

高氧诱导慢性肺疾病早产鼠肝肠组织的自由基变化

富建华, 薛辛东

富建华, 薛辛东, 中国医科大学附属第二医院儿科 辽宁省沈阳市 110004
富建华, 女, 1965-11-12 生, 辽宁抚顺人, 满族. 1989 年中国医科大学本科毕业, 1999 年中国医科大学硕士研究生毕业, 现博士在读, 讲师, 主要从事新生儿肺损伤的基础研究.

辽宁省自然科学基金资助项目, No. 20022071

项目负责人: 薛辛东, 110004, 沈阳市和平区三好街 36 号, 中国医科大学附属第二医院儿科. xdxue@163.com

电话: 024-83955509 传真: 024-83955509

收稿日期: 2003-05-10 接受日期: 2003-06-02

Changes of free radical of liver and intestine in premature rat with hyperoxia-induced chronic lung disease

Jian-Hua Fu, Xin-Dong Xue

Jian-Hua Fu, Xin-Dong Xue, Department of Pediatrics, the Second Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Supported by the Natural Science Foundation of Liaoning Province, No. 20022071

Correspondence to: Dr Xin-Dong Xue, Department of Pediatrics, the Second Affiliated Hospital, China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. xdxue@163.com

Received: 2003-05-10 Accepted: 2003-06-02

Abstract

AIM: To investigate dynamic changes of free radical of liver and intestine in premature infant with hyperoxia-induced chronic lung disease (CLD).

METHODS: Superoxide dismutase (SOD) activity, concentration of malondialdehyde (MDA) in the liver, intestine and lung specimen on days 1, 3, 7, 14 and 21 in 40 premature rat with hyperoxia-induced CLD and 40 control premature rats were assayed with double wavelength scanning by spectrophotometer.

RESULTS: In model group, level of MDA in the liver and intestine was increased on day 14 ($122 \pm 9 \mu\text{mol/g}$ vs $68 \pm 7 \mu\text{mol/g}$, $117 \pm 9 \mu\text{mol/g}$ vs $68 \pm 9 \mu\text{mol/g}$, $P < 0.01$), and then was decreased but still maintained at a higher level than that in control group at day 21 ($P < 0.05$). Level of MDA in the lung was increased on day 3, and reached a peak level on day 7 ($94 \pm 12 \mu\text{mol/g}$ vs $24 \pm 5 \mu\text{mol/g}$, $P < 0.001$), and still maintained at a higher level than that in control group at day 21 ($P < 0.01$), but there was no significant difference in SOD activity among any groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Damage of free radicals in the liver and intestine can be induced by CLD in premature infant, but the time of occurrence is very delayed in the lung.

Fu JH, Xue XD. Changes of free radical of liver and intestine in premature rat with hyperoxia-induced chronic lung disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004;12(1):105-107

摘要

目的: 探讨高氧致早产鼠慢性肺疾病(CLD)发生中肝肠组织的自由基变化.

方法: 采用高浓度氧致早产鼠 CLD 模型为研究对象, 应用分光光度计比色法动态测定肝及肠组织超氧化物歧化酶(SOD)活性及脂质过氧化产物丙二醛(MDA)的含量变化, 并同步观察肺组织上述指标的改变.

结果: 实验组 MDA 水平, 肝及肠组织 7 d 内无差异, 14 d 明显高于对照组(分别为 $122 \pm 9 \mu\text{mol/g}$ vs $68 \pm 7 \mu\text{mol/g}$, $117 \pm 9 \mu\text{mol/g}$ vs $68 \pm 9 \mu\text{mol/g}$, $P < 0.01$), 21 d 仍高于正常水平($P < 0.05$); 而肺组织早期即明显升高, 7 d 达高峰($94 \pm 12 \mu\text{mol/g}$ vs $24 \pm 5 \mu\text{mol/g}$, $P < 0.001$), 持续 1 wk 后逐渐下降, 21 d 时仍高于正常水平($P < 0.01$). 两组肺、肝及肠组织 SOD 的活性均无差异($P > 0.05$);

结论: 高氧肺损伤时, 肝及肠组织同样发生自由基损伤, 但其发生时间明显滞后于肺组织.

富建华, 薛辛东. 高氧诱导慢性肺疾病早产鼠肝肠组织的自由基变化. 世界华人消化杂志 2004;12(1):105-107

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/105.asp>

0 引言

近年来, 随着早产极低体质量儿抢救存活率的提高, 因吸入高浓度氧而导致早产儿慢性肺疾病(chronic lung disease, CLD)的发生率也逐渐上升. 虽 CLD 的发生机制尚不清楚, 但肺部氧化应激反应而介导肺组织损伤的理论已被公认, 并成为影响 CLD 预后的关键因素之一. 而源于高氧肺损伤的 CLD 是否可启动其他器官的自由基损伤, 目前尚未见报道. 我们以高氧诱导 CLD 的早产鼠为研究对象, 探讨高氧致 CLD 早产儿肝、肠组织自由基变化.

1 材料和方法

1.1 材料 将孕 21 d 的 SD 大鼠(由中国医科大学实验动物部提供)行剖宫产, 新生的早产鼠(足月孕 22-23 d), 依据吸氧浓度(FiO_2), 随机分为实验组(FiO_2 0.90)和对照组(FiO_2 0.21). 每组均为 40 只. 实验组将早产的 SD 大鼠生后即置于氧箱中, 持续输入氧气, 维持 $\text{FiO}_2 > 0.90$ (用测氧仪监测), CO_2 浓度 $< 0.5\%$ (用钠石灰吸收 CO_2), 温度 25-27 $^{\circ}\text{C}$, 湿度 50-70%, 每天定时开箱 1 h,

添加水、饲料及更换垫料,并与对照组交换母鼠以避免因氧中毒致喂养能力下降^[1-3];对照组 FiO₂ 为 0.21(空气),具体方法及实验控制因素同实验组。

1.2 方法 每组分别于实验的 1 d, 3 d, 7 d, 14 d, 21 d 随机处死 8 只后,分离肺、肝肠组织。分别用预冷的生理盐水洗净残血,吸干水分,称 1 g 湿质量组织煎碎,于冰盒内超声粉碎匀浆,制成 100 g/L 的组织匀浆,低温离心后取上清液,分别按照 SOD 和 MDA 测定试剂盒(南京建成生物工程研究所提供)要求,应用紫外/可见分光光度计(法国 500-P 型),测定 SOD 活性及 MDA 含量。

统计学处理 应用 SPSS 10.0 统计软件进行统计学处理,所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 Dunnett t 检验。

2 结果

2.1 肝组织 SOD 活性和 MDA 含量 随吸氧时间的延长,两组肝组织 SOD 的活性无差异($P > 0.05$);而 MDA 的含量,吸入高氧 7 d 时,虽有所增高,但与对照组比较无差异($P > 0.05$),14 d 明显高于对照组($P < 0.01$),21 d 时虽有下降,但仍高于对照组($P < 0.05$,表 1)。

表 1 肝组织 SOD 活性和 MDA 含量的动态变化($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

吸氧时间(d)	SOD(kNU/g)		MDA($\mu\text{mol/L}$)	
	实验组	对照组	实验组	对照组
1	157 \pm 13	155 \pm 24	55 \pm 6	56 \pm 5
3	176 \pm 13	171 \pm 11	65 \pm 10	62 \pm 3
7	169 \pm 15	160 \pm 14	69 \pm 18	64 \pm 7
14	178 \pm 18	173 \pm 26	122 \pm 9 ^a	68 \pm 7
21	183 \pm 31	182 \pm 15	97 \pm 8 ^b	63 \pm 5

^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$ vs 对照组。

2.2 肠组织 SOD 活性和 MDA 含量 随吸氧时间的延长,两组肠组织 SOD 的活性无差异($P > 0.05$);而 MDA 的含量,吸入高氧 14 d 时,高于对照组($P < 0.01$),21 d 时虽有下降,但仍高于对照组($P < 0.05$,表 2)。

表 2 肠组织 SOD 活性和 MDA 含量的动态变化($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

吸氧时间(d)	SOD(kNU/g)		MDA($\mu\text{mol/L}$)	
	实验组	对照组	实验组	对照组
1	133 \pm 21	131 \pm 18	67 \pm 7	66 \pm 9
3	125 \pm 22	122 \pm 15	65 \pm 13	62 \pm 10
7	129 \pm 17	127 \pm 23	70 \pm 16	64 \pm 6
14	127 \pm 30	127 \pm 21	117 \pm 9 ^a	68 \pm 9
21	133 \pm 21	132 \pm 11	81 \pm 11 ^b	63 \pm 8

^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$ vs 对照组。

2.3 肺组织 SOD 活性和 MDA 含量 随吸氧时间的延

长,实验组肺组织 SOD 的活性虽有逐渐增高的趋势,但与对照组比较无差异($P > 0.05$);而 MDA 的含量,吸入高氧 3 d 即明显高于对照组($P < 0.01$),7 d 达高峰($P < 0.001$),并持续至 14 d,21 d 时虽有下降,但仍高于对照组($P < 0.01$,表 3)。

表 3 肺组织 SOD 活性和 MDA 含量的动态变化($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

吸氧时间(d)	SOD(kNU/g)		MDA($\mu\text{mol/L}$)	
	实验组	对照组	实验组	对照组
1	27 \pm 3	28 \pm 5	33 \pm 13	26 \pm 5
3	30 \pm 3	29 \pm 3	55 \pm 5 ^b	22 \pm 4
7	69 \pm 9	70 \pm 11	94 \pm 12 ^a	24 \pm 5
14	74 \pm 11	72 \pm 6	86 \pm 10 ^a	24 \pm 3
21	84 \pm 7	82 \pm 6	48 \pm 7 ^b	24 \pm 6

^a $P < 0.001$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

3 讨论

近年来,有关氧自由基及其介导的脂质过氧化反应在组织损伤中的作用倍受关注,并把组织 SOD 活性下降及 MDA 含量增高作为评价氧自由基损伤组织程度的重要指标^[4-6]。大量的临床及动物实验已证实,新生儿缺氧、缺血可引起肝、肠组织的自由基损伤,而吸入高浓度氧后,除局部的肺组织病变外,能否引起其他器官(如肝、肠组织)的自由基损伤至今尚未见报道。

虽高氧致早产儿 CLD 的发生机制尚未清楚,但肺部氧化应激反应的程度已成为影响 CLD 发生及其预后的重要因素之一。有研究表明^[5-11],AOE 功能不足的早产儿,若长时间暴露于高氧环境中,氧自由基和活性氧(ROS)在肺组织内大量生成,超过抗氧化系统的清除能力,即氧化/抗氧化失衡,ROS 可通过损伤肺组织细胞的 DNA、脂质、蛋白质及糖类大分子等化合物,引起氧化应激性肺损伤;还发现最终发展成 CLD 的早产儿,生后最初几天内,其支气管肺泡灌洗液(BALF)中 MDA 的水平明显增高。我们的结果亦证实,吸高氧后, SOD 的活性与对照组无差异,而 MDA 水平早期即明显升高,7 d 达高峰,持续 1 wk 后逐渐下降,21 d 时仍高于正常水平,与上述报道相类似。在此基础上,我们观察了肝、肠组织的氧化应激状态,并发现 SOD 的活性与对照组无差异,而 MDA 水平,吸高氧后 7 d 内仍无明显变化,14 d 时却明显增高,21 d 虽有下降趋势,但还高于正常水平,该结果提示,高氧肺损伤时,肝、肠组织同样存在自由基损伤,但其发生时间明显滞后于肺组织,与文献报道衰老大鼠急性肺损伤诱导肝功能受损的研究结果相类似^[12]。高氧肺损伤时,肝、肠组织自由基损伤的原因何在,目前还不清楚,推测可能与下列因素有关^[13-17]:(1)肺部的氧化应激反应,MDA 大量生成并释放入血,继而引发肝、肠组织的自由基损伤;(2)高氧可促发肺部炎症反应,IL-6、IL-8 及 TNF- α

等细胞因子释放入血, 并激活 PMN, 通过呼吸暴发、脱颗粒、释放氧自由基而损伤肝、肠组织; (3)高氧肺损伤后, 肺组织通气或换气功能障碍而导致低氧血症, 肝、肠组织可因供氧不足而发生自由基损伤. 上述的一种或多种因素相互作用, 从而介导肝、肠组织的自由基损伤. 但肝、肠组织的自由基损伤是否引起组织的病理生理变化, 尚需进一步深入研究.

总之, 吸入高浓度氧后, 肺组织首先发生氧化应激性反应, 而滞后的肝、肠组织的自由基变化使我们意识到: 源于吸入高氧而致的早产儿 CLD 是否可启动多器官的功能障碍? 如证实该假设, 对阐明 CLD 的发生机制、新防治措施的提出及降低早产儿 CLD 的发生率和致残率均具有重要临床意义和社会价值.

4 参考文献

- 1 许峰, 霍泰辉, 翁颂铭, 杨默, 殷爱珍. 高浓度氧对早产鼠肺一氧化氮合酶基因表达的影响. *中华儿科杂志* 2002;40:37-39
- 2 容志惠, 常立文, 张谦慎. 维甲酸对新生大鼠高氧肺损伤的保护作用. *中华儿科杂志* 2003;41:299-230
- 3 Xu F, Fok TF, Yin J. Hyperoxia-induced lung injury in premature rat: description of a suitable model for the study of lung disease in newborns. *Chin Med J* 1998;111:619-624
- 4 宋薇薇, 富建华. 子宫内缺血缺氧及再灌注中胎鼠脑组织内质网及线粒体 ATP 酶的动态变化. *中华妇产科杂志* 2002;37:146-149
- 5 富建华, 薛辛东. 高浓度氧诱导早产儿肺损伤的研究现状. *中国当代儿科杂志* 2003;5:78-81
- 6 Saugstad OD. Chronic lung disease: oxygen dogma revisited. *Acta Paediatr* 2001;90:113-115
- 7 Saugstad OD. Bronchopulmonary dysplasia-oxidative stress and antioxidants. *Semin Neonatol* 2003;8:39-49
- 8 The STOP-ROP Multicenter Study Group. Supplemental therapeutic oxygen for prethreshold retinopathy of prematurity (STOP-ROP), a randomized, controlled trial: primary outcomes. *Pediatrics* 2000;105:295-310
- 9 Davis JM, Richter SE, Biswas S. Long-term follow-up of premature infants treated with prophylactic, intratracheal recombinant human CuZn superoxide dismutase. *J Perinatol* 2000;20:213-216
- 10 Buss IH, Darlow BA, Winterbourn CC. Elevated lipid carbonyls and lipid peroxidation products correlating with myeloperoxidase in tracheal aspirates from premature infants. *Pediatr Res* 2000;47:640-645
- 11 Winterbourn CC, Chan T, Buss IH, Inder TE, Mogridge N, Darlow BA. Protein carbonyls and lipid peroxidation products as oxidation markers in preterm infant plasma: associations with chronic lung disease and retinopathy and effects of selenium supplementation. *Pediatr Res* 2000;48:84-90
- 12 杜烨玮, 张健, 孙仁宇, 王士雯. 衰老大鼠急性肺损伤诱导肝功能受损的研究. *中华结核和呼吸杂志* 2002;25:744-747
- 13 张晓慧, 常立文. 促炎因子与高氧肺损伤. *国外医学儿科学分册* 2001;28:141-143
- 14 Allen GL, Menendez IY, Ryan MA, Mazor RL, Wispe JR. Hyperoxia synergistically increases TNF-alpha-induced interleukin-8 gene expression in A549 cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;278:L253-260
- 15 Lindsay L, Oliver SJ, Freeman SL, Josien R, Krauss A, Kaplan G. Modulation of hyperoxia-induced TNF-alpha expression in the newborn rat lung by thalidomide and dexamethasone. *Inflammation* 2000;24:347-356
- 16 Li YX, Oliver SJ, Freeman SL. Ureaplasma urealyticum-induced production of proinflammatory cytokines by macrophages. *Pediatr Res* 2000;48:114-119
- 17 Jonsson B, Li YH, Noack G. Downregulatory cytokines in tracheobronchial aspirate fluid from infant with chronic lung disease of prematurity. *Acta Paediatr* 2000;89:1375-1380

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

2002 年度总被引频次较高的 20 种期刊

排名	单位	总被引频次	排名	单位	总被引频次
1	世界华人消化杂志	4151	11	中国实用外科杂志	2044
2	科学通报	3321	12	第四军医大学学报	2025
3	植物学报	2927	13	中国中西医结合杂志	2003
4	物理学报	2870	14	中华医学杂志	2002
5	高等学校化学学报	2707	15	中草药	1999
6	中华外科杂志	2653	16	中国临床康复	1984
7	中华骨科杂志	2463	17	中华内科杂志	1902
8	分析化学	2268	18	中华儿科杂志	1863
9	生态学报	2257	19	中华妇产科杂志	1838
10	中华放射学杂志	2241	20	中华结核和呼吸杂志	1812

中国科学技术信息研究所 2003-12-09 发布 2002 年度中国科技论文统计结果