DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.06.011



# TRH对大鼠脊髓损伤脂质过氧化的影响

何凤慈 龙在云 周 立 刘英炳 胡德耀（野战外科研究所）

**提 要** 本实验以大鼠脊髓损伤(SCI，50gcm)模型，研究TRH对SCI脂质过氧化的影响。结果表明，于SCI后立即iv不同剂量的TRH(0.2mg/kg，0.6mg/kg，2.0mg/kg，每小时1次，连续4次)，可显著地抑制伤段脊髓组织脂质过氧化反应，使丙二醛（MDA）含量显著降低，并呈剂量依赖关系；TRH还可使组织超氧化物歧化酶（SOD）活性明显升高。提示TRH抗SCI脂质过氧化反应是通过升高SOD活性，清除自由基（尤其是氧自由基）介导的，它可能是1种有效的自由基清除剂。

**关键词** TRH；脊髓损伤；脂质过氧化；自由基；超氧化物歧化酶

促甲状腺激素释放激素（TRH）是1种内源性神经三肽，广泛地分布于中枢神经系统，起着内源性兴奋性神经递质或调节物的作用。文献报道TRH作为内源性阿片受体拮抗剂，用于治疗SCI可改善神经功能，其疗效优于纳络酮和大剂量糖皮质激素[1]。本实验以大鼠实验性SCI模型，研究TRH对大鼠SCI脂质过氧化终产物丙二醛（MDA）生成和游离脂肪酸（FFA）释放及超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响，旨在阐明TRH治疗SCI的部分作用机理。

## 1 材料和方法

### 1.1 大鼠SCI模型的复制

成年雄性Wistar大鼠60只，体重234±29g，戊巴比妥钠(40mg/kg，ip)麻醉，常规切除$T_{13}$～$L_1$椎板，暴露脊髓，按Allen's法(50gcm)损伤脊髓。于伤后立即静脉注射不同剂量(0.2mg/kg、0.6mg/kg、2.0mg/kg)TRH，以后每小时由尾静脉给药1次，连续4次（剂量同前）。4h取出伤段脊髓，以生理盐水（NS，含0.1mmol/L EDTA）按1:50（W/V）用内切式匀浆机（ZS83-1型，浙西机械厂）在冰浴下制备组织匀浆备作生化测定。

### 1.2 MDA测定

取脊髓匀浆0.2ml，按TBA法[3]用荧光分光光度计（RF-520型，日本岛津）测定荧光强度（激发波长515nm，发射波长553nm，狭缝10nm），计算MDA含量，结果以nmol/mg蛋白表示。

### 1.3 FFA测定

参照血清铜试剂法[4]稍加修改。以脊髓匀浆0.3ml加入测定管中，空白管和标准管分别加入双蒸水和棕榈酸（100μmol/L），氯仿抽提，离心(1800×g，10min)，取氯仿层显色，混匀后用分光光度计(721-A型，四川分析仪器厂)比色（440nm），计算FFA含量（μmol/g·湿重组织）。

### 1.4 SOD活力测定

取脊髓匀浆2ml，用无水乙醇-氯仿抽提[5]，抽提液按焦性没食子酸-NBT法[6]比色（540nm），计算抑制百分率和比活性（U/mg蛋白）。

### 1.5 蛋白含量测定

蛋白定量按Lowry's法[7]进行。

## 2 结果

### 2.1 大鼠SCI后脊髓MDA、FFA、和SOD活性的变化

大鼠SCI（50gcm，4h）后，双后肢瘫痪，脊髓组织MDA生成和FFA释放显著增加，SOD活性显著降

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

低，与正常对照组比较P<0.01。（见表1）

表1 大鼠SCI（50gcm，4h）MDA生成，FFA释放和SOD活性的变化。$\bar{X}\pm SD$

| 组 别 | MDA (nmol/mg protein) | FFA (μmol/g·湿重组织) | SOD (U/mg protein) |
|---|---|---|---|
| 正常对照组 | 26.1± 9.7(12) | 11.3± 3.8 | 2.83±0.09(11) |
| SCI 组 | 39.8±14.6(11)** | 59.3±10.1** | 0.39±0.09(9)** |

括号内数字为动物数；与正常对照组比较 * P<0.05，** P<0.01。

### 2.2 TRH对SCI MDA生成和FFA释放的影响

不同剂量的TRH（0.2mg/kg、0.6mg/kg、2.0mg/kg）对大鼠SCI后脂质过氧化反应均有非常显著的抑制作用，使组织MDA生成明显减少，与盐水对照组比较均为P<0.01，（见表2）；TRH抑制MDA生成呈剂量依赖关系。但对FFA释放并无明显影响（P>0.05）（见表2）。

表2 TRH对大鼠SCI（50gcm，4h）MDA生成，FFA释放和SOD活性的影响。$\bar{X}\pm SD$

| 组 别 | MDA (nmol/mg protein) | FFA (μmol/g·湿重组织) | SOD (U/mg protein) |
|---|---|---|---|
| NS对照组 | 34.7±9.9(8) | 59.3±10.4(10) | 0.35±60.11(10) |
| TRH 组 | | | |
| 0.2mg/kg | 18.4±5.9(9)** | 55.7± 2.9(11) | 0.45±0.15(11)* |
| 0.6mg/kg | 16.2±5.9(7)** | 54.7± 2.8(8) | 0.52±0.20(10)** |
| 2.0mg/kg | 15.0±1.4(6)** | 53.4± 3.1(9) | 0.61±0.23(8)** |

括号内数字为动物数；与NS对照组比较 * P<0.05，** P<0.01。

### 2.3 TRH对SOD活性的影响

TRH（0.2mg/kg、0.6mg/kg、2.0mg/kg，iv）可使大鼠伤段脊髓组织SOD活性显著升高，与盐水对照组比较分别为P<0.05和P<0.01（见表2）；TRH升高SOD活性亦呈剂量依赖关系。

## 3 讨论

SCI后局部微循环障碍，神经组织缺血缺氧，磷脂酶激活使膜磷脂降解、释放大量的游离脂肪酸；又由于缺血缺氧性损伤使自由基产生增加，组织抗氧化能力降低，细胞膜发生脂质过氧化反应，发生继发性神经损伤。应用抗氧化剂或自由基清除剂能有效地改善组织缺血，促进神经功能的恢复，也表明自由基和脂质过氧化反应在SCI继发性损伤中起重要作用[8]。本实验结果表明，大鼠SCI（50gcm，4h）后肢瘫痪，损伤段脊髓FFA释放和MDA生成均显著增加，同时SOD活性显著降低，提示在本实验模型中，其继发性损伤过程就伴有膜磷脂的降解和自由基〔特别是超氧自由基（$O_2^-$）〕介导的膜脂质破坏，从而使结构蛋白质变性，神经功能障碍。

阿片受体拮抗剂能够促进SCI后神经功能恢复，增加组织血流量，并维持诱发电位恢复正常。纳络酮不仅是阿片受体拮抗剂，而且具有抗氧化作用，能够抑制金属引起的脂质过氧化反应，其抑制MDA产生的作用随用药剂量增大而加强[9]。本实验结果也表明TRH可显著地抑制SCI膜脂质过氧化反应，使MDA含量明显降低，并呈剂量依赖关系。TRH在抑制MDA产生的同时，还可使SOD活性显著升高。由此推测，TRH抗脂质过氧化反应是通过升

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

高SOD活性，清除自由基（尤其是$O_2^-$）介导的，这也可能与其促进神经功能恢复的机理有关。

## 参考文献


1. Arias MI. Treatment of experimental spinal cord injury with TRH, naloxone and dexamethasone. Surg Neurol 1987;28:335
2. Allen AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocatiou of spinal column. JAMA 1911;57:878
3. Ohkawa H, et al. Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 1979;95:351
4. 魏明竟。血清游离脂肪酸测定。临床生化检验（上册），上海科学技术出版社，1979:169～172
5. 陈淑英，等。人红细胞内超氧化物歧化酶比色测定法。中华老年医学杂志 1986；5:117
6. Minami M, et al. A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use. Clin Chim Acta 1979;92:337
7. Lowry OH, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193:265
8. Abraham J, et al. Spinal cord edema, 5-hydroxytryptamine, lipid peroxidation, and lysosomal enzyme release after acute contusion and compression injury in primates. CNS Trauma 1985;2:45
9. 戴力扬，等。脊髓损伤与脂质过氧化。国外医学：创伤与外科基本问题分册 1989；10（3）:160


（收稿：1990.01.22；修回：1990.07.20）

# Effects of TRH on Lipid Peroxidation in Spinal Cord Injury in Rat

He Fengchi, et al (Research Institute of Surgery, Third Military Medical College)

The effects of thyrotropin releasing hormone (TRH) on lipid peroxidation in spinal cord injury in rats were studied. It was found that TRH (0.2 mg/kg, 0.6mg/kg, 2.0mg/kg bolus, followed by the same doses/h over 4 h, iv) could inhibit lipid peroxidation of the injuried spinal cord, decrease malondialdehyde (MDA) production and significantly increase superoxide dismutase (SOD) activity in a dose-dependent manner. The results indicate that the antioxidant effects of TRH are the result of increase of SOD activity. TRH might be an effective free radical scavenger.

**Key words:** thyrotropin releasing hormone; spinal cord injury; lipid peroxidation; free radicals; superoxide dismutase

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