DOI:10.16016/j.1000-5404.1988.01.001

论 著

烧伤后红细胞损伤的机制
——过氧化脂质、维生素E与溶血的关系

孟小明 陈宗荣 王松宝 董 燕 冯 江（卫防系 复合伤研究室）

提 要 本实验发现大鼠体表面积20%Ⅲ°烧伤后，皮肤内产生了大量丙二醛（MDA），第二天达最高，第七天有第二高峰，血浆和红细胞（RBC）MDA第三天达最高，血浆和RBC维生素E（VE）于伤后第二天后迅速下降，RBC溶血第三天最甚。对皮肤MDA、血浆MDA、RBC MDA、血浆VE、RBC VE、1%H_2O_2溶血进行相关分析后发现在不同时相，有不同的相关关系，但基本遵循烧伤皮肤MDA增加、血浆MDA增加、RBC MDA增加、血浆和RBC VE降低，溶血增加的规律。文中讨论了RBC损伤的机制。

关键词 灼伤—血液；丙二醛；维生素E—血液；细胞—病理学；溶血—药物作用；过氧化脂质类—代谢

多不饱和脂肪酸（PUFA）的过氧化产物是过氧化脂质（LPO），后者在体内代谢后产生丙二醛（MDA）和戊烷、乙烷、CO_2[1]。测定体内的MDA和呼出气中的戊烷、乙烷量就可以说明体内过氧化的程度。维生素E具有抗氧化能力，H_2O_2溶血可以反映红细胞（RBC）膜受损的程度。本文的目的在于揭示LPO、VE与溶血的关系，进一步说明自由基所致的PUFA的过氧化产生的LPO是造成烧伤后红细胞损伤的原因。

材料和方法

动物 健康Wistar大白鼠，雄性，体重225±25g。背部剃毛。

伤情 5KW溴钨灯，预热40s，烧伤35s，距离50cm，致成背部体表面积20%Ⅲ°烧伤（病理切片证实）。自由进混合饲料和水。伤后腹腔注射生理盐水2天，每次10ml、1/日，以抗休克。

分组 正常对照组，伤后1、2、3、5、7、9天等组。

方法 皮肤LPO测定用Ohkawa等法[2]；血清LPO测定用Yagi法[3]；RBC LPO测定用改良的Mengel法[4]；血浆和RBC VE测定用Taylor法[5]，1%H_2O_2溶血试验用Mengel法[4]；血红蛋白(Hb)测定用氰化高铁Hb法；用Lowry法测蛋白。

仪器 日立MPF-4型荧光分光光度计，Beckman DU-7HS紫外分光光度计。

统计 采用本校数学教研室提供的数理统计电子计算机程序包中的单因素方差分析、相关系数及其显著性检验程序，方差不齐时用Welchtt检验。

结 果

见表1、表2、图1、图2、图3。

表1、图1、图2反映了六项指标的变化情况。表2反映指标间的相关关系。

讨 论

脂质过氧化损伤机制的一般概念是自由基链反应所致的连续的一系列的生化和亚细胞反应，即开始损伤分子结构，分子损伤的放大导致亚细胞结构的损伤，最后损伤细胞[1]。RBC膜上MDA增高伴随皮肤MDA和血浆MDA的增高而增高（图1），第三天时达最高约2.2倍（表1）。伤后一天皮肤MDA和RBC MDA呈显著正相关（$r=0.595$）。伤后三天皮肤MDA与RBC MDA呈显著负相关（$r=-0.704$），即随着皮

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

肤MDA通过血浆扩散与RBC膜结合的MDA增多；第五天血浆MDA与溶血呈显著负相关（r=－0.608），正说明了这种扩散关系。第九天时皮肤MDA与血浆MDA呈显著负相关（r=－0.884），表明随第二峰MDA入血，血浆MDA增高，扩散致RBC膜上的MDA仍显著增高（表1）。这说明了RBC膜上MDA增加的原发因素。

表1 六项指标统计表

组别	a.皮肤MDA μmol/g蛋白	b.血浆MDA μmol/L血浆	c.RBC MDA μmol/10^3gHb	d.血浆VE mg/L血浆	e.RBC VE mg/10^3gHb	f.溶血 %
正常组	2.9±1.2(15)	3.1±0.6(19)	28.8±15.4(15)	2.4±0.6(16)	11.8±3.6(16)	9.0±3.8(16)
伤后一天组	6.2±3.2(11)**	4.4±1.2(11)**	37.0±6.7(11)	2.5±1.0(10)	12.7±3.6(10)	14.0±4.0(11)*
伤后二天组	10.3±3.7(9)**	6.1±3.0(9)**	31.9±6.2(10)	1.9±0.6(10)	6.5±2.6(10)**	25.6±9.7(9)**
伤后三天组	8.0±2.8(10)**	7.6±1.8(16)**	64.2±41.6(16)**	1.6±0.4(16)**	8.2±2.6(16)**	45.8±25.2(16)**
伤后五天组	7.3±2.8(9)**	5.4±1.0(10)**	56.8±6.5(10)**	1.4±0.2(10)**	7.0±1.4(10)**	26.6±5.6(10)**
伤后七天组	10.0±4.2(13)**	4.6±2.0(15)**	57.1±11.6(12)**	1.4±0.2(15)**	6.0±1.4(15)**	26.4±11.8(12)**
伤后九天组	4.4±2.4(9)	3.8±1.4(14)	44.1±8.4(12)**	1.4±0.2(10)**	8.3±3.4(12)*	32.8±15.0(11)**

*P＜0.05；$\bar{X}\pm SD(n)$　　**P＜0.01（与正常组比较）

表2 相关系数及其显著性检验

组别	相关系数r	（P＜0.05）
正常组	$r_{b,e}=-0.558$	$r_{d,f}=-0.528$
伤后一天组	$r_{a,c}=0.595$	$r_{b,f}=0.810$
伤后二天组	$r_{b,d}=-0.698$	$r_{d,e}=0.944$
	$r_{d,f}=-0.765$	$r_{e,f}=-0.858$
伤后三天组	$r_{a,c}=-0.704$	$r_{d,f}=-0.815$
伤后五天组	$r_{b,f}=-0.608$	$r_{d,f}=-0.659$
伤后七天组	$r_{b,d}=-0.810$	
伤后九天组	$r_{a,b}=-0.884$	

注：r的角标a、b、c、d、e、f分别代表表1六个指标（见表1）

Helmkamp等发现PUFA、亚油酸、花生四烯酸和二十二碳六烯酸在烧伤后人RBC膜磷脂中有明显地降低[5]。这提示在RBC内或外有新的自由基产生，消耗了PUFA，使MDA增加。Hochstein等发现加入已知的MDA到人RBC中，引起收缩蛋白（spectrin，带1和带2）的特异性降低，伴有高分子量蛋白质增加。这种改变与加入的MDA量（1～10μmol/L）相平行，这大概与MDA与蛋白质的氨基酸形成Schiff氏碱的能力有关。分别加入1、5、10μmol/L MDA到人RBC，在37℃温育15min后，收缩蛋白降低了9.6%、19.4%和25.8%；高分子物分别增加了1.6、3和4.3倍[7]。收缩蛋白主要功能是决定RBC的双面凹形，变形和弹性，膜的完整性，维持脂双层膜的不对称性，控制细胞内蛋白的运动和分布。RBC膜上MDA堆积，收缩蛋白缺乏，影响RBC膜脂质双分子层的磷脂酰丝氨酸和磷脂酰乙醇胺明显地向脂质双分子层的外层移动，干扰了RBC的结构，RBC易于破溶。这种情况与RBC膜MDA浓度呈高度正相关[8]。在暴露于H_2O_2下时，溶血增加达1.6～5倍于正常（表1），并且有良好的相关关系（图3）。

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

VE 具有抗氧化活性，已被许多文献所证实。它既是自由基的清除剂，又是脂质过氧化过程的阻断剂。Chiu等[9]发现在体外 VE 能抑制脂质过氧化。病人血浆和 RBC VE 含量低于正常，病人RBC对过氧化的高敏性可以用 VE 温育的方法加以矫正。当RBC MDA增加时，VE 逐渐降低，在第二天已有显著意义且两者呈显著负相关($r=-0.858$)。Bieri等[10]发现在体外预防大鼠10%溶血所需 α-生育酚 μmole/PUFA μmoles的平均比率为1分子生育酚比 1100 分子 PUFA。血液 α-生育酚含量变化很大，RBC含量约为血浆含量的 0.45。本实验为0.44，与Bieri的报道近似。VE 抗氧化的机制是其在膜中它的侧链与 PUFA的碳氢链紧靠，当有自由基或LPO时，VE 首先被氧化为生育醌，起到保护膜的作用。Maggio提出VE 的侧链中突出的甲基能和膜磷脂中不饱和脂肪酸的被甲烯基所间隔的顺双键区相互作用，稳定生物膜。Tappel[1]提出呼出的戊烷量与组织 VE 含量呈反比，与食物 VE 浓度的对数呈反比。本文中正常组血浆MDA与RBC VE呈反比，血浆 VE与RBC VE平行，血浆 VE 与溶血呈反比（表2）。当VE 降低时，必然有 MDA 和溶血的增加，两者互为因果。随着烧伤后皮肤MDA增高，血浆MDA 增高，RBC MDA 增高，溶血增加（图1）；而MDA增高时 VE 降低，VE 降低时溶血加剧（表2、图2），这就有力地证明了烧伤皮肤 MDA 增加与VE 降低，以及与溶血增加的关系。

伤后三天 RBC MDA 变化大，溶血亦

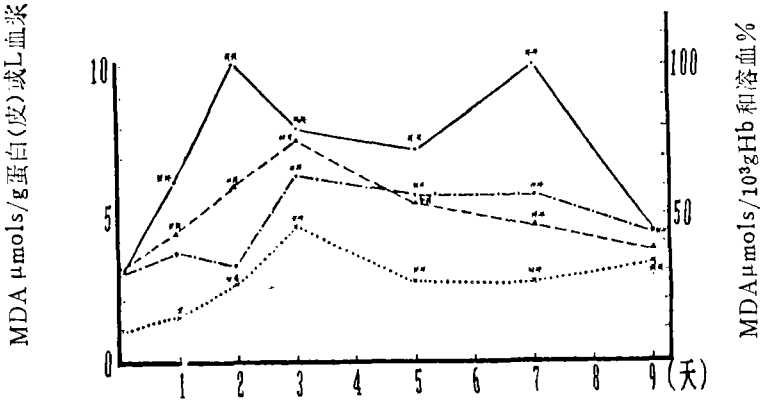


图 1　烧伤后皮肤、血浆、RBC MDA和溶血的变化

皮肤MDA　　* 与正常组比较 P<0.05
血浆MDA
RBC MDA　　** 与正常组比较 P<0.01
溶血

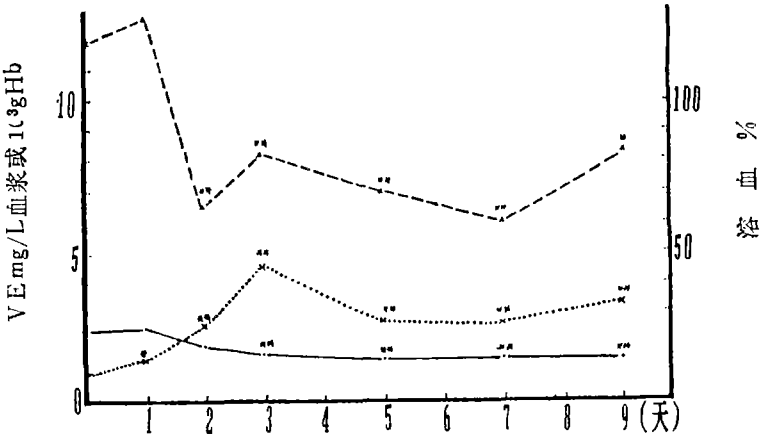


图 2　烧伤后血浆、RBC VE 和溶血的变化

血浆 VE　　* P<0.05
RBC VE　　** P<0.01
溶血

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

然，Bieri[10]、Tsen和Collier[10]都有类似报道。他们发现RBC溶血曲线呈锯齿状，当RBC VE浓度在很窄范围内降低时，已有20～70%的溶血发生了。他们认为H_2O_2和羟尿酸（dialuric acid）所致的溶血是一种脂质过氧化现象，VE起着抗氧化剂的作用。

总之，在热烧伤后，皮内产生了大量的LPO，入血后，引起RBC LPO(MDA)增加，VE减少，溶血增加，这说明了烧伤后RBC损伤的原发机制；提示了可能存在继发原因，这就需要进一步阐明。

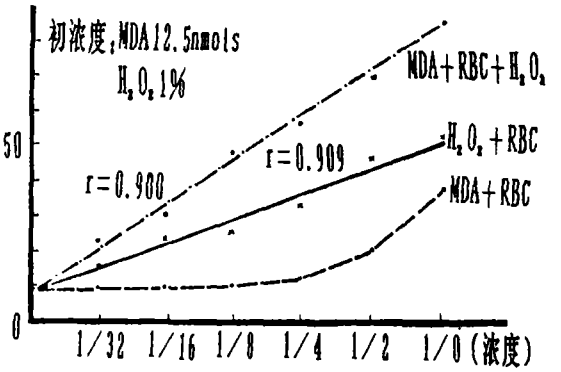


图 3　MDA、H_2O_2 浓度与溶血的关系

（本文承校仪器中心周成贵、孙纬同志大力协助，以及本校数学教研室提供了数理统计电子计算机程序，生理教研室肖家思副教授提供了 Welchtt 检验程序，谨致谢意！）

参 考 文 献

1. Tappel AT. Lipid peroxidation damage to cell components. Fed Proc 1973;32(8):1870
2. Ohkawa H, et al. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anyl Biochem 1979;95:351
3. Yagi K. Assay for blood plasma or serum. In"Oxygen Radicals in Biological Systems". Methods in Enzymology. Vol. 105 Ed. by Lester Pocker. Academic Press INC. New York p.328～331.1984
4. Mengel CE, et al. Studies of paroxysmal nocturnal hemoglobiuria erythrocytes: increased lysis and lipid peroxide formation by hydrogen peroxide. J Clin Invest 1967;46(11):1715
5. Taylor SL, et al. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis. Lipids 1976;11(7):530
6. Helmkamp GM, et al. Essential fatty acid deficiency in red cells after thermal injury: correction with intravenous fat therapy. Am J Clin Nutr 1973;26:1331
7. Hochstein P, et al. Association of lipid peroxidation and polymerization of membrane proteins with erythrocyte aging. Fed Proc 1981;40:183
8. Jain SK. The accumulation of malonyldialdehyde, a product of fatty acid peroxidation, can disturb aminophospholipid organization in the membrane bilayer of human RBC. J Biol Chem 1984;259(8):3391
9. Chiu D, et al. Abnormal vitamin E and glutathione peroxidase levels in sickle cell anemia. J Lab Clin Med 1979;94:542
10. Bieri GJ, et al. In vitro hemolysis as related to rat erythrocyte content of alpha-tocopherol and polyunsaturated fatty acids. J Nutri 1970;100:557

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

Mechanism of Erythrocyte Damage after Burn Injury in Rats; Relationship between Lipid Peroxides, Vitamin E and Hemolysis

Meng Xiaoming, et al (Department of Antiatomic Medicine, Third Military Medical College)

It was found that a large amount of malonyldialdehyde (MDA) was formed in the burnt skin after 20% TBSA full thickness burns was inflicted to rats. There were 2 peaks of the increase of MDA on the 2nd and 7th day postburn in the skin respectively. The content of MDA in the plasma and erythrocytes also increased and reached the peak on the 3rd day after injury. The content of vitamin E in the plasma and erythrocytes decreased rapidly from the 2nd day postburn and reached the lowest point on the 3rd day. Hemolysis was found to be the severest on the 3rd day postburn. After the relationship between the MDA levels in the burnt skin, plasma, and erythrocytes, the vitamin E levels in the plasma and erythrocytes, and the severity of hemolysis was analyzed, it was found that there was different correlation rate between these parameters in different time-phases, but the general rule was that when MDA increased in the burnt skin, plasma and erythrocytes, vitamin E decreased in the plasma and erythrocytes and hemolysis became more severe. On the basis of these findings, the mechanism of erythrocyte damage after burn injury was discussed.

Key words: Burns/blood; Malondiadehyde; Vitamin E/blood; Erythrocytes/pathology; Hemolysis/drug effects; Lipid peroxides/metabolism

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