

# 丹参对烧伤大鼠心肌细胞线粒体功能影响的实验研究

邱振中, 李锐, 魏振雪

**【摘要】** 目的: 探讨丹参对烧伤大鼠心肌细胞线粒体呼吸功能及氧自由基的影响。方法: 96只SD大鼠随机分为对照组(A)、烧伤组(B)、治疗组(C)。B组和C组造成20%总体表面积Ⅲ度烧伤。在伤后1、2、6小时, 动态检测心肌细胞线粒体内细胞色素 $aa_3$ 、细胞色素C、能荷和超氧化物歧化酶(SOD)水平。结果: (1)伤后2小时内, B、C组心肌细胞线粒体内细胞色素 $aa_3$ 水平无显著降低( $P>0.05$ )。伤后6小时, B、C组心肌细胞线粒体内细胞色素 $aa_3$ 水平显著低于A组( $P<0.05$ ); 同时C组显著高于B组( $P<0.05$ ); (2)伤后1小时开始, 心肌细胞线粒体内细胞色素C水平、能荷和SOD活力均呈进行性下降改变; C组显著高于B组( $P<0.05$ )。结论: 丹参能显著提高细胞色素 $aa_3$ 、细胞色素C、能荷和SOD; 明显改善大鼠烧伤后心肌细胞线粒体呼吸功能及明显减少氧自由基的产生。

**【关键词】** 烧伤; 丹参; 心肌细胞; 线粒体; 氧自由基

**【中国分类号】** R644; Q244 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1001-0726 (2003) 02-0087-03

**The effect of labiatae on mitochondria function of myocardial cell in burnt rats** QIU Zhen-Zhong, LI Rui, WEI Zhen-Xue, Dept. of Burns, the 3<sup>rd</sup> PLA Hospital, Baoji, Shaanxi Province 721004, China

**【Abstract】 Objective:** To study the effect of labiatae on mitochondria function of myocardial cell and oxygen radicals in burnt rats. **Method:** 96 SD rats were randomly divided into control group (A), burn group (B) and treatment group (C). Rats in groups B and C were subjected to a 20% TBSA full-thickness thermal injury. At different time points, the dynamic levels of cytochrome  $aa_3$ , cytochrome C, energy production and superoxide dismutase (SOD) in mitochondria of myocardial cell were determined. **Result:** 1. Two hours after burn, the levels of cytochrome  $aa_3$  in group C was obviously higher than that in group B ( $P<0.05$ ). 2. After one hour after burn, the levels of cytochrome C, energy production and SOD in groups B and C decreased and those in group C were obviously higher than those in group B ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Labiatae could enhance the levels of cytochrome  $aa_3$ , cytochrome C, energy production and SOD, which could obviously protect mitochondria function of myocardial cell and reduce the oxygen radical production.

**【Key words】** Burns; labiatae; myocardial cell; mitochondria, oxygen radical

**【CLC number】** R644; Q244 **【Document code】** A **【Article ID】** 1001-0726 (2003) 02-0087-03

心肌损害是烧伤早期的重要并发症之一。由于心脏的特殊重要性, 其损害不仅可引起心功能不全, 还会诱发或加重休克, 乃至全身其他组织器官的缺血缺氧性损害, 最终导致多脏器功能障碍综合症。因此, 防治严重烧伤早期缺血缺氧性损害, 除有效的补液治疗外, 还必须加强心脏保护。本研究通过观察丹参对大鼠烧伤后心肌细胞线粒体呼吸功能及氧自由基产生的影响, 推断其

对心肌细胞的保护作用。

## 材料和方法

1. **动物分组:** 96只SD大鼠, 体重210g-260g, 雌雄不限, 随机分成三组。A组为正常对照组, 24只; B、C组各36只。实验前禁食12小时, 所有大鼠氯胺酮麻醉(80mg/kg)。B、C组大鼠10%硫化钠背部脱毛, 100℃烫伤12秒, 造成20%TBSAⅢ度烫伤, 股静脉输注等渗盐水

**【作者单位】** 中国人民解放军第三医院烧伤科, 陕西 宝鸡 721004

(100m/kg) 抗休克。A组不致伤。C组伤后立即经股静脉缓慢注射丹参注射液1ml/kg(雅安三九药业有限公司生产,1ml注射液含丹参生药1.5g); A、B组注射等量生理盐水。A组大鼠分别于伤后2、6、12小时三个时相点各处死8只, B、C组大鼠分别于伤后2、6、12小时三个时相点各处死10只, 立即采集心肌标本, 检测心肌细胞线粒体内细胞色素 $aa_3$ 、细胞色素C、能荷和超氧化物歧化酶(SOD)水平。

2. 心肌细胞线粒体的分离方法: 按改良Lamrence和Davies方法进行<sup>[1]</sup>。

3. 检测指标及方法: (1)细胞色素 $aa_3$ 、细胞色素C含量测定方法: 按Williams方法<sup>[2]</sup>; (2)能荷的测定: 采用高效液相法(HPLC)。组织匀浆(按20ml/mg加0.3NHCLO<sub>4</sub>), 离心5min, 取上清液加等体积0.5N KOH; 离心5min, 取上清检测。采用阶形梯度洗脱。在15min内流动相从20%升到100%, 流速每分钟1ml, 检测波长254nm, 进样量25ul。能荷=(ATP+0.5ADP)/(ATP+ADP+AMP); (3)SOD检测: 按试剂盒(南京建成生物工程研究所)说明书进行。

4. 统计学处理: 数据以 $\bar{X} \pm S$ 表示, 采用t检验,  $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

## 结 果

1. 心肌细胞线粒体内细胞色素 $aa_3$ 水平: 伤后2小时内, B、C组心肌细胞线粒体内细胞色素 $aa_3$ 水平与正常对照A组比无显著降低( $P > 0.05$ )。伤后6小时, B、C组细胞色素 $aa_3$ 水平显著低于正常对照A组( $P < 0.05$ ); 同时C组显著高于B组( $P < 0.05$ )。见表1。

2. 心肌细胞线粒体内细胞色素C水平: 伤后1小时B组心肌细胞线粒体内细胞色素C水平显示下降, 此后呈进行性下降改变, 伤后2小时和6小时与对照组相比有非常显著性差异; 丹参治疗的C组显著高于B组 $P < 0.05$ 。但也呈进行性下降改变, 伤后6小时与A组相比有显著差异。见表2。

3. 心肌细胞线粒体内能荷: 伤后各测定时点B、C组心肌细胞线粒体内能荷降低, 且以B组最为明显; C组显著高于B组( $P < 0.05$ ), 伤后1小时与2小时基本保持正常水平, 仅在伤后6小时出现下降, 见表3。

4. 心肌细胞线粒体SOD含量: 伤后1小时, B组心肌细胞线粒体内MPO活力呈进行性下降改变; 丹参治疗的C组显著高于B组( $P < 0.05$ )。见表4。

表1 心肌细胞线粒体内细胞色素 $aa_3$ 水平 ( $\bar{x} \pm s, \text{nmolmin}^{-1}\text{mg}^{-1}$ )

| 组别 | 伤后1小时          | 伤后2小时          | 伤后6小时                        |
|----|----------------|----------------|------------------------------|
| A组 | 1448.7 ± 269.8 | 1417.5 ± 286.6 | 1437.9 ± 262.1               |
| B组 | 1364.8 ± 274.3 | 1327.2 ± 213.1 | 712.4 ± 118.3*               |
| C组 | 1382.2 ± 217.6 | 1346.4 ± 193.5 | 1178.6 ± 164.4* <sup>△</sup> |

注: 与A组比较, \* $P < 0.05$  与B组比较,  $\Delta P < 0.05$

表2 心肌细胞线粒体内细胞色素C水平 ( $\bar{x} \pm s, \text{nmolmin}^{-1}\text{mg}^{-1}$ )

| 组别 | 伤后1小时                     | 伤后2小时                     | 伤后6小时                      |
|----|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| A组 | 472.6 ± 59.3              | 421.4 ± 67.1              | 462.7 ± 42.6               |
| B组 | 301.3 ± 26.2*             | 228.7 ± 17.3**            | 193.5 ± 22.1**             |
| C组 | 446.7 ± 38.9 <sup>△</sup> | 385.3 ± 36.7 <sup>△</sup> | 288.5 ± 24.6* <sup>△</sup> |

注: 与A组比较, \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与B组比较,  $\Delta P < 0.05$

表3 心肌细胞线粒体内能荷水平 ( $\bar{x} \pm s, \text{nmolmin}^{-1}\text{mg}^{-1}$ )

| 组别 | 伤后1小时                     | 伤后2小时                     | 伤后6小时                     |
|----|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| A组 | 2.70 ± 0.11               | 2.72 ± 0.10               | 2.66 ± 0.11               |
| B组 | 1.77 ± 0.08**             | 1.74 ± 0.07**             | 1.70 ± 0.09**             |
| C组 | 2.61 ± 0.11 <sup>△△</sup> | 2.67 ± 0.12 <sup>△△</sup> | 2.02 ± 0.07* <sup>△</sup> |

注: 与A组比较, \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与B组比较,  $\Delta P < 0.05$

表4 心肌细胞线粒体SOD水平 ( $\bar{x} \pm s$ , Nu/g)

| 组别 | 伤后1小时                     | 伤后2小时                      | 伤后6小时                      |
|----|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| A组 | 768.6 ± 90.3              | 757.2 ± 82.1               | 745.2 ± 80.7               |
| B组 | 545.4 ± 63.2*             | 409.3 ± 30.7**             | 228.2 ± 26.1**             |
| C组 | 703.2 ± 69.1 <sup>△</sup> | 569.8 ± 47.3* <sup>△</sup> | 683.7 ± 71.2 <sup>△△</sup> |

注:与A组比较, \*P<0.05 \*\*P<0.01; 与B组比较, <sup>△</sup>P<0.05

## 讨 论

严重烧伤低血容量造成的缺血缺氧及再灌注造成的氧自由基损伤都会对心肌造成损伤。为研究丹参对心肌保护作用的机制,本实验观察了丹参对烧伤大鼠心肌细胞线粒体呼吸功能及氧自由基的影响。

线粒体的重要功能是进行生物氧化和供应细胞生命活动所需的能源。细胞色素酶是呼吸链的重要组成部分,细胞色素aa<sub>3</sub>能从细胞色素C接受电子并传递给氧,形成O<sub>2</sub>,又称细胞色素氧化酶或细胞色素C氧化酶。它们的变化必然影响线粒体的能量合成。细胞色素aa<sub>3</sub>是膜结合蛋白,不易丢失;细胞色素C是水溶性膜外周蛋白,与线粒体内膜结合疏松,易丢失<sup>[3]</sup>。实验显示,伤后2小时内B组心肌细胞线粒体内细胞色素aa<sub>3</sub>水平虽无显著降低,但伤后1小时,心肌细胞线粒体内细胞色素C水平已显著降低,而丹参治疗的C组却高于B组。能荷的变化与细胞色素C相似。提示能荷与呼吸链的变化趋势是一致的。实验同时显示,丹参能显著提高烧伤后大鼠细胞色素aa<sub>3</sub>和细胞色素C水平,有利于线粒体的生物氧化及提高线粒体的能荷。

生理情况下人体摄取的氧接受线粒体内细胞色素氧化酶传递的电子而还原成水,仅有少量的氧接受一个电子而成为氧自由基,也被SOD有效地清除<sup>[4]</sup>。实验显示,烧伤后1小时始,心肌细胞线粒体内细胞色素C水平显著降低;伤后2小时,心肌细胞线粒体内细胞色素aa<sub>3</sub>水平也显著降低;SOD活力低于对照组;同时,C组线粒体内细胞色素aa<sub>3</sub>水平、细胞色素C水平和SOD活力均显著高于B组。提示细胞色素氧化酶活力降低后氧自由基生成增加,SOD消耗增加;丹参治疗后,提高了细胞色素氧化酶活力,减少了氧自由基的生成及的SOD消耗。丹参对烧伤后心

肌保护作用的机制还包括丹参具有扩张冠脉、增加血流量的功能<sup>[5]</sup>,以改善供氧。总之,实验提示,烧伤后丹参能明显改善大鼠烧伤后心肌细胞线粒体呼吸功能、提高线粒体的能荷及明显减少氧自由基的产生,有利于对心肌细胞的保护。

## 参 照 文 献

- [1] Lawrence CB, Davies NT. A novel, simple and rapid method for the isolation of mitochondria, which exhibit respiratory control, from rat small intestinal mucosa. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1986, 848: 35-39.
- [2] Williams JW. A method for the simultaneous quantitative estimation of cytochrome a,b,c and c<sub>1</sub> in mitochondria. *Arch Biochem Biophys*, 1964, 197: 537-541.
- [3] Capaldi RA. Arrangement of protein in the mitochondrial inner membrane. *Biochim Biophys Acta*, 1982, 694: 291-295.
- [4] Parks DA. Ischemic injury in the cat small intestine: Role of superoxide radicals. *Gastroenterology*, 1982, 82: 9-15.
- [5] 陈新谦, 金有豫. 新编药理学 [M]. 第14版, 北京: 人民卫生出版社, 1998, 268-269.

## 【作者简介】

邱振中(1973-),男(汉族),安徽省阜阳市人,上海第二军医大学毕业,学士学位,主治医师,主任。

李锐(1973-),女(汉族),辽宁省大连市人,兰州军区医学高等专科学校毕业,护师,护士长。

魏振雪(1973-),男(汉族),安徽省宿州市人,总后勤部医学高等专科学校毕业,住院医师。

(收稿日期:2002-10-28;修回日期:2003-01-25)