

川芎嗪对严重烫伤大鼠胃、肠、肝组织中 ATPase, GSH-Px, MDA的影响

何丽娅,朱蕾 (武汉科技大学医学院生物化学教研室,湖北 武汉 430080)

摘要:目的 为了观察严重烫伤大鼠胃、小肠、肝组织 ATP酶 (ATPase)、谷胱苷肽过氧化物酶 (GSH-Px)、丙二醛 (MDA)的变化及川芎嗪的防治效果。方法 选用健康 Wistar大鼠分为三组,分别取胃、小肠、肝组织测定观察测值。结果 川芎嗪对烫

作者简介:何丽娅 (1956-),女,1979年毕业于咸宁医学院临床医学系,现任武汉科技大学医学院生物化学教研室教授,硕士研究生导师,基础医学部主任,从事生物化学及分子生物学教学和科研工作。通讯地址:武汉科技大学医学院生物化学教研室 430080,电话:027-68862253(O)

伤后 ATPase, GSH-Px, MDA的改变有一定的改善作用。结论 川芎嗪可对烫伤后大鼠的胃、小肠、肝组织起到一定的保护作用,其机制可能与减少自由基的产生及直接抗氧化作用有关。

关键词:川芎嗪;过氧化脂质;烫伤

中图分类号:R644;R285.6 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2005)05-0366-04

Effects of ligustrazin on the contents of ATPase, GSH-Px, MDA in stomach, intestine and liver of severely burned rats

HE Li-ya, ZHU Lei(Department of Biochemistry, College of Medical Sciences, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430080, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the effects of ligustrazin on the contents of ATPase, GSH-Px, MDA in stomach, intestine and liver of severely burned rats. **METHOD** Divide the rats randomly into three groups. Tissue of stomach, intestine and liver were gathered and homogenized respectively, and contents of ATPase, GSH-Px, MDA were assayed. **RESULTS** The contents of ATPase, GSH-Px in stomach, intestine and liver were progressively decreased while MDA obviously enhanced in comparison with that of normal group. After the treatment with ligustrazin, the contents of ATPase, GSH-Px were significantly higher but MDA was lower than that of non-treated burned group. **CONCLUSION** Ligustrazin has protective effects on stomach, intestine and liver in burned rats. It reduces free radical and has antioxidant effect on stomach, intestine and liver.

KEY WORDS: ligustrazin; lipid peroxide; burn

严重烧伤所致消化系统损害的首要因素为血液灌注不良,尤其是胃肠道缺血^[1]。胃肠缺血对全身的影响是广泛而深刻的,其不仅能造成肠道通透性增加,肠腔内细菌和毒素移位,还释放大量炎症介质。针对严重热损伤的这一特性,作者采用川芎嗪作用于严重烫伤的大鼠,观察测其胃、小肠、肝组织 GSH-Px, ATPase, MDA的变化及川芎嗪的防治效果,为临床合理应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 模型制备

选用健康 Wistar大鼠 85只,雌雄不拘,体重 250g,实验前禁食 24h,自由饮水。10%水合氯醛(300mg/kg)腹腔麻醉,用 8% Na₂S 对颈、背、体侧部脱毛,待动物清醒后,脱毛区浸入 100℃沸水中 16s 造成 40% II 度烫伤模型,分别于烫后 4、8、24、48h 等几个不同时相点抽血处死,取胃、小肠、肝组织,匀浆。

1.2 实验设计

动物随机分成三组,即正常对照组 5 只;烫伤组 40 只;

治疗组 40 只;治疗组动物烫伤后立即腹腔注射川芎嗪(40mg/2mL,批号:990815,无锡市第七制药厂)160、80、40mg/kg,此后每 8h 重复一次。

1.3 生化指标测定

ATPase^[2], MDA^[3], GSH-Px^[4]的测定参见文献的方法。

1.4 统计学处理:实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,进行 *t* 检验。

2 结果

2.1 实验发现

160mg/kg 的治疗组大鼠大部分死亡,而 40mg/kg 剂量的治疗组与烫伤组之间观察指标无显著性差异。

2.2 组织 ATPase 活性变化

大鼠严重烫伤后胃、小肠、肝组织 ATPase 活性呈进行性下降,与对照组比较有显著性差异($P < 0.01$)。经治疗后,各时相点 ATPase 活性随着时间的延长逐渐回升,与烫伤组比较,有显著性差异($P < 0.01$),见表 1、2。

表 1 川芎嗪对烫伤大鼠胃、肠、肝 Na⁺-K⁺-ATPase 活性的影响 (nmol·pi⁻¹·m⁻¹·pro, $n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of ligustrazin on the contents of Na⁺-K⁺-ATPase in stomach, intestine and liver of burned rats (nmol·pi⁻¹·m⁻¹·pro, $n = 10, \bar{x} \pm s$)

	对照组 $n = 5$	烫伤组				治疗组			
		4h	8h	24h	48h	4h	8h	24h	48h
胃	15.51 ± 0.47	13.72 ± 0.62 [#]	11.37 ± 0.56 [#]	8.61 ± 0.73 [#]	6.28 ± 0.80 [#]	15.67 ± 0.81 [*]	15.96 ± 0.98 [*]	16.24 ± 0.76 [*]	16.96 ± 0.99 [*]
肠	14.72 ± 0.55	11.98 ± 0.74 [#]	8.79 ± 0.55 [#]	6.39 ± 0.67 [#]	4.24 ± 0.56 [#]	14.93 ± 0.93 [*]	15.27 ± 0.93 [*]	15.49 ± 0.83 [*]	16.11 ± 0.92 [*]
肝	22.85 ± 0.39	20.28 ± 0.45 [#]	18.11 ± 0.58 [#]	15.80 ± 0.35 [#]	12.51 ± 0.83 [#]	22.83 ± 0.90 [*]	23.34 ± 0.74 [*]	23.49 ± 1.07 [*]	23.85 ± 1.00 [*]

注:与对照组比较[#] $P < 0.01$,与烫伤组比较^{*} $P < 0.01$

Note: [#] $P < 0.01$ vs control group, ^{*} $P < 0.01$ vs burn group

表 2 川芎嗪对烫伤大鼠胃、肠、肝 Ca^{2+} -ATPase活性的影响 (nmol. pi^{-1} m in^{-1} pro, $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of ligustrazin on the contents of Ca^{2+} -ATPase in stomach, intestine and liver of burned rats (nmol. pi^{-1} m in^{-1} pro, $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

	对照组 $n=5$	烫伤组				治疗组			
		4h	8h	24h	48h	4h	8h	24h	48h
胃	28.85 \pm 0.35	25.82 \pm 0.58 [#]	22.89 \pm 0.26 [#]	20.05 \pm 0.47 [#]	17.71 \pm 0.73 [#]	28.56 \pm 1.25 [*]	29.36 \pm 0.90 [*]	29.72 \pm 0.78 [*]	30.78 \pm 1.13 [*]
肠	26.88 \pm 0.50	23.85 \pm 0.42 [#]	20.87 \pm 0.44 [#]	17.96 \pm 0.54 [#]	15.02 \pm 0.43 [#]	26.67 \pm 0.80 [*]	24.17 \pm 0.79 [*]	21.62 \pm 1.05 [*]	19.46 \pm 1.07 [*]
肝	33.94 \pm 0.81	30.72 \pm 0.10 [#]	28.08 \pm 0.82 [#]	25.74 \pm 0.52 [#]	23.71 \pm 0.51 [#]	33.95 \pm 0.92 [*]	34.50 \pm 0.84 [*]	34.69 \pm 1.17 [*]	35.22 \pm 0.96 [*]

注:与对照组比较[#] $P < 0.01$,与烫伤组比较^{*} $P < 0.01$

Note: [#] $P < 0.01$ vs control group, ^{*} $P < 0.01$ vs burn group

2.3 组织 MDA, GSH-Px的变化

大鼠严重烫伤后胃、小肠、肝组织 GSH-Px活性呈进行性下降,而 MDA含量明显上升,与对照组比较有显著性差异(P

< 0.01),经治疗后,各时相点 GSH-Px活性随着时间的延长逐渐回升,而 MDA含量逐渐下降,与烫伤组比较,有显著性差异($P < 0.01$),见表 3, 4。

表 3 川芎嗪对烫伤大鼠胃、肠、肝 GSH-Px活性的影响 (ng/mg, $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effects of ligustrazin on the contents of GSH-Px in stomach, intestine and liver of burned rats (ng/mg, $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

	对照组 $n=5$	烫伤组				治疗组			
		4h	8h	24h	48h	4h	8h	24h	48h
胃	53.29 \pm 1.03	50.47 \pm 1.43 [#]	47.59 \pm 0.65 [#]	49.26 \pm 1.83 [#]	41.90 \pm 1.03 [#]	53.72 \pm 1.05 [*]	57.38 \pm 1.91 [*]	59.75 \pm 1.58 [*]	63.48 \pm 2.16 [*]
肠	50.56 \pm 4.03	46.92 \pm 1.01 [#]	43.52 \pm 1.17 [#]	40.32 \pm 1.11 [#]	37.06 \pm 1.25 [#]	51.23 \pm 1.25 [*]	53.77 \pm 1.36 [*]	56.19 \pm 1.70 [*]	56.91 \pm 1.71 [*]
肝	84.83 \pm 4.34	81.37 \pm 1.31 [#]	74.23 \pm 4.19 [#]	71.01 \pm 2.24 [#]	69.02 \pm 1.34 [#]	85.14 \pm 0.69 [*]	88.27 \pm 1.81 [*]	90.95 \pm 1.34 [*]	94.89 \pm 2.07 [*]

注:与对照组比较[#] $P < 0.01$,与烫伤组比较^{*} $P < 0.01$

Note: [#] $P < 0.01$ vs control group, ^{*} $P < 0.01$ vs burn group

表 4 川芎嗪对烫伤大鼠胃、肠、肝 MDA含量的影响 (nmol/mg, $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Effects of ligustrazin on the contents of MDA in stomach, intestine and liver of burned rats (nmol/mg, $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

	对照组 $n=5$	烫伤组				治疗组			
		4h	8h	24h	48h	4h	8h	24h	48h
胃	2.55 \pm 0.21	3.56 \pm 0.11 [#]	5.29 \pm 0.36 [#]	7.43 \pm 0.35 [#]	8.09 \pm 0.94 [#]	2.99 \pm 0.72 [*]	3.36 \pm 0.73 [*]	3.42 \pm 0.89 [*]	3.66 \pm 1.22 [*]
肠	3.19 \pm 0.25	5.37 \pm 0.71 [#]	6.91 \pm 0.14 [#]	7.72 \pm 0.68 [#]	9.73 \pm 0.74 [#]	4.28 \pm 0.81 [*]	4.37 \pm 0.81 [*]	4.53 \pm 0.97 [*]	4.71 \pm 0.88 [*]
肝	4.29 \pm 0.79	6.37 \pm 0.45 [#]	8.84 \pm 0.59 [#]	10.90 \pm 0.64 [#]	12.75 \pm 0.91 [#]	5.79 \pm 0.91 [*]	5.65 \pm 0.90 [*]	5.57 \pm 0.80 [*]	4.86 \pm 1.14 [*]

注:与对照组比较[#] $P < 0.01$,与烫伤组比较^{*} $P < 0.01$

Note: [#] $P < 0.01$ vs control group, ^{*} $P < 0.01$ vs burn group

3 讨论

严重烧伤后,毛细血管通透性增加,大量血浆样液体渗出,致使循环血量不足,造成广泛的组织器官缺血缺氧,由此引起一系列病理生理改变,并诱生和释放多种有害的细胞因子的炎症介质,是以后继发内脏功能损害和全身感染的重要因素。川芎嗪可扩张痉挛血管,降低血管对某些微血管物质的敏感性,改善微循环状态,从而提高机体对内毒素的耐受力。

本实验结果表明,严重烫伤后大鼠胃、小肠、肝组织 GSH-Px活性进行性下降,而 MDA含量增多,与此同时,ATPase活性呈进行性下降。ATP酶是生物膜上的一种蛋白酶,它在物质运输、能量转换、信息传递方面具有重要的作用^[5]。当机体在缺氧、衰老及某些疾病状态下,此酶活力将发生一系列改变。严重烧伤后,血液灌注不良,导致消化系统损害。缺血时,ATP酶代谢障碍,大量 ATP分解导致黄嘌呤氧化酶和次黄嘌呤在缺血组织中聚积,缺血缺氧组织中氧张力突然

增加,产生大量自由基,进而消耗机体抗自由基的 GSH-Px,使得 GSH-Px活性进行性下降。同时大量氧自由基与 H_2O 反应形成氧化活性极强的羟自由基,羟自由基作用于组织细胞膜性结构中的膜脂不饱和脂肪酸,引起脂质过氧化反应,致使烫伤后组织 MDA含量增多。有研究表明,脂质过氧化物 MDA也可与氨基酸反应和蛋白质交联而损伤蛋白^[6]。相关分析提示 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$, $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 活力与 MDA水平呈显著负相关^[7],表明自由基及 MDA是造成膜性结构 ATPase损伤的一个重要因素, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 是一种含巯基(-SH)的酶,自由基和脂质过氧化物最容易氧化蛋白酶中的 SH,形成二硫键;MDA与 ATPase中氨基等功能基因形成希夫氏碱,从而使酶活性下降。其中 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性降低可造成 Ca^{2+} 在细胞内聚积,膜上 Ca^{2+} 增加,细胞膜变硬,流动性降低,这必然破坏细胞膜性结构。组织细胞的正常结构和功能有赖于细胞膜两侧相对稳定的离子梯度,而 ATPase在维持离子梯度中有重要作用,这可能与临床上严重烫伤后

多器官功能不全密切相关。

本实验结果还表明在采用川芎嗪治疗后,显著提高了严重烫伤后大鼠胃、小肠、肝组织 GSH-Px、ATPase 的活性,减少了 MDA 的含量。这表明川芎嗪可能通过减少自由基的产生及直接抗氧化作用而起到保护作用,其具体机制还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 崔晓林,盛志勇,郭振荣,等.严重烧伤抗休克时胃肠粘内缺血的研究[J].中华整形烧伤外科杂志,1998,14(4):262.
- [2] 徐友涵,宋逵华.一种简便、灵活的 ATPase 活性测定法[J].生物化学与生物物理进展,1986,13(4):64.
- [3] 向荣,王鼎年.过氧化脂质硫代比妥酸分光光度法的改进[J].生物化学与生物物理进展,1990,17(3):241.

- [4] 夏奕明,朱连珍.血和组织中谷胱苷肽过氧化酶活力测定[J].卫生研究,1987,16(4):29.

- [5] Naayanan. Differential alterations in ATP-supported calcium transport actives of sarcoplasmic reticulum and sarcolemma of aging myocardium [J]. Biophasmica et Biophysica Acta(BBA),1981,678(8):442.

- [6] 邵洪,汪代良,尤忠义,等.氧自由基与蛋白质代谢[J].国外医学分子·生物学分册,1990,12(1):42.

- [7] Han QB, Shu HY, Wang J, *et al.* Study on the effects of "Foshousan/plus danshen in preventing IUGR rats with passive smoking from peroxidation in erythrocyte lipid [J]. J Tongji Med Univ,1995,15(2):120.

收稿日期:2003-09-27