DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.02.006

内毒素休克时5种重要器官的脂质过氧化变化

汪江淮 陈惠孙 田昆仑 刁有芳 王 涛 （野战外科研究所）

提 要 大鼠内毒素休克30min，心、肺、肠组织MDA较对照明显升高（P<0.05），心、肝、肾、肠组织SOD呈代偿性升高（P<0.05），但肺组织SOD明显抑制（P<0.05）。休克后2h，心、肝、肾、肺、肠组织MDA显著升高（P<0.05～0.001），此时除肝、肾组织SOD仍代偿性升高外，心、肺、肠组织SOD呈抑制状态。休克后4h，5个测定生命器官组织MDA升高更甚（P<0.01～0.001），而SOD均呈明显抑制（P<0.05～0.01）。结果表明内毒素休克时氧自由基介导的脂质过氧化反应导致了各生命器官的组织损伤，其中以心、肺、肠器官发生最早，组织内源性SOD活力在休克后期明显受抑。

关键词 休克，脓毒症；游离基类；丙二醛；超氧化物歧化酶；大鼠

本实验室在前一阶段的工作中已经证实氧自由基在肠系膜上动脉夹闭休克和重度失血性休克时对心、肝、肾、肺、肠5个生命器官组织的损伤作用[1][2]。本实验在大白鼠内毒素休克模型上，通过测定血浆，溶血液，心、肝、肾、肺、肠组织丙二醛（Malondialdehyde，MDA）含量和内源性超氧化物歧化酶（Superoxide Dismutase，SOD）活性的变化，进一步研究内毒素休克时氧自由基对生命器官组织的损伤作用和损伤顺序，内源性SOD活性的变化趋势，以及上述改变在内毒素休克发生发展中的作用机制和意义。

1 材料和方法

Wistar种大白鼠28只，雌雄兼有，称重218±10g，随机分为下列4组：对照组（N=7），休克0.5。组（N=7），休克2°组（N=7）和休克4°组（N=7）。动物实验前禁食12h，自由饮水。3%戊巴比妥钠静脉麻醉（40mg/kg体重）后，动物固定于鼠台上，气管切开插管，自主呼吸，右颈总动脉插管接血压计监测动脉血压。动物全身肝素化（800u/kg体重）后，经尾静脉注入精制E.coli内毒素（$O_{111}B_4$，北京生物制品研究所）3mg/kg体重（浓度1mg/ml），同时由颈动脉放去相应容量血，记录术后、注内毒素后10'、30'、60'、90'、120'、150'、180'、210'、和240'动脉血压。各组至实验时限后经右颈总动脉快速放血致死，留血并取心、肝、肾、肺、肠组织待测定有关指标。对照组动物从尾静脉注入生理盐水，亦从颈动脉放去相应容量血，其他操作同实验组。

组织和血浆MDA含量的测定按Fletcher法改进[3]，结果分别以nmol/g湿重组织和nmol/ml表示。血浆、溶血液和组织SOD活性的测定用黄嘌呤氧化酶（Sigma），次黄嘌呤（Fluka）和Luminol（北京化工厂）组成的化学发光系统，由FG-300型发光仪测定发光强度，结果以u/mg蛋白表示。血浆乳酸测定按单一酶微量比色法，血浆酸性磷酸酶和β-葡萄糖醛酸苷酶测定按生化比色法。

实验资料依Student's检验进行统计学处理，结果以均数±标准差（$\bar{X}\pm SD$）表示。

2 结果

图1示注入内毒素后大白鼠动脉血压的变化。24h内动物死亡率为75%（6/8）。

休克后30min，血浆乳酸、β-葡萄糖醛酸苷酶明显升高（P<0.05），血浆酸性磷酸酶休克后2h明显

*国家自然科学基金资助课题

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

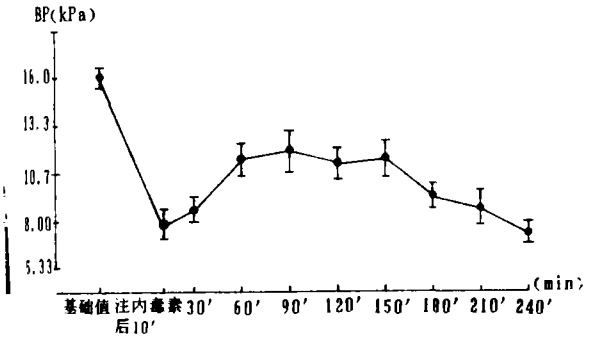


图1 大白鼠内毒素休克时血压的变化

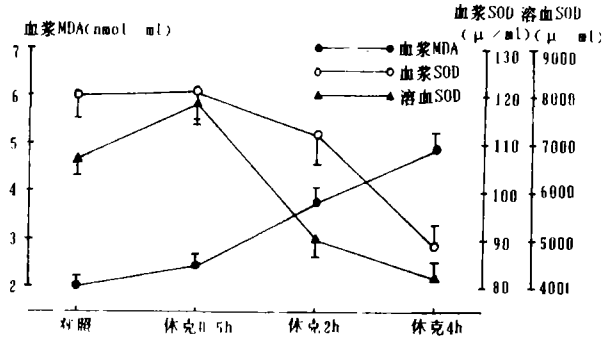


图2 血MDA和SOD的变化

升高（P<0.01）（表1）。休克后2 h，血浆MDA明显升高(P<0.01)，溶血SOD明显下降(P<0.05)，血浆SOD休克后4 h明显下降（P<0.01）（图2）。

休克后30min，心、肺、肠组织MDA较对照明显升高（P<0.05），休克后2 h，除心、肺、肠组织MDA外，肝、肾组织MDA也明显升高（P<0.05～0.01），休克后4 h，5个生命器官组织MDA升高更甚（P<0.01～0.001）（表2）。休克后30min，除肺组织SOD下降外（P<0.05），心、肝、肾、肠组织SOD均代偿性升高（P<0.05），休克后2 h，心、肠组织SOD下降，休克后4 h，心、肝、肾、肺、肠组织SOD均呈深度抑制（P<0.05～0.001）（表3）

表1 血浆乳酸、酸性磷酸酶、β-葡萄糖醛酸苷酶变化

	对照组	休克0.5°组	休克2°组	休克4°组
乳酸(mmol/L)	2.75±0.33	3.75±0.53*	5.94±1.32**Δ	7.49±1.52***
酸性磷酸酶(u/ml)	19.76±3.52	22.84±5.67	31.87±5.90**Δ	39.01±5.97***
β-葡萄糖醛酸苷酶(u/ml)	802±176	1466±392*	1957±397***	2314±412***

*系与对照组相比。 *P<0.05，**P<0.01，***P<0.001

Δ系与邻近值相比。 ΔP<0.05

表2 各器官组织MDA（nmol/g湿重组织）的变化

	对照组	休克0.5°组	休克2°组	休克4°组
心	0.801±0.211	1.311±0.299*	1.618±0.245**Δ	1.943±0.331***Δ
肝	7.892±0.869	8.423±1.875	10.247±1.955**	12.787±2.543***
肾	1.445±0.301	1.522±0.443	1.979±0.331*	2.256±0.457**
肺	0.319±0.317	1.987±0.315*	2.514±0.401***ΔΔ	2.945±0.414***Δ
肠	0.799±0.194	1.108±0.207*	1.407±0.387**	1.987±0.281***ΔΔ

*系与对照组相比。*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001

Δ系与邻近值相比。ΔP<0.05，ΔΔP<0.01

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

表3 各器官组织SOD (u/mg蛋白) 的变化

	对照组	休克0.5°组	休克2°组	休克4°组
心	90.87±7.48	110.42±10.78*	87.66±10.01$^{\Delta\Delta}$	61.87±7.52***$^{\Delta\Delta}$
肝	115.67±9.48	134.87±9.11*	141.58±10.98**	94.80±8.17**$^{\Delta\Delta\Delta}$
肾	109.44±9.87	131.88±10.42*	129.77±11.42*	89.46±7.24**$^{\Delta\Delta\Delta}$
肺	96.66±8.44	80.54±8.69*	70.06±6.42**$^{\Delta}$	59.76±6.42***$^{\Delta}$
肠	64.52±7.42	81.88±10.87*	74.88±8.42	50.11±6.14*$^{\Delta\Delta}$

*系与对照组相比。*P<0.05, **<0.01, ***P<0.001

$^{\Delta}$系与邻近值相比。$^{\Delta}$P<0.05, $^{\Delta\Delta}$P<0.01, $^{\Delta\Delta\Delta}$P<0.001

3 讨论

内毒素休克的高死亡率以及ARDS、MOF发生率高的原因与其严重而广泛的细胞受损有关。既往认为内毒素介导的补体激活，血小板聚积，溶酶体膜通透性增高，TXA_2/PGI_2的失平衡是内毒素休克时细胞损伤的主要原因[4][5]，近年来的研究表明氧自由基在创伤和休克过程中的细胞损伤方面可能有着更为重要的作用[6][7]。休克时体内氧自由基的生成途径主要有三：即细胞内黄嘌呤—黄嘌呤氧化酶生成系统，线粒体的单价泄漏和中性粒细胞的激活生成。内毒素休克时，一方面组织灌流不足，大量黄嘌呤脱氢酶转为氧化酶，同时高能磷酸化合物分解为次黄嘌呤，黄嘌呤氧化酶在催化次黄嘌呤生成尿酸过程中释出大量超氧自由基；另一方面，内毒素经补体或直接激活中性粒细胞产生“呼吸爆发”，生成大量超氧自由基、羟基、过氧化氢和单线态氧等，上述氧自由基通过攻击细胞和亚细胞膜中多不饱和脂肪酸，经脂质过氧化反应导致细胞和亚细胞膜的结构破坏和功能紊乱。

本实验中，休克后仅30min 5个生命器官中，心、肺、肠组织MDA已明显高于对照组，表明内毒素休克时氧自由基介导的细胞损伤发生较早，其中以心、肺、肠组织受累最早。休克后2 h，肝、肾组织MDA亦明显高于对照值。至休克后4 h，5个测定器官组织MDA升高更甚，提示氧自由基在内毒素休克过程中对各个生命器官组织损伤的广泛性和严重性。本实验中我们尚测定了各生命器官组织内源性SOD的活力，SOD可将超氧自由基歧化为过氧化氢，后者在过氧化物酶作用下生成水，因此SOD是体内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。休克后30min，心、肝、肾、肠组织SOD呈代偿性升高，提示机体清除氧自由基的能力增强，但结合此时组织MDA分析，除肝、肾组织外，心、肠组织SOD的代偿性升高并不足以防止脂质过氧化损伤的发生。休克后2 h，尽管肝、肾组织SOD仍呈代偿性升高，但肝、肾组织MDA已明显升高，此时心、肠组织SOD已明显下降。至休克后4 h，5个器官组织SOD均明显下降，提示机体清除氧自由基的能力广泛受抑和破坏。肺组织SOD在整个休克过程中持续下降，其有关机理尚有待进一步探讨。

血浆MDA、SOD和溶血SOD尽管有明显改变，但发生较晚，似不能反映器官组织受损的时相。血浆乳酸在休克后明显升高，一方面表明组织缺血缺氧的严重程度，另一方面也表明自由基产生条件的形成。血浆β-葡萄糖醛酸苷酶和酸性磷酸酶的持续升高，更进一步提示内毒素休克时细胞和亚细胞器损伤的存在。

本实验结果表明，氧自由基介导的组织脂质过氧化损伤可能是内毒素休克时细胞损伤的一条重要途径，发生早及广泛严重。而组织内源性SOD活性在休克后期的明显下降，则提示使用外源性氧自由基清除酶（剂）对防止或阻断脂质过氧化损伤可能具有一定作用。

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

参 考 文 献

1. 汪江淮，等。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，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. 王 涛，等。生物组织中LPO的荧光测定。第三军医大学学报 1989;11:77
4. Harris RH, et al. Relationships of $TXB_2$and 6-keto $PGF_1$to the hemodynamic changes during baboon endotoxic shock. Adv Prostaglandin Thromboxane Res 1980:7:843
5. Jacob HS, et al. Complement induced granulocyte aggregation: An unsuspected mechanism of disease. N Engl J Med 1980:302:789
6. 汪江淮、陈惠孙。休克和自由基。人民军医 1988;(2):17
7. Sugino K, et al. The role of lipid peroxidation in endotoxin-induced hepatic damage and the protective effect of antioxidants. Surgery 1987:6:746

(收稿：1988.12.06；修回：1989.11.21)

Lipid Peroxidation Injury to Vital Organ Tissues during Endotoxic Shock in Rats

Wang Jianghuai, et al (Research Institute of Surgery, Third Military Medical College)

The contents of malondialdehyde(MDA) in the heart,lung and bowel tissues are elevated ($P<0.05$) and the activities of superoxide dismutase (SOD) in the heart, liver, kidney, and bowel tissues increase compensatively ($P<0.05$) except in the lung tissue 30 min after endotoxic shock oomparing to the controls. The contents of MDA in the heart,liver,kidney, lung and bowel tissues are elevated ($P<0.05\sim0.001$) and the activities of SOD in heart, lung, and bowel tissues decrease except in liver and kidney tissues at 2 h after shock. 4 h after shock the contents of MDA are elevated markedly ($P<0.01\sim0.001$) and the activities of SOD decrease severely ($P<0.05\sim0.001$) in the 5 vital organs. These data show that the lipid peroxidation reaction mediated by oxygen-derived free radicals causes the tissue damage of the 5 vital organs and the peroxidative injury in heart,lung,and bowel tissues occurs much earlier than the others. The activities of endogenous SOD are depressed during the late shock stage.

Key words: shock, septic; free radicals; malondialdehyde; superoxide dismutase; rat

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