

· 论著 ·

# 富氢盐水对重度烫伤延迟复苏大鼠肝脏的作用

刘德贵 王晓娟 杨勇 蒋金恒 李先慧 薛刚



**【摘要】** 目的 探讨富氢盐水对重度烫伤延迟复苏大鼠肝脏的影响。方法 取 24 只 SD 大鼠,应用台式控温烫伤仪制成 40% TBSA III 度烫伤模型,按随机数字表法分为富氢盐水组、乳酸钠林格液组,每组 12 只。伤后 6 h 开始,2 组大鼠分别采用富氢盐水(自制,浓度为 0.6 mmol/L)、乳酸钠林格液,均按  $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \% \text{ TBSA}^{-1}$  进行腹腔注射补液,持续到伤后 48 h,伤后第 2 个 24 h 补液量为伤后第 1 个 24 h 的一半。伤后 6(补液前)、12、24、48 h,每组分别取 3 只大鼠行心脏采血,处死后取肝组织。HE 染色观察肝组织病理学变化,细胞计数板行肝组织中中性粒细胞计数,全自动生化分析仪检测血清 AST、ALT 水平,ELISA 法检测肝组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 以及 8 羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)的含量,分光光度计检测肝组织中丙二醛的吸光度值并定量。对数据行重复测量方差分析和 LSD- $t$  检验。结果 伤后 48 h,与乳酸钠林格液组比较,富氢盐水组大鼠肝组织炎性细胞浸润减少,肝细胞充血减轻。伤后 12、24、48 h,富氢盐水组大鼠肝组织中中性粒细胞数分别为  $(25.3 \pm 1.8) \times 10^5$ 、 $(19.6 \pm 0.6) \times 10^5$ 、 $(14.1 \pm 3.2) \times 10^5$  个/mL,显著低于乳酸钠林格液组的  $(31.9 \pm 2.0) \times 10^5$ 、 $(30.9 \pm 2.2) \times 10^5$ 、 $(23.8 \pm 3.0) \times 10^5$  个/mL ( $t$  值分别为 5.6、7.6、8.7,  $P$  值均小于 0.05)。伤后 6、12 h,2 组大鼠血清 AST、ALT 水平以及肝组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 含量均相近( $t$  值分别 0.3~3.9 与 0.9~3.8,  $P$  值均大于 0.05)。伤后 24、48 h,富氢盐水组大鼠血清 AST 与 ALT 水平分别为  $(308 \pm 24)$ 、 $(210 \pm 15)$  U/L 与  $(93 \pm 7)$ 、 $(70 \pm 5)$  U/L,显著低于乳酸钠林格液组的  $(541 \pm 39)$ 、 $(505 \pm 18)$  U/L 与  $(156 \pm 9)$ 、 $(166 \pm 21)$  U/L ( $t$  值分别为 17.5、16.7 与 30.3、6.9,  $P$  值均小于 0.05)。伤后 24、48 h,富氢盐水组大鼠肝组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 含量分别为  $(20.7 \pm 1.6)$ 、 $(13.7 \pm 1.5)$  pg/mg,  $(7.7 \pm 1.5)$ 、 $(6.3 \pm 1.2)$  pg/mg 与  $(8.7 \pm 1.2)$ 、 $(6.0 \pm 2.0)$  pg/mg,显著低于乳酸钠林格液组的  $(32.7 \pm 5.0)$ 、 $(25.7 \pm 4.0)$  pg/mg,  $(16.3 \pm 2.5)$ 、 $(12.0 \pm 2.7)$  pg/mg 与  $(14.7 \pm 2.1)$ 、 $(13.3 \pm 1.5)$  pg/mg ( $t$  值分别为 5.2、5.7、4.7、4.7 与 10.4、4.4,  $P$  值均小于 0.05)。2 组大鼠伤后 6 h 肝组织丙二醛水平及伤后 6、12 h 肝组织 8-OHdG 水平均相近( $t$  值分别为 0.1 与 0.7、4.3,  $P$  值均大于 0.05)。富氢盐水组大鼠伤后 12、24、48 h 肝组织丙二醛水平分别为  $(15.3 \pm 1.5)$ 、 $(8.7 \pm 1.2)$ 、 $(6.7 \pm 1.5)$  mmol/mg,显著低于乳酸钠林格液组的  $(27.3 \pm 4.7)$ 、 $(20.3 \pm 1.5)$ 、 $(14.0 \pm 1.0)$  mmol/mg ( $t$  值分别为 5.2、5.7、5.1,  $P$  值均小于 0.05);伤后 24、48 h 肝组织 8-OHdG 水平分别为  $(124 \pm 12)$ 、 $(79 \pm 10)$  pg/mg,显著低于乳酸钠林格液组的  $(191 \pm 10)$ 、 $(136 \pm 15)$  pg/mg ( $t$  值分别为 8.0 与 8.1,  $P$  值均小于 0.05)。结论 富氢盐水能够显著减轻重度烫伤延迟复苏大鼠肝脏中性粒细胞浸润,降低肝脏炎症因子水平,有效减轻肝脏氧化应激反应,进而保护大鼠肝脏。

**【关键词】** 烧伤; 肝; 氢; 延迟复苏

**Effects of hydrogen-rich saline on liver of severely scalded rats with delayed resuscitation** Liu Degui, Wang Xiaojuan, Yang Yong, Jiang Jinheng, Li Xianhui, Xue Gang. Department of Burns and Plastic Surgery, General Hospital of Chengdu Military Command, Chengdu 610083, China

Corresponding author: Xue Gang, Email: kpardan@163.com, Tel: 028-86570630

**【Abstract】** **Objective** To explore the effects of hydrogen-rich saline (HS) on liver of severely scalded rats with delayed resuscitation. **Methods** Twenty-four SD rats were inflicted with 40% TBSA full-thickness scald using a temperature-controlled scalding apparatus. The injured rats were divided into lactated Ringer's solution (RS) and HS groups according to the random number table, with 12 rats in each group.

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2014.06.010

基金项目:国家自然科学基金(81101427)

作者单位:610083 成都,成都军区总医院烧伤整形科

通信作者:薛刚,Email:kpardan@163.com,电话:028-86570630

Rats in groups RS and HS were respectively resuscitated with an intraperitoneal injection of  $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \% \text{ TBSA}^{-1}$  of RS or HS (self-prepared, with concentration of hydrogen  $0.6 \text{ mmol/L}$ ) 6 hours after injury up to 48 hours after scald. The infusion volume of the second 24 hours after injury was a half of that of the first 24 hours. At post scald hour (PSH) 6 (before resuscitation), 12, 24, and 48, blood was collected from the heart of 3 rats in each group, and then the rats were sacrificed for harvesting liver tissue. The pathological change in liver tissue was observed with HE staining. The number of hepatic neutrophils was counted with a hemacytometer. Serum levels of AST and ALT were determined with full-automatic biochemical analyzer. Contents of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) in liver tissue were determined with ELISA. Absorbance value of malondialdehyde (MDA) in liver tissue was detected and quantified with spectrophotometer. Data were processed with analysis of variance of repeated measurement and LSD- $t$  test.

**Results** At PSH 48, moderate infiltration of inflammatory cells and hepatic hyperemia were observed in rats of group HS as compared with group RS. At PSH 12, 24, and 48, the number of neutrophils in group HS was respectively  $(25.3 \pm 1.8) \times 10^5$ ,  $(19.6 \pm 0.6) \times 10^5$ , and  $(14.1 \pm 3.2) \times 10^5$  cells per millilitre, and they were significantly lower than those in group RS [ $(31.9 \pm 2.0) \times 10^5$ ,  $(30.9 \pm 2.2) \times 10^5$ , and  $(23.8 \pm 3.0) \times 10^5$  cells per millilitre, with  $t$  values respectively 5.6, 7.6, and 8.7,  $P$  values below 0.05]. At PSH 6 and 12, the serum levels of AST and ALT and the levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 in liver tissue were close between the two groups (with  $t$  values respectively 0.3–3.9 and 0.9–3.8,  $P$  values above 0.05). At PSH 24 and 48, the serum levels of AST and ALT in group HS were respectively  $(308 \pm 24)$  and  $(210 \pm 15)$  U/L and  $(93 \pm 7)$  and  $(70 \pm 5)$  U/L, which were significantly lower than those in group RS [ $(541 \pm 39)$  and  $(505 \pm 18)$  U/L, with  $t$  values respectively 17.5 and 16.7,  $P$  values below 0.05;  $(156 \pm 9)$  and  $(166 \pm 21)$  U/L, with  $t$  values respectively 30.3 and 6.9,  $P$  values below 0.05]. At PSH 24 and 48, the levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 in liver tissue in group HS were respectively  $(20.7 \pm 1.6)$  and  $(13.7 \pm 1.5)$  pg/mg,  $(7.7 \pm 1.5)$  and  $(6.3 \pm 1.2)$  pg/mg, and  $(8.7 \pm 1.2)$  and  $(6.0 \pm 2.0)$  pg/mg, which were significantly lower than those in group RS [ $(32.7 \pm 5.0)$  and  $(25.7 \pm 4.0)$  pg/mg, with  $t$  values respectively 5.2 and 5.7,  $P$  values below 0.05;  $(16.3 \pm 2.5)$  and  $(12.0 \pm 2.7)$  pg/mg, with  $t$  values both as 4.7,  $P$  values below 0.05;  $(14.7 \pm 2.1)$  and  $(13.3 \pm 1.5)$  pg/mg, with  $t$  values respectively 10.4 and 4.4,  $P$  values below 0.05]. The level of MDA at PSH 6 and levels of 8-OHdG at PSH 6 and 12 in liver tissue were close between the two groups (with  $t$  values respectively 0.1, 0.7, and 4.3,  $P$  values above 0.05). In group HS, the levels of MDA in liver tissue at PSH 12, 24, and 48 were respectively  $(15.3 \pm 1.5)$ ,  $(8.7 \pm 1.2)$ , and  $(6.7 \pm 1.5)$  mmol/mg, and the levels of hepatic 8-OHdG at PSH 24 and 48 were respectively  $(124 \pm 12)$  and  $(79 \pm 10)$  pg/mg, which were significantly lower than those in group RS [ $(27.3 \pm 4.7)$ ,  $(20.3 \pm 1.5)$ , and  $(14.0 \pm 1.0)$  mmol/mg, with  $t$  values respectively 5.2, 5.7, and 5.1,  $P$  values below 0.05;  $(191 \pm 10)$  and  $(136 \pm 15)$  pg/mg, with  $t$  values respectively 8.0 and 8.1,  $P$  values below 0.05].

**Conclusions** Resuscitation with HS could protect liver of severely scalded rats with delayed resuscitation possibly by reducing infiltration of neutrophils, thus lowering the content of inflammatory cytokines, and effectively alleviating oxidative stress.

**【Key words】** Burns; Liver; Hydrogen; Delayed resuscitation

烧伤休克延迟复苏,是指烧伤休克已发生并持续一段时间后才开始的液体复苏。对于 40% TBSA Ⅲ度烧伤大鼠而言,伤后 6 h 开始的液体复苏治疗可视作延迟复苏<sup>[1]</sup>。缺血再灌注后的氧化应激反应,是烧伤延迟复苏造成组织和器官损伤的主要原因。研究表明,氢气可特异性中和氧自由基,降低氧化应激反应和炎症反应,在多种氧化应激动物疾病模型中显示出显著治疗作用<sup>[2-6]</sup>。本研究探讨富氢盐水对于重度烫伤延迟复苏大鼠肝脏的作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 动物、主要试剂及仪器来源

无特殊病原体级雄性 SD 大鼠 24 只,8~10 周龄,体质量 200~250 g,由第三军医大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK(渝)2013-0005。乳酸钠林

格液购自四川科伦药业股份有限公司,大鼠中性粒细胞分离液购自天津灏洋生物制品科技有限责任公司,红细胞裂解液购自南京恩晶生物科技有限公司,大鼠 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 ELISA 检测试剂盒购自美国 R&D 公司,丙二醛检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所,8 羟基脱氧鸟苷(8-OHdG) ELISA 检测试剂盒购自美国 Cell Biolabs 公司。YLS-Q5 型台式控温烫伤仪由山东省医学科学院惠赠,细胞计数板购自重庆蒲若生物科技有限公司,AU2700 型全自动生化分析仪购自日本 Olympus 公司,分光光度计购自美国 BioTek 公司。

### 1.2 富氢盐水配制

将氢气在 0.4 MPa 大气压下溶入 250 mL 软袋生理盐水中 4 h 达到过饱和状态,1 周后抽出袋内气体再次在 0.4 MPa 大气压下注入氢气 4 h 达到过饱

和状态,制成富氢盐水溶液。应用气相色谱法<sup>[3]</sup>检测,富氢盐水浓度为 0.6 mmol/L。

### 1.3 模型制备及分组处理

取 24 只 SD 大鼠,实验前 24 h 剃除背部、腹部毛发,单笼饲养。实验前 12 h 禁食禁水。用 10 g/L 戊巴比妥钠腹腔注射(40 mg/kg)麻醉后,应用台式控温烫伤仪,选择 4 cm<sup>2</sup>烫头以 92 °C 在大鼠背部、腹部致伤 18 s,建立 40% TBSA III 度烫伤(经病理切片证实)模型。采用随机数字表法将烫伤大鼠分为富氢盐水组、乳酸钠林格液组,每组 12 只。伤后 6 h 开始,2 组大鼠分别采用富氢盐水、乳酸钠林格液均按 4 mL · kg<sup>-1</sup> · % TBSA<sup>-1</sup> (Parkland 公式)进行腹腔注射补液,伤后 6 h 注射补液量的 1/2,伤后 9、17 h 各注射补液量的 1/4;伤后第 2 个 24 h 补液量是第 1 个 24 h 的一半(分别于伤后 30、36、42 h 注入,注射比例同前)。

### 1.4 标本采集

伤后 6(补液前)、12、24、48 h,每组分别取 3 只大鼠,每只心脏采血 2 mL 后,处死大鼠取肝组织,其中伤后 6、12、24 h 各 2 g,伤后 48 h 取 4 g。将所采血液分别加入肝素抗凝管,室温静置 30 min,4 °C 下以 1 500 × g 离心 10 min 后取上清液备用。取 2 组大鼠各时相点 2 g 肝组织,分别加入 20 mL 预冷的 PBS,电动匀浆器匀浆,匀浆组织液过 200 目铜网过滤备用;将伤后 48 h 剩余 2 g 肝组织固定于 40 g/L 多聚甲醛中备用。

### 1.5 指标检测

**1.5.1 肝组织病理学变化** 取多聚甲醛固定的 2 组大鼠伤后 48 h 肝组织 2 g,常规切片(厚度 5 μm),HE 染色,光学显微镜下观察组织病理学变化。

**1.5.2 肝组织中中性粒细胞数** 取 2 组大鼠伤后各时相点肝组织匀浆液 5 mL,缓慢加入中性粒细胞分离液中,500 × g 离心 30 min。吸取中性粒细胞层及其下分离液层至离心管中,加入红细胞裂解液,300 × g 离心 5 min,取上清液即为大鼠中性粒细胞。应用细胞计数板进行中性粒细胞计数。

**1.5.3 血清转氨酶水平** 取 2 组大鼠伤后各时相点血清,用全自动生化分析仪检测 AST、ALT 水平。

**1.5.4 肝组织炎症因子含量** 取 2 组大鼠伤后各时相点肝组织匀浆液 2 mL,按照 ELISA 检测试剂盒说明书测定 TNF-α、IL-1β、IL-6 含量。

**1.5.5 肝组织丙二醛含量** 取 2 组大鼠伤后各时相点肝组织匀浆液 2 mL,考马斯亮蓝法测定蛋白浓度。按照丙二醛试剂盒说明书加入试剂混匀,

95 °C 水浴 40 min,冷却后,1 600 × g 离心 10 min,取上清液,应用分光光度仪检测 532 nm 波长处吸光度值。组织中丙二醛含量(mmol/mg) = (测定管吸光度值 - 空白管吸光度值) ÷ (标准管吸光度值 - 空白管吸光度值) × 标准管浓度(10 mmol/mL) ÷ 蛋白浓度(mg/mL)。

**1.5.6 肝组织 8-OHdG 含量** 取 2 组大鼠伤后各时相点肝组织匀浆液 2 mL,按照 ELISA 检测试剂盒说明书测定 8-OHdG 含量。

### 1.6 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 17.0 统计软件行重复测量方差分析和 LSD-*t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 肝组织病理学变化与中性粒细胞数

伤后 48 h,乳酸钠林格液组大鼠肝组织大量炎性细胞浸润,肝细胞充血,肝小叶结构破坏;与之相比,富氢盐水组大鼠肝组织少量炎性细胞浸润,肝细胞充血减轻,肝小叶结构完整。见图 1。

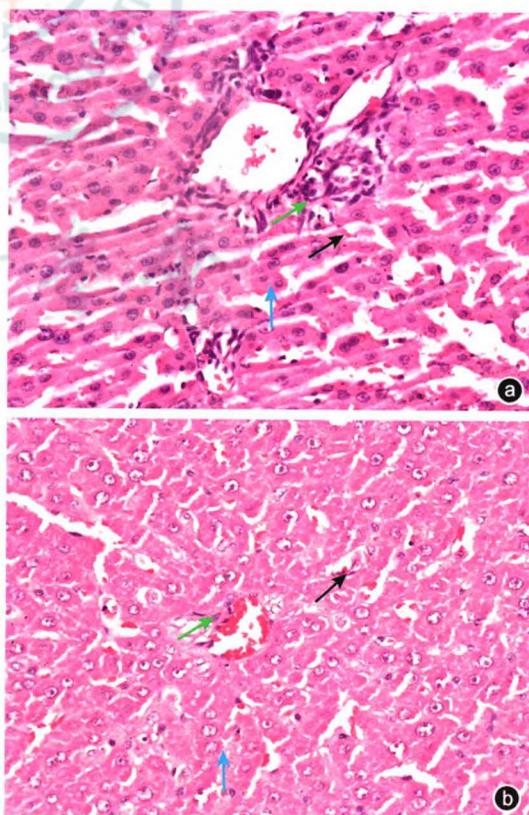


图 1 2 组大鼠伤后 48 h 肝组织病理学变化 HE × 400。a. 乳酸钠林格液组大量炎性细胞浸润(↑),肝细胞充血(↑),肝小叶结构破坏(↑);b. 富氢盐水组少量炎性细胞浸润(↑),肝细胞充血减轻(↑),肝小叶结构完整(↑)

**表 1** 2 组大鼠伤后各时相点肝组织中中性粒细胞数比较 (×10<sup>5</sup>个/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数(只)	伤后 6 h	伤后 12 h	伤后 24 h	伤后 48 h
乳酸钠林格液组	12	18.2 ± 2.1	31.9 ± 2.0	30.9 ± 2.2	23.8 ± 3.0
富氢盐水组	12	19.4 ± 1.0	25.3 ± 1.8	19.6 ± 0.6	14.1 ± 3.2
<i>t</i> 值		0.5	5.6	7.6	8.7
<i>P</i> 值		>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:处理因素主效应,  $F = 286.63, P < 0.05$ ;时间因素主效应,  $F = 24.89, P < 0.05$ ;两者交互作用,  $F = 17.95, P > 0.05$

**表 2** 2 组大鼠伤后各时相点血清转氨酶水平比较 (U/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数(只)	伤后 6 h	伤后 12 h	伤后 24 h	伤后 48 h
乳酸钠林格液组	12				
AST		364 ± 39	656 ± 42	541 ± 39	505 ± 18
ALT		121 ± 11	185 ± 8	156 ± 9	166 ± 21
富氢盐水组	12				
AST		346 ± 40	469 ± 49	308 ± 24	210 ± 15
ALT		124 ± 7	153 ± 11	93 ± 7	70 ± 5
<i>t</i> <sub>1</sub> 值		0.4	3.9	17.5	16.7
<i>P</i> <sub>1</sub> 值		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05
<i>t</i> <sub>2</sub> 值		0.3	3.0	30.3	6.9
<i>P</i> <sub>2</sub> 值		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

注:AST 处理因素主效应,  $F = 414.60, P < 0.05$ ;时间因素主效应,  $F = 93.96, P < 0.05$ ;两者交互作用,  $F = 9.50, P > 0.05$ ;ALT 处理因素主效应,  $F = 157.66, P < 0.05$ ;时间因素主效应,  $F = 39.50, P < 0.05$ ;两者交互作用,  $F = 16.40, P > 0.05$ ; *t*<sub>1</sub> 值、*P*<sub>1</sub> 值、*t*<sub>2</sub> 值、*P*<sub>2</sub> 值分别为组间 AST、ALT 比较所得

**表 3** 2 组大鼠伤后各时相点肝组织炎症因子含量比较 (pg/mg,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数(只)	伤后 6 h	伤后 12 h	伤后 24 h	伤后 48 h
乳酸钠林格液组	12				
TNF-α		29.0 ± 4.0	35.0 ± 3.0	32.7 ± 5.0	25.7 ± 4.0
IL-1β		15.3 ± 2.5	25.3 ± 5.5	16.3 ± 2.5	12.0 ± 2.7
IL-6		15.3 ± 1.5	22.0 ± 3.0	14.7 ± 2.1	13.3 ± 1.5
富氢盐水组	12				
TNF-α		33.3 ± 5.5	29.3 ± 4.9	20.7 ± 1.6	13.7 ± 1.5
IL-1β		16.0 ± 2.0	9.0 ± 2.0	7.7 ± 1.5	6.3 ± 1.2
IL-6		16.3 ± 2.5	14.3 ± 1.5	8.7 ± 1.2	6.0 ± 2.0
<i>t</i> <sub>1</sub> 值		0.9	3.1	5.2	5.7
<i>P</i> <sub>1</sub> 值		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05
<i>t</i> <sub>2</sub> 值		2.0	3.8	4.7	4.7
<i>P</i> <sub>2</sub> 值		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05
<i>t</i> <sub>3</sub> 值		1.8	3.5	10.4	4.4
<i>P</i> <sub>3</sub> 值		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

注:TNF-α 处理因素主效应,  $F = 8.32, P < 0.05$ ;时间因素主效应,  $F = 13.88, P > 0.05$ ;两者交互作用,  $F = 7.28, P > 0.05$ ;IL-1β 处理因素主效应,  $F = 286.63, P < 0.05$ ;时间因素主效应,  $F = 24.90, P < 0.05$ ;两者交互作用,  $F = 17.95, P > 0.05$ ;IL-6 处理因素主效应,  $F = 21.05, P < 0.05$ ;时间因素主效应,  $F = 17.78, P > 0.05$ ;两者交互作用,  $F = 14.27, P > 0.05$ ; *t*<sub>1</sub> 值、*P*<sub>1</sub> 值、*t*<sub>2</sub> 值、*P*<sub>2</sub> 值、*t*<sub>3</sub> 值、*P*<sub>3</sub> 值分别为组间 TNF-α、IL-1β、IL-6 比较所得

除伤后 6 h ( $P > 0.05$ ) 外,富氢盐水组大鼠其余时相点肝组织中中性粒细胞数显著少于乳酸钠林格液组 ( $P$  值均小于 0.05)。见表 1。

## 2.2 血清转氨酶水平

伤后 6、12 h,2 组大鼠血清 AST、ALT 水平相近 ( $P$  值均大于 0.05);伤后 24、48 h,富氢盐水组大鼠血清 AST、ALT 水平显著低于乳酸钠林格液组 ( $P$  值均小于 0.05)。见表 2。

## 2.3 肝组织炎症因子含量

伤后 6、12 h,2 组大鼠肝组织 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 含量相近 ( $P$  值均大于 0.05);伤后 24、48 h,富氢盐水组大鼠肝组织 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 含量显著低于乳酸钠林格液组 ( $P$  值均小于 0.05)。见表 3。

## 2.4 肝组织脂质过氧化相关指标含量

伤后 6 h,2 组大鼠肝组织丙二醛含量相近 ( $P > 0.05$ );伤后 12、24、48 h,富氢盐水组大鼠肝组

表 4 2 组大鼠伤后各时相点肝组织脂质过氧化相关指标含量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数(只)	伤后 6 h	伤后 12 h	伤后 24 h	伤后 48 h
乳酸钠林格液组	12				
丙二醛 (mmol/mg)		17.3 ± 1.5	27.3 ± 4.7	20.3 ± 1.5	14.0 ± 1.0
8-OHdG (pg/mg)		189 ± 11	247 ± 26	191 ± 10	136 ± 15
富氢盐水组	12				
丙二醛 (mmol/mg)		17.3 ± 2.5	15.3 ± 1.5	8.7 ± 1.2	6.7 ± 1.5
8-OHdG (pg/mg)		195 ± 25	176 ± 13	124 ± 12	79 ± 10
$t_1$ 值		0.1	5.2	5.7	5.1
$P_1$ 值		>0.05	<0.05	<0.05	<0.05
$t_2$ 值		0.7	4.3	8.0	8.1
$P_2$ 值		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

注:丙二醛处理因素主效应,  $F = 240.25$ ,  $P < 0.05$ ; 时间因素主效应,  $F = 15.49$ ,  $P > 0.05$ ; 两者交互作用,  $F = 10.53$ ,  $P > 0.05$ ; 8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)处理因素主效应,  $F = 177.42$ ,  $P < 0.05$ ; 时间因素主效应,  $F = 33.58$ ,  $P < 0.05$ ; 两者交互作用,  $F = 9.14$ ,  $P > 0.05$ ;  $t_1$  值、 $P_1$  值,  $t_2$  值、 $P_2$  值分别为组间丙二醛、8-OHdG 比较所得

织丙二醛含量显著低于乳酸钠林格液组 ( $P$  值均小于 0.05)。伤后 6、12 h, 2 组大鼠肝组织 8-OHdG 含量相近 ( $P$  值均大于 0.05); 伤后 24、48 h, 富氢盐水组大鼠肝组织 8-OHdG 含量显著低于乳酸钠林格液组 ( $P$  值均小于 0.05)。见表 4。

### 3 讨论

烧伤休克延迟复苏患者 MOF 的发生率以及病死率均很高, 目前尚无有效的解决方案, 是烧伤临床上亟待解决的问题之一。研究表明, 延迟复苏后缺血再灌注过程加重氧化应激、诱发炎症反应, 是造成组织损伤的主要机制<sup>[1,7-8]</sup>。氢气作为一种选择性抗氧化剂, 不会过多消除细胞内必不可少的活性氧, 能够自由到达细胞内包括细胞核与线粒体的每一个角落, 几乎没有任何不良反应<sup>[9-10]</sup>。笔者推测, 如果能够将氢气有效应用于临床烧伤休克延迟复苏治疗, 将会对保护患者脏器及提高其存活率起到非常重要的作用。

研究表明, 烧伤后延迟复苏导致机体组织中大量中性粒细胞浸润, 与损伤内皮细胞高表达的细胞间黏附分子 1 (ICAM-1) 和 ICAM-2 黏附而活化, 发生呼吸爆破, 产生大量氧自由基, 发生严重的氧化应激反应, 从而导致机体器官以及组织的损害<sup>[8]</sup>。自由基以及中性粒细胞释放的大量炎症因子, 损伤血管内皮细胞以及肝脏实质细胞, 其中中性粒细胞浸润是延迟复苏机体肝脏发生损伤的重要表现之一。本研究显示, 富氢盐水组大鼠伤后 12、24、48 h 肝组织中性粒细胞浸润数目较乳酸钠林格液组显著减少, 提示富氢盐水能够有效减少自由基的产生。另有文献显示, 富氢盐水同样能够有效减轻烫伤大鼠肺组织以及肠道的炎性细胞浸润<sup>[11-12]</sup>。

本研究进一步证实, 富氢盐水组大鼠伤后 24、48 h 血清 AST、ALT 水平显著低于乳酸钠林格液组, 提示富氢盐水复苏能够显著减轻肝细胞的损伤, 从而保护肝组织。

TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 是机体发生炎症反应的重要炎症因子, 是诱导烧伤后延迟复苏机体发生全身炎症反应的重要因子, 同时能够正反馈促进氧自由基的释放, 加重机体氧化应激损伤<sup>[13]</sup>。本研究提示, 富氢盐水组大鼠伤后 24、48 h 肝组织内的 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 含量均显著低于乳酸钠林格液组, 有效减轻了肝脏的炎症反应。同样的保护作用在烫伤大鼠肺脏中也得到了证实<sup>[11]</sup>。

脂质过氧化以及 DNA 损伤是氧化应激的重要损伤方式。丙二醛是氧化损伤的终产物, 是脂质过氧化的标志, 而 8-OHdG 是由羟自由基损伤 DNA 中脱氧鸟苷所形成, 是评价体内细胞 DNA 氧化损伤的高灵敏性生物标记物<sup>[10]</sup>。本研究证实, 富氢盐水组大鼠伤后 12、24、48 h 肝组织丙二醛含量以及伤后 24、48 h 肝组织 8-OHdG 含量均显著低于乳酸钠林格液组, 提示有效减轻了肝脏氧化应激损伤。

综上, 本研究提示应用富氢盐水进行延迟复苏, 可能通过减少中性粒细胞浸润, 进而减少自由基的生成以及炎症因子的释放, 有效减轻肝脏氧化应激反应, 从而保护重度烫伤延迟复苏大鼠的肝脏, 这为我们在临床救治中对烧伤患者进行肝脏保护提供了一定的理论基础。

### 参考文献

- [1] 夏照帆. 严重烧伤后延迟复苏 [J]. 继续医学教育, 2006, 20 (14): 13-16.
- [2] Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen

radicals [J]. Nat Med, 2007,13(6):688-694.

[3] Fukuda K, Asoh S, Ishikawa M, et al. Inhalation of hydrogen gas suppresses hepatic injury caused by ischemia/reperfusion through reducing oxidative stress [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007,361(3):670-674.

[4] Buchholz BM, Kaczorowski DJ, Sugimoto R, et al. Hydrogen inhalation ameliorates oxidative stress in transplantation induced intestinal graft injury [J]. Am J Transplant, 2008,8(10):2015-2024.

[5] Li J, Wang C, Zhang JH, et al. Hydrogen-rich saline improves memory function in a rat model of amyloid-beta-induced Alzheimer's disease by reduction of oxidative stress [J]. Brain Res, 2010,1328:152-161.

[6] Cai J, Kang Z, Liu WW, et al. Hydrogen therapy reduces apoptosis in neonatal hypoxia-ischemia rat model [J]. Neurosci Lett, 2008,441(2):167-172.

[7] Foldi V, Csontos C, Bogar L, et al. Effects of fluid resuscitation methods on burn trauma-induced oxidative stress [J]. J Burn Care Res, 2009,30(6):957-966.

[8] Horton JW. Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy [J]. Toxicology, 2003,189(1/2):75-88.

[9] Zheng XF, Sun XJ, Xia ZF. Hydrogen resuscitation, a new cytoprotective approach [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2011,38(3):155-163.

[10] Hong Y, Chen S, Zhang JM. Hydrogen as a selective antioxidant: a review of clinical and experimental studies [J]. J Int Med Res, 2010,38(6):1893-1903.

[11] Sun H, Chen L, Zhou W, et al. The protective role of hydrogen-rich saline in experimental liver injury in mice [J]. J Hepatol, 2011,54(3):471-480.

[12] 高优,方勇,李晓光,等. 富氢盐水对严重烫伤延迟复苏大鼠肠道损伤的影响 [J]. 蚌埠医学院学报,2013,38(10):1241-1245.

[13] Cloire G, Legrand-Poels S, Piette J. NF-kappaB activation by reactive oxygen species: fifteen years later [J]. Biochem Pharmacol, 2006,72(11):1493-1505.

(收稿日期:2014-03-18)  
(本文编辑:谢秋红)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

关于表图中角码符号标注顺序及文字注释的说明

《中华医学会系列杂志编排规范》规定,表格中注释用角码 a、b、c、d 等应标注在数据右上方,按先纵后横的顺序出现,即先标注第 1 纵列,从上到下,再标注第 2 纵列,以此类推依次标注 a、b、c、d 等。表格下方对 a、b、c、d 等的说明按照各字母在表格中出现的顺序(同前,先纵后横)进行相关描述。见表 1。

表 1 不同材料移植术后各时相点各组小型猪烧伤创面 α 平滑肌肌动蛋白阳性血管数比较(条,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本数	术后 1 周	术后 2 周	术后 3 周	术后 4 周	F <sub>2</sub> 值	P <sub>2</sub> 值
壳聚糖支架组	24	6.2 ± 2.3 <sup>a</sup>	12.0 ± 2.8 <sup>ab</sup>	16.8 ± 2.7 <sup>abc</sup>	13.8 ± 1.7 <sup>ab</sup>	20.448	<0.01
磺化羧甲基壳聚糖支架组	24	12.5 ± 1.4	21.8 ± 2.3 <sup>b</sup>	36.0 ± 4.7 <sup>b</sup>	23.0 ± 3.0 <sup>b</sup>	58.879	<0.01
ADM 支架组	24	5.7 ± 1.5 <sup>a</sup>	13.7 ± 2.7 <sup>abc</sup>	18.3 ± 2.1 <sup>abc</sup>	14.5 ± 2.2 <sup>ab</sup>	36.325	<0.01
油纱对照组	24	4.7 ± 2.0 <sup>a</sup>	9.7 ± 1.8 <sup>ab</sup>	12.7 ± 2.3 <sup>ab</sup>	14.7 ± 2.9 <sup>a</sup>	24.000	<0.01
F <sub>1</sub> 值		22.637	28.087	62.651	18.055		
P <sub>1</sub> 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		

注:表中数据为每 400 倍视野下观察结果;F<sub>1</sub> 值、P<sub>1</sub> 值为组间同一时相点比较所得,F<sub>2</sub> 值、P<sub>2</sub> 值为组内各时相点比较所得;与磺化羧甲基壳聚糖支架组比较,<sup>a</sup>P < 0.05;与组内前一时相点比较,<sup>b</sup>P < 0.05;与油纱对照组比较,<sup>c</sup>P < 0.05

各类统计图中注释用角码也采用 a、b、c、d 等标注;根据  $\bar{x} \pm s$  表示的数据所绘统计图,需用线段在图上标明 s 值。

本刊编辑部

文献类型和电子文献载体标志代码

中华医学会杂志社要求中华医学会系列杂志从 2014 年开始,文后参考文献著录,须于文献题名后增加标注文献类型标志项目,于方括号“[]”中列出。以下为文献类型和电子文献载体标志代码(按代码首字母排序)。

会议录(C)	数据库(DB)	期刊(J)	联机网络(OL)
光盘(CD)	磁盘(DK)	普通图书(M)	专利(P)
计算机程序(CP)	电子公告(EB)	磁带(MT)	报告(R)
学位论文(D)	汇编(G)	报纸(N)	标准(S)

注:专著、论文集析出文献类型[A],其他未说明的文献类型[Z]。

本刊编辑部