

硒对缺氧再充氧小鼠心肌损伤的影响

邱兰萍 朱天义

大量实验证明,氧的活性代谢产物——超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)、羟自由基(OH)是组织缺血再灌注损伤的直接因素^[1]。缺血再灌注使机体内产生过量的氧自由基,过度激活细胞膜的脂质过氧化作用,破坏细胞膜磷脂形成,进而造成细胞损伤乃至死亡。目前认为硒是谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性中心,能将自由基链锁反应中产生的 H_2O_2 还原成无害的水和氧,从而起到保护心肌免受氧化损伤的作用。本研究用器官培养心脏缺氧再充氧模型,较系统地研究了硒对心肌细胞超微结构及细胞组化定位的影响,同时进行了功能及生化检测。现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 含硒培养液

将亚硒酸钠(天津化学试剂厂生产)加入到1640培养基内(美国IR Scientific公司生产),配制成浓度为0.54 g/ml的含硒培养液。

1.2 含铈孵育液

用0.1M Tris-maleate缓冲液(北京新华化学试剂厂生产, pH7.4),配制浓度为1.0mM三氯化铈孵育液,其中含10.0mM 3-氨基-1,2,4-唑(日本和光纯药工业株式会社)和7%蔗糖。

1.3 实验动物及分组

用孕16~18天昆明小白鼠(本所动物室提供)无菌取出胎心进行培养^[2]。4小时后分3组进行实验。对照组1:单纯缺氧20分钟;对照组2:缺氧10分钟再充氧10分钟;实验组:缺氧10分钟再充氧10分钟加含硒培养液。

1.4 方法

(1)分别取上述3组心外膜组织约1mm³,制备常规透射电镜标本, H-600型透射电镜观察。(2)引用Briggs等人介绍的细胞组织化学方法^[3],取对照组2和实验组小块心肌组织分别放入含铈的孵育液中孵育30分

钟(37℃),不断振荡,反应结束后,按常规进行透射电镜标本的制备, H-600型电镜观察。(3)将取材后剩余的对照组2和实验组的心肌分别做生化测定,每组18个心脏,称重,捣碎,萃取,离心,取上清液用EX 460nm Em 510nm测定荧光强度,使用岛津RF-520荧光分光光度计测量脂溶性荧光色素含量。两组结果进行t检验。

2 结果

2.1 心脏功能的改变

正常培养4小时后的心脏跳动有力,收缩节律整齐,缺氧10分钟再充氧10分钟心搏无力,有些心脏只是心耳跳动且节律不整,缺氧10分钟再给氧10分钟加硒组心脏跳动节律规整,心搏有力。

2.2 心肌超微结构观察

对照组1:心肌细胞水肿,糖原颗粒呈灶状减少,部分线粒体肿胀,嵴模糊不清有空泡,而细胞膜、核膜结构清楚,收缩成分基本正常,染色质分布均匀(见图1)。对照组2:心肌细胞结构破坏明显,细胞水肿加重,线粒体高度肿胀,部分线粒体膜破裂,局部溶解,核膜不清,有扩张,染色质边缘聚集(见图2)。加硒实验组心肌细胞结构基本正常(见图3)。

2.3 细胞组化方法观察H₂O形态学改变

对照组2:心肌细胞结构与常规电镜改变相似,但细胞内出现铈沉积颗粒,主要分布在细胞浆基质内,在线粒体周围较多,有的线粒体内也可见到铈沉积颗粒,而线粒体以外其他细胞器没有任何铈颗粒(见图4)。实验组心肌细胞结构基本正常,细胞内未见任何铈沉积颗粒。

2.4 心肌组织中脂质过氧化物含量的变化

生化测定结果表明,对照组2:心肌中脂溶性荧光色素含量为(3.67±0.33)相对荧光读数/毫克湿重,加硒实验组为(2.53±0.13)相对荧光读数/毫克湿重。两组数据通过t检验, P=0.0094,差异有显著意义。

作者单位: 110005沈阳 辽宁省基础医学研究所病理室



图1 缺氧20分钟组



图2 缺氧10分钟再充氧10分钟组

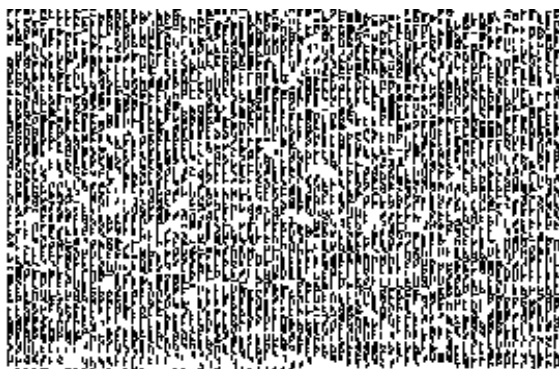


图3 缺氧10分钟再充氧10分钟加硒组



图4 缺氧10分钟再充氧10分钟加硒组

3 讨论

心脏收缩功能检测结果表明,加硒实验组的心脏搏动有力,节律规整,存活时间长于对照组,说明硒能在缺氧再充氧条件下维持正常心脏搏动,并能延长其存活时间。

电镜观察结果表明,心肌细胞缺氧时,细胞水肿,部分线粒体肿胀,嵴模糊不清,有空泡,这些改变是从膜系统开始出现的,可能与膜通透性改变有关。缺氧再充氧后,这些改变不但没有改善,且更加明显,表现为细胞高度水肿,大量线粒体溶解、消失,核膜结构不清,中断染色质聚集成块,这说明再灌注本身加重心肌细胞的损伤。心肌缺氧时自由基清除系统活性降低,少量持续产生的氧自由基决定了缺血性损伤的渐进性发

展,再充氧后爆发性大量产生的氧自由基突然加剧了损伤的进程,从而出现再灌注损伤^[4]。预先加硒的实验组心肌细胞的灌注损伤很轻微,说明硒有抗自由基的作用,从而减轻再灌注时大量自由基对心肌的损伤,这一点通过铈细胞组化结果也得到证实。此方法用铈作为 H_2O_2 的捕捉剂以反映心肌细胞内 H_2O_2 产生的形态学变化^[5]。

本实验细胞化学结果表明:对照组心肌细胞内出现较多的铈沉积颗粒,特别在线粒体周围较多,有的线粒体内也可看到,说明再充氧后心肌细胞内产生了大量的超氧阴离子在 SOD 作用下形成过量的 H_2O_2 ,后者与 Ce^{3+} 结合形成电镜下可见的铈沉积颗粒,且颗粒沉积的部位细胞结构损伤较重。而预先加入硒组心肌

细胞结构损伤较轻,未见到铈的沉积颗粒。

本实验通过生化方法检测对照组心肌内脂质过氧化分解产物脂溶性荧光色素的含量明显高于加硒组,此结果与超微结构改变相一致,说明硒具有较强的抗脂质过氧化作用。

4 参考文献

- 1 Guarnieri C, et al. Role of oxygen in the cellular damage induced by re-oxygenation of hypoxic heart. J Mol Cell Cardiol, 1980, 12 797
- 2 朱天义, 张吉文, 陈丙南, 等. 小鼠胎心器官培养方法的研究. 中华心血管病杂志, 1984, 12 302~ 304

- 3 Briggs RT, Dmuth DB, Karnovsky ML and Karnovsky, M J. Localization of NADH oxidase on the surface of human polymorphonuclear leukocytes by a new cytochemical Method. J Cell Biol, 1975, 67, 566~ 586
- 4 McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. New Engl J Med, 1985, 312 159
- 5 Keith NC, Peter JS. The cytochemical reactivity of cerium ions with cardiac muscle. Acta Histochem cytochem, 1982, 15 656~ 672

(收稿 1998-03-31)

缝纫女工慢性肌肉骨骼损伤危险因素 Logistic 回归分析

杨永坚 朱启星 胡传来

近年,有关职业性慢性肌肉骨骼损伤(Chronic musculo-skeletal injury, CMI)问题已受到国内外学者的广泛关注,但对于现时劳动条件下缝纫作业者的CMI患病情况报道不多,为此我们对某服装厂缝纫女工进行了调查,并对有关的危险因素,尤其是与职业有关的社会、行为、心理方面的因素进行了 Logistic 回归分析,以便为制定预防措施提供依据。

1 材料与方法

1.1 调查对象

选择某服装厂专门从事缝纫操作的全部 14 名女工为观察组,平均年龄(23.1±2.9)岁,平均工龄(4.0±2.6)年;另选取 140 名自由体位工作的工厂女工、宾馆服务员、办公室女职工员为对照组,平均年龄(23.3±4.0)岁,平均工龄(3.9±3.5)年。两组人员工龄均在 1 年以上,并排除现患肝肾及外伤性肌肉骨骼疾患。

1.2 内容和方法

调查主要采用问卷方式由专人负责询问,内容主要包括年龄、职业史、既往病史、外伤史等一般项目;社会、行为、心理因素项目;反映各部位肌肉骨骼损伤的多种主观症状,并对出现症状部位进行骨科检查。同时对工人作业情况进行了观察调查。

1.3 诊断

目前尚无统一的职业性慢性肌肉骨骼损伤诊断标

准,本文所列病例按下述标准判断:(1)已经医院确诊病例列入阳性统计;(2)颈椎病、颈肩及下背部损伤诊断依据“颈椎病专题座谈纪要”^[1]和《实用颈腰背痛学》^[2];(3)其余部位损伤诊断依据有疼痛反复发作史、物理检查有明显压痛并排除外伤、结核等疾患引起的疼痛等进行综合判断。

1.4 资料分析

所收集资料输入 486 微机,用 Foxpro 2.0 软件建立数据库,以 Stata 软件进行 χ^2 检验和建立 Logistic 回归模型。

2 结果

2.1 作业情况

缝纫操作使用统一的高频率电动缝纫机,采用流水作业,实行计件工资制,无工间休息;坐椅高度为 45.5cm,工作台高度为 78cm,均为固定不可调;工人操作时呈固定的低头前倾体位,前臂和肘部呈悬空或半悬空,肩、臂几乎始终处于运动状态。

2.2 CMI 主要部位分布与比较

调查涉及 17 个部位,表 1 列出了其中发病率较高的 7 个部位,并与对照组比较。可见缝纫女工 CMI 患病率明显高于对照组,进一步分析主要是下背痛、颈痛、肩痛和上臂痛患病率高于对照组,差异有统计学意义,且联系强度均为中等以上,对观察组 CMI 损伤部位分布情况分析表明,下背痛患病率高居首位,其次为职业性颈臂疾患(见表 1)。

作者单位: 230032 合肥 安徽医科大学劳动卫生教研组