

· 论著 ·

异丙酚对失血性休克再灌注兔胃黏膜损伤的作用

吕艳霞 张丽峰 王力利 李海英

【摘要】 目的 探讨异丙酚对失血性休克再灌注后胃黏膜损伤的作用及其机制。方法 成年新西兰雄性大白兔 75 只,随机分为对照组、模型组及缺血前(P1)、再灌注前(P2)和再灌注后(P3)应用异丙酚组,每组 15 只。建立失血性休克再灌注胃黏膜损伤(HR-GMI)模型。P1、P2 及 P3 组分别于缺血前、再灌注前 10 min 及再灌注后 20 min 静脉注射异丙酚 5 mg/kg 后,以 20 mg·kg⁻¹·h⁻¹持续泵入,对照组和模型组给予等量生理盐水。观察胃黏膜细胞超微结构的改变,并检测胃黏膜和血清中超氧化物歧化酶(SOD)活性及丙二醛(MDA)含量的变化。结果 ①模型组胃黏膜主细胞线粒体大部分嵴和膜融合或消失,呈空泡化或空泡样变,粗面内质网有脱颗粒现象,而各异丙酚组线粒体及粗面内质网变化减轻,尤以 P1 组变化最小。②与对照组比较,模型组胃黏膜和血清中 SOD 活性明显降低,而 MDA 含量显著升高(P 均 <0.01);与模型组比较,各异丙酚组胃黏膜和血清中 SOD 活性升高,而 MDA 含量降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与 P3 组比较,P1 组 SOD 活性升高,MDA 含量降低(P 均 <0.05)。结论 异丙酚可减轻失血性休克再灌注兔胃黏膜损伤,其机制可能与清除氧自由基及抑制氧自由基产生有关。

【关键词】 异丙酚; 失血性休克; 再灌注损伤; 胃黏膜; 氧自由基

Effect of propofol on gastric mucosal injury after hemorrhagic shock and reperfusion in rabbits LÜ Yan-xia*, ZHANG Li-feng, WANG Li-li, LI Hai-ying. * Department of Anesthesiology, Third Affiliated Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050051, Hebei, China

【Abstract】 Objective To study the therapeutic effect and its mechanisms of propofol on gastric mucosal injury after hemorrhagic shock with reperfusion in rabbits. Methods Seventy-five New Zealand healthy adult male rabbits were randomly divided into 5 groups of 15 rabbits each: control group (S group), model group (M group), pre-ischemia group (P1 group), pre-reperfusion group (P2 group) and post-reperfusion group (P3 group). The hemorrhage reperfusion-gastric mucosal injury (HR-GMI) model was reproduced. In P1, P2 and P3 groups, propofol 5 mg/kg was injected intravenously 10 minutes before ischemia, reperfusion and 20 minutes after reperfusion respectively, then propofol 20 mg·kg⁻¹·h⁻¹ was infused. In control and model groups, propofol was replaced with equal volume of normal saline. The ultramicrostructural change in gastric mucosa was examined, and the activity of superoxide diamutase (SOD) and contents of malondialdehyde (MDA) in serum and gastric mucosa were determined. Results ①In M group, the most of the cristae and membranes of mitochondria in chief cells of gastric mucosa were fused or disappeared, with formation of vacuoles which induced vacuolization, and a part of membrane blended or disappeared, and degranulation appeared in rough endoplasmic reticulum in these cells. These changes in mitochondria and rough endoplasmic reticulum were mitigated in all propofol groups, especially in P1 group. ②The activity of SOD was significantly decreased and the contents of MDA were obviously increased in serum and gastric mucosa in M group compared with those in S group (all $P<0.01$). The activity of SOD was significantly increased and the content of MDA was decreased in serum and gastric mucosa in all propofol groups compared with those in M group ($P<0.05$ or $P<0.01$). The activity of SOD was higher and the content of MDA was lower in P1 group than those in P3 group (both $P<0.05$). Conclusion Propofol can attenuate the gastric mucosa injury by eliminating oxygen free radical and preventing its generation caused by hemorrhagic shock and reperfusion.

【Key words】 propofol; hemorrhagic shock; reperfusion injury; gastric mucosa; oxygen free radical

基金项目:河北省科研究与发展计划资助项目(05276101D-41)

作者单位:050051 石家庄,河北医科大学第三医院麻醉科(吕艳霞);河北医科大学在读硕士研究生(张丽峰,李海英);河北医科大学第四医院普外科(王力利)

作者简介:吕艳霞(1964-),女(汉族),河北省人,医学硕士,教授,硕士生导师,主任医师,曾获省及卫生厅科技进步奖 3 项,发表论文 36 篇,Email:lyx64@163.com.

失血性休克及复苏可产生大量氧自由基,氧自由基的产生及其引起的脂质过氧化反应是缺血/再灌注损伤的重要机制之一^[1]。异丙酚是一种新型静脉麻醉药,具有抗氧化作用,可中和氧自由基,对缺血/再灌注心、肺等器官具有保护作用^[2-4],但其对失血性休克再灌注胃黏膜损伤(HR-GMI)的作用机制目前尚未完全阐明。本研究通过建立 HR-GMI 模

型,观察胃黏膜超微结构以及胃黏膜和血清中超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量的变化,探讨异丙酚对HR-GMI的作用和机制。

1 材料与方法

1.1 动物与分组:成年雄性新西兰大白兔 75 只,体重 2.5~3.0 kg,由河北医科大学实验动物中心提供。按随机数字表法分为对照组、模型组及缺血前(P1)、再灌注前(P2)和再灌注后(P3)应用异丙酚组,每组 15 只。

1.2 实验方法:建立 HR-GMI 模型。实验前动物禁食 12 h、禁饮 8 h。以质量分数为 3%的戊巴比妥 30 mg/kg 缓慢静脉注射麻醉后,仰卧位固定,行气管切开插管术并保留自主呼吸。待动物全身肝素化(3 mg/kg)后,从右侧颈外动脉插管接 BL-420E+生物功能实验系统,以监测平均动脉压(MAP)及心率;从左股动、静脉插管,供放血和回输血、输液及用药。从股动脉快速放血,10 min 内使 MAP 降至 35~40 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa),并维持 60 min 后,由股静脉在 30 min 内回输全部失血及等量生理盐水(再灌注),再灌注历时 90 min。对照组仅行气管及动、静脉插管、不放血。P1、P2 和 P3 组除与模型组操作相同外,分别于放血前、再灌注前 10 min 及再灌注后 20 min 缓慢静脉注射异丙酚(意大利 AstraZeneca 公司生产)5 mg/kg 后,再以 20 mg·kg⁻¹·h⁻¹的速度持续静脉泵入。对照组和模型组给予和异丙酚等量的生理盐水。实验过程中,各组以生理盐水 10 ml·kg⁻¹·h⁻¹持续静脉泵入直至实验结束。

1.3 标本采集:于再灌注 90 min 从股动脉取血后,处死动物并快速取胃。将血标本离心取血清置小离心管(EP 管),-80℃冰箱保存待测。将胃沿胃大弯剪开,冰生理盐水漂洗干净、滤纸吸干水分后,迅速取胃大弯侧同一位置约 1 mm×1 mm×1 mm 大小的胃黏膜组织,放入体积分数为 4%的戊二醛溶液中固定。并迅速刮取部分胃黏膜制成体积分数为 10%的组织匀浆,以 3 000 r/min(离心半径 15 cm)离心 10 min,取上清液置 EP 管,-80℃冰箱保存待测。

1.4 电镜观察:将戊二醛固定的标本放入体积分数 1%的锇酸中固定,乙醇梯度脱水,环氧树脂 618 包埋,聚合后制成超薄薄片,醋酸铀-枸橼酸铅双重染色,透射电镜下观察胃黏膜主细胞超微结构的改变。

1.5 胃黏膜和血清中 SOD 活性、MDA 含量的测定:用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活性;用硫代巴比

妥酸(TAB)比色法测定 MDA 含量,试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.6 统计学处理:应用 SPSS 11.5 统计软件,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用单因素方差分析及 LSD 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃黏膜主细胞超微结构变化(彩色插页图 1):对照组线粒体结构基本正常,并有大量平行排列的粗面内质网;模型组线粒体大部分嵴和膜融合或消失,呈空泡化或空泡样变,粗面内质网有严重的脱颗粒现象;P1 组线粒体少部分嵴和膜融合或消失,粗面内质网变化不大;P2 组线粒体部分嵴和少部分膜融合或消失,粗面内质网有轻度的脱颗粒现象;P3 组线粒体部分嵴和膜融合或消失,粗面内质网扩张并有脱颗粒现象。

2.2 胃黏膜和血清中 SOD 活性和 MDA 含量变化(表 1):与对照组比较,模型组胃黏膜和血清中 SOD 活性明显降低,MDA 含量显著升高(P 均<0.01);与模型组比较,各异丙酚组胃黏膜和血清中 SOD 活性均升高,MDA 含量均降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且与 P3 组比较,P1 组 SOD 活性升高,MDA 含量降低更显著(P 均<0.05)。

表 1 各组兔胃黏膜和血清中 SOD 活性、MDA 含量的比较($\bar{x}\pm s, n=15$)

组别	胃黏膜		血清	
	SOD(kU/g)	MDA(μ mol/g)	SOD(kU/L)	MDA(μ mol/L)
对照组	112.1±7.7	1.4±0.3	128.1±9.0	3.9±0.5
模型组	74.2±9.3 ^b	3.1±0.5 ^b	95.2±10.1 ^b	5.8±0.6 ^b
P1 组	99.5±14.6 ^{cd}	2.0±0.6 ^{cd}	117.0±14.4 ^{cd}	4.5±0.7 ^{cd}
P2 组	93.5±16.6 ^{bd}	2.4±0.7 ^{bd}	111.9±13.4 ^{bd}	4.9±0.8 ^{bd}
P3 组	87.0±16.8 ^{bce}	2.6±0.7 ^{bce}	106.8±14.2 ^{bce}	5.2±0.9 ^{bce}

注:与对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与模型组比较,

^c $P<0.05$,^d $P<0.01$;与 P1 组比较,^e $P<0.05$

3 讨论

SOD 是广泛存在于需氧物体内的一种金属酶,能催化超氧阴离子产生歧化反应,是体内最重要的氧自由基清除剂^[5]。因此,当氧自由基大量生成时,SOD 因参与抗氧化而被大量消耗,故其活性下降。MDA 是机体内氧自由基代谢中产生的脂质过氧化产物,其含量的变化可反映体内氧自由基的生成及脂质过氧化反应的强烈程度^[6]。因此,组织和血清中 SOD 活性和 MDA 含量的变化可反映氧自由基对器官造成的损伤程度。而失血性休克再灌注可引起血液中 SOD 活性降低和 MDA 含量增加^[7]。本研究

结果亦显示,失血性休克再灌注后兔血及胃黏膜组织中 SOD 活性明显降低,MDA 含量显著增加,并且胃黏膜主细胞线粒体的大部分嵴及膜融合或消失,呈空泡化或空泡样变,粗面内质网出现严重脱颗粒现象,提示失血性休克再灌注血液及胃黏膜中氧自由基生成增多,并参与了胃黏膜损伤。失血性休克再灌注可使:①黄嘌呤氧化酶形成增多:在失血性休克过程中,胃黏膜缺血、缺氧,ATP 含量降低,黄嘌呤脱氢酶转化为黄嘌呤氧化酶,同时,由于 ATP 分解,使其代谢产物次黄嘌呤大量堆积,当再灌注恢复组织氧供时,大量的次黄嘌呤被黄嘌呤氧化酶转变为尿酸,生成大量的氧自由基。②补体活化:失血性休克可使补体活化,而活化的补体可通过黄嘌呤氧化酶的产生而直接诱导内皮细胞产生氧自由基。③核转录因子- κ B(NF- κ B)激活:失血性休克可致诱生型一氧化氮合酶(iNOS)生成及氧化应激反应增强,二者均可使 NF- κ B 激活,导致多形核白细胞发生呼吸爆发,产生大量氧自由基。④儿茶酚胺类物质自动氧化:失血性休克可使儿茶酚胺类物质生成增多,其可自动氧化产生大量的氧自由基^[1]。因此,失血性休克再灌注后血液及胃黏膜组织氧自由基增加。氧自由基不仅具有很强的氧化还原作用,可通过脂质过氧化作用于细胞膜脂质中的不饱和脂肪酸,引起膜结构破坏、膜流动性和通透性改变及膜上酶蛋白(如 Na⁺-K⁺-ATP 酶、Ca²⁺-ATP 酶)失活等损伤细胞膜,而且尚能生成白细胞趋化因子,并通过血小板活性因子使 CD18 黏附分子和细胞间黏附分子(ICAM)的表达增加,从而引起白细胞浸润,使炎症递质释放而增加血管通透性,引发水肿,并且激活的中性粒细胞尚可通过氧自由基和溶酶体酶的产生,而损伤、破坏组织^[8]。

本研究中不同时间点应用异丙酚(P1、P2 和 P3 组)后胃黏膜细胞超微结构改变明显减轻,并且血清和胃黏膜组织 SOD 活性较模型组明显升高、MDA 含量则显著降低,提示异丙酚可明显减轻氧自由基对失血性休克再灌注胃黏膜造成的损伤。其机制可能为:①抑制氧自由基生成:异丙酚可通过抑制线粒体的呼吸活动、降低细胞氧化代谢率、减轻缺氧时乳酸堆积、抑制血红蛋白和肌红蛋白氧化还原反应等途径而抑制氧自由基的产生^[9]。②清除已产生的氧自由基:异丙酚因具有和丁化羟基甲苯(BHT)及 α -生育酚相似酚结构,可与氧自由基直接发生反应,生成 2,6-二异丙基苯氧基团而使氧自由基灭活^[10]。③异

丙酚可干扰脂质过氧化链式过程,形成酚基,进一步与脂质过氧化产物形成稳定、无活性产物,从而中断脂质过氧化的链式反应^[11]。另外,虽然缺血前应用异丙酚(P1 组)后胃黏膜和血清中 SOD 活性升高及 MDA 含量降低与再灌注前(P2 组)比较无明显差异,但与再灌注后(P3 组)相比差异具有统计学意义。可见,在应用异丙酚 3 组中,P1 组 SOD 和 MDA 的变化尤为显著,并且其胃黏膜超微结构改变亦最轻,故缺血前应用异丙酚对胃黏膜损伤的保护作用最显著。

综上所述,失血性休克再灌注兔血液及胃黏膜氧自由基显著增多,异丙酚可通过抑制失血性休克再灌注时氧自由基的产生和清除氧自由基而减轻胃黏膜损伤,尤以缺血前应用效果最佳。

参考文献

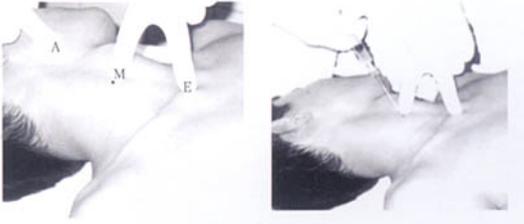
- [1] Skyschally A, Schulz R, Gres P, et al. Attenuation of ischemic preconditioning in pigs by scavenging of free oxyradicals with ascorbic acid[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003, 284(2):H698-703.
- [2] Kokita N, Hara A, Abiko Y, et al. Propofol improves functional and metabolic recovery in ischemic reperfused isolated rat hearts[J]. Anesth Analg, 1998, 86(2):252-258.
- [3] 林丽娜, 王万铁, 吴进泽, 等. 异丙酚对围术期缺血/再灌注损伤肝脏的保护作用[J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16(1):42-44.
- [4] Balyasnikova I V, Visintine D J, Gunnerson H B, et al. Propofol attenuates lung endothelial injury induced by ischemia-reperfusion and oxidative stress[J]. Anesth Analg, 2005, 100(4):929-936.
- [5] 雷利荣, 王焱林, 贾宝辉, 等. 盐酸戊乙奎醚对腹腔感染脓毒症小鼠肺损伤的保护作用[J]. 中国危重病急救医学, 2007, 19(10):623-624.
- [6] Gawel S, Wardas M, Niedworok E, et al. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker[J]. Wiad Lek, 2004, 57(9-10):453-455.
- [7] 王黎, 陈洁, 裴瑞, 等. 灵芝多糖对兔失血性休克再灌注血液流变学和脂质过氧化的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2004, 11(4):215-217.
- [8] Andrews F J, Malcontenti-Wilson C, O' Brien P E. Polymorphonuclear leukocyte infiltration into gastric mucosa after ischemia-reperfusion[J]. Am J Physiol, 1994, 266(1 Pt 1):G48-G54.
- [9] Green T R, Bennett S R, Nelson V M. Specificity and properties of propofol as an antioxidant free radical scavenger[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1994, 129(1):163-169.
- [10] 柯齐斌, 侯俊, 陈春, 等. 异丙酚对兔主动脉阻断脊髓细胞凋亡的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17(7):426-429.
- [11] Murphy P G, Myers D S, Davies M J, et al. The antioxidant potential of propofol (2, 6-diisopropylphenol) [J]. Br J Anaesth, 1992, 68(6):613-618.

(收稿日期:2007-11-04 修回日期:2008-01-16)

(本文编辑:李银平)

一种简便安全的颈内静脉穿刺新方法

(正文见171页)

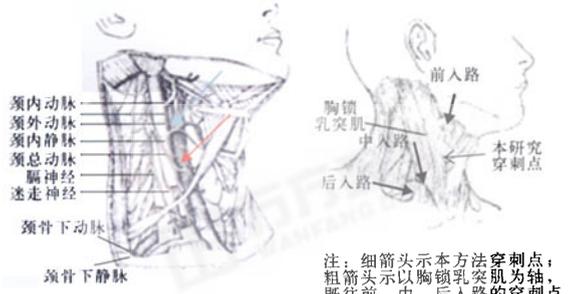


注：右食指(A)放在下颌角,左手
中指与食指分开,中指(E)放在
锁骨内侧末端,食指(M)放在E
和A的中点,在胸锁乳突肌内
缘,触摸颈总动脉,食指(M)轻
轻压住动脉,穿刺点就在动脉
旁,食指指尖处;黑点示穿刺点

图1 确定颈内静脉穿刺点示意图

注：用18G套管针
(口径1.2 mm/18G,长45 mm)
在左食指指尖处,先开皮再行穿刺;
注意此时颈总动脉在食指的规避下
(正规穿刺应消毒铺巾)

图2 颈内静脉穿刺示意图



注：绿色箭头示前路穿刺点；
红色箭头示本研究穿刺点

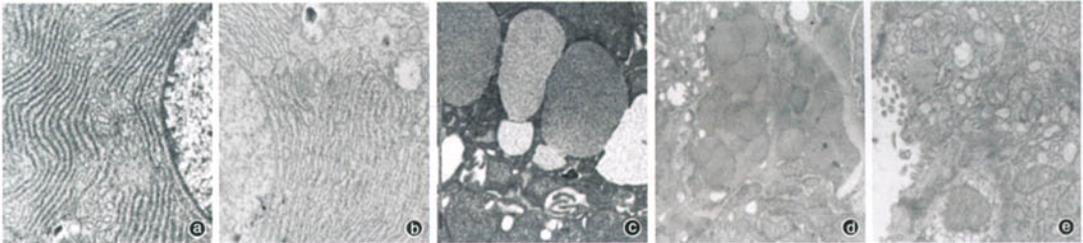
图3 颈内静脉解剖图解

注：细箭头示本方法穿刺点；
粗箭头示以胸锁乳突肌为轴，
既往前、中、后入路的穿刺点

图4 颈内静脉解剖图解

异丙酚对失血性休克再灌注兔胃黏膜损伤的作用

(正文见180页)



①:对照组; ②:模型组; ③:P1组(缺血前); ④:P2组(再灌注前); ⑤:P3组(再灌注后)

图1 透射电镜下观察各组兔胃黏膜主细胞超微结构的改变(醋酸铀-枸橼酸铅双染,×12 000)

危重病患者应该输注白蛋白吗?

(正文见187页)

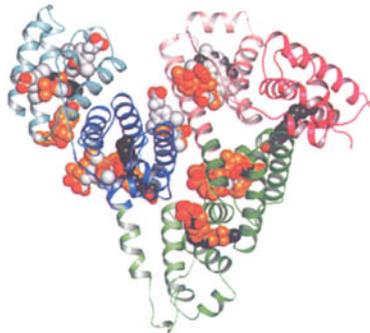


图1 白蛋白结构