

• 论著 •

丹参对烧伤大鼠肝细胞线粒体呼吸功能的影响

邱振中, 李 锐, 邱财荣, 马黎军, 顾磊奇, 唐 晋

(解放军第三医院, 陕西 宝鸡 721004)

【摘要】 目的: 探讨丹参对烧伤大鼠肝细胞线粒体呼吸功能及氧自由基的影响。方法: 将 96 只 SD 大鼠按随机数字表法分为正常对照组(A)、模型组(B)和丹参组(C); B 组和 C 组造成 20% 总体表面积Ⅲ度烫伤。在伤后 1、2 和 6 h 动态检测肝细胞线粒体内细胞色素 aa₃、细胞色素 C、能荷和超氧化物歧化酶(SOD)水平。结果: ①伤后 2 h 内, B、C 组肝细胞线粒体内细胞色素 aa₃ 水平均无显著降低(P 均 > 0.05)。伤后 6 h, B、C 组肝细胞线粒体内细胞色素 aa₃ 水平显著低于 A 组(P 均 < 0.05); 同时 C 组显著高于 B 组($P < 0.05$)。②伤后 1 h 开始, 肝细胞线粒体内细胞色素 C 水平、能荷和 SOD 活性下降; 且 C 组显著高于 B 组(P 均 < 0.05)。结论: 丹参能显著提高肝细胞线粒体内细胞色素 aa₃、细胞色素 C、能荷和 SOD 水平; 明显改善大鼠烧伤后肝细胞线粒体呼吸功能, 减少氧自由基的产生。

【关键词】 烧伤; 丹参; 肝脏; 线粒体; 氧自由基

中图分类号: R285.5; R256.1 文献标识码: A 文章编号: 1008-9691(2006)03-0156-03

Effect of salvia miltiorrhiza on mitochondria respiratory function of hepatic cells in rats with burn QIU Zhen-zhong, LI Rui, QIU Cai-rong, MA Li-jun, GU Lei-qi, TANG Jin. Department of Burns, The Third Hospital of PLA, Baoji 721004, Shanxi, China

【Abstract】 Objective: To study the effect of salvia miltiorrhiza on mitochondria respiratory function of hepatic cells and oxygen radicals in rats with burn. **Methods:** Ninety-six Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal control group, model group and salvia miltiorrhiza group. Rats in model group and salvia miltiorrhiza group were subjected to a 20% total body surface area (TBSA) full-thickness thermal injury. The levels of cytochrome aa₃, cytochrome C, energy production and superoxide dismutase (SOD) in mitochondria of hepatic cells were dynamically determined at 1, 2 and 6 hours after injury. **Results:** ① The levels of cytochrome aa₃ in model group and salvia miltiorrhiza group did not change obviously within 2 hours after burn, while they were much lower than that in normal control group at 6 hours after burn, and the level of cytochrome aa₃ in salvia miltiorrhiza group was obviously higher than that in model group (all $P < 0.05$). ② From 1 hour after burn, the levels of cytochrome C, energy production and SOD in model group and salvia miltiorrhiza group decreased, and the levels was higher in salvia miltiorrhiza group obviously than those in model group (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Salvia miltiorrhiza could enhance the levels of cytochrome aa₃, cytochrome C, energy production and SOD, which could obviously protect mitochondria respiratory function of hepatic cells and obviously reduce the production of oxygen free radicals.

【Key words】 burn; salvia miltiorrhiza; liver; mitochondria; oxygen free radical

肝损害是严重烧伤早期的重要并发症之一。我们试图观察丹参能否改善大鼠烧伤后肝细胞线粒体呼吸功能及减少氧自由基的产生, 从而保护肝细胞。

1 材料与方法

1.1 动物分组: 96 只 SD 大鼠, 体重 210~260 g, 雌雄不限。按随机数字表法分成 3 组。A 组为正常对照组, 24 只; B 组为模型组, 36 只; C 组为丹参组, 36 只。实验前动物禁食 12 h, 所有大鼠给予氯胺酮

80 mg/kg 麻醉。B、C 组大鼠给予质量分数为 10% 的硫化钠背部脱毛, 100 °C 烫伤 12 s, 造成 20% 总体表面积 (TBSA) Ⅲ度烫伤, 股静脉输注等渗盐水 (100 ml/kg) 抗休克; A 组不致伤。C 组伤后立即经股静脉缓慢注射丹参注射液 1 ml/kg (雅安三九药业有限公司生产, 1 ml 注射液含丹参生药 1.5 g); A、B 组注射等量生理盐水。A 组大鼠分别于伤后 1、2 和 6 h 时间点各处死 8 只, B、C 组大鼠分别于伤后 1、2 和 6 h 时间点各处死 12 只, 立即取肝组织, 检测肝细胞线粒体内细胞色素 aa₃、细胞色素 C、能荷和超氧化物歧化酶 (SOD) 水平。

基金项目: 陕西军区医药卫生科研计划项目 (LXH2005003)

作者简介: 邱振中 (1973-), 男 (汉族), 安徽阜南人, 主治医师 (Email: qiuizhenzhongxiang@126.com)。

1.2 检测指标及方法

1.2.1 肝细胞线粒体的分离方法:按改 Lawrence 和 Davies 方法进行^[1]。

1.2.2 细胞色素 aa₃、细胞色素 C 含量测定:按照 Williams 方法^[2]。

1.2.3 能荷测定:采用高效液相色谱法(HPLC)测定能荷。先按 20 L/g 加 0.3 mol/L HClO₄ 制备组织匀浆,8 780×g 离心 5 min,取上清液,加等体积 0.5 mol/L 的 KOH;8 780×g 离心 5 min,取上清检测。采用阶形梯度洗脱,在 15 min 内流动相从 20% 升到 100%,流速 1 ml/min,在波长 254 nm 处检测,进样量为 25 μl。

$$\text{能荷} = (\text{ATP} + 0.5\text{ADP}) / (\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP})$$

1.2.4 SOD 检测按试剂盒(南京建成生物工程研究所提供)说明书进行,以硝酸盐单位 NU/g 表示。

1.3 统计学处理:数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝细胞线粒体内细胞色素 aa₃ 水平(表 1):伤后 2 h 内,B、C 组肝细胞线粒体内细胞色素 aa₃ 水平无显著降低(P 均 > 0.05)。伤后 6 h,B、C 组细胞色素 aa₃ 水平均显著低于 A 组(P 均 < 0.05);同时 C 组显著高于 B 组($P < 0.05$)。

表 1 各组细胞色素 aa₃ 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of level of cytochrome aa₃ among groups($\bar{x} \pm s$) nmol · min⁻¹ · mg⁻¹

| 组别 | 动物数(只) | 伤后 1 h | 伤后 2 h | 伤后 6 h |
|-----|--------|-----------|-----------|-------------|
| A 组 | 8 | 231.3±7.6 | 223.7±7.8 | 233.6±8.2 |
| B 组 | 12 | 214.8±6.7 | 208.1±5.3 | 150.5±7.1* |
| C 组 | 12 | 226.2±5.9 | 219.6±5.4 | 191.7±7.2*△ |

注:与 A 组比较:* $P < 0.05$,与 B 组比较:△ $P < 0.05$

2.2 肝细胞线粒体内细胞色素 C 水平(表 2):伤后 1 h 开始,B、C 组肝细胞线粒体内细胞色素 C 水平较 A 组下降,C 组显著高于 B 组(P 均 < 0.05)。

表 2 各组细胞色素 C 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of level of cytochrome C among groups($\bar{x} \pm s$) nmol · min⁻¹ · mg⁻¹

| 组别 | 动物数(只) | 伤后 1 h | 伤后 2 h | 伤后 6 h |
|-----|--------|------------|------------|--------------|
| A 组 | 8 | 132.6±6.2 | 139.1±9.3 | 135.7±6.9 |
| B 组 | 12 | 84.1±4.7* | 78.4±6.8* | 69.2±5.1** |
| C 组 | 12 | 129.6±6.5△ | 128.9±4.6△ | 113.8±4.5*△△ |

注:与 A 组比较:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 B 组比较:△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$

2.3 肝细胞线粒体内能荷水平(表 3):与 A 组比较,从伤后 1 h 开始,B、C 组肝细胞线粒体内能荷降低;同时 C 组显著高于 B 组(P 均 < 0.05)。

表 3 各组能荷水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of level of energy production among groups($\bar{x} \pm s$) nmol · min⁻¹ · mg⁻¹

| 组别 | 动物数(只) | 伤后 1 h | 伤后 2 h | 伤后 6 h |
|-----|--------|-------------|-------------|-------------|
| A 组 | 8 | 0.67±0.02 | 0.64±0.02 | 0.65±0.01 |
| B 组 | 12 | 0.42±0.02** | 0.40±0.01** | 0.40±0.01** |
| C 组 | 12 | 0.60±0.03△ | 0.58±0.01△ | 0.51±0.02*△ |

注:与 A 组比较:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 B 组比较:△ $P < 0.05$

2.4 肝细胞线粒体 SOD 含量(表 4):与 A 组比较,伤后 1 h 开始,B、C 组肝细胞线粒体内 SOD 活性下降;C 组 SOD 活性显著高于 B 组(P 均 < 0.05)。

表 4 各组 SOD 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of level of SOD among groups($\bar{x} \pm s$) NU/g

| 组别 | 动物数(只) | 伤后 1 h | 伤后 2 h | 伤后 6 h |
|-----|--------|-------------|--------------|--------------|
| A 组 | 8 | 743.6±70.3 | 745.2±76.6 | 734.4±73.7 |
| B 组 | 12 | 535.3±67.6* | 401.5±26.2** | 212.6±30.7** |
| C 组 | 12 | 690.7±68.4△ | 566.3±56.8*△ | 662.6±70.3△△ |

注:与 A 组比较:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 B 组比较:△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$

3 讨论

严重烧伤低血容量引起的缺血、缺氧以及再灌注造成的氧自由基损伤都会对肝细胞造成损害。线粒体的重要功能是进行生物氧化和供应细胞生命活动所需的能源。有研究表明,烧伤可引起缺血组织细胞线粒体呼吸控制率和磷氧比明显下降,使线粒体的电子传递功能和氧化磷酸化功能遭到破坏,使 ATP 生成减少,而热能释放增多^[3]。细胞色素酶是呼吸链的重要组成部分,细胞色素 aa₃ 能从细胞色素 C 接受电子并传递给氢,形成 O₂⁻,又称细胞色素氧化酶或细胞色素 C 氧化酶,它们的变化必然影响线粒体的能量合成。细胞色素 aa₃ 是膜结合蛋白,不易丢失;细胞色素 C 是水溶性膜外周蛋白,与线粒体内膜结合疏松,易丢失^[4]。本实验显示,虽然直到伤后 6 h,B、C 组肝细胞线粒体内细胞色素 aa₃ 水平才显著降低,但伤后 1 h,肝细胞线粒体内细胞色素 C 水平就已显著降低,同时丹参治疗的 C 组明显高于 B 组。能荷的变化与细胞色素 C 相似,提示能荷与呼吸链的变化是一致的。实验同时显示,丹参能显著提高烫伤后大鼠细胞色素 aa₃ 和细胞色素 C 水平,有利于线粒体的生物氧化及提高线粒体的能荷。

生理情况下人体摄取的氧接受线粒体内细胞色素氧化酶传递的电子而还原成水,仅有少量的氧接受一个电子而成为氧自由基,也能被 SOD 有效地清除^[5]。本实验显示,烫伤后 1 h 开始,肝细胞线粒体内细胞色素 C 水平显著降低,伤后 6 h 肝细胞线粒

体内细胞色素 aa₃ 水平也显著降低, SOD 活性也较 A 组降低, 同时 C 组线粒体内细胞色素 aa₃ 和细胞色素 C 的水平以及 SOD 活性均显著高于 B 组。提示细胞色素氧化酶活性降低后氧自由基生成增加, SOD 消耗增加; 丹参治疗能提高细胞色素氧化酶活性, 减少氧自由基的生成及 SOD 的消耗。我们前期的研究显示, 丹参治疗后大鼠小肠黏膜组织丙二醛减少, 能改善大鼠心肌细胞和小肠黏膜上皮细胞的线粒体呼吸功能^[6,7]。也表明丹参能减少自由基的产生, 改善细胞线粒体呼吸功能, 与本研究结果一致。

综上所述, 本实验提示丹参能明显改善大鼠烧伤后肝细胞线粒体呼吸功能, 提高线粒体的能荷, 明显减少氧自由基的产生, 有利于肝细胞的保护。

参考文献:

[1] Lawrence C B, Davies N T. A novel, simple and rapid method for

the isolation of mitochondria, which exhibit respiratory control, from rat small intestinal mucosa [J]. *Biochem Biophys Acta*, 1986, 848: 35-39.

[2] Williams J W. A method for the simultaneous quantitative estimation of cytochrome a, b, c and c1 in mitochondria [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1964, 197: 537-541.

[3] 彭曦, 陈蓉春, 王裴, 等. 谷氨酰胺对烧伤大鼠肠上皮细胞线粒体呼吸功能的影响 [J]. *中国危重病急救医学*, 2004, 16: 93-96.

[4] Capaldi R A. Arrangement of protein in the mitochondria inner membrane [J]. *Biochem Biophys Acta*, 1982, 694: 291-295.

[5] Parks D A. Ischemic injury in the cat small intestine: role of superoxide radicals [J]. *Gastroenterology*, 1982, 82: 9-15.

[6] 邱振中, 李锐, 魏振雪. 丹参对烧伤大鼠心肌细胞线粒体功能影响的实验研究 [J]. *中国烧伤创疡*, 2003, 15: 87-89.

[7] 邱振中, 李锐, 魏振雪. 丹参对烧伤大鼠肠黏膜上皮细胞线粒体功能的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2003, 10: 90-92.

(收稿日期: 2005-11-21 修回日期: 2006-03-15)

(本文编辑: 李银平)

• 经验交流 •

妊娠合并多器官功能障碍综合征 14 例分析

于振英

(天津市天和医院妇产科, 天津 300050)

【关键词】 多器官功能障碍综合征; 妊娠高血压综合征

中图分类号: R271 文献标识码: B 文章编号: 1008-9691(2006)03-0158-01

妊娠合并多器官功能障碍综合征 (MODS) 严重威胁着母子的生命, 是孕产妇死亡的重要原因。现将我院 1998 年 12 月—2005 年 12 月收治的 14 例妊娠合并 MODS 患者的临床资料进行回顾性分析, 旨在探讨孕产妇伴 MODS 的诱因及防治策略。

1 临床资料

1.1 病例: 14 例患者年龄 21~38 岁; 经产妇 7 例, 初产妇 7 例; 孕周 < 28 周 3 例, 28~37 周 4 例, 37~40 周 7 例; 3 例于本院分娩, 11 例由外院转入。均符合 MODS 的诊断标准。

1.2 MODS 的诱发因素: 14 例患者中合并妊娠高血压综合征 (妊高征) 6 例; 其中胎盘早剥 4 例, HELLP 综合征 (包括溶血、肝酶升高、血小板减少) 1 例, 胎死宫内 1 例; 产后大出血 5 例 (子宫收缩乏力 3 例, 胎死宫内 2 例); 妊娠急性脂肪肝 2 例; 感染 1 例。说明妊高征和产后

作者简介: 于振英 (1955-), 女 (汉族), 天津人, 副主任医师。

出血是诱发 MODS 的两大主要原因。

1.3 衰竭器官的数目及转归: 14 例患者共受累器官 44 个, 以肾功能衰竭最多, 共 11 例次, 其次是凝血功能衰竭共 9 例次。2 个器官衰竭 5 例, 均治愈; 3 个器官衰竭 4 例, 均治愈; 4 个器官衰竭 3 例, 治愈 2 例, 死亡 1 例; 5 个器官衰竭 2 例, 均死亡。孕产妇病死率为 21.43%。

围生儿 16 例 (二胎 2 例), 其中死胎 4 例, 新生儿死亡 3 例, 围生儿病死率为 43.75%。说明随着受累器官数目的增加, 病死率增加。

2 讨论

2.1 妊高征与 MODS: 妊高征患者全身小动脉痉挛, 血液黏稠度增加, 致使全身各器官组织缺血、缺氧, 受到不同程度的损害, 一旦机体受到严重打击 (如感染, 手术等), 各器官的代偿能力下降, 极易发生 MODS。

2.2 产后大出血与 MODS: 产后大失血, 可使孕产妇发生低血容量休克, 器官组织血液灌流减少, 组织有氧代谢障碍,

氧自由基损伤, 机体炎症反应失控; 在大失血的同时, 丢失了大量的凝血因子, 诱发 DIC, 最终导致 MODS。本组 5 例因产后大出血致 MODS 的原因: 一是延误诊断, 未及时发 现出血原因; 二是对小量持续出血不重视, 对出血量估计不足; 三是对出血原因未采取果断有效的治疗措施。

2.3 妊高征 MODS 的治疗: 积极预防和治疗原发病, 如妊高征, 产后出血等; 有效控制感染; 保持充足的循环血容量, 保证重要脏器的血液供给; 注重各重要器官功能的支持治疗, 从而改善垂危患者的预后, 降低病死率。我们在治疗中使用了血液净化, 证实是安全有效的。另外, 在预防和治疗 MODS 中, 还应注意对难以控制的妊高征、妊娠急性脂肪肝 (AFLP) 患者, 一旦确诊, 应及时终止妊娠, 否则各种并发症会相继出现, 增加治疗的难度, 影响预后。

(收稿日期: 2006-05-11)

(本文编辑: 李银平)