

烧伤中的氧化应激与 DNA 损伤

戴海华

氧化物在正常细胞的生物反应中起着重要的作用,也参与许多人类疾病的病理过程。一旦氧化物与抗氧化物的平衡破坏,即氧化应激(oxidative stress)产生,氧负荷增加和(或)抗氧化物防卫能力下降,氧化物则修饰靶分子的结构和功能导致细胞损伤。损伤广泛时,可产生组织水平和器官功能的表现。

一、烧伤与氧化应激

研究发现,氧自由基(reactive oxygen species, ROS)在烧伤局部创面损伤和进一步的水肿形成、休克的发生、全身炎症反应和远隔器官损伤等过程中有重要作用^[1-4],同时也参与了烧伤后免疫功能紊乱、溶血和急性胃黏膜损伤等病理过程^[5,6]。有证据表明局部体表烧伤后早期,肺、肝、肾和其他组织中有大量中性粒细胞(PMN)积聚,脂质过氧化作用增加。这种远隔器官的损伤与血管内补体被激活,刺激 PMN 产生活性氧代谢产物有一定关系^[3]。

烧伤所致氧化应激的原因有:(1)热力所致的细胞直接损伤。细胞破裂死亡后催化过渡金属离子如 Fe^{2+} 的释放,同时激活环氧酶和脂氧酶,使周围组织的脂质过氧化作用增加。(2)烧伤后的低血流状态可以激活血液白细胞,血管内皮粘附分子增加,通过黄嘌呤氧化酶产生的 ROS 使血管通透性增加导致毛细血管漏。(3)烧伤感染和烧伤毒素等引起炎症反应时,激活的 PMN 粘附在血管内皮细胞的时间延长,引起局部内皮细胞损伤。(4)各种吞噬细胞产生并释放的次氯酸(HOCl)、一氧化氮(NO)能与 O_2^- 作用形成强活性的羟基(OH)^[7]。

伤后应用大剂量维生素 C 能减轻脂质过氧化作用,降低血管通透性和组织水肿,由此减少严重烧伤患者的复苏补液量^[8]。

二、氧化应激与 DNA 损伤

生物系统中接受电子的分子称为“氧化物”或“自由基”,可以在正常的生物过程中产生,它的主要来源为细胞色素 P450、内皮细胞、粒细胞和巨噬细胞等。由于亲和力作用,它们可以从靶分子上接

受电子,进而修饰靶分子的结构和功能,引起细胞内外抗氧化物的拮抗。抗氧化物包括酶系统如胞浆中、细胞外和线粒体的 SOD,过氧化氢酶和谷胱甘肽系统,大分子物质(铜蓝蛋白、转铁蛋白),小分子族(谷胱甘肽、蛋氨酸、维生素 C 和 E)等。

与疾病有关的氧化物主要来源于正常的细胞,在不适当的环境条件下以放大的形式产生。其次是炎症细胞进入局部组织所释放,或吸入异源性氧化物气体,起着重要生理作用的 ROS 也能引起细胞广泛的损伤。氧化物可直接或间接地导致 DNA 损伤,Ward 等^[9]指出机体对氧化应激的敏感性与 11 号染色体有关。 H_2O_2 是各种氧化应激中最普遍的氧化介质,PMN 受刺激后在靶细胞周围产生的 H_2O_2 浓度就足以损伤靶细胞的 DNA。 H_2O_2 并不直接与 DNA 反应产生氧化损伤,而是经 Fenton 反应产生 OH,后者再与染色体反应导致 DNA 链断裂。Anderson 等^[10]研究后进一步证实 H_2O_2 通过 $\cdot OH$ 与过渡金属离子(Fe^{2+})的产生诱导 DNA 损伤。

三、DNA 损伤及其检测

任何病理生理过程所形成的氧化应激都有可能引起组织细胞 DNA 损伤。DNA 损伤可表现为碱基烷基化、DNA 单链断裂包括碱不稳定损伤(alkali labile lesions)、DNA 双链断裂、DNA 修复时的切除断裂、DNA 加合物形成等。

检测 DNA 损伤的较多方法各有所长。用气相色谱质谱可以检测 DNA 碱基损伤^[11],碱洗脱法检测 DNA 链断裂^[12],但存在着敏感性差、需放射标记等不足。Ostling 等^[13]于 1984 年用在载玻片上包埋细胞,放入琼脂糖中电泳的方法评价单个细胞的 DNA 损伤。1988 年 Singh 等^[14]对该方法改良后用碱性电泳分析 x-ray 或 H_2O_2 所致的 DNA 损伤,该方法被称为单个细胞微凝胶电泳检测(single cell gel electrophoresis, SCGE)。因电泳时带负电荷的 DNA 断端游离在胶中,向阳极方向迁移形成彗星状,又称为彗星检测(comet assay)。损伤程度较低时, DNA 链附在细胞核上而非游离片段。随着 DNA 断裂数量的增加,碎片游离进入彗星尾部。用该方法检测凋亡细胞,彗星头尾分开明显,电泳荧光

的强度提供了链断裂数量的信息。

DNA 损伤的彗星检测具有以下优点:(1)敏感性高;(2)无需传统方法中的放射性示踪剂;(3)只需数小时即可完成;(4)能检测单个细胞中的 DNA 损伤,可检测出 9.921×10^9 dal DNA 中的 1 个 DNA 断裂;(5)对结果的判断可采用影像分析系统进行处理^[15]。

参 考 文 献

- 1 Cetink le O, Belce A, Konukoglu D, et al. Evaluation of lipid peroxidation and total antioxidant status in plasma of rats following thermal injury. *Burns*, 1997, 23: 114 - 116.
- 2 Haycock JW, Ralston DR, Morris B, et al. Oxidative damage to protein and alterations to antioxidant levels in human cutaneous thermal injury. *Burns*, 1997, 23: 533 - 540.
- 3 Gürbüz V, Corak A, Yegen BC, et al. Oxidative organ damage in a rat model of thermal injury: the effect of cyclosporin A. *Burns*, 1997, 23: 37 - 42.
- 4 Ravage ZB, Gomez HF, Czermak BJ, et al. Mediators of microvascular injury in dermal burn wounds. *Inflammation*, 1998, 22: 619 - 629.
- 5 O'Sullivan ST, O'Connor TPF. Immunosuppression following thermal injury: the pathogenesis of immunodysfunction. *Br J Plast Surg*, 1997, 50: 615 - 623.
- 6 Santos FX, Arroyo C, Garcia I, et al. Role of mast cells in the pathogenesis of postburn inflammatory response: reactive oxygen species as cell stimulators. *Burns*, 2000, 26: 145 - 147.
- 7 Tadros T, Traber DL, Heggers JP, et al. Angiotension II inhibitor DuP753 attenuates burn-and endotoxin-induced gut ischemia, lipid-

- peroxidation, mucosal permeability, and bacterial translocation. *Ann Surg*, 2000, 231: 566 - 576.
- 8 Tanaka H, Matsuda T, Miyagantami Y, et al. Reduction of resuscitation volumes in severely burned patients using ascorbic acid administration. *Surg*, 2000, 135: 326 - 331.
- 9 Ward AJ, Olive PL, Burr AH, et al. A sensitivity to oxidative stress is linked to chromosome-11 but is not due to a difference in single-strand DNA breakage or repair. *Mutation Res*, 1993, 294: 299 - 306.
- 10 Anderson D, Yu TW, Philips BJ, et al. The effect of various antioxidants and other modifying agents on oxygen-radical-generated DNA damage in human lymphocytes in the comet assay. *Mutation Res*, 1994, 307: 261 - 271.
- 11 Dizdaroglu M. Measurement of radiation induced damage to DNA at the molecular level. *Int Radiat Biol*, 1992, 61: 175 - 183.
- 12 Fuchs JU, Wullenweber JG, Hengstler HG, et al. Genotoxic risk for human due to work place exposure to ethylene oxide: remarkable individual differences in susceptibility. *Arch Toxicol*, 1994, 68: 343 - 348.
- 13 Ostling O, Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-difference induced DNA damage in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commu*, 1984, 123: 291 - 298.
- 14 Singh NP, McCoy MT, Tice RR, et al. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res*, 1988, 175: 184 - 191.
- 15 Singh NP, Stephens RE. Microgel electrophoresis: Sensitivity, mechanisms, DNA electrostretching. *Mutation Res*, 1997, 383: 167 - 175.

(收稿日期:2000-10-08)

(编辑:王 旭)

· 病例报告 ·

氯乙酸烧伤合并中毒死亡一例

谢卫 苏青和 许炳元 杨敏杰

患者,男,25岁,工作中被热氯乙酸液(体积分数93%,温度90℃)烧伤,伤后2min清水持续冲洗30min后,用质量浓度为50g/L的碳酸氢钠清洗创面,1h后送入我院。查体:意识清楚,体温36.5℃,呼吸24次/min,心率78次/min,血压120/90mmHg(1mmHg=0.133kPa)。诊断:胸、腹、四肢及会阴部氯乙酸深度烧伤20%TBSA。立即用质量浓度为0.5g/L的洗必泰清洗创面,创面暴露,给予补液和抗感染治疗。伤后2h患者出现呕吐、烦躁,给予静脉滴入地塞米松20mg,大剂量应用维生素C、维生素B6及能量合剂,吸氧,留置导尿,导出残余尿100ml。伤后3h患者病情加重,烦躁,胸闷,抽搐,频繁呕吐。血气分析示:PCO₂ 5.08kPa(1kPa=7.5mmHg),PO₂ 5.7kPa, HCO₃⁻ 18.4mmol/L, BE -6.3mmol/L, SaO₂ 0.60。立即静脉滴注质量浓度为50g/L的碳酸氢钠250ml和地塞米松20mg。质量浓度为50g/L的碳酸氢钠30ml+地塞米松5mg+庆大霉素8万U雾化

吸入。伤后5hX线片示:两肺纹理增粗、模糊。患者逐渐转入嗜睡、昏迷状态,呼吸30次/min,心率120次/min,血压158/120mmHg,皮肤紫绀,血尿。继续应用碱性药物及速尿,病情无改善,于伤后10h死亡。

讨论 氯乙酸为强有机酸,皮肤较大面积或高浓度接触均可引起急性中毒,目前尚无特效解毒药物。本病例因皮肤较大面积被高浓度氯乙酸烧伤,且溶液温度较高,更加速了氯乙酸的吸收。虽经积极抢救,仍然死亡。因此,对于高浓度大面积烧伤患者,应充分认识到氯乙酸中毒的严重后果。伤后及时有效的创面处理,是治疗的关键。伤后应立即清水持续冲洗,用质量浓度为50g/L的碳酸氢钠冲洗湿敷创面,同时应用二巯基丁二酸钠,并立即行切痂术,彻底清除局部坏死组织,防止对氯乙酸的继续吸收,减轻氯乙酸对机体的进一步损害。早期可同时进行血液透析或血液置换疗法。

(收稿日期:2000-08-04)

(编辑:张 宁)