

- Natl Acad Sci USA, 1996, **93** (6): 2239~ 2244
- 17 Iwata S, Hori T, Sato N, *et al.* Adult T cell leukemia (ATL) - derived factor/human thioredoxin prevents apoptosis of lymphoid cells induced by L-cystine and glutathione depletion —possible involvement of thiol-mediated redox regulation in apoptosis caused by pro-oxidant state. J Immunology, 1997, **158** (7): 3108~ 3117
- 18 Bao J X, Zeros A S. Isolation and characterization of Nmi, a novel partner of Myc proteins. Oncogene, 1996, **12** (10): 2171~ 2176

Studies on the Apoptosis Related Genes of TF-1 Cell Line by cDNA-RDA Technique. LIU Hong-Tao, WANG Yu-Gang, ZHANG Ying-Mei, SONG Quan-Sheng, JING Bao-Qian, YUAN Yong, MA Da-Long (*Department of Immunology, Beijing Medical University, Beijing 100083, China*).

Abstract The genes effecting in the process of the apoptosis of TF-1 cell line when it is deprived of the cytokine in the culture medium were studied by RDA (representational difference analysis) method. The TF-1 cell depriving of cytokines for 8 hours was

selected as the Tester and normal cultured TF-1 cell as the Driver. Seven gene fragments were found uniquely expressed or highly expressed in the process of apoptosis of TF-1 cell line which include some known genes such as Hou and thioredoxin that formerly suggested to play a role in apoptosis. There are three fragments are complete novel after searching the nr and EST catalogues of GenBank and were banked into GenBank. The accession numbers for them are U83208, U83279, U83397 respectively. From the novel gene fragments, the complete cDNA sequence of them can be fished and the bioactivity and function of them in apoptosis of TF-1 cell and other hematological tumors can be further studied. On the other hand, the function of some known genes which were not suggested formerly in the course of apoptosis can be studied.

Key words TF-1 cell line, representational difference analysis (RDA), apoptosis

内毒素休克大鼠肝线粒体质子跨膜转运的改变^{*}

杨鹤鸣

(国防科工委总医院, 北京 100101)

陆松敏 刘建仓 李萍 朱正坤 郭素清

(第三军医大学野战外科研究所, 重庆 400042)

摘要 用稳态荧光探针标记技术动态观察内毒素休克大鼠肝亚线粒体质子跨膜转运的变化. 发现, 休克 5 h ATP、NADH 和琥珀酸钠所致的 9-氨基-6-氯-2-甲氧基吡啶 (ACMA) 最大荧光淬灭值 ($\Delta A_{\max}$) 显著低于对照组 ($P < 0.05$)、最大荧光淬灭时间 ($T_{\Delta A_{\max}}$)、半数荧光淬灭时间 ($T_{1/2 \Delta A_{\max}}$) 非常显著延长 ($P < 0.01$), 肝线粒体质子跨膜转运能力下降; 膜脂分子烃链和膜脂深层次流动性下降; 线粒体膜 PLA₂ 活性增加; 血浆脂质过氧化产物 MDA 和线粒体 MDA 含量均显著增加. 可能膜脂质过氧化和磷脂酶 A₂ 的水解是引起内毒素休克肝线粒体质子转运功能改变的重要因素.

关键词 线粒体, 质子, 内毒素, 休克

学科分类号 R631.1

机体器官线粒体氧化磷酸化功能的改变往往是影响内毒素休克发生、发展的重要因素^[1]. 在氧化磷酸化过程中, 在底物氧化还原能的驱动下, 质子由基质转运到线粒体内膜外侧, 形成质子电化学梯度 ($\Delta \mu H^+$). 质子跨膜转运是线粒体磷酸化的基础^[2]. 然而, 内毒素休克时线粒体质子跨膜转运的情况如何, 尚未见报道. 本实验研究内毒素休

克大鼠肝线粒体质子跨膜转运变化及其机理.

1 材料和方法

1.1 Wistar 大鼠 80 只, 随机分为对照组和内毒素

^{*} 军队“九五”攻关重点课题 (96L041).

收稿日期: 1997-09-09, 修回日期: 1998-07-06

休克组, 每组又分为内毒素 (或生理盐水) 注射前、注射后 1、3、5、8 h 五个小组. 3% 戊巴比妥钠 300 mg/kg 腹腔麻醉, 固定, 气管插管和右颈动脉插管, 全身肝素化 (500 U/kg). 对照组于尾静脉注射生理盐水 1 ml/kg; 内毒素休克组于尾静脉注射大肠杆菌内毒素 ($O_{111}: B_4$, Sigma 公司) 5 mg/kg.

1.2 观察各组动物平均动脉压 (MAP) 的变化, 分别于相应时相放血留取样本, 并立即断头取肝组织制备线粒体和亚线粒体.

1.3 按差速离心法^[3]制备肝线粒体和亚线粒体颗粒, 线粒体经电镜证实. Lowry 法测定蛋白质含量. 将制备的线粒体和亚线粒体颗粒用 SET 液 (含 250 mmol/L 蔗糖, 2 mmol/L EDTA, 10 mmol/L Tris-HCl pH 7.4) - 20℃ 储存, 8 h 内测定有关指标.

1.4 测定亚线粒体质子跨膜转运: 采用 9-氨基-6-氯-2-甲氧基-吡啶 (ACMA) 标记法^[4]. 反应缓冲液 2 ml (含 250 mmol/L KCl、75 mmol/L 蔗糖、2 mmol/L $MgSO_4$ 、30 mmol/L Tris-HCl pH 8.0) 中加入亚线粒体和 ACMA 至终浓度分别为 0.2 g/L 和 5 μ mol/L. 在 RF-540 荧光分光光度计上进行激发波长 (E_X) 和发射波长 (E_M) 扫描, 选取最适 E_X 和 E_M , 读取荧光强度值作为基线, 迅速加入

NADH 或琥珀酸钠至终浓度分别为 0.5 mmol/L 和 10 mmol/L 以测定呼吸链引起的跨膜 H^+ 梯度. 若测定 ATP 引起的跨膜 H^+ 转运, 则先加入呼吸链阻断剂氰化钾 (KCN 1 mmol/L) 以阻断细胞色素 c 到氧的电子传递, 然后再加入 ATP (1 mmol/L), 观察并记录其荧光强度随时间的变化. 以上均在 30℃ 进行, 狭缝 10 nm.

1.5 采用三种荧光探针 ANS (1-苯氨-8-萘磺酸)、DPH (1, 2-二苯基-1, 3, 5-己三烯)、12-AS [12-(9-蒽酰)硬脂酸] 分别测定膜脂分子头部、烃链区和膜脂深层次的流动性^[12]. 线粒体 PLA₂ 活性测定采用改良微量滴定法^[5]. 血浆及线粒体 MDA 含量按广州暨南大学医学院病理生理教研室 MDA 试剂盒说明测定.

1.6 统计学处理: 采用 Windows Excell 5.0 程序进行 *t* 检验.

2 结 果

2.1 平均动脉压 (MAP)

动物注射大肠杆菌内毒素后, 即刻 MAP 由 (14.63±1.40) kPa 降至 (9.58±1.26) kPa, 与注射前差别非常显著 ($P < 0.01$). 此后血压缓慢回升, 3 h 开始下降, 8 h 为对照的 53.96% (表 1).

表 1 内毒素休克大鼠 MAP 的变化

	kPa				
<i>t</i> /h	0	1	3	5	8
对照组	14.55±1.33	14.51±1.57	13.35±1.55	13.62±1.22	12.32±1.68
休克组	14.63±1.40	9.58±1.26 ¹⁾	11.14±1.60 ²⁾	10.54±1.19 ²⁾	7.83±1.47 ²⁾

注: *n* = 8. 与同时相对照组值相比¹⁾ $P < 0.05$; ²⁾ $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$.

2.2 线粒体质子跨膜转运的变化

荧光波长扫描 ACMA 荧光 E_X 峰为 400 nm, E_M 峰为 480 nm. 内毒素休克 5 h 肝亚线粒体在能量化 (ATP) 和底物 (NADH, 琥珀酸钠) 驱动下

最大荧光淬灭值 (ΔA_{max}) 较对照组显著减小 ($P < 0.05$), 最大荧光淬灭时间 $T_{\Delta A_{max}}$ 、半数荧光淬灭时间 $T_{1/2 \Delta A_{max}}$ (min) 较对照组非常显著延长 ($P < 0.01$), 尤以 NADH 为底物时变化幅度最大 (表 2).

表 2 加入 ATP、NADH、琥珀酸钠后亚线粒体 ACMA 荧光淬灭值的变化

	ATP		NADH		琥珀酸	
	对照组	休克组	对照组	休克组	对照组	休克组
ΔA_{max}	14.35±0.86	10.30±0.72 ¹⁾	18.43±1.06	8.55±0.80 ¹⁾	15.04±0.98	9.30±1.02 ¹⁾
$T_{\Delta A_{max}} / \text{min}$	3.33±0.60	6.37±0.98 ²⁾	2.63±0.46	4.32±0.58 ²⁾	3.06±0.56	5.74±0.69 ²⁾
$T_{1/2 \Delta A_{max}} / \text{min}$	0.56±0.08	1.01±0.09 ²⁾	0.75±0.06	1.30±0.09 ²⁾	0.95±0.10	1.41±0.12 ²⁾

注: *n* = 8, 与对照组比¹⁾ $P < 0.05$; ²⁾ $P < 0.01$.

结果可见: 休克 5 h ATP、NADH、琥珀酸钠所致的 ACMA 荧光 $\Delta A_{\max}$ 分别下降为对照组的 71.8%、46.4% 和 75.11%; $T_{\Delta A_{\max}}$ 分别延长为对照组的 1.91、2.02 和 1.87 倍; 而 $T_{1/2 \Delta A_{\max}}$ 则分别延长为对照组的 1.80、1.73 和 1.47 倍.

2.3 线粒体不同层次膜流动性的变化

以 ANS 为探针时, 内毒素休克组荧光偏振度 (polarization, ρ) 与对照组在各时相点均无显著差

异 ($P > 0.05$); 而以 DPH 和 12-AS 为探针时, 休克 1 h 后内毒素组线粒体膜荧光偏振度即显著增高 ($P < 0.05$), 5 h 后呈非常显著性升高 ($P < 0.01$) (表 3).

可见, 内毒素休克早期膜脂烃链区和深层流动性即下降, 且随着休克的进程而加重; 膜脂头端流动性各时相点均无显著变化.

表 3 分别以 ANS、DPH、12-AS 为探针时内毒素休克大鼠线粒体荧光偏振度 (ρ) 的变化

<i>t/h</i>		0	1	3	5	8
ANS	对照组	0.281 ± 0.012	0.283 ± 0.011	0.290 ± 0.013	0.273 ± 0.015	0.290 ± 0.016
	休克组	0.287 ± 0.013	0.278 ± 0.031	0.284 ± 0.007	0.267 ± 0.018	0.286 ± 0.014
DPH	对照组	0.209 ± 0.010	0.210 ± 0.007	0.204 ± 0.026	0.209 ± 0.009	0.221 ± 0.028
	休克组	0.210 ± 0.016	0.243 ± 0.010 ¹⁾	0.248 ± 0.008 ²⁾	0.263 ± 0.022 ²⁾	0.285 ± 0.032 ²⁾
12-AS	对照组	0.166 ± 0.010	0.163 ± 0.014	0.166 ± 0.011	0.169 ± 0.012	0.164 ± 0.011
	休克组	0.164 ± 0.012	0.189 ± 0.006 ¹⁾	0.194 ± 0.011 ²⁾	0.196 ± 0.011 ²⁾	0.195 ± 0.015 ²⁾

注: 测定条件: ANS 2 mmol/L、DPH 0.002 mmol/L、12-AS 0.0125 g/L, 25℃温育 30 min. *n* = 6, 与同时相对照组比 ¹⁾ $P < 0.05$; ²⁾ $P < 0.01$.

2.4 线粒体磷脂酶 A₂ 活性的变化

线粒体膜磷脂酶 A₂ (PLA₂) 活性早期即显著升高, 休克 3 h 为对照组的 2.54 倍 ($P < 0.01$),

5 h 为对照组的 3.35 倍, 8 h 约为对照的 8.0 倍 ($P < 0.001$). 可见内毒素休克肝线粒体 PLA₂ 活性随时间的延长而升高 (表 4).

表 4 内毒素休克大鼠肝线粒体 PLA₂ 活性的变化

<i>t/h</i>		0	1	3	5	8
		U/mg				
对照组		4.925 ± 1.035	5.355 ± 0.860	5.799 ± 1.329	5.687 ± 1.392	5.233 ± 1.112
休克组		5.113 ± 1.304	4.932 ± 1.295	14.675 ± 3.226 ¹⁾	20.195 ± 6.321 ²⁾	41.183 ± 5.063 ²⁾

注: *n* = 8. 与同时相对照组比 ¹⁾ $P < 0.05$; ²⁾ $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$.

2.5 血浆 MDA 含量

早期内毒素休克组大鼠血浆 MDA 含量就显著增高, 休克 1 h 约为对照的 1.29 倍 ($P < 0.05$), 休

克 8 h 非常显著升高, 为对照组的 1.72 倍 ($P < 0.01$). 均显著高于对照组 (表 5).

表 5 内毒素休克大鼠血浆 MDA 含量的变化

<i>t/h</i>		0	1	3	5	8
		μmol/L				
对照组		3.901 ± 0.141	3.925 ± 0.126	3.891 ± 0.163	3.982 ± 0.139	3.980 ± 0.173
休克组		3.876 ± 0.110	4.707 ± 0.246	4.943 ± 0.180 ¹⁾	5.391 ± 0.294 ²⁾	6.830 ± 1.770 ²⁾

注: *n* = 8. 与同时相对照组比 ¹⁾ $P < 0.05$; ²⁾ $P < 0.01$.

2.6 线粒体 MDA 含量

内毒素休克 1 h 肝线粒体 MDA 含量就显著增高 ($P < 0.05$), 随休克时间延长而加重. 休克 5h

后呈非常显著增高, 8 h 为对照的 1.79 倍 ($P < 0.01$) (表 6).

表 6 内毒素休克大鼠线粒体 MDA 含量的变化

	μmol/L				
t/h	0	1	3	5	8
对照组	6.065 ± 0.744	6.141 ± 0.826	5.463 ± 0.552	5.463 ± 0.876	6.285 ± 1.071
休克组	5.984 ± 0.626	9.962 ± 1.763 ¹⁾	9.304 ± 2.370 ²⁾	12.642 ± 2.636 ²⁾	11.285 ± 2.672 ²⁾

注: n= 8. 与同时相对照组比 ¹⁾ P< 0.05; ²⁾ P< 0.01.

3 讨 论

许多学者发现, 内毒素休克时细胞能量生成障碍, 其原因是线粒体内膜氧化磷酸化功能障碍^[6~ 8]. Astiz 等^[6]认为感染早期即存在氧化代谢及能量产生障碍. Simonson 等^[7]认为早期线粒体氧供和氧耗发生改变是其呼吸功能障碍的原因. Natanzon 等^[8]发现内毒素引起大鼠肝线粒体偶联程度下降、线粒体内膜电子传递障碍. 然而, 目前对内毒素休克线粒体氧化磷酸化的研究仅局限于测定线粒体氧耗和电子传递情况^[9], 质子跨膜转运的情况未见文献报道. 本实验发现, 内毒素休克大鼠肝线粒体质子跨膜转运能力减弱, 并探讨了其可能机制.

线粒体呼吸链通过质子的跨膜转运将底物氧化的化学能转变为线粒体膜质子电化学梯度 (ΔμH⁺), 以供 ATP 合成需要. 质子由基质泵出到膜外的过程就是质子跨膜转运的过程, 质子转运是 ΔμH⁺ 形成和维持的前提条件. NADH、琥珀酸氧化, 驱动电子沿呼吸链传递, 同时引起质子转运, 但由于存在质子回漏和氧化磷酸化脱偶等因素, 呼吸链电子传递、氧耗和质子转运不一定一致, 电子传递的研究不能完全代表质子转运情况. 因此, 研究内毒素休克时线粒体质子跨膜转运的变化是十分必要的.

本实验中, 我们采用稳态荧光标记技术, 将 ACMA 标记于亚线粒体, 并连续观察其在能量化和底物驱动下的荧光淬灭, 以此反映质子跨膜转运的变化. 发现, 正常动物肝线粒体能量化及底物引起的 ACMA 荧光淬灭值均较大, 最大荧光淬灭时间较短, 说明线粒体有较高的质子转运活性. 加入呼吸链阻断剂 KCN 和脱偶联剂 NH₄Cl 荧光强度升高, 则证明质子转运与呼吸链氧化还原及磷酸化偶联有关. 内毒素休克 5 h ATP、NADH 和琥珀酸钠引起 ACMA 最大荧光淬灭值 (ΔA_{max}) 显著低于对照组 (P< 0.05)、最大荧光淬灭时间 (T_{ΔA_{max}})、半数荧光淬灭时间 (T_{1/2 ΔA_{max}}) 非常显著延长 (P

< 0.01). 说明内毒素休克大鼠肝线粒体内膜能量化质子跨膜转运以及呼吸链底物氧化引起的质子跨膜转运能力都降低.

膜流动性是反应膜脂微环境改变的一个重要指标, 保持适当的膜流动性对电子传递和质子转运以及氧化磷酸化偶联的正常进行是必不可少的. 为了更精确阐述线粒体的膜脂状态, 本实验采用三种荧光探针标记线粒体膜, 它们分别为 ANS、DPH 和 12-AS. ANS 结合于膜磷脂亲水头部, 主要反应磷脂分子表面性质的变化; DPH 嵌入脂双层中, 反应整个脂链流动性的平均值; 而 12-AS 结合于膜磷脂的第 12 位碳上, 反应脂深层次的变化^[10]. 本实验证明, 采用 ANS 为探针时, 内毒素休克组肝线粒体膜流动性无显著变化, 而用 DPH、12-AS 为探针标记时, 内毒素休克组线粒体膜荧光偏振度和各向异性系数及微粘度均显著增加, 说明内毒素休克引起线粒体膜脂分子浅层膜流动性变化较小, 而膜脂烃链和膜脂深层次流动性下降.

PLA₂ 是重要的脂介质之一, 它可以直接水解膜磷脂的二位酯键, 导致膜的水解, 并释放大量的花生四烯酸产物. 许多研究证实, 内毒素休克动物及感染患者血浆 PLA₂ 活性增加, 膜脂组成、结构改变, 膜通透性增加^[11]; 体外实验中外源性 PLA₂ 引起的线粒体膜损伤与休克时的线粒体膜损伤极为相似^[12]. 线粒体是体内氧自由基产生的主要部位. 细菌感染时, 线粒体耗氧增加, O₂⁻ 和脂类自由基生成增加; 而此时氧自由基清除系统功能障碍, 大量自由基堆积. 氧自由基可导致线粒体膜蛋白内聚、膜流动性下降, 细胞发生不可逆损伤^[13, 14]. 脂质过氧化损伤的结果, 将导致膜的破坏. 内毒素休克时, 自由基与 PLA₂ 协同, 进一步加重细胞损伤^[15].

本实验发现, 内毒素休克晚期大鼠肝线粒体质子跨膜转运能力下降; 膜脂烃链膜脂分子和膜脂深层次流动性下降; 线粒体膜结合 PLA₂ 活性早期增加; 血浆脂质过氧化产物 MDA 和线粒体 MDA 均显著增加.

膜流动性改变的不一致可能与 PLA₂ 和脂质过氧化损伤的部位有关: PLA₂ 特异性作用于膜脂质的酰脂键, 脂质过氧化损伤作用于膜脂质, 造成膜脂烃链区流动性变化较头部流动性变化大。

线粒体呼吸链酶活性的维持, 有赖于膜脂正常组成、结构。有报道, 去脂 H⁺-ATP 酶在加入卵磷脂脂质体后活性升高 20~50 倍, 细胞色素氧化酶活性的维持也需要正常的膜脂组成^[16]。质子转运作为线粒体膜蛋白的重要功能之一, 也必然受膜脂状态的影响; 线粒体质子电化学梯度的维持, 也有赖于膜脂正常结构。根据本实验结果, 我们推测, 膜脂质过氧化和 PLA₂ 的水解是引起内毒素休克肝线粒体膜流动性下降和质子转运功能改变的重要因素。

致谢 承蒙中国科学院生物物理研究所林治焕教授、李生广教授、杨树长同志、北京医科大学程伯基老师的指导和帮助, 特此致谢。

参 考 文 献

- Schlag G, Redl H, Hallstrom S, *et al.* The cell in shock: The origin of multiple organ failure. *Resuscitation*, 1991, **21** (1): 137~140
- Boyer P D. The binding-change mechanism of mitochondrial ATPase complex. *Biochim Biophys Acta*, 1993, **1140** (2): 215~250
- Johnson D. Isolation of liver and kidney mitochondria. *Methods in Enzymology*. New York: Academic Press, 1987, **10**: 94~100
- Webster L C, Perez-Castinera J R, Atakins J L, *et al.* Allosteric regulation of proton-translocation by a vacuolar adenosine triphosphatase. *Eur J Biochem*, 1995, **232** (5): 586~595
- Nikano T, Arita H. Enhancement expression of group II PLA₂ gene in the tissues of endotoxin shock rat brain mitochondria. *Biochem J*, 1995, **305** (1): 29~32
- Astiz M, Rackow E C, Well M H, *et al.* Early impairment of oxidative metabolism and energy production in severe sepsis. *Circ Shock*, 1988, **26** (4): 311~320
- Simonson S G, Welty-Wolf K, Huang Y C-T, *et al.* Altered mitochondrial redox responses in gram-negative septic shock in primates. *Circ Shock*, 1994, **43** (1): 34~43
- Natanzon L V. Effect of bacterial endotoxin on the respiratory function of liver mitochondria. *Ukr Biokhim Zh*, 1988, **60** (1): 91~95
- Victorova A V, Gladkaya E M, Novikov D K, *et al.* Lipopolysaccharide toxin can directly stimulate the accumulation of lipid and the secretion into medium in primary culture of rabbit hepatocyte. *FEBS Lett*, 1989, **256** (1): 155~157
- Shinitzky M, Baren H Z. Fluidity parameters of lipid regions determined by fluorescent polarization. *Biochim Biophys Acta*, 1978, **515** (3): 367~394
- Vadas P, Pruzanski W. Induction of group II phospholipase A₂ expression and pathogenesis of the sepsis syndrome. *Circ Shock*, 1993, **39** (2): 160~167
- Conde G, Giaciar-Barreno P, Municio A M, *et al.* *In vivo* and *in vitro* effect of *Escherichia Coli* endotoxin on mitochondrial phospholipase A₂ injury activity. *FEBS Lett*, 1981, **127** (1): 115~120
- Gerom-Galle J, Zwizinski C W, Schmid H H. Peroxidative damage to cardiac mitochondria. *Arch Biochem Biophys*, 1994, **315** (1): 1~7
- Parks D A, Bulley G B, Granger D N, *et al.* Role of oxygen-free radical in shock, ischemia, and organ preservation. *Surgery*, 1983, **94** (3): 428~430
- Phung C D, Ezieme T A, Turrens J F. Hydrogen peroxide metabolism in muscle mitochondria. *Arch Biochem Biophys*, 1994, **315** (2), 479~482
- Groth G, Walker E. ATP synthesis from bovine heart mitochondria. Reconstitution into unilamellar phospholipid vesicles of the pure enzyme in a functional state. *Biochem J*, 1996, **318** (1): 351~357

The Study of Proton Translocation Across the Inner Mitochondrial Membrane in Endotoxic Shock in Rats. YANG He-Ming¹⁾, LU Song-Min²⁾, LIU Jian-Cang²⁾, LI Ping²⁾, ZHU Zheng-Kun²⁾, GUO Su-Qing²⁾ (¹⁾The General Hospital of CSTIND, Beijing 100101, China; ²⁾The Surgery Research Department, The Third Military Medical University, Chongqing 400042, China).

Abstract The changes of proton-translocation across the inner mitochondrial membrane of hepatocytes in endotoxic shock rats were studied. It was showed that: Five hours after shock, the maximum value of fluorescent quenching ($\Delta A_{\max}$) of ACMA (9-anmino-6-chloro-2-meto-acridine) induced by ATP, NADH and succinate was significantly decreased ($P < 0.05$). The time of maximum fluorescent quenching ($T_{\Delta_{\max}}$) and the time of half maximum fluorescent quenching ($T_{1/2 \Delta_{\max}}$) were significantly prolonged ($P < 0.01$). It was suggested that the ability of proton translocation across the IMM in endotoxic shock rats was decreased. The membrane fluidity were significantly decreased at the deep level and hydrocarbon chain. The mitochondrial membrane-associated PLA₂ activity, plasma MDA, and mitochondrial MDA contents were significantly increased in endotoxic shock rats. The results showed that PLA₂, and lipid peroxide may be the causes of the changes of proton translocation in endotoxic shock rats.

Key words mitochondria, proton, endotoxic shock