

热损伤与烧伤后红细胞膜特性改变的差异*

孟凡寅 方之扬

(第二军医大学烧伤研究所, 上海 200433)

许红 张志鸿

(复旦大学生理学和生物物理学系)

陈仕明

(复旦大学分析测试中心)

关键词 电子自旋共振, 膜, 红细胞, 烧伤, 热损伤

严重烧伤后的贫血是临床不可避免的并发症, 以往的研究认为热力在烧伤后红细胞损伤的发生、发展过程中起着主要作用。我们通过大鼠热损伤红细胞的体外实验和烧伤后红细胞的体内实验, 比较了两者之间膜生物物理特性改变的差异, 揭示了其损伤机制上的本质区别。

用 25% 总体表面积 III 度烧伤雄性 Sprague-Dawley 大鼠实验, 未予以液体复苏的动物分别于伤后 15min, 6h, 12h 和 24h 断头处死, 采样测定后得到烧伤休克期红细胞膜结构参数的时间变化曲线, 体外按照 Gudi 方法, 将健康大鼠红细胞在 37℃, 42℃, 46℃, 50℃ 和 54℃ 试管内温浴 15min, 制成热损伤红细胞模型。

应用微机实时处理系统检测了红细胞膜对阴离子通透性的变化; 应用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳考察了膜蛋白结构中各组份的改变; 借助电子自旋标记法研究了膜蛋白巯基结合位置性质的改变以及浅层膜脂有序度的变化。

实验结果显示: a. 热损伤红细胞膜对 NO_2^- (46.5mmol/L) 的通透时间随损伤温度的升高而缩短, 54℃ 温浴后红细胞 NO_2^- 的跨膜通透时间为 $(10.7 \pm 0.8\text{s}, n = 8)$, 远低于 37℃ 温浴后的红细胞 $(25.5 \pm 2.7\text{s}, n = 8)$, 提示热损伤后红细胞膜对阴离子的通透性增强; 而大鼠烧伤后的 NO_2^- 跨膜通透时间则随休克时间持续而延长, 伤后 24h 为 $(38.4 \pm 4.7\text{s}, n = 8)$, 远高于正常 $(23.8 \pm 2.5\text{s}, n = 8)$ 。b. 随着损伤温度的升高, 热损伤红细胞膜骨架蛋白中大分子量的蛋白降解, 对红细胞膜蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱的岛津-TLC 双波长扫描显示: 54℃ 温浴后的红细胞膜收缩蛋白 (Spectrin) 的含量百分比仅为 $(5.2 \pm 0.2, n = 6)$, 远低于 37℃

温浴组 $(27.8 \pm 0.8, n = 6)$; 而烧伤大鼠休克期则未见膜骨架蛋白构成的明显异常。c. 用 3-maleimide-proxyl 标记红细胞膜蛋白巯基后的 ESR 研究结果显示: 随着损伤温度的升高, 膜蛋白巯基的强弱固定化比值明显减小, 膜蛋白巯基结合位点裸露程度变大, 红细胞 54℃ 温浴后 h_s/h_w 为 $(0.111 \pm 0.009, n = 6)$, 显著低于 37℃ 组 $(0.150 \pm 0.005, n = 6)$; 而随着休克时间的延长, h_s/h_w 显著增加, 伤后 24h 为 $(0.161 \pm 0.007, n = 6)$; 显著高于伤前 $(0.149 \pm 0.008, n = 6)$, 强固定化比例显著增加, 膜蛋白构象变化。d. 自旋标记-ESR 对膜浅层脂质的有序度的研究结果证实: 膜浅层脂质的序参数 S 随损伤温度的升高而持续降低, 54℃ 温浴组为 $(0.628 \pm 0.007, n = 6)$, 显著低于 37℃ 温浴组 $(0.672 \pm 0.005, n = 6)$; 同时, 浅层脂肪酸链在膜里的平均涨落角度持续增大 (54℃ 组: $29.85 \pm 0.24, n = 6$; 37℃ 组: $27.88 \pm 0.18, n = 6$), 提示膜疏水端的流动性与温度变化呈平行关系; 而烫伤大鼠休克期红细胞膜脂浅层有序度则显著高于正常 (S 值伤前: $0.675 \pm 0.009, n = 6$; 伤后 12h: $0.692 \pm 0.006, n = 6$), 提示随着休克时间的延长, 红细胞膜脂浅层的流动性下降。

以上结果说明: 热损伤红细胞膜呈现一种分子活化后的膜特性的改变, 而烧伤休克期红细胞膜脂和膜蛋白分子的游离度降低, 膜通透功能受抑, 可能与自由基反应和能量代谢障碍有关, 两者之间的差异对于烧伤后贫血的临床治疗具有重要的指导意义和实用价值。

* 国家自然科学基金 39170740 项目资助。

收稿日期: 1992-10-21 修回日期: 1992-11-18