DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.02.007

严重体表烫伤后大鼠硒、谷胱甘肽过氧化物酶和脂质过氧化物的代谢变化

刘泽军* 董燕麟（生化教研室）

提 要 以30%体表面积皮肤全层烫伤雄性大鼠为模型，观察伤后7天内某些组织中Se、GSH-Px和LPO的变化，结果表明：大鼠严重烫伤后硒大量丢失，导致血浆、红细胞和肝脏GSH-Px活力下降，从而使自由基毒害增强，另外，肌肉组织可能对脂质过氧化不敏感。

本实验结果说明烫伤后体内抗氧化酶之一的GSH-Px活性的降低是造成自由基毒害的原因之一，而GSH-Px活性的下降则与烫伤后硒丢失有关。

关键词 硒；谷胱甘肽过氧化物酶；过氧化脂质；自由基

近年来的研究证明，烧伤后自由基的增加以及因自由基引发的脂质过氧化作用是对机体组织造成损伤的重要原因之一[1][2]。此外，烧伤后机体抗氧化系统的改变也是不可忽视的。另一方面，基于几种主要的抗氧化酶都含有微量元素，如含铜、锌的超氧化物歧化酶(SOD)，含硒的谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px），含铁的过氧化氢酶(CAT)等，因此将微量元素和酶联系起来进行抗氧化机制的研究很有意义，但目前有关严重烧伤后这方面的研究报导不多，故本文以研究得较少的硒和GSH-Px作为指标，观察30%体表严重烫伤大鼠7天内某些组织中代谢变化和过氧化脂质产生情况，以了解它们在烧伤后的变化规律，为烧伤机制研究及硒在临床的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

成年雄性Wistar种大鼠，体重170～250g，本校动物所提供。

1.2 主要试剂及仪器

2.3-二氨基萘（DAN），Fluka瑞士；硫代巴比妥酸（TBA），上海试剂二厂；还原型谷胱甘肽(GSH)，上海酵母厂；5.5-二硫二硝基苯甲酸(DTNB)，Sigma,美国；四乙氧基丙烷；721型分光光度计，四川分析仪器厂；ZS83-1型内切式组织匀浆器，浙西机械厂；MPF-4型荧光光度计，日立，日本；7520型紫外分光光度计，上海分析仪器厂。

1.3 动物模型与标本收集

实验前大鼠常规喂养3天以上，称重、剪去背部的毛，乙醚吸入麻醉后，将背部(占体表面积30%)置于大小适宜的模具中，90±1℃水浴烫伤15s，造成烫伤组大鼠30%体表面积皮肤全层烫伤，分笼喂养，自由饮水、摄食，伤后于6h、12h、24h，2、3、5、7天等不同时相处死，收集血液、肝脏及腿部肌肉。血液用1%肝素抗凝、离心分离血浆和红胞细，收集的红细胞用生理盐水洗涤，然后1800×G离心10min，重复3次，再用等量冷双蒸水溶血制成红细胞溶血液，备测。用代谢笼收集处死前24h尿液，记录总尿量，然后1800×G离心5min，取上清液进行测量。肝、肌组织样品用0.15mol/L KCl制成10%匀浆，备测。正常对照组除不烫伤外，其余处理与烫伤组相同。

*现在西南医院检验科工作

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

1.4 测定方法

硒用2.3-二氨基萘荧光法测定[3]样本用量为：血浆或红细胞溶血液取0.4ml；尿液取1 ml，肝脏和肌肉取0.1～0.3g，GSH-Px活力测定用改良DTNB法[4]。丙二醛含量测定用硫代巴比妥酸荧光法[5]。蛋白质测定用Lowry法。血红蛋白测定用氰化高铁血红蛋白法。

2 实验结果

2.1 烫伤后各组织中过氧化脂质含量的变化（表1）

表1 烫伤各组与正常组大鼠LPO含量的比较（$\bar{X}\pm SD$）

	正常组	伤 6h	伤 12h	伤 1天	伤 2天	伤 3天	伤 5天	伤 7天
血 浆	2.11±0.41	2.60±0.35	2.52±0.60	2.59±0.36	3.97±1.16	4.96±0.93	3.55±0.33	3.38±0.52
nmol/ml	(15)	(16)*	(16)*	(14)*	(17)**	(15)**	(16)**	(14)**
红细胞	62.53±9.06	66.80±5.39	71.09±10.82	69.42±9.92	75.99±9.51	83.88±9.37	75.98±8.32	78.79±11.25
nmol/gHb	(15)	(16)*	(15)*	(14)**	(16)**	(15)**	(16)**	(15)**
肝脏nmol	0.62±0.07	0.99±0.09	1.14±0.23	1.04±0.22	1.52±0.63	1.14±0.32	0.91±0.07	1.15±0.22
/mg蛋白	(14)	(15)**	(16)**	(14)**	(16)**	(14)**	(16)**	(14)**
肌肉nmol	2.56±0.38	3.14±0.32	3.09±1.03	3.15±1.36	2.78±0.63	2.69±0.74	2.42±0.53	2.79±0.47
/mg蛋白	(15)	(16)	(16)	(14)	(17)	(15)	(16)	(15)

* 与正常组比较$P<0.05$　　** 与正常组比较$P<0.01$

烫伤后，血浆、红细胞和肝脏的丙二醛浓度逐渐增加，伤后2～3天升至最高峰，随后开始下降，但在7天观察期内始终高于正常组。肌肉组织无明显差异（$P>0.05$）。

2.2 烫伤后GSH-Px活性的变化（表2）

表2 烫伤各组与正常对照组GSH-Px活力的比较（$\bar{X}\pm SD$）

	正常组	伤 6h	伤 12h	伤 1天	伤 2天	伤 3天	伤 5天	伤 7天
血浆	2090±369	1015±307	1576±275	1440±177	1329±314	1531±290	1531±196	1505±294
u/ml	(15)	(16)**	(15)**	(14)**	(17)**	(15)**	(16)**	(15)**
红细胞	222.2±24.8	153.6±22.9	169.2±36.0	190.0±24.0	167.6±41.0	177.0±34.0	182.0±29.0	191.7±25.5
u/mgHb	(15)	(16)**	(16)**	(14)**	(17)**	(15)**	(16)**	(15)**
肝脏u/	251.0±73.0	210.6±38.6	168.2±35.9	149.3±30.1	135.0±32.2	119.1±23.9	138.7±31.4	136.2±36.9
mg蛋白	(15)	(16)**	(16)**	(14)**	(16)**	(15)**	(16)**	(15)**
肌肉u/	21.25±5.23	17.78±5.24	19.48±3.79	18.30±4.23	19.88±4.83	18.88±4.39	20.56±4.64	19.70±3.87
mg蛋白	(15)	(16)	(16)	(14)	(14)	(15)	(16)	(15)

** 与正常组比较$P<0.01$

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

血浆、红细胞和肝脏烫伤后各组的GSH-Px酶活性与正常对照组比较有非常显著的差异（$P<0.01$），其中血浆和红细胞的GSH-Px活性在伤后6 h和2天有2个低谷。肝脏在第3天降至最低。肌肉伤后变化不显著（$P>0.05$）。

2.3 烫伤后硒代谢的变化（表3）

表3 烫伤各组与对照组大鼠Se含量的比较（$\bar{X}\pm SD$）

	正常组	伤 6h	伤 12h	伤 1天	伤 2天	伤 3天	伤 5天	伤 7天
血浆Se	0.39±0.07	0.24±0.02	0.25±0.06	0.21±0.03	0.24±0.08	0.25±0.04	0.26±0.03	0.25±0.03
μg/ml	(n=15)	(16)**	(16)**	(14)**	(17)**	(15)**	(16)**	(15)**
红细胞Se	2.12±0.68	1.55±0.32	1.66±0.36	1.53±0.24	1.58±0.30	1.35±0.14	1.54±0.18	1.65±0.27
μg/gHb	(15)	(16)**	(16)**	(14)**	(16)**	(15)**	(16)**	(15)**
肝Se	0.45±0.12	0.36±0.04	0.36±0.06	0.37±0.04	0.32±0.05	0.27±0.05	0.33±0.05	0.31±0.07
μg/g	(15)	(16)**	(16)**	(14)**	(17)**	(15)**	(16)**	(15)**
肌肉Se	0.15±0.03	0.11±0.02	0.13±0.04	0.13±0.03	0.14±0.03	0.13±0.02	0.16±0.04	0.16±0.03
μg/g	(15)	(16)*	(16)	(14)	(17)	(15)	(16)	(15)
尿Seμg/	0.16±0.04			0.22±0.07	0.20±0.06	0.19±0.03	0.16±0.02	0.16±0.01
24h 100g	(14)			(14)**	(15)**	(14)*	(16)	(15)

* 与正常组比较$P<0.05$　　** 与正常组比较$P<0.01$

血浆硒含量从伤后6 h就迅速下降，伤后24h降至最低水平，其后有所回升。但在观察的7天内一直处于较正常组低的状态（$P<0.01$）。尿硒排出量伤后增加，伤后24h内增加至最高点（$P<0.01$）。然后逐渐下降，5天后恢复正常（$P>0.05$）。红细胞硒含量和肝硒含量伤后下降，3天降至最低点，随后有所回升，但仍低于正常组（$P<0.01$）。骨骼肌硒含量除6 h减少外（$P<0.05$），其余时相变化不显著（$P>0.05$）。

3 讨论

烫伤后血浆、红细胞和肝脏LPO显著增强，所测指标丙二醛是LPO的最终产物，由脂氢过氧化物（LOOH）分解而来，丙二醛浓度的增加可能是由于机体中引发脂质过氧化作用的自由基生成异常，或是机体抗脂质过氧化能力降低，前者已有较多报导[1][2]，本试验着重对后者进行探讨，由于SOD和GSH-Px是抗氧化酶系统中两个主要的酶，而且已有烫伤后血液中SOD活性增多的报导[2]，因此本文主要考查了GSH-Px和硒的状况。

目前关于烧伤后硒的代谢变化报导不多，也不完全一致。一般认为，烧伤后血液中的硒含量会降低[7]，而对于烧伤后尿硒排出量则存在着分歧，Hunt等[8]认为伤后尿硒减少，而Bosaolis等[6]认为尿硒在正常范围内。为此，本文从血清、尿液、红细胞，肝脏和肌肉等不同体液与组织进行观察，以确定硒代谢的基本情况。

实验结果表明，烫伤后前3天尿硒排出增多，这与血浆、红细胞和肝脏的硒含量减少较为一致，说明机体硒丢失增多，其原因可能是由于烫伤后机体代谢加快，组织分解增强，从而使三甲基硒离子生成增多，三甲基硒离子是一种不能被机体重新利用的硒代谢产物，只能

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

由肾脏排出[8]。3天后尿硒排出恢复正常，血浆硒含量仍处于低硒状态，一方面可能由于烫伤后开始几天硒的大量丢失，又无足够量的外源性硒的补充（饲料硒平均为0.208μg/g，严重烫伤后大鼠每天摄食量不超过10g），另一方面从3天后红细胞、肝脏硒含量的略为回升分析，可能是由于红细胞、肝脏对硒的利用，特别是合成GSH-Px对硒的需求增加，而从血浆中摄取硒，使得血浆硒在整个7天观察期内始终处于较低水平。因此，红细胞，肝脏的硒也始终不能恢复正常状态。实验结果提示：严重烫伤后7天内机体处于严重缺硒状态。

烫伤后血浆、红细胞和肝脏的GSH-Px活性降低也非常显著（$P<0.01$），其主要原因可能为硒的大量丢失所致。因为GSH-Px的活性中心含有硒，硒的缺乏会直接影响酶的活力。其次，硒的缺乏可导致GSH-Px酶蛋白合成减少。1982年，Yoshida[9]等发现在缺硒大鼠肝中GSH-Px酶活性下降伴随着GSH-Px酶蛋白含量减少。最近，Taka-hashi等[10]在人红细胞的研究中也发现，缺硒个体低水平GSH-Px酶活性同样伴随着低水平的GSH-Px酶蛋白含量，而当补充硒后，GSH-Px酶活性和酶蛋白含量平行增加。结果提示硒的状态能控制GSH-Px酶蛋白水平和酶活性。第三，硒的缺乏还可引起GSH-Px分解加快，Simon等[11]在缺硒大鼠肝脏中发现有失活的GSH-Px酶蛋白的多肽。总之，硒的缺乏可以从多方面影响到GSH-Px的酶活性。

从GSH-Px在伤后7天的变化情况分析，伤后6小时的下降可能是由于自由基生成增多，经SOD作用后产生大量H_2O_2，同时热力的直接作用和硒的丢失也可能影响酶活性，随后由于机体的应激反应，酶的活性有所提高。第2个低谷则可能主要是缺硒的影响使酶蛋白合成减少，分解加快所致。

烫伤后肌肉组织的变化除了6 h硒有所降低外（$P<0.05$），其余与正常对照组比较无明显差异（$P>0.05$）。说明肌肉组织与红细胞、肝脏等组织相比较，前者较为稳定，不易受自由基的影响。从结合于GSH-Px中的硒占组织中总硒含量的比例来说[12]，红细胞为82%，肝脏为63%，肌肉只有5%，这就是说，肌肉中的硒大部分是以游离的或其它形式的化合物存在。由于肌肉组织主要代谢进行不需氧，其自由基产生的可能性以及受过量自由基毒害的可能性较其它组织要小，因此，对硒的需求不如其它组织敏感，所以，在应激情况下是否肌肉提供游离的或其它形式的硒参与烫伤初期清除自由基的活动，而导致6h肌肉总硒的降低，尚不清楚。由于目前对烧伤脂质过氧化的研究主要集中于几个比较敏感的器官组织，而对不太敏感的肌肉组织中硒代谢的研究报导几乎是空白，因此这方面尚需进一步探索。

大鼠严重烫伤后机体脂质过氧化作用增强，其原因除了自由基生成异常外，还与机体抗氧化酶系统的GSH-Px活力下降有关，而GSH-Px活力的降低则可能主要是硒的大量丢失所致。结果提示，为纠正烧伤患者硒的代谢紊乱，提高GSH-Px的活性，增强机体抗氧化能力，可考虑适量地补充硒以防止或减轻机体的脂质过氧化，这个问题很值得进一步探讨。

参考文献

1. Hirumatsu M, et al. Serum LPO level of patients suffering from thermal injury. Burns 1984;11(2):111
2. Chen Y, et al. Lipid peroxidation and burns. Med sci Res 1988;16:97
3. 王光亚，等。生物样品、水及土壤中痕量硒的荧光测定法。营养学报 1985;7(1):39
4. Hateman DG, et al. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. J Nutrition 1974;104:580

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

5. Yagi K. Assay for blood plasma or serum. In: "Oxygen Radicals in biological system". Methods in Enzymolgy 1984; 105:328
6. Hunt DR. et al. Selenium depletion in burin patients. JPEN 1984:8(6):695
7. Boosalis MG. et al. Serum and Urinary selenium level in thermal injury. Burns 1986:12(4):236
8. Nahapetian AT. et al. Urinary trimethylselenonium excretion by the rat: effect of level and source of selenium ^{75}Se. J Nutr 1983:113(2):401
9. Yoshida. et al. Purification and immunochemical analysis of rat liver GSH -Px. Agric Biol Chem 1982:46(1):41
10. Takahashi K. et al. Glutathione peroxidase protein: Absence in selenium deficiency states and correlation with enzymatic activity. J Clin Invest 1986: 77(4):1402
11. Simon AB. et al. The effect of progressive selenium deficiency on anti-glutathione peroxidase antibody reactive protein in rat liver. J Nutr 1987:117(4):732
12. Behne D. et al. Distribution of selenium and glutathione peroxidase in the rat. J Nutr 1983:113(2):456

(收稿: 1988.12.21; 修回: 1989.06.27)

Changes of Selenium Metabolism, Glutathione Peroxidase Activity and Lipid Peroxides Content in Severely Scalding-injured Rats

Liu Zejun and Dong Yenlin (Department of Biochemistry, Third Military Medical College)

The changes of selenium metabolsim, glutathione peroxidase acivity and lipid peroxides content in the tissues of rats suffering from 30% TBSA full thickness scalding were observed in the first 7 days after injury. It was found that selenium content in the rat tissues decreased remarkably after injury, which in turn resulted in serious reduction of glutathione peroxidase activity and significant increase of lipid peroxides in the serum, erythrocytes and liver. However thc muscular tissue showed no significant changes.

These facts imply that after burn injury, the body is in a state of selenium deficiency, the loss of selenium might be responsible for the reduction of anti-peroxidation ability of glutathione peroxidase, and consequently there is an increase of lipid peroxides in the tissues. Only the muscular tissue is insensitive to lipid peroxiation. It is believed that thc reduction of anti-peroxidation ability of glutathione peroxidase after burn injury might be one of the main causes to intensify the injury resulting from free radicals.

Key words: selenium; glutathione peroxidase; lipid peroxide; free radicals

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