

## 高温复合脂多糖应激大鼠血浆 MDA、SOD 的变化规律

林晓静<sup>1</sup>, 李亚洁<sup>1\*</sup>, 李志梁<sup>2</sup>, 罗炳德<sup>3</sup>, 谭庆<sup>3</sup>, 韩雪琳<sup>3</sup>

(1. 南方医科大学南方医院护理部, 广州 510515; 2. 珠江医院心内科, 广州 510515; 3. 公共卫生与热带卫生学学院, 广州 510515)

**[摘要]** **目的:**探讨高温与脂多糖(LPS)复合应激大鼠血浆丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力等指标的变化规律。**方法:**雄性 SPF 级 Wistar 大鼠随机分为常温生理盐水组(C组)、高温生理盐水组(H组)、常温 LPS 组(L组)、高温 LPS 组(HL组),各组下设 0、40、80、120 min 亚组,每组 5 只。置动物于模拟气候舱,HL组、H组干球温度(dry bulb temperature, Tdb)为(35.0±0.5)℃,L组、C组 Tdb 为(26.0±0.5)℃;HL组、L组动物经尾静脉注射 LPS 10 mg/kg (浓度为 1 mg/ml),H组、C组动物经尾静脉注射 0.9% NaCl 10 ml/kg。检测动物应激 0、40、80、120 min 时血浆 MDA 含量、SOD 活力的变化。**结果:**应激 120 min 时,L组、H组、HL组动物血浆 MDA 含量、SOD 活力均与 C组存在显著性差异( $P<0.05$ );HL组动物 MDA 水平显著升高,SOD 活力水平显著下降,与同时相其他各组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论:**高温与 LPS 复合应激可能促发、扩大全身炎症反应综合征。

**[关键词]** 过热;脂多糖;丙二醛;超氧化物歧化酶

**[中图分类号]** R 594.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)05-0507-03

### Changes of plasma malondialdehyde and superoxidase dismutase concentration in LPS-heat co-stressed rats

LIN Xiao-jing<sup>1</sup>, LI Ya-jie<sup>1\*</sup>, LI Zhi-liang<sup>2</sup>, LUO Bing-de<sup>3</sup>, TAN Qing<sup>3</sup>, HAN Xue-lin<sup>3</sup> (1. Nursing Department, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Department of Cardiology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University; 3. Institute of Public Hygiene and Tropic Medicine, Southern Medical University)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To investigate the effect of co-exposure to LPS and heat on plasma malondialdehyde (MDA) content and superoxide dismutase (SOD) activity in rats. **Methods:** Male specific pathogen-free Wistar rats were randomly assigned to the following groups: saline injection+normothermic control (C-Group), saline injection+heat exposure (H-Group), LPS injection+normothermic control (L-Group), and LPS injection+heat exposure (HL-Group). Rats in H-/HL-Group were exposed in a chamber at an ambient dry bulb temperature (Tdb) of (35.0±0.5)℃ and in C-/L-Group at an ambient Tdb of (26.0±0.5)℃. Rats in L-/HL-Group were given an intravenous injection of LPS 10 mg/kg *via* tail veins to induce endotoxemia and in C-/H-Group were given an intravenous injection of 0.9% NaCl (10 ml/kg) *via* the tail vein. Mean arterial pressure (MAP) was continually monitored in all rats. Plasma levels of MDA and SOD activity were determined at 0, 40, 80, 120 min after exposure. **Results:** There was significant difference in plasma MDA levels and activities of SOD between L-/H-/HL-Group and C-Group ( $P<0.05$ ). The rats in HL-Group displayed significantly increased MDA level and decreased SOD activity compared with those in the other 3 groups ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** This study suggests that co-exposure to LPS and heat can promote and augment systemic inflammatory response syndrome in rats.

**[KEY WORDS]** hyperthermia; lipopolysaccharides; malondialdehyde; superoxide dismutase

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(5): 507-509]

强烈持久的热应激(heat stress)可造成机体过热(hyperthermia),其细胞毒性以及宿主的全身炎症反应相互作用往往造成热损伤甚至多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),而 50% 以上的 MODS 患者可合并感染,增加临床救治难度<sup>[1~3]</sup>。现有研究表明,热损伤与内源性内毒素血症密切相关<sup>[1,4]</sup>。本研究监测高温(HS)与细菌脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)复合应激大鼠生命体征、血浆丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量、超氧化物歧化酶(superoxide

dismutase, SOD)活力等指标的动态变化规律,为热损伤合并感染性休克、MODS 的研究,尤其是全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)途径启动机制的研究提供依据。

**[基金项目]** 全军“十五”医药卫生科研基金(01MA133);国家重点基础发展计划(973 计划)(G200056905)。Supported by Medical Science Research Foundation of the PLA(01MA133) and National Program on Key Research Project(973 Program)(G200056905)。

**[作者简介]** 林晓静,硕士生,主管护师。E-mail:LXJ1972@126.com

\* Corresponding author.

### 1 材料和方法

1.1 主要设备与试剂 仿真热气候动物舱(南方医科大学公共卫生与热带卫生学学院提供),Powlab/8sp 生理记录仪(AdInstruments 公司,澳大利亚)。LPS (*E. coli*, 0111; B4, 批号: 034K4105, Sigma-Aldrich 公司,德国)。

#### 1.2 实验动物及模型制备

1.2.1 动物分组 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 80 只, 体重 190~210 g(南方医科大学实验动物中心提供,使用实验动物质量合格证编号:0005277),随机数字法分为高温+LPS 组(HL 组)、LPS 组(L 组)、高温组(H 组)、对照组(C 组),各组下设应激 0、40、80、120 min 亚组( $n=5$ )。

1.2.2 致模因素 主要致模因素为 LPS、干球温度(Tdb)、应激时间,次要致模因素为相对湿度(RH)、湿球温度(Twb);实验环境:仿真热气候动物舱。

1.2.3 实验方法与步骤 实验动物以 3%戊巴比妥钠 1 ml/kg 腹腔注射麻醉后仰卧位固定于操作台,头转向一侧。经左股动脉插管连接三通,以肝素盐水(125 U/ml)0.2 ml/h 冲管。HL 组、L 组经尾静脉缓慢注射 LPS 10 mg/kg(浓度为 1 mg/ml),H 组、C 组经尾静脉缓慢注射 0.9%NaCl 10 ml/kg。动物稳定 10 min 后置入仿真热气候动物舱行热暴露。HL 组、H 组暴露条件:Tdb 为(35.0±0.5)℃、

Twb 为(27.0±0.5)℃,L 组、C 组暴露条件:Tdb 为(26.0±0.5)℃、Twb 为(21.0±0.5)℃,各实验组 RH 均为(40±5)%<sup>[5]</sup>。于各时相点采集标本后放血处死动物。

1.3 监测指标 (1)连接 Powlab/8sp 生理记录仪监测平均动脉压(MAP);(2)于各时相点抽取全血,采用黄嘌呤氧化酶法检测血浆 SOD 活力,采用硫代巴比妥酸法检测血浆 MDA 含量,具体操作参照试剂盒(SOD、MDA 试剂盒购自南京建成生物工程研究所)说明书进行。

1.4 实验性热射病、全身炎症反应综合征(SIRS)诊断标准 实验性热射病诊断标准参考动物热射病诊断标准<sup>[4]</sup>。SIRS 诊断参考动物 SIRS 诊断标准以及国际脓毒症定义会议中有关 SIRS 的诊断标准<sup>[5,6]</sup>。

1.5 统计学处理 计量资料数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,运用 SPSS 10.0 软件包进行单向方差分析(One-way ANOVA),均数间多重比较采用 LSD-*t* 检验法。

### 2 结果

2.1 MAP 的变化 H 组、HL 组 MAP 出现先升后降变化趋势;应激 80 min 时 MAP 显著上升;应激 120 min 时出现循环衰竭,HL 组 MAP 显著低于 H 组 MAP 水平( $P<0.01$ );L 组在各时相点与 C 组比较差异无统计学意义。见表 1。

表 1 应激对大鼠平均动脉压、血浆 MDA 含量、SOD 活力的影响

Tab 1 Effect of heat stress/LPS administration on mean artery pressure, plasma MDA content and SOD activity in rats ( $n=5, \bar{x} \pm s$ )

Index	Group	Time after stress( <i>t</i> /min)			
		0	40	80	120
MAP( <i>p</i> /mmHg)	C	97.0 ± 4.4	97.4 ± 3.0	96.4 ± 3.4	96.8 ± 4.3
	L	96.8 ± 3.4	93.8 ± 1.3	96.4 ± 2.0	97.2 ± 2.3
	H	96.0 ± 5.2	97.2 ± 4.8	118.0 ± 1.6**△△	67.2 ± 4.8**△△
	HL	97.2 ± 4.4	94.0 ± 2.6	117.0 ± 2.4**△△	49.0 ± 3.5**△△▲▲
MDA( <i>c<sub>B</sub></i> /nmol · ml <sup>-1</sup> )	C	4.75 ± 0.36	4.87 ± 0.45	4.75 ± 0.49	4.79 ± 0.39
	L	4.87 ± 0.49	5.28 ± 0.30	6.38 ± 0.28**	7.59 ± 0.24**
	H	4.79 ± 0.39	5.21 ± 0.43	6.72 ± 0.39**	7.62 ± 0.21**
	HL	4.83 ± 0.51	6.19 ± 0.25**	7.51 ± 0.16**△△▲▲	8.45 ± 0.25**△△▲▲
SOD( <i>z<sub>B</sub></i> /U · ml <sup>-1</sup> )	C	190.5 ± 6.0	189.7 ± 6.2	189.0 ± 5.4	189.4 ± 5.6
	L	193.8 ± 4.9	74.6 ± 6.2**▲▲	46.1 ± 4.2**▲	36.4 ± 4.8**▲
	H	191.4 ± 6.4	90.6 ± 4.9**△△	55.3 ± 3.9**△△	28.0 ± 4.4**△
	HL	194.9 ± 4.7	64.3 ± 7.5**△△▲▲	40.1 ± 2.3**△△▲	19.8 ± 3.8**△△▲

One-way ANOVA followed by LSD. 1 mmHg=0.133 kPa. \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$  vs C-Group; △  $P<0.05$ , △△  $P<0.01$  vs L-Group, ▲  $P<0.05$ , ▲▲  $P<0.01$  vs H-Group

2.2 血浆 MDA 含量、SOD 活力 应激 40~120 min,HL 组血浆 MDA 含量即显著升高( $P<0.01$ ),应激 80 min 及 120 min 时与同时相各实验组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ )。L 组、H 组于应激 80 min

时血浆 MDA 含量显著升高( $P<0.01$ )。应激 40~120 min 时,L 组、H 组、HL 组血浆 SOD 活力均显著低于 C 组( $P<0.01$ ),其中 HL 组最低,三组之间也有统计学差异( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。见表 1。

### 3 讨论

LPS 是革兰阴性(G<sup>-</sup>)细菌细胞壁外膜的主要结构成分,可通过毛细血管扩张、血流缓慢及内皮组织损伤等机制促使微血栓形成,启动机体凝血系统,引发 DIC、SIRS,并可能进一步演变为脓毒血症、MODS<sup>[7]</sup>。静脉注射 LPS 可以复制感染性损伤模型,模拟临床严重感染因素引起 SIRS、脓毒血症、MODS 的发生发展过程。本实验中,L 组、H 组均出现血浆活性氧类(reactive oxygen species, ROS)的显著性改变,说明高温、LPS 均可造成机体氧化应激损伤;与单因素致伤组比较,HL 组动物血浆 MDA 含量水平显著升高,SOD 活力水平显著下降,SIRS 程度显著加重,说明过热与感染复合应激可能激活处于预激状态的免疫系统,激化应激的急性期反应、扩大机体炎症反应。高温、LPS 作为应激原,可通过多种途径刺激 ROS 的异常表达,造成组织损伤:(1)应激状态下机体交感-肾上腺髓质-儿茶酚胺轴亢进,分泌大量儿茶酚胺,目的是重新恢复血流动力学的稳定,但体内过多的儿茶酚胺可氧化产生 ROS<sup>[8]</sup>;(2)LPS 可激活多形性中性粒细胞(PMN),PMN 一旦与内皮结合,就可以穿过内皮层,释放大量的蛋白酶和 ROS,能够激活转录因子如 NF- $\kappa$ B,并进一步促进促炎介质基因表达,释放大量的促炎介质如 TNF- $\alpha$ 、IL-6<sup>[7]</sup>等,形成正反馈,加重 LPS 造成的血管壁损伤、微血管痉挛,扩大全身炎症反应,引起 DIC;(3)黄嘌呤氧化酶(XO)途径也是 ROS 生成的主要来源。ROS 可与心肌细胞成分,如膜磷脂、蛋白质、核酸等发生反应,造成心肌细胞结构损伤和功能代谢障碍。已有研究表明,ROS 与心肌缺血与坏死、心肌顿抑、心功能衰竭密切相关<sup>[8-10]</sup>,如心肌梗时 XO 表达显著增多,而联用 XO 阻滞剂与别嘌呤醇能够减少心肌 ROS 的产生,适应左室重建,从而改善梗后心功能<sup>[9]</sup>。氧化应激下 ROS 水平表达异常与心肌细胞凋亡密切相关;相对低水平的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能够活化丝裂原激活蛋白激酶(MAPK),促进蛋白质合成,而相对高水平的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可能在激活 MAPK 的同时诱导心肌细胞凋亡<sup>[10]</sup>。ROS 还可以通过多种机制介导心肌细胞凋亡,包括直接的基因毒性作用<sup>[8]</sup>。本实验中,致伤 120 min 时,H 组、L 组 MDA 水平无显著性差异,但 L 组 SOD 水平显著高于 H 组,HL 组 SOD 水平最低,可能提示 H 组、HL 组 SOD 低与其低 MAP 水平存在相关性,也说明过热或感染引起的毒素释放和组织损伤可能并不是导致 MODS 的直接原因,而细菌/毒素和组织损伤所诱发的 SIRS 放大或失

控可能是导致 MODS 的始动因素,HL 组动物 ROS 的异常表达、生命体征紊乱正是全身炎症反应扩大的具体表现。提示在宿主感染或潜在感染时,热相关疾病的易感性、严重程度、死亡率都可能升高,现有的临床资料也支持这种观点<sup>[2]</sup>。

Bouchama 等<sup>[4]</sup>通过过热与内源性内毒素血症途径形成二次应激,引发 SIRS,进一步发展为 MODS。本实验表明,高温与 LPS 复合应激可以促发、加重热损伤及感染性休克,结合其他实验数据<sup>[5,12,13]</sup>,说明感染与过热同时或序贯应激均可以通过 SIRS 造成多器官损伤。

### [参考文献]

- [1] 林晓静,邹飞,罗炳德. 热射病[J]. 国外医学·社会医学分册, 2005, 22:87-90.
- [2] Bouchama A. The 2003 European heat wave[J]. Intensive Care Medicine, 2004, 30:1.
- [3] McGeehin MA, Mirabelli M. The potential impacts of climate variability and change on temperature-related morbidity and mortality in the United States[J]. Environ Health Perspect, 2001, 109(12s):185-189.
- [4] Bouchama A, Roberts G, Al Mohanna F, et al. Inflammatory, hemostatic, and clinical changes in a baboon experimental model for heatstroke[J]. J Appl Physiol, 2005, 98:697-705.
- [5] 林晓静,邹飞,李亚洁,等. 重度热射病合并内毒素血症大鼠模型的建立[J]. 南方医科大学学报, 2006, 26:86-89.
- [6] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ES-ICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference[J]. Crit Care Med, 2003, 31:1250-1256.
- [7] Van Amersfoort ES, Van Berkel TJ, Kuiper J. Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock[J]. Clin Microbiol Rev, 2003, 16:379-414.
- [8] Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure[J]. J Clin Invest, 2005, 115:500-508.
- [9] Engberding N, Spiekermann S, Schaefer A, et al. Allopurinol attenuates left ventricular remodeling and dysfunction after experimental myocardial infarction: a new action for an old drug [J]? Circulation, 2004, 110:2175-2179.
- [10] Kwon SH, Pimentel DR, Remondino A, et al. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> regulates cardiac myocyte phenotype via concentration-dependent activation of distinct kinase pathways[J]. J Mol Cell Cardiol, 2003, 35:615-621.
- [11] 林晓静,罗炳德,李亚洁,等. 高温复合脂多糖应激大鼠动脉血气的变化特点[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2006, 24:164-166.
- [12] 林晓静,李亚洁,罗炳德,等. 高温复合脂多糖应激大鼠血浆 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量的变化规律[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28:431-434.
- [13] 林晓静,邹飞,李亚洁,等. 过热加重脂多糖介导的大鼠急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征[J]. 第四军医大学学报, 2005, 26:2255-2257.

[收稿日期] 2005-12-06

[修回日期] 2006-03-21

[本文编辑] 孙岩