

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2005)06-0514-03

## 肢体负压治疗对改善犬缺血肢体自由基损伤的影响

马中<sup>1</sup>, 易军<sup>1</sup>, 颜立军<sup>2</sup>, 宁莫凡<sup>1</sup>, 王岭<sup>1</sup>(第四军医大学西京医院:<sup>1</sup>血管内分泌外科,<sup>2</sup>检验科 陕西 西安 710033)

### Influence of limb negative pressure treatment on improvement of free radicals injury from the chronic ischemia of lower legs in canines

MA Zhong<sup>1</sup>, YI Jun<sup>1</sup>, YAN Li-Jun<sup>2</sup>, NING Mo-Fan<sup>1</sup>, WANG Ling<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Vascular & Endocrine Surgery, <sup>2</sup>Department of Clinical Laboratory, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China

**【Abstract】** AIM: To observe the influence of limb negative pressure (LNP) treatment on the improvement of free radicals injury from the chronic ischemia of lower legs in canines. **METHODS:** By cutting off the branches of the femoral artery and inserting two pieces of spiral wires into the artery of canine posterior limb, we succeeded in duplicating the animal model of arterial occlusive disease in the lower extremity within two weeks. The blood samples of the ischemic legs of dogs treated with LNP for 8-10 d were collected and the lipid peroxides (LPO) content as well as the superoxide dismutase (SOD) activity were measured and analyzed, respectively. **RESULTS:** When the ischemic model was established, the LPO content rose up and the SOD activity decreased remarkably, compared with those in normal group [(35.6 ± 10.8) μmol/L vs (24.8 ± 9.0) μmol/L,  $P < 0.05$  (6.23 ± 2.75) μkat/L vs (9.44 ± 1.05) μkat/L,  $P < 0.01$ ] but after the treatment with LNP for 8-10 d, the LPO content declined and the SOD activity increased significantly. However, no such changes were observed in the control group, the LPO content and the SOD activity remaining at a higher level compared with those in the LNP-treated group. There was a remarkable difference between the treatment and control groups [(45.5 ± 10.2) μmol/L vs (24.7 ± 4.4) μmol/L (6.61 ± 1.85) μkat/L vs (9.96 ± 2.08) μkat/L,  $P < 0.05$ ]. **CONCLUSION:** The LNP treatment can significantly diminish the peroxidation of the ische-

mia and enhance the clearance ability of the free radicals. LNP has some protective effects on the chronic ischemia of lower legs.

**【Keywords】** lower body negative pressure; lipid peroxides; superoxide dismutase

**【摘要】** 目的: 观察肢体负压治疗(limb negative pressure, LNP)对实验性缺血组织自由基损伤的保护作用。方法: 采用切断犬股动脉分支, 动脉腔内置入螺旋状金属丝的方法, 在2 wk内复制出肢体动脉闭塞性病变的动物模型, 对动物模型进行8~10 d的负压治疗后, 采集模型建成及治疗前后的静脉血样, 分别测定血中脂质过氧化物(lipid peroxides, LPO)含量及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性并进行分析比较。结果: 治疗组犬后肢缺血模型建成后, 患肢静脉血中LPO含量显著升高而SOD活性显著下降, 二者与建模前正常时相比具有显著差异[(35.6 ± 10.8) μmol/L vs (24.8 ± 9.0) μmol/L,  $P < 0.05$  (6.23 ± 2.75) μkat/L vs (9.44 ± 1.05) μkat/L,  $P < 0.01$ ]经8~10 d的负压治疗后, LPO含量明显下降而SOD活性显著升高, 可恢复到模型建成前水平。与治疗组相比较, 对照组未经负压治疗, 患肢静脉血中测得的LPO含量持续升高, SOD活性持续下降。两组在负压治疗开始前未见明显差异[(40.0 ± 12.5) μmol/L vs (35.6 ± 10.8) μmol/L (6.87 ± 1.72) μkat/L vs (6.23 ± 2.75) μkat/L,  $P > 0.05$ ]在负压治疗完成后, 两组同期再次检测, LPO含量和SOD活性均存在显著性差异[(45.5 ± 10.2) μmol/L vs (24.7 ± 4.4) μmol/L (6.61 ± 1.85) μkat/L vs (9.96 ± 2.08) μkat/L,  $P < 0.05$ ]。结论: 肢体缺血后, 局部组织的脂质过氧化反应增强, 自由基清除能力下降, 引起或加重组织损伤, 肢体负压治疗可明显减轻脂质过氧化反应, 增强自由基的清除能力, 改善局部代谢状态, 减轻缺血损伤, 对缺血肢体具有明显的保护作用。

**【关键词】** 下身负压; 过氧化物脂质类; 超氧化物歧化酶

**【中图分类号】** R654.4 **【文献标识码】** A

## 0 引言

肢体负压疗法由于具有安全、简便、无创及疗效显著等优点, 在临床上广泛用于治疗肢体动脉闭塞性病变<sup>[1]</sup>。既往研究对其作用机制进行了初步探讨, 但对缺血肢体自由基损伤作用的研究较少。我们通过对动物肢体缺血模型进行负压治疗, 并在治疗前后检测患肢静脉血中脂质过氧化物(LPO)含量及超氧化物

收稿日期 2004-05-19; 修回日期 2004-12-01

作者简介: 马中(1965-), 男(回族), 河南省孟州市人, 博士生(导师王为忠)主治医师。Tel. (029)83375271 Email. mazhong@fmmu.edu.cn

歧化酶(SOD)活性的变化,以观察肢体负压治疗(LNP)对缺血肢体自由基损伤的影响。

## 1 材料和方法

**1.1 负压治疗机** (自制)负压舱长6 cm,由直径25 cm的密封塑料桶制成,一端开有8 cm×10 cm的椭圆形孔,孔周附一橡皮圈,作为肢体入口;另一端开一1 cm×1 cm小口,并与一相应口径塑料管密接,治疗时,该管与一定时、定压的负压机连接(802B型电动自控减压吸引机,沈阳军区230医院研制)。负压舱侧壁开一外凸小孔连接压力表,反映舱内压力大小。

**1.2 动物肢体缺血模型制作** 按0.15 mL/kg剂量用846合剂(长春农牧大学兽医研究所提供)将犬麻醉,无菌条件下,切开左腹股沟皮肤,游离左后肢股动脉,结扎包括股深动脉在内的所有分支,纵形切开胃动脉前壁0.5 cm,自切开处向动脉腔远端并列插入螺旋状金属丝两根,金属丝长25~30 cm,单根直径1.5 mm,插入后以5/0无创血管缝线缝合动脉切口,并使股动脉管腔缩窄约1/2,伤口内注入庆大霉素8万单位,逐层缝合皮下、皮肤。

**1.3 动物和分组** 健康杂种家犬16只,体质量(12.0±2.5) kg,雌雄不拘。随机分为负压治疗组与对照组,每组8只动物均按上述方法制成模型。治疗组术后15 d开始左后肢负压治疗:左后肢环行脱毛,

846合剂浅麻醉(0.3 mL/只)后,将患肢置入负压舱内,收紧橡皮套,启动吸引机,压力为-12 kPa,持续时间15 min,1次/d,连续8~10 d。分别于模型制作前(肢体无缺血)、模型建成后14 d(肢体缺血期)及LNP治疗8~10 d后取患肢股静脉血2 mL,测定LPO含量和SOD活性。对照组除不进行负压治疗外,其余处理同治疗组。

**1.4 LPO含量测定** 过氧化脂质降解产物丙二醛(MDA)可与硫代巴比妥酸(TBA)缩合成红色产物,该物在532 nm处有最大吸收峰,据此原理,采用TBA分光光度比色法测定MDA,进而求得LPO含量。

**1.5 SOD活性测定** 黄嘌呤在一定条件下能迅速自氧化,释放出超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>),后者可与显色剂反应生成红色化合物,该物在550 nm处有最大吸收峰,SOD可抑制该反应,根据此反应被抑制的程度,间接求得SOD的活性。

统计学处理:所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用配对 $t$ 检验和成组 $t$ 检验分析缺血模型建成前后及肢体负压治疗后的差异, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

## 2 结果

根据实验分组,两组犬在不同阶段分别检测静脉血中的LPO含量和SOD活性,结果如Tab 1所示。

表1 负压治疗组与对照组犬在实验不同阶段所测得LPO含量和SOD活性比较

Tab 1 Comparison of LPO content and SOD activity at different experimental stages between two groups ( $n = 8 \bar{x} \pm s$ )

Group	Normal		Ischemia		LNP treatment	
	LPO(μmol/L)	SOD(μkat/L)	LPO(μmol/L)	SOD(μkat/L)	LPO(μmol/L)	SOD(μkat/L)
LNP	24.8±9.0	9.44±1.05	35.6±10.8 <sup>a</sup>	6.23±2.75 <sup>b</sup>	24.7±4.4 <sup>c</sup>	9.96±2.08 <sup>c</sup>
Control	23.5±7.2	8.97±0.67	40.0±12.5 <sup>a</sup>	6.87±1.72 <sup>a</sup>	45.5±10.2	6.61±1.85

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs normal; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs control. LNP: limb negative pressure; LPO: lipid peroxidex; SOD: superoxide dismutase.

负压治疗组犬在机械因素造成肢体慢性缺血2 wk后,静脉血中LPO含量明显升高,而SOD活性显著下降,两者与正常时相比较均有显著性差异( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。经过对缺血肢体进行8~10 d负压治疗后,LPO含量恢复至接近模型建成前水平,而SOD活性明显升高,甚至略高于正常时水平,二者与正常时相比较未见明显差异( $P > 0.05$ )。对照组在缺血模型建成2 wk后,在与治疗组完全相同的条件下,静脉血中LPO含量与SOD活性的变化与治疗组相似,两组间未见明显差异。此外,实验结果表明,经过对缺血肢体连续8~10 d的负压治疗以后,LPO含量和SOD活性的变化与未经过任何治疗的对照组同期测得的结果相比较,两组间具有显著性差异( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

肢体慢性缺血性疾病是血管外科常见病,病因较多,如动脉硬化、血栓闭塞性脉管炎、糖尿病等。无论病因如何,最终都可导致肢体缺血,如未经治疗,缺血损伤进一步加重,后期发展为肢体缺血坏死,严重危及患者生命,不得不采取截肢措施,患者的生活质量大大下降。因此,对缺血肢体的损伤机制进行研究,对肢体缺血性疾病的预防和临床治疗具有重要意义。本实验研究中,采用切断犬股动脉分支,动脉腔内置入螺旋状金属丝的方法,在2 wk内复制出肢体动脉闭塞性病变的动物模型,其机制是置入的异物使血管内皮受损,胶原成分暴露,从而激活外源性凝血机制,管腔内血栓逐渐形成,加上金属丝的机械栓堵及人为将

管腔缩窄 1/2, 迫使动脉血流锐减, 侧支代偿相对不足, 从而造成显著的肢体慢性缺血症状<sup>[2]</sup>。

近年来, 随着缺血损伤机制研究的不断深入, 发现大量自由基的生成和脂质过氧化反应增强在缺血损伤中占有重要地位<sup>[3]</sup>。脂质过氧化反应本身对机体可产生多种损害, 进一步加重缺血对组织的严重危害。而体内活性氧的增多或减少, 常与体内 SOD 活性有关。Klein 等<sup>[4]</sup>通过对小鼠皮瓣缺血损伤的研究, 证实了 SOD 对缺血组织的保护作用。因此, 测定体内 LPO 含量及 SOD 活性的变化是研究自由基损伤中常用的方法。已有研究表明<sup>[5]</sup>, 过氧化氢及羟自由基系统可以使 SOD 酶蛋白氨基酸残基氧化产生羰基, 并使 SOD 活性降低。本实验结果显示, 肢体产生缺血后, LPO 含量显著增加, 而 SOD 活性显著下降; 经过对缺血肢体采用负压治疗后, LPO 含量转而下降, 而 SOD 活性转而升高。这种改变具有显著的统计学意义, 而在未经治疗的对照组并未观察到这种改变, 充分说明肢体负压治疗具有抵抗缺血肢体自由基损伤的积极作用。同时, 结果还显示, 经负压治疗后, 动物患肢股静脉血中 LPO 含量及 SOD 活性与正常时无明显差异 ( $P > 0.05$ ), 这一方面表明肢体缺血后, 局部组织的脂质过氧化反应增强, 自由基清除能力下降, 引起或加重组织损伤; 另一方面表明负压治疗除了明显改善肢体缺血症状, 增加组织血液供应外, 还可显

著逆转上述变化, 减轻脂质过氧化反应, 增强自由基的清除能力, 改善局部代谢状态, 减轻缺血损伤, 对缺血肢体具有明显的保护作用。这种保护作用的发生机制仍是一个值得进一步研究的问题。

## 【参考文献】

- [1] 宁莫凡, 马中. 负压疗法治疗肢体缺血[J]. 第四军医大学学报, 1998, 19(4): 424-425.  
Ning MF, Ma Z. Application of the leg negative pressure on the limb ischemia[J]. *J Fourth Mil Med Univ*, 1998, 19(4): 424-425.
- [2] 袁时芳, 宁莫凡. 负压对缺血肢体血流动力学影响的实验研究[J]. 中国现代医学杂志, 2003, 24(16): 1457-1459.  
Yuan SF, Ning MF. The effects of the leg negative pressure on the hemodynamics of the ischemic limbs[J]. *J Chin Mod Med*, 2003; 24(16): 1457-1459.
- [3] 张润峰, 李霞. 心血管疾病发病机制的新认识: 氧自由基损伤[J]. 山西医科大学学报, 2003, 34(5): 474-476.  
Zhang RF, Li X. The new knowledge of the mechanisms of the cardiovascular diseases: The oxygen free radicals injury[J]. *J Shanxi Med Univ*, 2003, 34(5): 474-476.
- [4] Klein MB, Chan PH, Chang J. Protective effects of superoxide dismutase against ischemia-reperfusion injury: Development and application of a transgenic animal model[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2003; 111(1): 251-255.
- [5] 姜绍峰, 杨翰仪. 氧自由基对 CAT、SOD 和 GPX 的氧化修饰研究[J]. 北京联合大学学报, 2003, 17(3): 12-17.  
Jiang ZF, Yang HY. Study of oxygenation and modification of free radicals on the CAT, SOD and GPX [J]. *J Peking Joint Univ*, 2003; 17(3): 12-17.

编辑 黄良田

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2005)06-0516-01

## 妊娠诱发先天异常输尿管结石梗阻 1 例

逯彩虹, 孙富国, 李秀娟, 高丽彩

(白求恩军医学院外科教研室, 河北 石家庄 050041)

【关键词】输尿管结石 输尿管梗阻 妊娠  
【中图分类号】R714.14 【文献标识码】B

1 病例报告 女, 26 岁。因孕 5 月余, 右腰腹部间断性疼痛 3 d 伴高烧, 于 2004-05-27 急诊入本院泌尿外科。患者疼痛难忍, 向右下腹放射, 间歇性, 无恶心呕吐, 无尿急、尿频、尿痛, 伴发热, 体温最高可达 40℃, 既往无泌尿系患病史。查体: T 40℃, P 110 次/min, BP 16/10 kPa, R 21 次/min。痛苦面容, 心肺正常, 右肾区及右输尿管走行区扣击痛。先给予抗感染治疗, 高烧持续不退。输尿管镜检查提示: 右输尿管膀胱开口未见喷尿, 在进入导丝 20 cm 处受阻。彩超提示: 右肾结石, 右输尿管上段结石梗阻; X 线下逆行造影提示: 平第三腰椎造影剂受阻呈完全性梗阻。确诊为: 右输尿管结石梗阻(完全性)。患者及家属决定放弃胎儿, 行体外碎石治疗, 手术顺利, 术后 8 h 患者再次出现高烧, 最高体温可达 40℃, 考虑梗阻未解

除, 故行开放手术, 术中见右肾周围明显水肿, 饱满, 表面紫色, 可见少量脓性分泌物, 钝、锐性结合分离显露上段输尿管, 见其扩张明显, 距肾盂约 5 cm 近端输尿管处充血水肿, 走行迂曲呈“z”形, 局部为粘连带固定, 蠕动不明显, 其内未扪及明显结石, 于扩张处纵行切开 1 cm, 腔内可见大量黄色混浊性尿液涌出, 伴较多坏死脱落组织, 庆大盐水冲洗, 松解粘连带, 复位后此处输尿管仍呈“z”形, 管腔闭塞段长约 2 cm, 行梗阻狭窄部切除, 断端吻合内置 F6 号双“J”管一根。吻合口周围置乳胶引流管 2 根。从切口引出。术后积极抗感染、补液、对症、留置导尿等治疗, 术后 10 d 转入我科引产, 5 d 后引产完毕, 再次转入泌尿科, 行肾结石碎石, 术后 7 d 痊愈出院。

2 讨论 输尿管上段先天“z”形异常是本病发作根本原因, “z”形扭曲易致尿路不畅, 结石及感染, 严重者导致梗阻。孕期代谢产物排除增多, 尿量增多, 输尿管蠕动功能降低, 尿液缓慢, 妊中晚期由于增大子宫压迫常伴尿路不畅或尿液逆流, 孕期尿液中因血糖升高细菌滋生易诱发感染等各种原因加速上述病理改变引起尿路梗阻<sup>[1]</sup>。一旦发生梗阻必须碎石或开放手术及时解除梗阻, 防止输尿管坏死; 对于胎儿处理, 应根据检查治疗手段, 用药、病情轻重以及患者要求决定, 少部分积极保胎, 可继续妊娠。

## 【参考文献】

- [1] Spencer JA, Chahal R, Kelly A *et al.* Evaluation of painful hydronephrosis in pregnancy: Magnetic resonance urographic patterns in physiological dilatation versus calculous obstruction[J]. *J Urol*, 2004, 171(1): 256-260.

编辑 潘伯荣

收稿日期 2004-10-06; 修回日期 2004-12-06

作者简介 逯彩虹(1969-), 女(汉族), 山西省闻喜县人, 硕士, 主治医师, 讲师。Tel: (0311) 7970716