±7.93	92	23.23±7.53	101
2	** 7.33±2.03	32	**15.95±4.43	69	**12.11±4.73	53
3	22.90±6.14	99	** 9.45±2.41	41	**13.21±5.59	57
4	18.58±9.96	81	**14.24±3.99	62	**14.97±9.03	65
5	** 7.83±1.88	134	**15.59±4.75	68	**8.12±2.75	35
6	29.81±12.72	29	**13.63±3.87	59	**7.04±2.31	31
7	**12.67±5.05	55	**11.92±2.21	52	**5.07±2.54	25
8	**11.33±4.31	49	**11.09±5.01	48	**7.89±3.57	34
9	16.76±6.46	73	*17.58±8.60	79	17.90±4.93	78
10	18.72±2.81	81	*16.15±5.75	70	25.80±4.43	120

Note: Normal value is 23.04±7.06u/mg pro ($n=18$) .*$P<0.05$, **$P<0.01$

1 u表示每分钟吸光度变化的对数差为1。

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

表5　3种伤情SOD活力动态变化以及与正常对照的百分比值（$n=6$）

Tab. 5 Dynamic changes of SOD activity in rat liver mitochondria with three kinds of injury ($n=6$)

Days after injury	Burn group		Radiation group		Combined burn-radiation injury	
	$\bar{x}\pm s$	%	$\bar{x}\pm s$	%	$\bar{x}\pm s$	%
1	**17.78±3.29	51	**16.62±4.74	48	**19.17±2.85	55
2	**25.19±4.54	73	**22.22±3.93	64	30.93±6.17	89
3	**16.67±2.38	48	**13.80±3.23	40	**16.30±5.39	47
4	*29.22±3.23	84	**22.87±5.39	66	**26.07±3.15	75
5	**17.92±3.56	52	**16.85±2.85	49	**23.20±4.29	67
6	**21.25±3.62	61	**13.33±3.01	38	**16.25±3.87	47
7	**27.78±3.20	80	**27.22±2.33	78	*27.78±4.17	80
8	**17.32±3.30	50	**17.40±3.21	50	**21.44±3.83	62
9	**19.54±1.87	56	**21.81±3.02	63	**22.27±3.83	64
10	**13.47±3.34	39	**10.28±1.82	30	**23.15±1.82	67

Note: Normal value is 34.72+9.06u/mg pro ($n=12$). *$P<0.05$, **$P<0.01$

1 u定义为抑制50%显色程度所需的SOD浓度即C_{50}。

3 讨　论

在生理条件下线粒体内能够产生O_2^-和H_2O_2，产生O_2^-的主要部位在复合物Ⅰ和Ⅲ处[7,8]。NADH-细胞色素C还原酶是酶复合物，由复合物Ⅰ和Ⅲ组成，此酶活力升高可以间接说明复合物Ⅲ浓度和活性升高，反映出呼吸链中O_2^-产生增加[9]。本实验发现放射损伤、放烧复合伤发生后此酶活力升高，说明此时O_2^-产生增多，在烧伤组此酶活力无显著变化。

细胞色素氧化酶是呼吸链的终末酶，它的活力增加间接反应呼吸链中O_2^-生成增加[10]。放射损伤、烧伤及放烧复合伤后此酶活力都有明显升高，说明伤后线粒体内产生O_2^-是增多的。

在正常情况下线粒体内的O_2^-可被Mn-SOD歧化，转变为H_2O_2，而H_2O_2又在CAT的催化下分解，使O_2^-和H_2O_2不致于发生积聚，造成损害。本实验发现放射损伤、烧伤及放烧复合伤后线粒体内SOD和CAT活力有比较明显的下降，表明伤后线粒体抗氧化能力下降。正常生物体内氧自由基产生和清除处于一个相互平衡的状态，以保证组织细胞功能正常，而这一平衡遭到破坏必然导致氧自由基损害，引起脂质过氧化损伤的发生[11]。在烧伤、放射损伤及放烧复合伤发生后线粒体内生成O_2^-和H_2O_2的酶活力增加，同时伴有清除酶活力下降，说明3种损伤导致了线粒体内氧化和抗氧化平衡的破坏，这必然导致膜脂过氧化作用发生以及LPO的生成，进而引起线粒体结构和功能损伤。

本文大鼠经5GY γ射线全身照射后，肝线粒体MDA含量在伤后第2天、第6天显著上升，分别为正常对照值的126%（$P<0.05$）和137%（$P<0.01$）。证明放射损伤后线粒体脂质发生了过氧化损伤，且具有峰值。Kergonou[10]认为电离辐射形成的氧自由基离子和分子寿命较短，不可能直接引起脂质过氧化高峰出现，高峰出现的可能原因在于产生氧自由基酶活

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

性增高，同时伴有清除酶活力下降。本实验证实了此结论。另外SOD酶具有抗放射效果[11]，由于放射损伤造成此酶活力下降，这也是造成线粒体损伤的可能原因。

有关烧伤导致脂质过氧化损伤已有许多文献报道。本文发现15%TBSAⅢ度烧伤大鼠肝线粒体MDA含量在第2天、第6天、第10天分别达高峰，为正常对照的134%（$P<0.05$），149%（$P<0.01$）和133%（$P<0.05$）。可见烧伤导致线粒体脂质发生了过氧化损伤。但与放射损伤和放烧复合伤不同的是，烧伤后第10天MDA有第3次高峰出现。这可能和白细胞吞噬时"呼吸爆发"产生O_2^-增多有关。白细胞在吞噬时能产生O_2^-和H_2O_2，其物质基础是白细胞内含的NAD(P)H氧化酶。烧伤后第10天创面感染严重，导致大量白细胞聚集创面，在吞噬过程中，产生O_2^-增多，在杀灭病原体同时，造成吞噬细胞自身及邻近组织损伤[12]。在放射损伤和放烧复合伤发生后第10天，创面感染严重，但由于造血功能尚未恢复，体内白细胞计数尚处于下降阶段，产生O_2^-和H_2O_2相对少些，不能使MDA含量显著上升。

有关放射复合烧伤后脂质过氧化作用尚未见文献报道。本实验发现放射复合烧伤后MDA含量在第2天、第6天显著上升，分别为正常对照的132%（$P<0.05$）和143%（$P<0.01$）。与烧伤和放射损伤组比较除第10天烧伤组MDA显著升高而不同外，其余9个时相点MDA含量在放烧复合伤时并未见显著差异。其余指标与烧伤和放射损伤比较也未见明显加重作用。对于本实验中放烧复合伤未见明显加重的原因不清楚，由于目前尚缺乏有关复合损伤量效关系的具体研究，因此对本实验现象暂时不能得到满意解释，这部份工作有待进一步深入。

参 考 文 献

1. Tappel AL. Lipid peroxidation damage to cell components. Fed Proc 1973; 32(8):1870
2. Aprille JR, Hom JA, Rulfs J. Liver and skeletal muscle mitochondrial function following burn injury. J Trauma 1977; 17(4):279
3. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid detection. Anal Biochem 1979; 95:351
4. Beaufay H, Amar-Costesec A, Feytmans E, et al. Analytical study of microsomes and isolated subcellular membranes from rat liver. J Cell Biol 1974; 61:188
5. Aebi HE. Catalase. In Methods of Enzymatic Analysis(Bergmeyer HU. Ed). Vol III, Verlag Chemie, Florida, 1983:277
6. Elstner EF, Heupel A. Inhibition of nitrite formation from hydroxylammonium-chloride: A simple assay for superoxide dismutase. Anal Biochem 1976; 70:616
7. 周玫，陈瑗。自由基的产生及其在某些疾病中的作用。中国病理生理学报 1987; 3(3):176
8. Cadenas E, Boveris A, Ragan CI, et al. Production of superoxide radical and hydrogen peroxide by NADH-ubiquinone reductase and ubiquinone-cytochrome C reductase from beef-heart mitochondria. Arch Biochem Biophys 1977; 180:248
9. Ragan CI, Christine H. The interaction between mitochondrial NADH-ubiquinone oxidoreductase and ubiquinone-cytochrome C oxidoreductase. Biochem J 1978; 174:783
10. Kergonou JF, Braquet M, Rocquet G. Influence of whole-body irradiation upon rat liver mitochondrial fraction. Radiat Res 1981; 88:377
11. Symonyan MA, Nalbandyan RM. The effect of X-rays on properties of superoxide dismutase. Biochem Biophys Res Commun 1979; 90(4):1207
12. 丁延楷。肺血管内嗜中性白细胞聚集与急性肺损伤。中国病理生理杂志 1986; 2(2):104

（收稿：1990.10.05；修回：1991.06.11）

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

Effects of Radiation, Burns and Combined Radiation-burn Injury on Hepatic Lipid Peroxidation and Relative Enzyme Activity in Rats

Xu Huei, Chen Zongrong (Department of Radiation Medicine, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract Rats were divided into 3 groups and inflicted with total body irradiation of 5 Gy of gamma rays from a ^{60}Co source, 15% TBSA full thickness burns, or both of them respectively. The changes of lipid peroxide, cytochrome oxidase, NADH-cytochrome C reductase, catalase and superoxide dismutase activities were observed. It was found that the MDA content of hepatic mitochondria was significantly elevated in all the 3 goups on the 2nd and 6th day postinjury, and there was a third peak of MDA elevation in the the burn group on the 10th day postinjury. The increase of MDA in hepatic mitochondria was probably due the combined action of 2 factors: (1) increased production of toxic active oxygen species such as O_2^- and H_2O_2 as a result of increased activity of NADH-cytochrome C reductase and cytochrome oxidase, and (2) alterations of the defence mechanism against this active oxygen species due to lowered activity of superoxide dismutase and catalase.

Key Words radiation injury; thermal burns; lipid peroxidation; oxygen free radical; mitochondrium.

膀胱子宫内膜异位一例报告

游 箭 （第三军医大学西南医院 放射科） 630038
彭 勇 （第三军医大学新桥医院 放射科） 630037

病例 女，35岁。以行经后尿频、尿痛、尿急反复发作2年，膀胱肿块1年入院。近1年，多次B超认为膀胱肿块并进行性增大。膀胱镜前2次见膀胱内突起，活检为炎症，第3次见三角区偏右有3cm×3cm区域滤泡样水肿向腔内突出，其下方有黄豆大小紫蓝色组织突起。既往有剖腹产史。查体见子宫后位、稍大、活动，子宫前方膀胱与腹部切口处有粘连之包块，不规则，欠活动。外阴、阴道和附件未见异常。血、尿、大便常规未见异常。IVP见膀胱中央3cm×3.5cm透光区，提示膀胱新生物。B超见子宫颈后壁2.1cm之相对回声，分界尚清；膀胱底部4.0cm×2.9cm强回声，经震动不变形；提示膀胱赘生物，子宫肌瘤。CT见膀胱底部偏右0.8cm结节影，边缘光滑，局部膀胱壁增厚，子宫增大，提示膀胱癌和子宫肌瘤。手术见膀胱底部偏右约3cm×2.7cm隆起肉芽组织，质中，包块下方有黄豆大小紫蓝色组织突起。探查腹腔们及子宫体近颈部有中等硬度包块。切除膀胱肿块。病理诊断为膀胱子宫内膜异位症。

讨 论

膀胱子宫内膜异位症属罕见病，好发年龄为20岁～45岁女性病人。其特点为（1）临床症状有周期性并与月经期关系密切[1]；（2）膀胱镜见有紫黑色结节或囊性肿块，活检多无诊断意义，但可除外恶性肿瘤[2]；（3）影象学表现为膀胱占位。本例因其占位而误诊为膀胱肿瘤，忽视了症状与月经期的关系。因此应提高对本病的认识，达到正确诊断。

关键词 子宫内膜异位症；膀胱；影象诊断

参 考 文 献

1. 王健 孙玉成 李进。膀胱子宫内膜异位症一例。临床泌尿外科杂志 1989;4(4):224
2. Chalmers JA. Endometriosis. Ist ed. London and Boston: Butterworths 1975:63

（收稿：1991.03.07；修回：1991.06.10）

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