

· 基础研究 ·

紫外线照射充氧自血回输对梭曼中毒家兔氧自由基代谢的影响

张献清 张晓迪 穆士杰 梁欣 夏爱军 海春旭

【摘要】目的 探讨紫外线照射充氧自血回输(UBIO)对家兔急性梭曼中毒后氧自由基代谢的影响。**方法** 将 100 只家兔随机分为 5 组,即正常对照组、中毒组、常规治疗组、UBIO 治疗组及复合治疗组,各组于 14 d 后检测家兔血清中丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及过氧化氢酶(CAT)活性。**结果** 与正常对照组相比,家兔梭曼中毒后,血清 MDA 含量及 CAT 活性明显升高($P < 0.01$),SOD、GSH-Px 活性明显降低($P < 0.05$)。但经 UBIO 或复合治疗后,与中毒组血清 MDA 含量比较明显降低($P < 0.01$),SOD、GSH-Px 及 CAT 活性明显升高($P < 0.05$)。**结论** 家兔梭曼急性中毒后可伴有明显的氧自由基损伤,UBIO 能明显提高机体抗氧化损伤能力,可以应用于梭曼急性中毒的治疗。

【关键词】 紫外线照射充氧自血回输; 梭曼; 中毒; 氧自由基

The effects of ultraviolet blood irradiation and oxygenation on oxygen free radical metabolism in rabbits with soman intoxication ZHANG Xian-qing*, ZHANG Xiao-di, MU Shi-jie, LIANG Xing, XIA Ai-jun, HAI Chun-xu.

* Department of Blood Transfusion, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

【Abstract】Objective To investigate the effects of ultraviolet blood irradiation and oxygenation(UBIO) on oxygen free radical metabolism(OFRM) in rabbits with acute soman intoxication. **Methods** One hundred rabbits were randomly divided into five groups: a control group, a soman intoxication group (I), a soman intoxication plus routine therapy group (TR), a soman intoxication plus UBIO therapy group (UBIO) and a soman intoxication plus complex therapy group (CT). All the rabbits were intervened accordingly. Then the concentrations of malondialdehyde (MDA) and the activities of superoxide dismutase (SOD), glutathionperoxidase (GSH Px) and catalase (CAT) in serum were determined at 14 d after various treatments. **Results** Compared with the control group, the concentration of MDA and the activity of CAT in the I group were significantly increased($P < 0.01$), while the activities of SOD and GSH Px were obviously decreased($P < 0.05$). After UBIO or complex therapy, the serum level of MDA was significantly decreased in comparison with that in the I group($P < 0.01$), while the concentrations of SOD, GSH Px and CAT were enhanced($P < 0.05$). **Conclusion** UBIO therapy can improve antioxidation activity against the injury caused by free radicals and could be used to treat acute soman intoxication, which causes injury from increased oxygen free radical concentrations.

【Key words】 Ultraviolet blood irradiation; Blood oxygenation; Soman intoxication; Oxygen free radicals

梭曼属有机磷酸酯类化合物,具有毒性强、作用快、中毒难防难治等特点。作为神经性毒剂的主要代表,是外军装备的主要化学战剂。梭曼中毒后除主要抑制乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AchE)活性外,还可以造成细胞脂质过氧化损伤及肺损伤^[1,2]。因此寻找新的治疗药物或治疗手段是目前研究的重点。我们曾将紫外线照射充氧自血回输(ultraviolet blood irradiation and oxygenation, UBIO)应用于梭曼急性中毒的治疗,效果良好^[3],为进一步对其治疗机理进行研究,本研究拟通过观察 UBIO 对梭曼中毒后的自由基代谢的影响,探讨其可能的作用机制,报道如下。

材料与方法

一、材料

1. 实验动物及分组:健康家兔 100 只,雌雄各半,体重 2.0 ~ 2.3 kg,平均(2.1 ± 0.1) kg,由第四军医大学动物中心提供,经适应性喂养 3 d 后使用。家兔随机分为 5 组,每组 20 只,分别为正常对照组、中毒组、常规治疗组、UBIO 治疗组及复合治疗组。

2. 试剂及仪器:梭曼(由军事医学科学院提供);丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)及过氧化氢酶(catalase, CAT)测定试剂盒(均由南京建成生物工程研究所提供)。XZY-IV 型血液治疗仪(第四军医大学西京医院

作者单位:710032 西安,第四军医大学西京医院输血科(张献清、穆士杰、夏爱军);第四军医大学毒理学教研室(张晓迪、梁欣、海春旭)

临床输血研究中心研制)。

二、方法

1. 梭曼中毒模型的制备:正常对照组于大腿肌注生理盐水 2 ml,其余各组于大腿肌注 LD₅₀ 梭曼 (10.26 μg/kg 体重)。

2. 实验方法:正常对照组及中毒组在 3 min 后于另一侧大腿肌注生理盐水 2 ml,常规治疗组于另一侧大腿肌注复合解毒剂(苯那辛 5 mg/kg 体重,阿托品 5 mg/kg 体重,氯磷定 20 mg/kg 体重);UBIO 治疗组在染毒后 3 min 兔耳缘静脉取血 20 ml,抗凝,置于改制的一次性照血袋中(紫外线透过率 > 80%),充氧,以 1.5 J/cm² 紫外线(λ_{max} = 350 nm)照射,然后快速回输,以后每隔 1 d 治疗一次;复合治疗组于染毒后 3 min 于另一侧大腿肌注复合解毒剂,同时行 UBIO 治疗,并每隔 1 d 治疗 1 次,各组均观察 14 d,记录动物存活情况,并检测血清 MDA、SOD、GSH-Px 及 CAT 水平。

三、统计学分析

所有实验数据均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,应用 SPSS 10.0 版统计软件对计数资料采用 χ^2 检验,计量资料进行方差分析。

结 果

一、各组动物存活率的比较

中毒组家兔在 72 h 内存活 8 只,存活率为 40.0%;常规治疗组存活 12 只,存活率为 80%;UBIO 治疗组存活 12 只,存活率为 60%,在 72 h 后各组均无动物死亡;而正常对照组及复合治疗组,动物存活率为 100%。复合治疗组与中毒组、常规治疗组及 UBIO 治疗组比较, χ^2 值分别为 13.11、5.99 和 13.11 ($P < 0.01$)。

二、血清 SOD、GSH-Px、CAT 及 MDA 的变化

各组家兔于 14 d 后采血检测血清 SOD、GSH-Px、CAT 及 MDA 水平,见表 1。从表 1 可以看出,各组家兔血清 MDA 水平差异有统计学意义 ($F = 6.51, P < 0.01$),进一步应用 LSD 法作均数比较发现,梭曼中毒后,血清 MDA 水平明显高于正常对照组 ($P < 0.01$),而经常规治疗 UBIO 及复合治疗后,MDA 水平显著降低 ($P < 0.01$)。家兔梭曼中毒后,各组间血清 GSH-Px 与 SOD 水平差异有统计学意义 (F 值分别为 3.84、2.87, $P < 0.05$),进一步分析表明,中毒组 SOD、GSH-Px 水平明显低于正常对照组 ($P < 0.05$),经 UBIO 及复合治疗后,其水平均明显高于中毒组 ($P < 0.05$)。血清 CAT 水平在各组间差异有统计学意义 ($F = 7.76, P < 0.01$)。家兔梭曼中毒后 CAT 活性明显高于正常对照组 ($P < 0.01$),但经 UBIO 或复合治疗后,其水平进一步升高,与中毒组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 各组家兔血清 MDA、SOD、GSH-Px 及 CAT 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	<i>n</i>	MDA (nmol/ml)	SOD (U/ml)	GSH-Px (U/ml)	CAT (U/ml)
正常对照组	20	0.08 ± 0.02	233.2 ± 24.4	261.1 ± 53.4	4.6 ± 3.3
中毒组	8	0.11 ± 0.01 *	187.6 ± 50.1 #	198.0 ± 71.0 #	7.2 ± 2.1 *
常规治疗组	16	0.08 ± 0.01	216.5 ± 21.0	217.5 ± 56.2	7.7 ± 1.3
UBIO 治疗组	12	0.08 ± 0.01 ▲	229.0 ± 40.7 △	257.1 ± 45.1 △	8.8 ± 1.3 △
复合治疗组	20	0.08 ± 0.01 ▲	230.0 ± 24.7 △	258.6 ± 37.8 △	8.7 ± 1.3 △

注:与正常对照组相比较,* $P < 0.01$,# $P < 0.05$;与中毒组比较,▲ $P < 0.01$,△ $P < 0.05$

讨 论

梭曼作为神经性毒剂,主要抑制体内的乙酰胆碱酯酶,使乙酰胆碱在体内过量蓄积,从而引起中枢和外周胆碱系统功能紊乱。同时,梭曼中毒引起呼吸肌麻痹,造成氧代谢障碍,因而推测会产生活性氧,以至于诱发自由基的生成^[4]。自由基及其引发的脂质过氧化物可以破坏细胞线粒体、微粒体和溶酶体等生物膜结构,膜肿胀,融合甚至细胞裂死亡,继而使这些部位或全血中酶的活性改变。

机体有一套完整的抗氧化防御体系,能够防止自由基链式反应的氧化损伤,这些抗氧化物有酶类和非酶类等,其中 SOD 是以超自由基为底物的金属蛋白酶,SOD 活性越高则清除超氧自由基及抗氧化的能力越强,GSH-Px 是一种重要的催化过氧化物分解的酶类,它能催化过氧化氢和脂质过氧化物的还原。CAT 是一种 SOD 清除超氧自由基阴离子自由基链式反应的下游酶,与 GSH-Px 一样;主要功能是将 SOD 催化生成的 H₂O₂,进一步催化生成 H₂O,从而起到彻底清除自由基的作用。而 MDA 是脂质过氧化物的终产物之一,是反映脂质过氧化的敏感指标,因此,MDA 含量的高低可以反映机体自由基损伤的程度。

家兔梭曼中毒后,血清中 MDA 水平升高,SOD 及 GSH-Px 水平降低,提示梭曼中毒可导致机体抗氧化能力下降,自由基损伤加剧。这与文献^[5]结论一致。但是梭曼中毒后,体内 CAT 活性会有显著升高,可能原因是一方面由于 CAT 能催化水解梭曼^[6],当梭曼进入机体后,机体应激性产生 CAT 以清除梭曼,另一方面由于梭曼诱导机体的脂质过氧化损伤,从而应激性产生大量的 CAT 以清除自由基所致。

从本研究看,经复合治疗后,动物生存率明显升高。经 UBIO 或复合治疗后,家兔血清中 MDA 含量明显降低,而 SOD、GSH-Px 与 CAT 水平均会明显升高,提示 UBIO 治疗或辅助治疗能明显减少自由基的产生,从而减轻梭曼的脂质过氧化损伤。由于 UBIO 不仅能提高机体抗氧化损伤的能力^[7],调节自由基的平

衡,还能增加血氧饱和度,改善组织缺氧及微循环,加之其操作方便、安全,因此,UBIO 可望成为梭曼中毒治疗或辅助治疗手段,但仍需对其机制作进一步探讨。

参 考 文 献

- 1 Jacobsson SO, Cassel GE, Persson SA. Increased levels of nitrogen oxides and lipid peroxidation in the rat brain after soman-induced seizures. Arch Toxicol, 1999, 73: 269-273.
- 2 赵吉庆, 魏相德, 吕宏宇, 等. 模拟高原梭曼中毒肺损伤的酶学分析. 解放军预防医学杂志, 1997, 15: 403-405.
- 3 张献清, 穆士杰, 赵康涛, 等. 紫外线照射自血回输疗法对梭曼染毒

- 家兔全血胆碱酯酶活性的影响. 西北国防医学杂志, 2005, 26: 32-33.
- 4 李文丽, 梁欣, 海春旭, 等. 补充硒和锌对梭曼中毒大鼠抗氧化酶活力的影响. 中华劳动卫生职业病杂志, 2002, 20: 150-150.
- 5 杨兴斌, 蒋宁, 杨会宣, 等. 梭曼中毒大鼠脂质过氧化损伤及抗氧化剂的作用. 卫生毒理学杂志, 2003, 17: 17-19.
- 6 刘昌玲. 过氧化氢酶对梭曼水解的催化作用. 中国药理与毒理学杂志, 1994, 8: 122-124.
- 7 李建梅, 李金星, 公衍文. 紫外线照射充氧自血回输治疗穿掘性毛囊炎机制探讨. 中华理疗杂志, 1997, 20: 44-46.

(修回日期: 2006-08-12)

(本文编辑: 阮仕衡)

· 短篇论著 ·

超短波治疗腹腔镜胆囊切除术后胆囊床积液患者疗效观察

曹宝杰

腹腔镜胆囊切除术在外科领域是一项成熟定型手术,因其创伤小、痛苦少、恢复快、住院时间短等,被认为是胆囊切除的首选治疗方案^[1],普遍被医生及患者接受。然而,由于临床缺乏规范的培训、指导及质量标准,其并发症发生率(以胆囊床积液最为多见)高于传统胆囊切除术^[2]。临床用抗生素治疗胆囊床积液效果多不明显,我科采用物理疗法治疗该并发症取得了显著疗效。现报道如下。

一、资料与方法

我科于 1997 年至 2005 年期间共收治了 70 例腹腔镜胆囊切除术后胆囊床积液患者(均于术后 7 至 15 d 内出现胆囊床积液),给予抗生素治疗 10 d 后,经 B 超检查发现胆囊床积液吸收甚微。将上述患者随机分为超短波组(治疗组)和对照组。治疗组 35 例,男 25 例,女 10 例;年龄 42~69 岁,平均(55.73±1.35)岁。对照组 35 例,男 24 例,女 11 例;年龄 44~70 岁,平均(56.4±1.86)岁。2 组患者的一般情况及病情经统计学分析,差异均无统计学意义,具有可比性。

治疗组采用上海产 LDT-CD31 型超短波电疗机,输出波长 7.37 cm,频率 40.68 MHz,最大输出功率 220 W,2 块板状电极(220 mm×160 mm)于胆囊区对置,与皮肤间隙 4 cm。急性期(术后 7~15 d)患者采用无热量治疗,每日 1 次,每次 13 min;亚急性期(术后 15 d~1 个月)患者采用微热量治疗,每日 1 次,每次 15 min;慢性期(术后 1 个月~半年)患者采用温热量治疗,每日 1 次,每次 20 min。连续治疗 20 次为 1 个疗程,一般进行 3~4 个疗程治疗。对照组患者采用药物治疗,将左氧氟沙星 0.3 g 加入到 250 ml 葡萄糖注射液(浓度为 5%)中行静脉点滴,每日 1 次,7 d 为 1 个疗程,连续治疗 2~3 个疗程。

本研究患者以 B 超检查结果作为评判标准,治愈:胆囊床积液完全吸收;有效:有超过 1/3 的胆囊床积液被吸收;无效:胆囊床积液吸收少于 1/3 或无明显改变甚至增多。统计学方法采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

二、结果

本研究患者经治疗后其疗效结果详见表 1,由表中数据可知,治疗组有效率为 91.4%,对照组有效率为 65.7%,治疗组有效率明显高于对照组, $P < 0.05$,差异有统计学意义。

表 1 2 组患者疗效比较

组别	例数	治愈(例)	有效(例)	无效(例)	有效率(%)
治疗组	35	25	7	3	91.4*
对照组	35	13	10	12	65.7

注:与对照组比较, $\chi^2 = 9.71$, * $P < 0.05$

三、讨论

腹腔镜胆囊切除术后并发胆囊床积液患者大多有体弱多病、年龄偏大等特点。由于患者手术前病程较长且反复发病,需经常使用大量抗生素,易对抗生素产生耐药性,致使抗生素治疗效果欠佳。超短波能增加机体炎性组织中钙离子含量,使钾离子减少,降低炎性组织兴奋性,减轻术后炎性渗出,还能使局部血液、淋巴液循环加强,增高血管及组织细胞通透性,改善局部营养代谢功能,促进积液吸收;另外,超短波还能使炎症组织 pH 值向碱性方向转变,防止或减轻机体酸中毒,有利于炎症过程逆转^[3,4]。本研究结果证实,超短波对胆囊床积液患者具有良性干预作用,能显著促进积液吸收、提高疗效,值得临床推广、应用。

参 考 文 献

- 1 朱建敏, 蒋国桢. 262 例老年人腹腔镜胆囊切除术的临床分析. 肝胆外科杂志, 2006, 2: 46.
- 2 刘勤才. 腹腔镜胆囊切除术并发症预防措施. 肝胆外科杂志, 2006, 2: 40.
- 3 赵彼得. 临床电疗与光疗. 北京: 人民军医出版社, 1992. 77.
- 4 鞠琰莉, 欧阳多利, 刘金芝. 超短波加温针灸治疗慢性盆腔炎的疗效观察. 中华物理医学与康复杂志, 2005, 27: 696.

(收稿日期: 2006-08-20)

(本文编辑: 易 浩)