

本实验研究显示初期 GSH 的浓度明显下降, 说明了氧自由基的产生消耗了还原型的 GSH, 因而对细胞起到了保护作用。

我们以往的研究表明, 原始面积为 2% TBSA 的氢氟酸烧伤, 在 12 小时以内迅速扩展至 6% TBSA, 动物死亡率在 90% 以上, 显著高于 6% TBSA 普通烧伤的 0% 与 30% TBSA 普通烧伤的 20% ~ 30%。本文资料显示, 氢氟酸烧伤后, MDA、血清 NO, TNF- α , IL-1 β 及 IL-6 水平显著高于同等面积 (6% TBSA) 普通烧伤动物, 而与 30% TBSA 普通烧伤组动物接近, 血清 NO 甚至显著高于 30% TBSA 普通烧伤动物。说明氢氟酸烧伤后, 其化学损伤因素与烧伤损伤因素在过氧化损伤及炎性介质反应方面具有相加作用。

参考文献

- [1] 黎鳌. 烧伤治疗学 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 272~318.
- [2] 胡安军, 阎锋, 陈恒年. 第 1 版. 香港: 香港科技联合出版社, 2000: 288~304.
- [3] 陈意生, 史景泉. 烧伤病理学 [M]. 第 1 版. 重庆: 重庆出版社, 1993: 291~293.

- [4] 唐洪泰, 陈玉林. 氢氟酸烧伤 [J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1993, 9 (4): 296.
- [5] 陈生秀, 汪仕良, 黎鳌. 全国化学烧伤资料汇编 [C]. 用钙、镁浸泡液早期处理氢氟酸烧伤——附 10 例报告 39.
- [6] 阎锋, 张晓龙, 阮仕荣, 等. 氢氟酸烧伤对心肌及心肌酶的影响 [J]. 北京军区医药, 1998, 10 (5): 327~330.
- [7] Yanagisawa M, Masaki T, Endothelin, anovel endothelium-derived peptide [J]. Biochem Pharmacol, 1989; 38: 1877~1883.

【作者简介】

张正孟 (1977~), 男 (汉族), 重庆人, 2000 年毕业于第三军医大学, 现在河北张家口市解放军第二五一医院中心实验室从事细胞学方面的研究, 医师。

阮仕荣 (1964~), 男 (汉族), 湖北十堰人, 1991 年毕业于第三军医大学, 现在河北张家口市解放军第二五一医院全军烧伤中心从事烧伤临床工作, 烧伤中心副主任兼中心实验室主任, 副主任医师。

胡安军 (1947~), 男 (汉族), 湖北随州人, 1974 年毕业于张家口市医学院, 现在河北张家口市解放军第二五一医院全军烧伤中心从事烧伤临床工作, 烧伤中心主任, 主任医师。

(收稿日期: 2003-12-18; 修回日期: 2004-01-29)

氧自由基对大面积严重烧伤后红细胞 CR1 分子表达的影响

宫齐林¹, 杨文东², 马庆海¹

【摘要】 目的: 探讨氧自由基对大面积严重烧伤后红细胞膜补体受体 1 型分子 (CR1) 数量表达水平变化 (即活性变化) 的影响。**方法:** 于伤后 1 天、3 天、5 天、7 天、14 天、21 天、28 天、35 天, 采用酶联免疫 (ELISA) 法测定红细胞 CR1 分子数量, 同时采用化学比色法检测血浆丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX), 观察其水平的变化, 并进行相关性分析。**结果:** ①患者伤后红细胞 CR1 分子表达水平显著低于对照组 ($P < 0.01$),

【作者单位】 1. 山东省千佛山医院, 山东 济南 250014
2. 利津县第二人民医院, 山东 东营 257447

但伤后 28 天后逐渐恢复至正常；②伤后 SOD 和 GSH-PX 的水平显著下降，MDA 的水平显著上升，至少伤后 21 天才逐渐恢复至正常水平；③红细胞 CR1 分子表达水平与 SOD 和 GSH-PX 的水平呈高度正相关 ($r=0.904$ 、 $P<0.01$ ； $r=0.938$ 、 $P<0.001$)；与 MDA 的水平呈高度负相关 ($r=0.860$ 、 $P<0.01$)。结论：红细胞膜极易产生脂质过氧化作用，烧伤后自由基损伤的程度可直接影响红细胞膜的功能，特别是红细胞膜 CR1 分子表达降低和红细胞免疫粘附功能 (RCIA) 降低，提示减少机体自由基的产生，提高患者 RCIA 功能是十分必要的。

【关键词】 烧伤；补体受体；氧自由基；红细胞免疫

【中图分类号】R644 【文献标识码】A 【文章编号】1001-0726 (2004) 02-0089-04

The effect of oxygen free radical on the expression of erythrocyte CR1 molecule post large area severe burn GONG Qi-lin¹, YANG Wen-dong², MA Qing-hai¹, 1. Qianfushan Hospital, Jinan, Shandong Province 250014, China; 2. The 2nd People's Hospital, Lijin County, Dongying City, Shandong Province 257447, China

【Abstract】Objective: To investigate the effect of oxygen free radical on the expression of erythrocyte CR1 molecule post large area severe burn. Method: Patients with large area and severe burn had their blood sample collected on day 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28 and 35 post burn. The amount of erythrocyte CR1 molecule was measured using ELISA method, and plasma MDA, SOD and GSH-PX levels were measured using colorimetric method. Correlation analysis of the changes in the levels was made. Result: 1. Patients had erythrocyte CR1 molecule expression level significantly lowered post burn, compared with the normal control ($P<0.01$), and was gradually recovered after 28 days post burn. 2. SOD and GSH-PX levels were significantly lowered post burn, and began to recover at least after 21 days post burn. 3. Erythrocyte CR1 molecule expression level was positively correlated to SOD and GSH-PX levels ($r=0.904$, $P<0.01$; $r=0.938$, $P<0.01$), while it was negatively correlated to MDA level ($r=-0.860$, $P<0.01$). Conclusion: Lipid peroxidation often takes place at the erythrocyte membrane post burn. Free radical injury may directly influence the function of the erythrocyte membrane, as a result, erythrocyte CR1 molecule expression level and RCIA function were lowered. This result suggests that it is very important to reduce the production of free radicals and to promote RCIA function of burn patients.

【Key words】Burn; complement receptor; oxygen free radical; red corpuscle immunity

氧自由基是机体需氧代谢的中间产物，氧化能力强，对各种细胞膜都有不同程度的损害，可破坏细胞膜的结构，影响其功能。烧伤后机体产生氧自由基的能力增强，患者红细胞免疫粘附 (RICA) 功能有不同程度地降低^[1]。为此，我们动态观察了大面积严重烧伤患者红细胞膜补体受体 1 型分子 (CR1) 表达水平和氧自由基的变化，并探讨了二者之间的关系，以期进一步了解氧自由基对 RCIA 功能影响的机制。

一、对象与方法

1. 研究对象：患者组：本院外科大面积严重烧伤患者 38 例，其中男 22、女 16，年龄 16 岁～51 岁，均无心脑血管、脂质代谢紊乱等疾病史。烧伤总面积 (TBSA) 30%～95%，Ⅲ°烧伤面积 10%～72%。正常对照组：与患者组性别年龄相匹配的健康体检者 30 名。

2. 方法：大面积严重烧伤患者入院后 1 天、3 天、5 天、7 天、14 天、21 天、28 天、35 天抽取静脉血 4ml～5ml，分别用 EDTA- Na_2 、肝素抗凝。

(1) 红细胞上 CR1 分子的测定：根据文献^[2]建立的 ELISA 法检测红细胞上 CR1 分子的表达。抽取静脉血 2ml，以 EDTA 抗凝，经 PBS 洗涤 3 次，戊二醛固定后以 PBS 配成 2% 的红细胞悬液，取 25 μL 红细胞悬液加入 V 形板各孔中，依次加入抗 CR1 单抗 mAb、碱性磷酸酶标记的羊抗鼠 IgG 和底物单磷酸酚酞 (PMP)。以上试剂均购自第二军医大学长海医院免疫室。离心，吸取上层显色液，加入到另一个干净的 U 形板中测定 Asd_{405} 值。实验中以一抗的稀释液 (PBS/BSA) 作为空白对照，用绵羊红细胞 (无 CR1 分子) 作为阴性对照。检测结果以实验组的 A_{405} 值与空白对照 A_{405} 值之差作为测定值。

(2) 血浆 SOD、MDA 和 GSH-PX 的测定：均

采用化学比色法，试剂盒购自南京建成生物工程研究所，操作按说明书进行。GSH-PX 以新单位表示酶活力（8 μ l 全血在 37℃ 反应 5min 使 GSH 降低 μ mol 数^[3]）。

3. 统计学处理：检测结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间显著性比较采用 t 检验。相关性分析进行直线回归，

求出 r 值。

二、结 果

1. 患者组外周血红细胞 CR1 分子表达及 SOD、MDA 和 GSH-PX 动态变化：其结果汇于见表 1 中。

表 1 红细胞 CR1 及 SOD、MDA 和 GSH-PX 的检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别/d	n	CRA (A)	MDA (mmol/L)	SOD (nmol/L)	GSH-PX (U/mL)
对照组	30	1.12 $\pm$ 0.26	1.43 $\pm$ 0.88	139.6 $\pm$ 36.5	75.9 $\pm$ 8.1
患者组					
1d	38	0.86 $\pm$ 0.13*	5.69 $\pm$ 2.35*	112.9 $\pm$ 42.6*	63.4 $\pm$ 6.5*
3d	38	0.77 $\pm$ 0.15*	6.84 $\pm$ 2.82*	96.9 $\pm$ 39.1*	57.8 $\pm$ 5.8*
5d	36	0.63 $\pm$ 0.11*	6.17 $\pm$ 2.60*	99.4 $\pm$ 31.4*	54.7 $\pm$ 4.9*
7d	36	0.69 $\pm$ 0.13*	5.62 $\pm$ 1.93*	103.2 $\pm$ 29.3*	54.3 $\pm$ 4.0*
14d	35	0.81 $\pm$ 0.17*	4.71 $\pm$ 1.17*	117.9 $\pm$ 34.2*	58.2 $\pm$ 4.8*
21d	35	0.90 $\pm$ 0.15*	2.95 $\pm$ 0.96*	126.9 $\pm$ 44.7*	64.6 $\pm$ 5.6*
28d	35	0.94 $\pm$ 0.19*	2.18 $\pm$ 0.91*	139.2 $\pm$ 50.5 Δ	74.4 $\pm$ 6.9 Δ
35d	34	1.08 $\pm$ 0.22 Δ	1.39 $\pm$ 0.85 Δ	141.3 $\pm$ 54.6 Δ	76.2 $\pm$ 6.8 Δ

注：VS 对照组 * P<0.01 Δ P>0.05

表 1 显示：①患者伤后红细胞 CR1 分子表达水平显著低于对照组（P<0.01），说明大面积严重烧伤患者 CR1 活性降低，但伤后 28 天后逐渐恢复至正常；②患者伤后 SOD 和 GSH-PX 的水平显著下降，MDA 的水平显著上升，至少伤后 21 天才逐渐恢复至正常水平。

2. 患者组外周血红细胞 CR1 分子表达与氧自由基的相关性分析：经直线相关与回归分析，红细胞 CR1 分子表达水平与 SOD 和 GSH-PX 的水平呈高度正相关（r=0.904、P<0.01；r=0.938、P<0.01）；与 MDA 的水平呈高度负相关（r= -0.860、P<0.01）。

三、讨 论

红细胞有许多与免疫有关的物质，如 CR1、CR3、CD58、CD59、IL-8 受体和 SOD 酶等，红细胞表面的 C3b 受体（CR1），是 RCIA 功能的物质基础。C3b 一方面与 CIC 结合，另一方面又作为配体与 CR1 相结合触发免疫细胞对异物及抗原的粘

附和消除。此外，C3b 作为替代途径的 C3 等转化酶的组成要素，发挥着活化补体系统，放大补体功能的主要作用。在血循环中 C3b 受体总数的 90%~95% 存在于红细胞膜上（即 CR1）。因此，红细胞在消除 CIC 中起主要作用。几乎所有经补体调理过的抗原和 IC，都由红细胞结合运至肝脾消除^[4]。红细胞膜由脂类和蛋白质组成，膜蛋白质以糖蛋白或糖脂蛋白形式存在，膜的结构和功能的完整性对保护膜上 CR1 功能有决定性作用。由于红细胞膜直接接触高分压氧，易导致膜的脂质过氧化，机体则主要通过抗氧化剂和抗氧化酶（如 SOD、GSH-PX 等）的作用来抗衡自由基的膜毒性^[5]。而红细胞上的 SOD 酶等抗氧化物质，除参与清除吞噬细胞产生的氧自由基，增加吞噬功能外，还可使巨噬细胞产生 IL-1 和 YNF 的能力增强^[6]。本研究结果显示，大面积严重烧伤患者红细胞 CR1 分子表达水平显著低于对照组（P<0.01），说明大面积严重烧伤患者 CR1 活性降低，RCIA 功能也降低，则患者易于并发感染^[1]。原因可能是：

①患者红细胞变形能力 (RCV) 降低, 烧伤后 RBC 膜的硬度增加, 变形性明显降低^[7]。RBC 变形性 (RCD) 是表示正常 RBC 在相同的血管压力条件下, 有通过比其自身周径更小的毛细血管的能力, 它是维持和改善微循环的重要依据^[8]; ②患者 RBC 膜胆固醇含量升高^[9], 胆固醇是 RBC 膜脂质双层的主要成份之一; ③血液粘度和微循环的改变等。由于以上几方面的原因, 可能使红细胞表面的 CR1 结构、数目及功能受到一定的影响。为了进一步探讨大面积严重烧伤患者 RCIA 功能低下的原因, 我们检测了患者血浆 SOD、MDA 和 GSH-PX 水平, 发现 MDA 水平升高, SOD 和 GSH-PX 水平降低。由于大面积严重烧伤后, 存在组织缺血/缺氧、再灌注、感染和应激等因素, 可使体内自由基的含量剧增。红细胞 CR1 分子表达水平与 SOD 和 GSH-PX 的水平呈高度正相关 ($r=0.904$ 、 $P<0.01$; $r=0.938$ 、 $P<0.001$); 与 MDA 的水平呈高度负相关 ($r=-0.860$ 、 $P<0.01$)。据此说明, 大面积严重烧伤患者红细胞 CR1 分子表达与脂质过氧化反应增强密切相关。烧伤后剧增的自由基直接影响红细胞膜的功能, 降低膜上 CR1 的含量及 SOD 酶的活性, 红细胞膜 CR1 分子的表达降低, 清除 CIC 的功能减低。烧伤后红细胞膜受损, 机体的抗氧化能力下降及自由基水平升高, 均可导致机体细胞免疫功能下降。经动态观察, 随着大面积严重烧伤患者创面愈合及感染的控制, 自由基产生减少, 抗自由基能力增强, 红细胞膜 CR1 表达及参与清除氧自由基的能力也随之增强, 患者 MDA、SOD 和 GSH-PX 的水平在伤后 21 天逐渐恢复至正常水平, CR1 活性在伤后 28 天后才逐渐恢复至正常。因此, 对大面积严重烧伤患者及时阻止氧自由基产生, 对提高患者的红细胞膜 CR1 分子的表达即 RCIA 功能, 促进病情好转, 具有重要意义。

参考文献

- [1] 杨文东, 马庆海. 大面积烧伤患者早期红细胞免疫功能 [J]. 中国急救医学, 2002, 22 (1): 40.
- [2] 王海滨、张景萍、王辉, 等. 红细胞 CR1 分子的定量测定及其临床意义 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2000, 20 (4): 381~384.
- [3] 白继文. 检验医学诊断技术 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 284~286.
- [4] 王玉龙, 杨文东, 安振国等. 红细胞 CR1 在急性颅脑损伤患者表达及免疫功能的探讨 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2003, 19 (2): 206.
- [5] 陈瑗, 周玫. 自由基医学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1991: 28~60.
- [6] 刘景田, 张洁. 红细胞免疫学 [J]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1995: 15~19.
- [7] 周继红, 吴泽志, 米佩芳, 等. 高渗盐溶液对烧伤后 RBC 粘弹性的影响 [J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1997, 13 (5): 395~396.
- [8] 文仲先, 崔德健, 鹿正理, 等. 慢性肺源性心脏病 RBC 变形性的观察 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 1992, 15 (5): 279~281.
- [9] 崔凡, 陶沼能, 李小宁, 等. 大面积烧伤患者早期红细胞膜胆固醇变化与红细胞变形性的关系 [J]. 上海医学检验杂志, 2001; 16 (3): 138~139.

【作者简介】

宫齐林 (1955~), 女 (汉族), 山东济南人, 山东医科大学毕业, 副主任检验师。

杨文东 (1963~), 男 (汉族), 山东茌平人, 青岛大学医学院毕业, 主治医师。

马庆海 (1965~), 男 (汉族), 山东齐河人, 山东医科大学毕业, 主管检验师。

(收稿日期: 2003-12-25; 修回日期: 2004-01-28)