DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.05.007

核黄素对烧伤后早期损害的防治作用

荣新洲* 肖光夏 黎鳌 张雅萍 唐成功 (第三军医大学附属西南医院烧伤研究所)重庆,630038

提 要 采用大鼠30% Ⅲ度烧伤模型,伤后立即予以腹腔注射核黄素,通过尿量、动物死亡率统计、血浆丙二醛、血清皮质醇、尿儿茶酚胺以及血容量和不同组织器官微血管通透性的观察测定,并以单纯烧伤和正常动物作对照,结果显示:① 核黄素治疗后烧伤动物休克期尿量始终高于未治疗的单纯烧伤组;② 治疗后的动物血浆丙二醛含量明显下降;③ 治疗组血清皮质醇水平和尿肾上腺素含量相对稳定;④ 血浆和组织伊文思蓝-蛋白质含量的测定结果,治疗组血浆、肝、肾以及痂下组织的伊文思蓝-蛋白质浓度均低于单纯烧伤组;⑤ 治疗组伤后24 h存活率显著高于单纯烧伤组。提示烧伤早期核黄素的运用能维持相对较充足的血容量;同时减轻机体伤后剧烈的应激反应和机体脂质过氧化损害;在整体达到提高烧伤早期动物存活率的效果。

关键词 烧伤;核黄素;应激;脂质过氧化;休克
中图法分类号 R644

Koehn[1]的研究结果显示,烧伤创面有相当量的核黄素丢失,核黄素含量最高的肝脏于烧伤后可出现核黄素的明显缺乏,并且缺乏的时间与负氮平衡期相重叠。但伤后补充核黄素的效果尚不得而知。本实验通过观察大鼠严重烧伤早期核黄素的排泄情况及伤后立即予以腹腔补充核黄素的效果,以探讨核黄素对烧伤早期机体损害的影响。

1 材料与方法

1.1 动物和模型准备

Wistar大鼠250只,体重(230±30)g,随机将动物分为3组:① 正常对照组;② 烧伤对照组;③ 烧伤治疗组。每组或每时相点10只,动物伤后均立即予4 ml/100 g体重等渗盐水腹腔注射。烧伤组不加其它治疗,而治疗组在补充的液体中另加核黄素注射液(0.06 mg/ml),正常组动物除无烧伤不给核黄素外,其余实验步骤均相同。动物按时相活杀取材。

1.2 观察指标和方法

1.2.1 尿量的收集 代谢笼连续收集3 d尿液,尿量记录精确到0.1 ml。

1.2.2 死亡率的统计 本实验动物死亡率均为伤后24h内。

1.2.3 血清皮质醇测定 取腔静脉血分离出血清,以放射免疫法(双抗体法)测定。

1.2.4 尿去甲肾上腺素和肾上腺素比值测定 取24 h尿液,连续3 d按尿儿茶酚胺荧光测定法对标本作肾上腺素和去甲肾上腺素含量测定并计算比值。

1.2.5 血浆丙二醛含量测定 按Yagi氏法测定。

1.2.6 血浆和组织血管外伊文思蓝-蛋白质浓度测定 按体重(20 mg/kg)从尾静脉注入伊文思蓝,注射后立即烧伤,24 h活杀取材。测定参照Saria等[2] 1983年报道的伊文思蓝荧光法。

1.3 统计学处理

本研究数据依不同情况分别作χ^2、t检验,$P<0.05$为相差显著,$P<0.01$为相差非常显著。

2 实验结果

2.1 实验大鼠尿量的收集结果

大鼠烧伤后立即按体重给予一次性腹腔补液,并限制自由饮水,结果显示:治疗组尿量于伤后3 d内始终高于烧伤组,伤后12、24和72 h更为明显($P<0.05$),见表1。

表1 烧伤早期尿量收集测量结果(q_V/ml·h^{-1})

Tab 1 Changes of urine volume after burns (q_V/ml·h^{-1})

Group	n	Preburn (h)	Post burn (h)			
		24	12	24	24~48	48~72
Burned	10	11.48 ± 3.68	1.72 ± 0.46	1.83 ± 1.36	2.72 ± 1.48	1.25 ± 0.97
Treated	10	11.58 ± 3.55	2.26 ± 0.36#	3.47 ± 1.48#	3.83 ± 1.18	2.40 ± 1.21#

#: $P<0.05$ *vs* burned group

2.2 核黄素对大鼠利尿作用的鉴定

20只健康动物在自由饮水的情况下,腹腔注射等渗盐水和内含核黄素的等渗盐水。测试结果显示,等渗盐水组($n=10$)注射前后的尿量(ml/24 h)分别为14.21±5.19和12.56±7.13;内含核黄素组($n=10$)分别为15.35±3.76和12.39±4.64,其间差异不显著,尿量更无增加。

2.3 伤后24 h大鼠死亡率统计

大鼠烧伤后的死亡多发生在24 h内,故本组只统计24 h死亡率,以此比较治疗组和烧伤组的存活情况(每组50只动物)。结果表明,虽然治疗组(存活44只)也有12%的死亡率但明显低于烧伤组(存活34只)的32%($P<0.05$)。

2.4 核黄素对血液丙二醛含量的影响

伤后治疗组和烧伤组丙二醛含量均有增加,但烧伤组与治疗组比较,动物于伤后12、24、72 h差异均显著(P分别小于0.05, 0.01和0.05),见表2。

* 现在第一军医大学附属南方医院烧伤科工作 广州市,510515

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2 烧伤早期丙二醛测定 (c_B /nmol·ml^{-1})

Tab 2 The comparison of plasmic MDA level (c_B /nmol·ml^{-1})

Group	n	Post burn time (h)			
		12	24	48	72
Burned	10	2.978 ± 0.638**	4.873 ± 1.510**	3.081 ± 0.665**	3.853 ± 0.683**
Treated	10	2.036 ± 0.813#	3.244 ± 0.364##	2.841 ± 0.291	3.033 ± 0.607#
Normal	10		2.004 ± 0.675		

MDA: malondiadehyde; * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$ *vs* normal control; # : $P < 0.05$, ## : $P > 0.01$ *vs* burned group

2.5 核黄素对伤后皮质醇含量的影响

与烧伤对照比较,治疗组在 24和 72 h两个时相点血清皮质醇水平显著低于烧伤组 (P分别小于 0.05和 0.01),见表 3

表 3 烧伤早期血清皮质醇含量的变化 (ρ_B/ng·L^{-1})

Tab 3 Changes of cortisol level in serum after burns (ρ_B /ng·L^{-1})

Group	n	Post burn (h)			
		12	24	48	72
Burned	10	7.50 ± 4.19	33.87 ± 11.16**	14.67 ± 5.73*	42.93 ± 10.93**
Treated	10	11.44 ± 5.44	15.64 ± 7.88#	10.83 ± 5.97	14.75 ± 5.17##
Normal	10		5.81 ± 2.63		

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$ *vs* normal control; # : $P < 0.05$, ## : $P < 0.01$ *vs* burned group

2.6 核黄素对尿去甲肾上腺素 肾上腺素含量比值 (NE/E)的影响

实验结果显示,烧伤组动物尿 NE/E比值于伤后 24 h明显增高, 48 h降至正常水平;治疗组伤后 3 d内 NE/E比值与正常比较无明显升高,与烧伤组比较伤后 24 h相差极显著 ($P < 0.01$),见表 4

表 4 烧伤早期尿 NE/E比值的变化 [w_B /g (24 h)$^{-1}$]

Tab 4 The changes of NE/E ratio in urine after burns [w_B /g (24 h)$^{-1}$]

Group	n	Preburn (h)	Post burn (h)		
		24	24	48	72
Burned	10	1.212 ± 0.177	2.819 ± 1.336**	1.161 ± 0.180	1.269 ± 0.232
Treated	10	1.322 ± 0.208	1.419 ± 0.157##	1.176 ± 0.232	1.192 ± 0.184

NE: norepinephrine; E epinephrine; ** : $P < 0.01$ *vs* preburn; ## : $P < 0.01$ *vs* burned group

2.7 血浆和组织血管外伊文思蓝浓度测定结果

治疗组动物血液、痂下组织、肝、肾组织伊文思蓝浓度明显低于烧伤组 ($P < 0.05$),小肠、肺伊文思蓝含量两组差异无显著性,见表 5

表 5 血液和组织中伊文思蓝 – 蛋白质的测定结果

Tab 5 The Evans blue-protein concentration in blood and different tissues

Group	n	Blood (ρ_B /μg·L^{-1})	Subeschar (w_B /μg·100 mg^{-1})	Liver (w_B /μg·100 mg^{-1})	Kidney (w_B /μg·100 mg^{-1})	Lung (w_B /μg·100 mg^{-1})	S. intestine (w_B /μg·100 mg^{-1})
Normal	10	32.62± 5.268	1.789± 0.397	1.797± 0.281	2.128± 0.266	2.284± 0.465	2.098± 0.499
Burned	10	43.547± 7.712**	3.297± 0.224**	2.671± 0.384**	2.979± 0.711**	2.671± 0.175*	2.293± 0.624
Treated	10	36.105± 5.604#	2.962± 0.244#	1.914± 0.155#	2.278± 0.565#	2.471± 0.355	2.195± 0.432

The representative unit in blood: ρ_B /μg·L^{-1}; in tissues w_B /μg·(100 mg)$^{-1}$ S. intestine: Small intestine; * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$ *vs* normal control; # : $P < 0.05$ *vs* burned group

3 讨论

核黄素是临床普遍使用的药品,烧伤治疗中亦常规应用,主要是作为一种维生素的补充.但它在烧伤治疗中具体起到何种效果,既往很少有报道.从本实验结果看,烧伤后核黄素的早期运用,至少对大鼠伤后休克应激反应和脂质过氧化损害几方面产生一定程度的影响.

3.1 对早期血容量的影响

严重烧伤后有一个血容量减少,机体组织缺血缺氧的休克阶段,其间尿量的多少可以部分反映休克的程度.本实验结果显示,经过核黄素治疗的动物于伤后 3 d内尿量始终高于烧伤组动物,且核黄素对正常大鼠并无利尿作用;治疗组血液伊文思蓝浓度明显低于烧伤组,表明核黄素的早期运用,能提高动物伤后的有效循环血量,减轻休克程度,从而提高了尿排出量,并在整体上达到了提高活存率的效果.

3.2 对伤后早期应激反应的影响

应激反应是机体内环境的保护性反应,但过度反

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

应则可带来不良后果[3]。经核黄素治疗的动物,应激反应强度较未加治疗动物明显减轻。实验中发现,治疗组动物血清皮质醇水平先于未治疗动物升高。令人感兴趣的是这种升高幅度从伤后 12 h起不再有明显变化,从而保持了体内的相对稳定性。这样既高于正常水平,又不如单纯烧伤动物的超高反应,可能更有利于机体渡过休克期。治疗动物儿茶酚胺的分泌情况也有一定变化,同烧伤组比较,其尿内去甲肾上腺素/肾上腺素(NE/E)比值更接近于正常水平,上述血清皮质醇水平和尿内 NE/E比值相对稳定结果,提示核黄素对肾上腺有一定的稳定作用。

3.3　对机体脂质过氧化损害的影响

烧伤早期血浆丙二醛含量的增高,说明机体脂质过氧化损害加强[4]。本实验结果表明,烧伤机体于伤后 12 h即有明显的脂质过氧化损害,24 h达到高峰。治疗后脂质过氧化损害亦有所增强,但与烧伤组比较,这种损害明显减弱,说明核黄素对烧伤早期的脂质过氧化损害有一定缓冲作用。

上述核黄素在烧伤早期防治效果的作用机理尚不清楚,根据本实验结果,治疗后动物在痂下、肝、肾等组织伊文思蓝浓度明显较烧伤组降低,说明核黄素能改善烧伤后部分组织微血管过高的通透性,从而提高血容量,减轻休克缺血、缺氧损害。随着休克程度的改善,应激反应和脂质过氧化损害也得到减轻,最终在整体上达到了提高早期动物存活率的效果。

参考文献

1 Koehn C J. Riboflavin content of livers in experimental burns. Ann Surg, 1963; 158(6): 933

2 Saria A. Evans blue fluorescence: quantitative and morphological evaluation of vascular permeability in animal tissues. J Neuroscience Methods, 1983; 8: 41

3 Muller M J, Herndon D N. Hormonal interactions in burned patients. Nephrology, 1993; 13(4): 391

4 Gibran N S, Heibach D M. Mediators in thermal injury. Nephrology, 1993; 13(4): 344

(收稿: 1995-12-07;修回: 1996-08-24)

(编辑　王　红、沈锡庚)

Study of effects of riboflavin on systemic damages in early stage postburn in rats

Rong Xinzhou, Xiao Guangxia, Li Ao, Zhang Yaping, Tang Chenggong (Research Institute of Burns, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract　After the rats were inflicted with 30% TBSA full thickness burns, they were intraperitoneally injected with riboflavin and then blood and urine volume, level of urine riboflavin, plasma malondialdehyde, serum cortisol and urine catecholamines, and microvascular permeability of various tissues and organs were determined. Those of the normal rats and burnt rats without riboflavin treatment were determined likewise to serve as the negative and positive controls. The findings were as follows: (1) The urine volume was higher in the riboflavin-treated rats than in those without treatment in the shock stage ($P < 0.01$). (2) The plasma malondialdehyde level was significantly lower in the riboflavin-treated rats. (3) The level of plasma cortisol and urine epinephrine were maintained relatively stable in the treated rats. (4) The Evans blue-protein content in the plasma, liver, kidneys and subeschar tissues was lower in the treated rats than in those without treatment. (5) The survival rate of the burnt rats in the 24th hour postburn was significantly higher in the treated rats than in those without. These findings suggest that the administration of riboflavin in the early stage postburn can maintain a reasonably sufficient blood volume and prevent drastic stress reaction and lipid peroxidation from occurring. Consequently, the survival rate of the rats is improved.

Key words　burns; riboflavin; stress; lipid peroxidation; shock; rat

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net