DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.02.012

大鼠不同烫伤面积与血液、肝脏、肺脏MDA含量和XO、抗氧化酶活性的关系

叶上宇 王德青 卢国强 钟小林（第三军医大学训练部 生化教研室）

提 要 大鼠10%、30%体表面积Ⅱ°烫伤4h后，测定血浆、红细胞、肝和肺匀浆上清液的MDA含量，全血、肝和肺匀浆上清液的SOD、GSSG-Px和CAT活性，以及肝匀浆上清液的XO活性。结果表明，烫伤大鼠伤后组织MDA含量和SOD活性，以及肝中XO、CAT活性，肺和全血中GSSG-Px活性均显著增加，除肝和肺中SOD活性以及全血中GSSG-Px活性10%与30%烫伤组间无显著差异外，其余均与烫伤面积相关；而全血和肺中CAT活性伤后降低，肝中GSSG-Px活性10%和30%烫伤组分别高于和低于对照组。本实验结果显示，体表烫伤面积较小（10%）时，机体可能通过诱导合成主要的抗氧化酶，提高抗氧化能力，以对抗自由基、LPO的损伤，而当体表烫伤面积较大（30%）时，不同组织抗氧化酶对氧应激的反应有所不同。

关键词 烫伤；MDA；黄嘌呤氧化酶类；超氧化物歧化酶类；谷胱甘肽过氧化酶类；过氧化氢酶类；大鼠

自由基、脂质过氧化损伤在烧伤的发病机理中占有一定的地位。烧伤后焦痂、血浆、红细胞、某些脏器匀浆中脂质过氧化物（LPO）皆增加[1][2]。Saez等[3]根据别嘌呤醇和超氧化物歧化酶（SOD）预防性应用可以减低烧伤性休克小鼠的死亡率以及二者减低死亡率的程度不同提出，烧伤性休克的发生是由O_2^-引起的。O_2^-的来源有二：一是黄嘌呤氧化酶（XO）催化次黄嘌呤转变成尿酸时产生的；另一是粒细胞或其它氧化酶系，以及血管活性胺自氧化产生的。

生物细胞存在着天然保护系统抗氧化酶和抗氧化剂。烧伤后血液及组织中抗氧化酶活性的改变，文献[4][5][1]中报道的结果不完全一致。本研究的目的意欲揭示不同烫伤面积与LPO、XO和抗氧化酶的相互关系。

1 材料与方法

1.1 样品制备

健康Wistar大鼠，雄性，体重180g～250g，随机分3组：1组为对照组，余2组为烫伤实验组。伤前用乙醚轻度麻醉，在背部按体表面积10%和30%剃毛，于95℃水中10s造成Ⅱ°烫伤。4h后，断头放血，迅速取出肝右叶和肺脏。血液用EDTA抗凝（1mg/ml），每份一分为二。1份经1000rpm离心5min，分离血浆与红细胞，另1份为全血。肝和肺用4℃生理盐水洗净血污，滤纸吸干，称重，剪碎。每克肝或肺脏加19ml 1.15%KCl溶液（4℃预冷）混匀，用ZS83-1型内切式组织匀浆器制成匀浆（肝脏匀浆1.5min，肺脏匀浆3min）。匀浆3000rpm离心5min，分离出上清液置4℃冰箱待测。

1.2 测定方法

按内藤周幸法[6]测定血浆与红细胞丙二醛（MDA）含量，参照Hireshi法[7]测定肝和肺匀浆上清液MDA含量。按吴晓生等法[8]测定肝匀浆上清液XO活性，参照本校“《自由基、脂质过氧化技术学习班讲义》”（1987）测定全血、肝和肺匀浆上清液SOD、谷胱甘肽过氧化物酶（GSSG-Px）和过氧化氢酶（CAT）活性，以氰化高铁血红蛋白法测定全血血红蛋白含量，用Lowry法测定蛋白质含量。

2 结果与讨论

实验结果经统计分析列于表1、表2、表3、表4。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表1 不同烫伤面积大鼠血浆、红细胞、肝和肺匀浆上清液MDA含量(方差分析, $\bar{x}\pm s$)

Tab.1 The contants of MDA in plasma, RBC, and the supernatant of liver and lung homogenate in scalding-injured rats($\bar{x}\pm s$)

Groups	Plasma ΔOD233/ml	Red cells nmol/g Hb	Supernatant of liver homogenat nmol/mg Prot	Supernatant of lung homogenat nmol/mg Prot
Control	0.83±0.11 (9)	33.31±3.35 (9)	0.259±0.029 (9)	0.724±0.080 (10)
10%TBS	1.36±0.15** (9)	45.44±4.72** (9)	0.498±0.055** (10)	1.191±0.083** (10)
30%TBS	3.12±0.23**ΔΔ (8)	56.33±4.75**ΔΔ (8)	0.692±0.074**ΔΔ (8)	1.421±0.059**Δ (9)

**means $P<0.01$ as compared with the control, ΔΔmeans $P<0.01$ and ΔP<0.05 as compared between the two experiment groups.
The numeric in brackets denote the number of rats tested.

表2 不同烫伤面积大鼠全血SOD、GSSG-Px和CAT活性 (方差分析, $\bar{x}\pm s$)

Tab. 2 The activities of SOD, GSSG-Px and CAT in blood in scalding-injured rats($\bar{x}\pm s$)

Groups	SOD μ/g Hb	GSSG-Px μ/mg Hb	CAT μ/g Hb
Control	3863.2±382.1 (9)	2.72±0.34 (9)	29.24±3.35 (9)
10%TBS	9556.2±750.3** (9)	13.61±3.20** (9)	16.19±1.61** (9)
30%TBS	6265±405.4**ΔΔ (8)	12.66±1.23** (8)	16.03±0.72** (8)

**means $P<0.01$ as compared with the control;
ΔΔmeans $P<0.01$ as compared between the two experiment groups.
The numeric in brackets denote the number of rats tested.

表3 不同烫伤面积大鼠肝匀浆上清液XO、SOD、GSSG-Px和CAT活性(方差分析, $\bar{x}\pm s$)

Tab. 3 The Activities of XO, SOD, GSSG-Px and CAT in the supernatant of liver Homogenate in scalding-injured rats($\bar{x}\pm s$)

Groups	XO μ/mg Prot	SOD μ/mg Prot	GSSG-Px μ/mg Prot	CAT μ/mg Prot
control	0.12±0.019 (9)	425.78±37.26 (9)	98.10±11.05 (9)	2.89±0.28 (9)
10%TBS	0.19±0.031** (10)	954.62±62.41** (10)	198.38±25.65** (10)	19.86±3.27** (10)
30%TBS	0.29±0.046**ΔΔ (8)	990.13±62.99** (8)	72.32±8.06**ΔΔ (8)	24.95±2.42**ΔΔ (8)

**means $P<0.01$ as compared with the control;
ΔΔmens $P<0.01$ as compared between the two experiment groups.
The numeric in brackets denote the number of rats tested.

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表4 不同烫伤面积大鼠肺匀浆上清液SOD、GSSG-Px和CAT活性（方差分析，$\bar{x}\pm s$）

Tab. 4 The Activities of SOD, GGSS-Px and CAT in the supernatant of luug homogenate in scalding-injured rats($\bar{x}\pm s$)

Groups	SOD μ/mg Prot	GPx μ/mg Prot	CAT μ/mg Prot
Control	890.33±64.49 (10)	51.55±5.50 (10)	0.556±0.068 (10)
10%TBS	1215.9±98.09** (10)	82.16±8.39** (10)	0.440±0.050** (10)
30%TBS	1226.5±49.90** (9)	127.21±9.43**ΔΔ (9)	0.486±0.031* (9)

**means $P<0.01$ and *$P<0.05$ as compared with the control;
ΔΔmeans $P<0.01$ as compared between the two experiment groups.
The numeric in brackets denote the number of rats tested.

多不饱和脂肪酸的过氧化物在体内代谢后产生MDA和戊烷、乙烷、CO_2。测定体内的MDA和呼出气中戊烷、乙烷量可以反映体内脂质过氧化的程度。由表1可见，大鼠皮肤Ⅲ。烫伤4 h时，血浆、红细胞、肝和肺匀浆上清液MDA含量均升高非常显著，而30%烫伤组又显著高于10%烫伤组，即体内MDA含量随烫伤面积的增加而升高。说明体内脂质过氧化程度随烫伤面积的增加而增加。

O_2^-是脂质过氧化作用的诱发剂，Seaz等[3]提出烧伤休克综合症时，产生O_2^-的两个正反馈圈。表明XO机制是O_2^-的重要来源。

XO广泛存在于动物组织中[9]，XO合成后以黄嘌呤脱氢酶（XD）形式存在，大约占健康组织总活性的90%，它不能将电子传递给分子O_2形成O_2^-，但能还原NAD^+，当XD受到蛋白酶的水解作用即能很快地转变为XO，后者能利用O_2产生O_2^-。

我们的研究结果（表3）表明，大鼠皮肤Ⅲ°烫伤早期肝匀浆上清液XO活性即显著升高，而且随烫伤面积的增加而升高。作者以前曾报道，大鼠皮肤30%Ⅲ°烫伤24h后肝中XO活性仍有继续上升的趋势。赵琢道等测定烧伤病人血浆尿酸含量的变化，亦发现烧伤面积越大，峰值增加越显著，且在烧伤后1周内均明显增加。这间接说明体内XO活性与烧伤面积和病情严重程度密切相关。

Mclord[10]根据对肠道再灌流的实验研究提出，当组织血流量降低（氧供量减少）到不能产生足量的ATP，细胞不能维持跨膜离子梯度，Ca^{++}重新分布而使胞浆中Ca^{++}含量增加，并由此激活了能促使XD转变成XO的蛋白酶。这种机制可能也适用烧伤后的某些组织。

抗氧化酶、SOD和CAT、GSSG-Px通过清除O_2^-和H_2O_2，可防止·OH、$^1O_2$产生，以减轻和阻断脂质过氧化作用的一级诱发作用，GSSG-Px还可通过还原脂氢过氧化物减轻或阻止二级诱发作用。在正常生理条件下，如果O_2^-生成增多，SOD诱导合成相应增加，而LPO增多，可诱导GSSG-Px的合成。本文实验结果（表2、3、4）表明，大鼠皮肤10%Ⅲ°烫伤4h时，全血、肝和肺匀浆上清液SOD和GSSG-Px活性以及肝匀浆上清液CAT活性均明显高于对照组（$P<0.01$），说明机体在氧应激情况，通过诱导合成抗氧化酶以对抗自由基、LPO的增加，从而对机体起一定的保护作用。30%烫伤组几种抗氧化酶活性的变化情况不同组织有所差异，SOD活性于肝和肺匀浆上清液仍明显高于对照组（$P<0.01$），但与10%烫伤组无差

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

异，即不能随烫伤面积的增大而增加；而全血明显低于10%烫伤组($P<0.01$)，但仍明显高于对照组($P<0.01$)；GSSG-Px活性肝匀浆上清液明显低于10%烫伤组和对照组($P<0.01$)，肺匀浆上清液明显高于10%烫伤组，全血实验组间无差别；CAT活性肝匀浆上清液明显高于10%烫伤组，肺匀浆上清液和全血实验组间无差异，仍明显低于对照组。由此看来，体表较大面积烫伤时不同组织器官保护性抗氧化酶对氧应激的反应有所不同，已有报道[4][5]，机体对脂质过氧化应激反应能力与种属、年龄有关，而本文实验结果显示，还与烫伤面积和器官有关，并且还可能与烧伤时相等因素有关，这也许是文献中报道的烧伤后组织抗氧化酶活性改变不完全一致的原因。

参 考 文 献

1. Liu Zejun (刘泽军) and Dong Yanlin (董燕麟)。Changes of selenium metabolism, gluthione peroxidase activity and lipid peroxides content in severly scalding-injured rats. J Med Coll PLA 1989:213～216
2. 陈宗荣 孟小明 冯 江。烧伤大鼠脂质过氧化物含量的研究Ⅰ．血浆、焦痂、肝组织脂质过氧化物及维生素E含量的动态变化。第三军医大学学报 1988；10 (1) :43
3. Juan C Saez, Peter H Ward, Bruno Gunther, et al.Superoxide radical involvement in the pathogenesis of burn shock. Circ Shock 1984；12 (4) :229
4. Yukie Niwa, Tsuyoshi Kasama, Shuzo Kawai, et al. The effect of aging on cutaneous lipid peroxide levels and superoxide dismutase activity in guinea pigs and patients with burn. Life Sci 1988；42:351
5. S Kawai, J Komura, Y Asada, et al. Experimental burn-induced changes in lipid peroxide levels, and activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in skin lesions, serum, and liver of mice. Arch Dermatol Res 1988；280:171
6. 内藤周幸．过酸化脂质．日本临床 40卷秋季临时增刊号 1982；288～291
7. Hireshi Ohkwa, Nobuko Ohishi, Kunio Yagi. Assay for LPO in animal tissues by TBA reaction. Anal Biochem 1979；95:351～358
8. 吴晓生 李龙官。比色法测定黄嘌呤氧化酶。生物化学与生物物理进展 1986；5:65～70
9. 角野胜彦 遠藤 仁．腎における活性酸素関連酵素．《腎と透析》1988；24 (5) : 743～748
10. Mclord JM. Oxygen-derived free ragcalis in postischemic tissue injury New Engl J Med 1985；312 (3) : 159

(收稿：1990.08.29；修回：1991.02.02)

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Determination of Malondialdehyde Level and Xanthine Oxidase and Antioxidases Activity in Scalding-injured Rats

Ye Shangyu, Wang Deqing, Lu Guoqiang, et al (Department of Biochemistry, Third Military Medical College, Chongqing 630038)

Abstract The back of rats was immersed in 95℃ water for 10 seconds to produce 10% and 30% TBSA full thickness burn injury. Malondialdehyde (MDA) level in plasma, erythrocytes, the liver and the lungs, the activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSSG-Px), and catalase (CAT) in the blood, liver and lungs, and the activity of liver xanthine oxidase (XO) were determined 4 hours postburn. It was found that MDA level and SOD activity in rat tissues, XO and CAT activity in the liver, and GSSG-Px activity in the lungs and blood increased significantly aftre injury. The severity of these changes positively correlated with the area of scalding except the SOD activity in the liver and lungs which showed no significant difference in those animals with 10% and 30% TBSA scalding. However the CAT activity in the blood and lungs decreased postburn and the liver GSSG-Px activity in 10% and 30%TBSA scalding-injured rats was higher and lower than that of the control respectively.

The results imply that when scalding involves less area of body surface, the function of anti-peroxidation system of the body will be enhanced by inducing the synthesis of antioxidases; when severe scalding covers larger body surface, the induction of enzyme synthesis will be deficient in some tissues of the body.

Key words scalding; malondialdehyde; xanthines; superoxide dismutase; glutathione peroxidase; catalase; rat

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net