

· 基础研究 ·

花生四烯酸与红细胞急性损伤的相关性研究

袁涛¹, 赵建宁¹, 孟嘉¹, 丛宇¹, 陈双双², 包倪荣¹

(1. 南京军区南京总医院骨科, 江苏 南京 210002; 2. 中国人民解放军第 455 医院眼科, 江苏 南京 200050)

【摘要】 目的: 观察花生四烯酸对大鼠红细胞的影响, 构建隐性失血动物模型, 并探讨隐性失血的病理机制。方法: 将 50 只体重(200±20) g 的健康成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠随机分为 5 组: 对照组和 4 个实验组, 其中实验组从尾静脉分别给予 0.5 ml 浓度 5、10、20、40 mmol/L 的花生四烯酸稀释液, 建立体内高花生四烯酸水平的动物模型, 对照组予以等量的空白对照液。分别在给药前及给药 24、48、72 h 后采集眼静脉血液样本, 采用全自动血液分析仪检测血液样本中血红蛋白、红细胞计数含量变化情况。对发生隐性失血的实验组, 进一步测量其谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-PX) 活力, 总超氧化物歧化酶 (total superoxide dismutase, T-SOD) 活力, 过氧化氢 (hydrogen peroxide, H₂O₂) 的含量变化。结果: 当花生四烯酸的给药浓度为 10 mmol/L 时, 实验组大鼠即出现隐性失血。在给药 24 h 后, 各组大鼠的血红蛋白、红细胞均不同程度下降, 实验组与对照组相比差异有统计学意义; GSH-PX 活力、T-SOD 活力、H₂O₂ 含量也均下降, 实验组变化更显著。给药 48 h 后, 对照组大鼠体内血液中血红蛋白、红细胞含量变化相对稳定, 实验组血红蛋白、红细胞、GSH-PX 活力、T-SOD 活力、H₂O₂ 含量持续下降, 且实验组变化更显著。72 h 后, 实验组大鼠血液中各项指标平稳, 且有不同程度回升。结论: 血液中高浓度的花生四烯酸可诱导氧化应激反应, 从而引起血液中红细胞及血红蛋白的急性损伤, 导致隐性失血。

【关键词】 花生四烯酸; 红细胞; 失血, 手术

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2016.02.019

Association of red blood cell damage with arachidonic acid YUAN Tao, ZHAO Jian-ning, MENG Jia, CONG Yu, CHEN Shuang-shuang, and BAO Ni-rong*. *Department of Orthopaedics, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Region of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu, China

ABSTRACT Objective: To study the correlation between arachidonic acid (AA) and acute red blood cells damage in rats, and to build a model with hidden blood loss in vivo, and to explore the pathological mechanism of hidden blood loss. **Methods:** A total of 50 male adult Sprague-Dawley rats weighing (200±20) g were randomly divided into five groups (n=10): control group and four experimental groups. The rats in the experimental groups were given 0.5 ml different concentrations of AA diluents, 5, 10, 20, 40 mmol/L respectively. The blood samples were collected from orbital venous at the beginning and 24, 48, 72 hours after administration. Then the changes of hemoglobin (Hb), red blood cell count (RBC), glutathione peroxidase (GSH-PX) activity, total superoxide dismutase (T-SOD) activity and hydrogen peroxide (H₂O₂) in the blood samples were tested. **Results:** Significant hidden blood loss occurred when the concentration was 10 mmol/L in the experimental group, with the RBC and Hb sharply reduced in blood samples. The Hb and RBC were reduced in all the experimental groups and control group at 24 hours after administration, while in the experimental groups they changed more obviously. The GSH-PX activity, T-SOD activity and H₂O₂ were also significantly reduced in all groups, and the changes showed significant differences. The Hb and RBC were relatively stable in the control group and the experimental groups at 48 hours after administration; while GSH-PX activity, T-SOD activity and H₂O₂ were all significantly decreased, and the changes in the experimental groups were more notable. **Conclusion:** Elevated levels of AA in the blood causes oxidative stress in the red blood cells, leading to the damage of red blood cells and hemoglobin, which is responsible for hidden blood loss.

KEYWORDS Arachidonic acid; Erythrocytes; Blood loss, surgical

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2016, 29(2): 179-183 www.zggszz.com

基金项目: 江苏省临床科技基金 (编号: BL2012002); 江苏省自然科学基金 (编号: BK2012776)

Fund program: Clinical Science and Technology Foundation of Jiangsu Province (No. BL2012002)

通讯作者: 包倪荣 E-mail: bnrbr@sina.com

Corresponding author: BAO Ni-rong E-mail: bnrbr@sina.com

游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 是脂肪的代谢产物, 研究表明^[1] 其可刺激血液中的中性粒细胞从而促进活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 大量产生。隐性失血是在临床中行人工关节置换术患者术后最常见的并发症之一, 到目前为止隐性失血的发病机制仍不明确^[2-4]。然而在行人工关节置换术时

安装关节假体的过程中,对髓腔的重力打压会使髓腔内压力剧增,从而导致骨髓腔内的脂肪小滴进入血液循环,并通过血循环进入各个器官,在一些疾病的病理过程中发挥重要作用,这一点通过食管超声心动图已得到证实^[5-6],这也提示 FFA 可能与红细胞(RBC)损伤相关。花生四烯酸(arachidonic acid, AA)是游离脂肪酸的重要组成部分,本研究通过向大鼠体内注入高浓度 AA,模拟活体内血液中高游离脂肪酸水平,以观察红细胞损伤情况,探究 AA 与隐性失血的关系,并阐述其发生机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

50 只成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠,体重(200±20)g,在清洁级环境下饲养。饲养环境湿度为 50%~60%,温度为 24℃,人工昼夜节律为 12 h,并保证充足的水和食物供其自由食用。实验大鼠生产许可:SCXK(军)2012-0014;使用许可:SYXK(军)2012-0047,实验过程中动物使用的所有实验方案,均通过了南京军区南京总医院动物保健和使用伦理委员会批准,处置符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

1.2 试验试剂及仪器

谷胱甘肽过氧化物酶(glutathion peroxidase, GSH-PX)测试试剂盒,生产批号 20131026;总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)测试试剂盒,生产批号 20131125;过氧化氢(hydrogen peroxide, H₂O₂)测试试剂盒,批号 20131127;均购于南京建成生物科技有限公司。全自动血液分析系统(日本, SYSMEX XE-5000);离心机(德国 Hermle 通用, Z323);酶标仪(美国, BIO-RAD680)。

1.3 药物制备

稀释乙醇(分析纯)(济宁佰一化工有限公司,批号 20130823,纯度 99.9%)配置为浓度 20%的乙醇溶液。实验组将花生四烯酸(美国 Sigma 公司,批号 SLBF2324V,纯度>85%,每支 100 mg)通过浓度 20%的乙醇溶液稀释,分别配置浓度为 5、10、20、40 mmol/L 花生四烯酸溶液。

1.4 大鼠隐性失血模型的构建

实验前对大鼠编号后,通过眼静脉采集 0.5 ml 血液样本,并测量其血液中血红蛋白(Hb)和 RBC 含量,然后将 50 只 SD 大鼠随机分为 5 组,对照组 10 只,尾静脉注射 20%的乙醇稀释液溶液 0.5 ml。实验组分为 AA-A、AA-B、AA-C、AA-D 组,各 10 只,分别于尾静脉注射 0.5 ml 配制好的浓度为 5、10、20、40 mmol/L 的花生四烯酸稀释液溶液。分别于给药 24、48、72 h 后从眼静脉采集 0.5 ml 血液样本,通

过全自动血液常规分析系统测定血红蛋白、红细胞计数、红细胞比容、平均红细胞血红蛋白量和平均血红蛋白浓度。通过 Gross 方程估算大鼠的失血量,若失血量明显大于采集样本量则可认为出现了隐性失血。

1.5 检测指标与方法

采集给药前及给药 24、48、72 h 后血液样本,将采集的血液样本置于枸橼酸钠抗凝管混匀,通过全自动血液分析系统测定血红蛋白、红细胞计数、红细胞比容、平均红细胞血红蛋白量、平均血红蛋白浓度。剩余的血样保存于 4℃冰箱中,对发生了隐性失血的实验组及对照组大鼠的血液样本 8 h 内按照试剂盒所指导的测量步骤,用荧光测定法测量 GSH-PX 活力,黄嘌呤氧化酶法测量 T-SOD 活力,分光光度法测量 H₂O₂ 的含量变化。统计各组的实验数据后,根据各自相应的计算公式得出 GSH-PX 活力、T-SOD 活力和 H₂O₂ 的含量。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

AA-D 组实验大鼠,花生四烯酸的给药浓度为 40 mmol/L,有半数大鼠死亡,其表现过程为呼吸困难、口唇发绀、抽搐、咯血死亡,考虑为肺栓塞致死。其他实验组及对照组大鼠在整个实验过程中无死亡情况,均顺利完成样本采集。本次实验成功构建了动物隐性失血模型,进一步对变化相对显著的 AA-B、AA-C 组及对照组样本中 RBC、GSH-PX 活力、T-SOD 活力和 H₂O₂ 含量情况做测量分析。

2.2 Hb 及 RBC 变化结果

通过不同的给药浓度对比,并定时积极检测血液指标变化,在实验组中成功构建出大鼠隐性失血的模型,在给药前,实验组与对照组大鼠血液中 Hb、RBC 比较无明显差异($P > 0.05$);给药后 24 h,对照组及实验组血液中 RBC、Hb 均有不同程度下降(表 1-2),在采血量及给药剂量相等的情况下,实验组与对照组变化相比更明显($P < 0.05$);给药 48 h 后,对照组血液中的 RBC、Hb 含量与给药后 24 h 相比无明显变化,实验组则持续下降,且变化差异有统计学意义($P < 0.01$);给药 72 h 后,实验组与对照组大鼠血液中 Hb、RBC 含量无明显变化。当给药浓度不断升高时,实验组大鼠血液中 RBC 及 Hb 含量变化差异愈加明显,对变化显著的给药后 24 h 结果分析提示,Hb 含量在实验组组间比较 $F_{AB}=2.286, F_{BC}=2.475, P=0.043 2$ 、

表 1 对照组与花生四烯酸组给药前后 Hb 含量比较($\bar{x}\pm s$)

Tab.1 Comparison of Hb between control group and AA groups pre-and post-treatment($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	Hb 含量(g/L)			
		给药前	给药 24 h	给药 48 h	给药 72 h
对照组	10	157.00±5.25	150.00±4.13	148.00±3.15	149.00±2.55
AA-A	10	154.00±3.50	142.00±2.05	140.00±4.65*	139.00±3.33
AA-B	10	155.00±4.63	140.00±3.55*	134.00±2.12#	137.00±1.83
AA-C	10	152.00±3.50	134.00±2.35*	127.00±2.83#	131.00±3.65
AA-D	5	154.00±4.25	136.00±2.83*	130.00±2.55#	130.00±2.25

注:给药后 24 h,组间比较, $F=165.371, P=0.000$; 与对照组相比, AA-A、AA-B、AA-C、AA-D 分别为 $F=2.472, 6.356, 5.483, 4.386, P=0.047, 0.041, 0.023, 0.025$ 。给药 48 h 后,组间比较 $F=42.368, P=0.000$; 与对照组相比, AA-A、AA-B、AA-C、AA-D 分别为 $F=3.354, 17.159, 22.385, 24.537; P=0.046, 0.008, 0.002, 0.002$

Note: The changes of Hb, 24 hours after administration, compared among these groups, $F=165.371, P=0.000$; compared with control group, $F=2.472, 6.356, 5.483, 4.386; P=0.047, 0.041, 0.023, 0.025$ in AA-A, AA-B, AA-C, AA-D group respectively; 48 hours after administration, compared among these groups, $F=42.368, P=0.000$, compared with control group, $F=3.354, 17.159, 22.385, 24.537; P=0.046, 0.008, 0.002, 0.002$ in AA-A, AA-B, AA-C, AA-D group respectively

表 2 对照组与花生四烯酸组给药前后 RBC 比较($\bar{x}\pm s$)

Tab.2 Comparison of RBC between control group and AA groups pre-and post-treatment($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	RBC 含量($\times 10^{12}/L$)			
		给药前	给药 24 h	给药 48 h	给药 72 h
对照组	10	7.49±0.32	7.29±0.13	7.19±0.28	7.20±0.15
AA-B	10	7.40±0.15	6.91±0.21*	6.80±0.18#	6.90±0.25
AA-C	10	7.34±0.23	6.59±0.34*	6.05±0.18#	6.15±0.20

注:给药 24 h 后,组间比较, $F=22.867, P=0.007$; 与对照组相比, AA-B、AA-C 分别为 $F=4.865, 6.348, P=0.041, 0.026$ 。给药 48 h 后,组间比较 $F=18.225, P=0.008$; 与对照组相比, AA-B、AA-C 分别为 $F=23.963, 25.471, P=0.004, 0.002$

Note: The changes of RBC, 24 hours after administration, compared among these groups, $F=22.867, P=0.007$; compared with control group, $F=4.865, 6.348, P=0.041, 0.026$ in AA-B, AA-C group respectively; 48 hours after administration, compared among these groups, $F=18.225, P=0.008$; compared with control group, $F=23.963, 25.471, P=0.004, 0.002$ in AA-B, AA-C group respectively

0.035 9; RBC 含量变化的组间比较 $F_{BC}=2.064, P=0.049 5$ 。

2.3 GSH-PX 活力及 T-SOD 活力及 H₂O₂ 含量检测结果

进一步对 AA-B、AA-C 及对照组的血液样本检测中氧化还原剂分析发现, 给药前实验组与对照组大鼠血液中 GSH-PX 活力、T-SOD 活力及 H₂O₂ 含量无明显差异, 给药 24 h 后, 实验组大鼠血液中的 GSH-PX 活力、T-SOD 活力及 H₂O₂ 变化与对照组相比差异有统计学意义(表 3-5)。组间比较 GSH-PX 活力 ($F_{BC}=7.126, P=0.003$); T-SOD 活力 ($F_{BC}=2.871, P=0.011$); H₂O₂ ($F_{BC}=5.934, P=0.026$)。

给药 48 h 后, 对照组血液中 GSH-PX 活力、

表 3 对照组与花生四烯酸组给药前后 GSH-PX 活力比较

($\bar{x}\pm s$)

Tab.3 Comparison of GSH-PX activity between control group and AA groups pre-and post-treatment($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	GSH-PX 活力(mU/L)			
		给药前	给药 24 h	给药 48 h	给药 72 h
对照组	10	539±18	499±13	457±25	465±16
AA-B	10	534±25	452±18*	384±12#	410±31
AA-C	10	545±20	411±15*	287±17#	350±22

注:给药 24 h 后,组间比较, $F=196.384, P=0.000$; 与对照组相比, AA-B、AA-C 分别为 $F=3.867, 12.357, P=0.031, 0.017$; 给药 48 h 后,组间比较 $F=146.982, P=0.000$, 与对照组相比, AA-B、AA-C 分别为 $F=12.167, 29.453, P=0.009, 0.001$

Note: The changes of GSH-PX activity, 24 hours after administration, compared among these groups, $F=196.384, P=0.000$; compared with control group, $F=3.867, 12.357, P=0.031, 0.017$ in AA-B, AA-C group respectively; 48 hours after administration, compared among these groups, $F=146.982, P=0.000$; compared with control group, $F=12.167, 29.453, P=0.009, 0.001$ in AA-B, AA-C group respectively

H₂O₂ 和 T-SOD 活力变化不明显 ($P<0.05$), AA-B、AA-C 均明显持续下降, 实验组与对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.01$)。组间比较结果 GSH-PX 活力 ($F_{BC}=13.035, P=0.001$); T-SOD 活力 ($F_{BC}=18.584, P=0.001$); H₂O₂ ($F_{BC}=16.681, P=0.002$)。给药 72 h 后, 实验组与对照组大鼠血液中 GSH-PX 活力、T-SOD 活力和 H₂O₂ 均有回升。

3 讨论

关于隐性失血的机制学说有很多^[7-9], 但尚未定论。前期对 FFA 的另一重要成分亚油酸做了实验研究, 发现亚油酸能够诱导氧化应激作用, 导致红细胞的急性损伤^[10]; 花生四烯酸作为亚油酸的代谢产物

表 4 对照组与花生四烯酸组给药前后 H₂O₂ 比较($\bar{x}\pm s$)

Tab.4 Comparison of H₂O₂ levels between control group and AA groups pre-and post-treatment($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	H ₂ O ₂ 含量(mmol/L)			
		给药前	给药 24 h	给药 48 h	给药 72 h
对照组	10	28.72±1.75	25.91±2.31	22.52±1.88	24.15±2.10
AA-B	0	30.15±1.22	19.20±0.56*	16.55±2.45*	18.88±2.05
AA-C	10	32.35±1.55	18.56±1.05*	14.05±2.25*	17.32±0.68

注:给药 24 h 后,组间比较, $F=45.155, P<0.01$; 与对照组相比, AA-B、AA-C 分别为 $F=8.258, 13.697, P=0.028, 0.013$; 给药 48 h 后, 组间比较 $F=65.763, P=0.000$, 与对照组相比, AA-B、AA-C 分别为 $F=28.964, 31.238, P=0.002, 0.001$

Note: The changes of H₂O₂ levels, 24 hours after administration, compared among these groups, $F=45.155, P<0.01$; compared with control group, $F=8.258, 13.697, P=0.028, 0.013$ in AA-B, AA-C group respectively; 48 hours after administration, compared among these groups, $F=65.763, P=0.000$; compared with control group, $F=28.964, 31.238, P=0.002, 0.001$ in AA-B, AA-C group respectively

之一,同时也是 FFA 的重要成分之一,其对红细胞损伤的相关性及作用机制也将通过本实验得以验证和阐明。

3.1 花生四烯酸与红细胞损伤密切相关

RBC 和 Hb 是判断红细胞损伤的良好指标,花生四烯酸组 RBC、Hb 含量均有不同程度的降低,其原因有以下 3 个方面:(1)由于实验所采集血液样本占 SD 大鼠体内血液含量的 2.8%~4.2%,血标本采集会直接导致 RBC、Hb 含量降低;(2)静脉注入乙醇稀释液,本身可能会引起红细胞体积增大,出现细胞溶解、破裂^[11];(3)在给药过程中大鼠受到惊吓刺激,应激性反应导致造血功能低下,红细胞寿命缩短,并导致红细胞破坏加重^[12]。本研究实验组中的花生四烯酸对 RBC 有明显破坏作用,造成 RBC 和 Hb 急性损伤,引起了隐性失血。

3.2 RBC 和 Hb 的损伤机制为花生四烯酸所诱导

的氧化应激反应

Ferryl 血红蛋白是高铁血红蛋白在强氧化剂作用下生成的四价铁(Fe⁴⁺=O₂)血红蛋白,从而失去了携带运输氧的功能^[13]。与此同时,有研究表明,血红蛋白被氧化为 Ferryl 血红蛋白过程中往往会诱发脂质过氧化反应,加重脂质细胞膜的破坏^[14]。过氧化氢则是在体内各种条件下参与细胞严重损害的活性氧之一,也与贫血的发生息息相关。花生四烯酸能诱导氧化应激反应,刺激活性氧的产生,可导致细胞膜通透性改变出现了皱缩及异形性改变,同时强烈的氧化作用也可以直接导致细胞的破坏裂解^[15]。与此同时,笔者通过监测血液中抗氧化剂 GSH-PX 及 T-SOD 的活力变化进一步佐证了这一说法。

GSH-PX 广泛存在于机体内,它的主要作用是催化 H₂O₂ 的分解,通过特异性的催化还原型谷胱甘肽对 H₂O₂ 的还原反应,可以起到保护细胞膜结构和功能完整的作用^[16]。实验中通过测量 GSH-PX 的酶促反应速度,间接计算出 GSH-PX 的活力,同时估计脂质过氧化的程度,间接地反映机体细胞受氧自由基损伤的情况^[17]。在给药 24 h 后,实验组与对照组 GSH-PX 活力下降;给药 48 h 后 GSH-PX 活力及 H₂O₂ 含量持续下降;给药 72 h 后,随着花生四烯酸分解代谢,其作用逐步消退,抗氧化剂的活力也得以回升,氧化应激诱导作用减弱,机体内氧化还原反应也将回归平衡状态。这在对 T-SOD 活力的检测中也得以证实。

血液中的 SOD 对超氧阴离子自由基有特异性抑制作用,能够有效清除超氧阴离子(O₂⁻),从而保护细胞免受损伤^[17]。有研究表明,FFA 可刺激中性粒细胞产生过氧化氢和次氯酸^[1]。给药 24 h 后,红细胞急性损伤,伴随 SOD、GSH-PX 活力也降低;给药 48 h 后,红细胞表面的 GSH-PX、T-SOD 被大量耗竭而持续下降;与此同时 H₂O₂ 受 Mn-超氧化物歧化酶(Mn-SOD)和 Zn-超氧化物歧化酶(Zn-SOD)的作

表 5 对照组与花生四烯酸组给药前后 T-SOD 活力比较($\bar{x}\pm s$)

Tab.5 Comparison of T-SOD activity between control group and AA groups pre-and post-treatment($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	T-SOD 活力(U/ml)			
		给药前	给药 24 h	给药 48 h	给药 72 h
对照组	10	217.15±15.48	210.35±17.26	200.96±15.35	205.03±18.42
AA-B	10	220.18±23.65	196.65±12.31	152.95±24.38	174.45±17.19
AA-C	10	227.87±25.22	193.15±19.31	134.28±15.46	155.25±12.14

注:给药 24 h 后,组间比较, $F=135.417, P=0.000$; 与对照组相比, AA-B、AA-C 分别为 $F=3.089, 5.342, P=0.042, 0.034$; 给药 48 h 后, 组间比较 $F=171.246, P=0.000$, 与对照组相比, AA-B、AA-C 分别为 $F=21.554, 29.361, P=0.004, 0.002$

Note: Changes of T-SOD activity, 24 hours after administration, compared among these groups, $F=135.417, P=0.000$; compared with control group, $F=3.089, 5.342, P=0.042, 0.034$ in AA-B, AA-C group respectively; 48 hours after administration, compared among these groups, $F=171.246, P=0.000$; compared with control group, $F=21.554, 29.361, P=0.004, 0.002$ in AA-B, AA-C group respectively

用转化为 H_2O 和 O_2 , 或经谷胱甘肽作用直接转化为 H_2O , 最终导致 H_2O_2 含量也明显降低; 给药 72 h 后, 血液中的高浓度 AA 逐步代谢后, 血液中的氧化应激相关酶的物质也回归平衡。

3.3 游离脂肪酸与隐性失血的关系

FFA 对机体组织细胞的损伤主要是诱导人中性粒细胞释放超氧基, 并可以通过激活受体交互作用蛋白 1, 产生大量 ROS; 同时抑制线粒体呼吸链中的复合酶 I 和 III 的活性, 增加线粒体膜的流动性, 诱导 ROS 的产生; 再者环氧酶、脂氧酶途径代谢也能生成大量活性氧, 包括脂质过氧化物和超氧阴离子, 加重氧化应激^[2,18]。表明花生四烯酸对红细胞的急性损伤作用机制与 FFA 相近, 也是通过诱导机体的氧化应激作用, 造成红细胞的急性损伤。

实验结果表明花生四烯酸诱导的氧化反应能够氧化破坏红细胞, 导致机体发生隐性失血。研究的不足之处是没能加入有效的抗氧化剂行干涉实验, 抗氧化剂的应用及对比分析将加强研究结论; 同时抗氧化剂类药物在髋膝关节置换围手术期的应用及其疗效研究, 也将进一步为解释隐性失血病理机制提供循证依据。

参考文献

- [1] Liu M, Boussetta T, Makni-Maalej K, et al. Protectin DX, a double lipoxygenase product of DHA, inhibits both ROS production in human neutrophils and cyclooxygenase activities[J]. *Lipids*, 2014, 49(1): 49-57.
- [2] 张波, 庞清江, 章海均, 等. 全膝关节置换术后隐性失血的研究进展[J]. *中国骨伤*, 2012, 28(9): 788-792.
Zhang B, Pang QJ, Zhang HJ, et al. Progress on recessive blood loss after total knee arthroplasty[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2012, 28(9): 788-792. Chinese with abstract in English.
- [3] Bao N, Meng J, Zhou L, et al. Lesser trochanteric osteotomy in total hip arthroplasty for treating CROWE type IV developmental dysplasia of hip[J]. *Int Orthop*, 2013, 37(3): 385-390.
- [4] 丛宇, 赵建宁, 包倪荣, 等. 隐性失血对全膝关节置换术后功能恢复影响的临床观察[J]. *中国骨伤*, 2011, 24(6): 466-468.
Cong Y, Zhao JN, Bao NR, et al. Prognostic significance of hidden blood loss in total hip arthroplasty (THA)[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2011, 24(6): 466-468. Chinese with abstract in English.
- [5] Yeo SH, Chang HW, Sohn SI, et al. Pulmonary and cerebral fat embolism syndrome after total knee replacement[J]. *J Clin Med Res*, 2013, 5(3): 239-242.
- [6] Akoh CC, Schick C, Otero J, et al. Fat embolism syndrome after femur fracture fixation: a case report[J]. *Iowa Orthop J*, 2014, 34: 55-62.
- [7] Smith GH, Tsang J, Molyneux SG, et al. The hidden blood loss after hip fracture[J]. *Injury*, 2011, 42(2): 133-135.
- [8] Liu X, Zhang X, Chen Y, et al. Hidden blood loss after total hip arthroplasty[J]. *J Arthroplasty*, 2011, 26(7): 1100-1105.
- [9] 李顺东, 许超, 童培建. 髋部手术围手术期隐性失血的研究进展[J]. *中国骨伤*, 2014, 27(10): 882-886.
Li SD, Xu C, Tong PJ. Progress on peri-operative hidden blood loss after hip fracture[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2014, 27(10): 882-886. Chinese with abstract in English.
- [10] 袁涛, 丛宇, 赵建宁, 等. 亚油酸与红细胞急性损伤: 人工关节置换后隐性失血的发病机制[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(48): 7739-7744.
Yuan T, Cong Y, Zhao JN, et al. Linoleic acid and acute red blood cells injury: mechanism of hidden blood loss after artificial joint replacement[J]. *Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu*, 2014, 18(48): 7739-7744. Chinese.
- [11] Mohamed EA, Lim CP, Ebrika OS, et al. Toxicity evaluation of a standardised 50% ethanol extract of *Orthosiphon stamineus*[J]. *J Ethnopharmacology*, 2011, 133(2): 358-363.
- [12] Tripette J, Connes P, Beltan, et al. Red blood cell deformability and aggregation, cell adhesion molecules, oxidative stress and nitric oxide markers after a short term, submaximal, exercise in sickle cell trait carriers[J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2010, 45(1): 39-52.
- [13] Osborne RL, Coggins MK, Raner GM, et al. The mechanism of oxidative halophenol dehalogenation by *Amphitrite ornata* dehaloperoxidase is initiated by H_2O_2 binding and involves two consecutive one-electron steps: role of ferryl intermediates[J]. *Biochemistry*, 2009, 48(20): 4231-4238.
- [14] 谢健, 童培建, 单乐天, 等. H2O2 氧化应激诱导兔椎间盘髓核细胞衰老的研究[J]. *中国骨伤*, 2013(4): 332-335.
Xie J, Tong PJ, Shan LT et al. Research of oxidative stress induces aging in rabbit intervertebral disc nucleus pulposus cells injured by H_2O_2 [J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2013(4): 332-335. Chinese with abstract in English.
- [15] Gutteridge JMC. Ferryl ($Fe^{3+}-O^2-$) and ferryl (FeO^{2+}) ions[M]. *Oxidative Damage & Repair: Chemical, Biological and Medical Aspects*, 2013: 355.
- [16] Dunning S, Ur Rehman A, Tiebosch MH, et al. Glutathione and antioxidant enzymes serve complementary roles in protecting activated hepatic stellate cells against hydrogen peroxide-induced cell death[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(12): 2027-2034.
- [17] Wang HF, Zhong XH, Shi W, et al. Study of malondialdehyde (MDA) content, superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities in chickens infected with avian infectious bronchitis virus[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2013, 10(45): 9213-9217.
- [18] Hatanaka E, Dermargos A, Hirata AE, et al. Oleic, linoleic and linolenic acids increase ROS production by fibroblasts via NADPH oxidase activation[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e58626.

(收稿日期: 2015-04-19 本文编辑: 李宜)