

氧化应激在大鼠创伤性脑损伤后应激性肝损害中的作用

朱玉群, 栾伟华, 王燕斌, 王天懿, 杨昭徐

朱玉群, 栾伟华, 王燕斌, 王天懿, 杨昭徐, 首都医科大学附属北京天坛医院消化内科 北京市 100050

作者贡献分布: 朱玉群作主要贡献, 其他作者贡献均等; 课题由杨昭徐与朱玉群设计; 朱玉群、王天懿及王燕斌共同操作完成实验; 数据统计及文献检索由栾伟华完成; 论文撰写由朱玉群完成; 杨昭徐进行指导。

通讯作者: 朱玉群, 100050, 北京市天坛西里甲6号, 首都医科大学附属医院北京天坛医院消化内科. amber1028@tom.com
电话: 010-67096556

收稿日期: 2008-07-22 修回日期: 2008-09-17

接受日期: 2008-09-22 在线出版日期: 2008-10-28

Effect of oxidative stress on hepatic stress injury following traumatic brain injury in rats

Yu-Qun Zhu, Wei-Hua Luan, Yan-Bin Wang, Tian-Yi Wang, Zhao-Xu Yang

Yu-Qun Zhu, Wei-Hua Luan, Yan-Bin Wang, Tian-Yi Wang, Zhao-Xu Yang, Department of Gastroenterology, Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China

Correspondence to: Yu-Qun Zhu, Department of Gastroenterology, Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Tiantan Xili NO-jia-6, Beijing 100050, China. amber1028@tom.com

Received: 2008-07-22 Revised: 2008-09-17

Accepted: 2008-09-22 Published online: 2008-10-28

Abstract

AIM: To explore the effect of oxidative stress (OS) on hepatic stress injury (HSI) secondary to traumatic brain injury (TBI).

METHODS: The animal model was established using an improved Allen's method. Forty healthy male Wistar rats had been divided randomly into five groups: control group and 6, 12, 24 and 48 h TBI posttraumatic groups. The serum levels of ALT and AST were measured using enzymic assay. The serum tumor necrosis factor- α (TNF- α) was detected using ABC-ELISA technique. The MDA values of liver tissue were measured with thiobarbituric acid method, and SOD of liver tissue was measured using chemiluminescence. And pathological changes of liver tissue were observed under light and electronic microscopy.

RESULTS: At early period of HSI, the serum

levels of ALT, AST and TNF- α and the MOD values of liver tissue were markedly increased in all TBI groups, and the SOD values of liver tissue were significantly decreased compared with control group (252.92 ± 56.29 vs 41.17 ± 7.88 ; 283.12 ± 45.28 vs 45.22 ± 6.57 ; 1138.27 ± 212.02 vs 210.56 ± 28.22 ; 15.21 ± 0.36 vs 6.14 ± 0.25 ; 78.13 ± 3.12 vs 135.58 ± 5.58 , $P < 0.01$ or 0.05). Liver tissue injuries at varied degrees were observed under light and electron microscopy in each TBI group.

CONCLUSION: Oxidative stress may be involved in the pathogenesis of HSI which occurs early secondary to traumatic brain injury.

Key Words: Traumatic brain injury; Hepatic stress injury, Oxidative stress; Tumor necrosis factor- α

Zhu YQ, Luan WH, Wang YB, Wang TY, Yang ZX. Effect of oxidative stress on hepatic stress injury following traumatic brain injury in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(30): 3433-3436

摘要

目的: 探讨氧化应激(OS)在大鼠创伤性脑损伤(TBI)后应激性肝损害(HSI)中的作用。

方法: 用改良Allen法建立TBI模型。40只健康Wistar大鼠随机分为5组, 正常对照组、颅脑致伤后6、12、24、48 h时相组。酶学法检测血清ALT和AST水平, ABC-ELISA法测定血清TNF- α 水平, 硫代巴比妥酸法测定MDA水平变化, 化学发光法测定SOD水平变化。光镜及电镜下观察肝脏组织学改变。

结果: 颅脑致伤后12 h, 各组血ALT和AST、TNF- α 水平及肝组织MDA明显增加, 肝组织SOD显著减少, 与对照组比较差异均显著(252.92 ± 56.29 vs 41.17 ± 7.88 ; 283.12 ± 45.28 vs 45.22 ± 6.57 ; 1138.27 ± 212.02 vs 210.56 ± 28.22 ; 15.21 ± 0.36 vs 6.14 ± 0.25 ; 78.13 ± 3.12 vs 135.58 ± 5.58 , $P < 0.01$ 或 0.05); TBI各组光镜和电镜可观察到肝组织不同程度受损。

结论: TBI后早期可出现HSI, OS可能参与了其

■背景资料

创伤性脑损伤(TBI)后可出现多种内脏并发症, 应激性肝损害(HSI)是其中常见而又不易被觉察到的内脏损害, 引起机体多方面功能障碍, 影响患者的治疗和预后, 但其发病机制尚未阐明。

■同行评议者

张锦生, 教授, 复旦大学上海医学院病理学系; 姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

■研发前沿

HSI的发病机制尚不清楚,涉及肠黏膜屏障功能、内毒素血症、细胞早期凋亡、炎症介质、氧化应激(OS)等,可能为多因素共同作用的结果,其中OS性损伤可能是其中关键因素之一。

发病过程

关键词: 创伤性脑损伤; 应激性肝损害; 氧化应激; 肿瘤坏死因子- α

朱玉群, 栾伟华, 王燕斌, 王天懿, 杨昭徐. 氧化应激在大鼠创伤性脑损伤后应激性肝损害中的作用. 世界华人消化杂志 2008; 16(30): 3433-3436
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/3433.asp>

0 引言

创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)后可出现内脏并发症^[1-2], 不仅增加了治疗的复杂性, 还是导致患者死亡的直接原因. 应激性肝损害(hepatic stress injury, HSI)是一种常见而又不易被觉察到的内脏损害, 发生于多种临床病理生理过程, 影响机体多方面功能, 发病机制尚未阐明^[3-4]. 本研究拟通过观察TBI后不同时期的大鼠肝功能、氧自由基(oxygen free radicals, OFRs)和肝脏超微结构改变等, 探讨氧化应激(oxidative stress, OS)在TBI后HSI发病中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 40只 δ Wister大鼠, 体质量250-280 g.

1.2 方法

1.2.1 分组: 实验大鼠随机分为5组: 正常对照组(C)和TBI后6、12、24、48 h时相组(T6、T12、T24、T48), 每组8只. 采用改良Allen自由落体撞击伤法^[5]建立TBI模型。

1.2.2 血清ATL、AST和TNF- α 检测: 左心室取血, ATL、AST采用酶学法, TNF- α 采用ABC-ELISA法测定。

1.2.3 肝组织MDA、SOD检测: 取肝组织200 mg制备组织匀浆, 硫代巴比妥酸法测定MDA, 化学发光法测定SOD, Lorry法测定匀浆液蛋白含量. 试剂盒由南京生物工程研究所提供。

1.2.4 病理学检查: 取肝右后叶组织标本, 光镜、电镜下观察组织学改变。

统计学处理 采用SPSS11.0统计学软件包处理数据. 结果用mean \pm SD表示. 组间比较采用 t 检验或 F 检验, $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 血清酶学及TNF- α 变化 TBI后各组大鼠血清ALT于伤后6 h明显升高, 24 h达峰值水平. AST于伤后12 h开始升高, 峰值在48 h(表1). 血清TNF- α 于伤后6 h开始上升, T12达峰值(表1).

2.2 肝组织MDA和SOD检测 肝组织MDA于伤

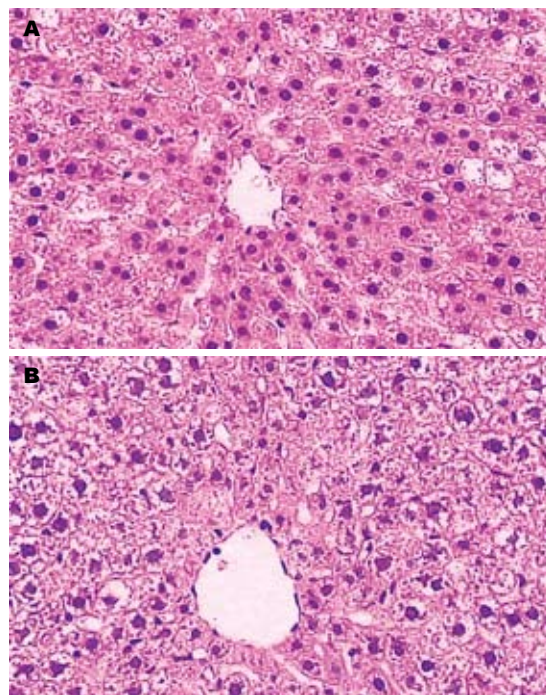


图1 肝组织学光镜观($\times 200$). A: 伤后12 h, 肝细胞肿胀, 细胞质疏松浅染, 部分细胞空泡变性; B: 伤后48 h可见肝细胞高度肿胀, 呈空泡变性, 部分区域见细胞膜消失融合及核破碎现象。

后6 h明显升高, 24 h达峰值. SOD于12、24、48 h均显著低于对照组(表2).

2.3 肝组织学改变 光镜下, 伤后12 h可见细胞空泡变性; 24 h见胞质广泛水肿, 少许核破碎; 48 h见多处核破碎、细胞膜消失融合(图1).

电镜下伤后6 h见肝窦扩张、Disse间隙增宽, 少量核染色质边集. 12 h见空泡变, 广泛核染色质凝聚边集. 24 h见广泛胞质水肿, 大量空泡形成, 枯否细胞增多, 核破碎, 内质网高度扩张. 48 h见细胞膜消失融合, 细胞器大量崩解, 核固缩深染, 核破碎崩解; 枯否细胞核内染色质凝聚(图2).

3 讨论

本组实验显示大鼠TBI后6 h即有血清肝酶升高和肝组织学改变, 并随病程延长肝损害由变性到坏死呈逐渐加重趋势, 支持肝脏是TBI早期易受损伤的脏器之一。

关于HSI的发病机制尚不清楚, 可能是多因素共同作用的结果^[6-9], OS损伤可能是重要机制之一^[10]. 本组实验发现, 肝组织MDA于TBI后6 h各组均明显升高, SOD于伤后12 h均显著降低, 与肝酶和肝病理改变一致, 支持这个观点。

TBI后, 机体首先通过“脑-内脏反射”, 引起肝脏缺血、再灌注损伤(hepatic ischemia

■创新盘点

该研究以改良Allen氏法建立创伤性脑损伤引起的HSI模型, 观察氧自由基和肝脏形态的动态改变, 得出TBI后早期可出现HSI, OS可能参与其发病过程的结论。

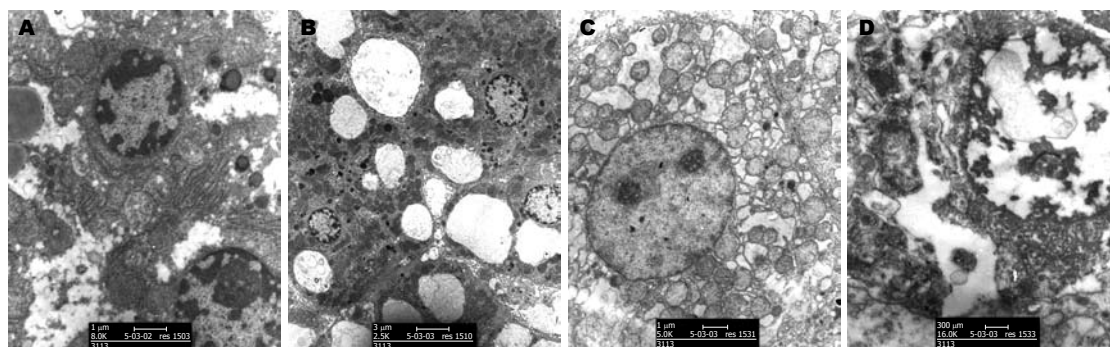


图2 肝组织学改变电镜观。A: $\times 8000$, 伤后6 h, 核内染色质斑块状凝聚、呈近类新月形边集; 吞噬脂滴的次级溶酶体、脂滴; B: $\times 2500$, 伤后12 h, 见多而大的空泡样物; C: $\times 5000$, 伤后24 h, 线粒体增多、肿胀; 内质网高度扩张; D: $\times 16\,000$, 伤后48 h, 肝细胞结构不清, 核染色质凝聚、细胞器凝聚。

■应用要点

由于肝损伤可引起细菌、内毒素逃逸和炎性介质扩增, 是MODS的重要环节之一。因此对OS等因素在TBI后HSI发病中的作用研究, 对临床预防和控制“脑-内脏综合症”的发生和发展、提高重症患者的生存率具有指导意义。

表1 血清ALT、AST和TNF- α 水平变化 (mean \pm SD)

分组	ALT(U/L)	AST(U/L)	TNF- α (ng/L)
C	41.17 \pm 7.88	45.22 \pm 6.57	210.56 \pm 28.22
T6	79.40 \pm 11.36 ^a	55.29 \pm 9.21	437.16 \pm 86.13 ^a
T12	252.92 \pm 56.29 ^b	283.12 \pm 45.28 ^b	1138.27 \pm 212.02 ^b
T24	1186.48 \pm 168.36 ^b	779.10 \pm 122.05 ^b	838.77 \pm 102.98 ^b
T48	654.56 \pm 112.15 ^b	1955.69 \pm 201.76 ^b	408.66 \pm 89.28 ^a

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

表2 TBI后肝脏组织MDA和SOD水平变化 (mean \pm SD)

分组	MDA nmol/mg.pro.	SOD U/mg.pro.
C	6.14 \pm 0.25	135.58 \pm 5.58
T6	13.19 \pm 0.28 ^a	107.07 \pm 5.02
T12	15.21 \pm 0.36 ^a	78.13 \pm 3.12 ^a
T24	50.29 \pm 0.65 ^b	77.69 \pm 2.98 ^a
T48	49.13 \pm 0.56 ^b	81.97 \pm 3.69 ^a

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

-reperfusion injury, HIRI)^[11-12], 一方面肝脏在缺血时, 线粒体呼吸链功能失调, 氧被还原, 生成活性OFRs。另一方面, 缺血时黄嘌呤脱氢酶转化为黄嘌呤氧化酶, 后者在分子氧存在时催化次黄嘌呤代谢过程中, 产生超OFRs。SOD为机体主要的自由基清除酶, 肝脏有效血流量下降造成内源性OFRs清除剂SOD下降, 同时SOD合成减少, OFRs清除不足, 反过来又进一步抑制SOD的活性。SOD活性下降引发脂质过氧化物, 在金属离子存在下催化裂解产生MDA, MDA对细胞有毒性作用, 可与蛋白质分子内和分子间交联, 损害肝细胞。

此外, OS可通过TNF- α 介导引起肝损害, 二

者互为因果。本研究中TBI后各时相组TNF- α 的显著升高, 表明TNF- α 也参与了HSI的发病过程。TNF- α 在OS时可大量产生, 通过迅速启动单核-巨噬细胞系统, 促进趋化因子和黏附因子的合成, 促成中性粒细胞在肝内聚集与激活的级联反应; TNF- α 反过来又可诱导OFRs大量生成。有学者^[13]通过实验发现自由基在介导TNF后, 通过呼吸爆发, 释放大量的超氧阴离子、过氧化氢等。此外, TNF- α 还可通过刺激其他促炎介质的生成, 如IL-1、IL-6、IL-8等, 扩大其生物学效应^[14-15]。

总之, HSI可发生于TBI后早期, OS是其重要机制之一, OS可能通过与TNF- α 级联或协同作用, 引起或加重HSI。

4 参考文献

- 1 刘爱翔. 颅脑损伤继发肝损害360例临床分析. 中国医师进修杂志 2006; 29: 60-61
- 2 Zygun D. Non-neurological organ dysfunction in neurocritical care: impact on outcome and etiological considerations. *Curr Opin Crit Care* 2005; 11: 139-143
- 3 Szabo G, Romics L Jr, Frenzl G. Liver in sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Clin Liver Dis* 2002; 6: 1045-1066, x
- 4 Streetz KL, Wüstefeld T, Klein C, Manns MP, Trautwein C. Mediators of inflammation and acute

■同行评价

本文以改良Allen氏法建立创伤性脑损伤引起的HIS模型,观察氧自由基和肝脏形态的动态改变,未见报道,有一定的新意和学术价值。

- phase response in the liver. *Cell Mol Biol* (Noisy-le-grand) 2001; 47: 661-673
- 5 张绍东, 翟晶, 张辉, 张家瑾. 促甲状腺激素释放激素类似物YM14673对大鼠脑损伤性脑水肿的作用及机制. *中国临床康复* 2004; 8: 6230-6231
- 6 Ott L, McClain CJ, Gillespie M, Young B. Cytokines and metabolic dysfunction after severe head injury. *J Neurotrauma* 1994; 11: 447-472
- 7 Kamei H, Yoshida S, Yamasaki K, Tajiri T, Ozaki K, Shirouzu K. Severity of trauma changes expression of TNF-alpha mRNA in the brain of mice. *J Surg Res* 2000; 89: 20-25
- 8 Fang CW, Yao YM, Zhai HX, Yu Y, Wu Y, Lu LR, Sheng ZY, Sheng CY. Tissue lipopolysaccharide-binding protein expression in rats after thermal injury: potential role of TNF-alpha. *Burns* 2004; 30: 225-231
- 9 Xie GQ, Jiang JX, Chen YH, Liu DW, Zhu PF, Wang ZG. Induction of acute hepatic injury by endotoxin in mice. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2002; 1: 558-564
- 10 Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 718-724
- 11 Suzuki M, Takeuchi H, Kakita T, Unno M, Katayose Y, Matsuno S. The involvement of the intracellular superoxide production system in hepatic ischemia-reperfusion injury. In vivo and in vitro experiments using transgenic mice manifesting excessive CuZn-SOD activity. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 756-763
- 12 Tselepidis S, Papazoglou L, Dessiris A, Vlemas I, Papageorgiou G, Stournara A, Minas A. Liver injury after ischemia and reperfusion: the role of oxygen free radicals. *Mil Med* 2004; 169: 531-535
- 13 Camussi G, Montrucchio G, Dominioni L, Dionigi R. Septic shock--the unravelling of molecular mechanisms. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 1808-1813
- 14 Sheron N, Williams R. IL-8 as a circulating cytokine: induction by recombinant tumour necrosis factor-alpha. *Clin Exp Immunol* 1992; 89: 100-103
- 15 Kinoshita M, Uchida T, Nakashima H, Ono S, Seki S, Hiraide H. Opposite effects of enhanced tumor necrosis factor-alpha production from Kupffer cells by gadolinium chloride on liver injury/mortality in endotoxemia of normal and partially hepatectomized mice. *Shock* 2005; 23: 65-72

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志名词术语标准

本刊讯 本刊名词术语一律标准化,前后统一,如原词过长且多次出现者,可于首次出现时写出全称加括号内注简称,以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准,药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准,国家食品药品监督管理局批准的新药,采用批准的药名;创新性新药,请参照我国药典委员会的“命名原则”,新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称),如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD₅₀, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误,外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者,直接采用原有英语词,如中风stroke,发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词,如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者,宜用汉语拼音,如阴yin,阳yang,阴阳学说yinyangology,人中renzhong,气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写,如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。(常务副总编辑:张海宁 2008-10-28)