文章编号:1000-5404(2005)06-0477-03

论著

兔肢体火器伤海水浸泡后伤道周围骨骼肌组织能量代谢变化特点

朱方强,黄 宏,王正国,赖西南,王丽丽,张良潮 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所第六研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400042)

提 要:目的 观察兔肢体火器伤合并海水浸泡时伤道周围骨骼肌组织能量代谢变化特点,为其治疗提供确实可靠的理论依据。**方法** 以高速钢珠射击兔后肢,速度为600~800 m/s,伤后将实验兔随机分为海水浸泡组和单致伤组。将浸泡组兔浸泡于人工配制的海水中30 min,于伤前及伤后3、6、12、24 h分别切取距伤道壁0.5 cm(挫伤区,A区)、1.5 cm(振荡区,B区)处组织,测定 Na^+-K^+-ATP酶活性和ATP含量,以及观察超微结构。**结果** 海水浸泡组各区骨骼肌组织 Na^+-K^+-ATP酶活性、ATP含量均呈伤后3 h较伤前明显下降的趋势($P<0.01$),6~12 h回升,24 h再次呈下降的趋势,这与病理观察发现的挫伤区和振荡区肌组织的线粒体形态结构的动态变化时相是一致的。**结论** 肢体火器伤合并海水浸泡,伤后6~12 h骨骼肌组织能量代谢有一代偿过程,为外科清创的最佳时机。

关键词: 海水浸泡;火器伤;Na^+-K^+-ATP酶;ATP;超微结构

中图法分类号: R337; R826.5 **文献标识码:** A

Characteristic changes of energy metabolism in skeletal muscle of rabbit limbs wounded with firearm after seawater immersion

ZHU Fang-qiang, HUANG Hong, WANG Zheng-guo, LAI Xi-nan, WANG Li-li, ZHANG Liang-chao (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 6, Institute of Surgery Research, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To observe the characteristic changes of energy metabolism in skeletal muscle of rabbit limbs wounded with firearm after seawater immersion. **Methods** The rabbit thighs were shot with high velocity steel ball and then randomly assigned into the seawater immersion (SI) group and the simple wound (SW) group. The animals in SI group were soaked in artificial seawater for 30 min and the skeletal muscle samples were taken from 0.5 cm (zone A), 1.5 cm (zone B) away from the wound tracks before and 3, 6, 12 and 24 h after trauma. The activities of Na^+-K^+-ATPase and the contents of adenosine triphosphate (ATP) were assayed. **Results** Na^+-K^+-ATPase activities and ATP content in the 2 zones of the skeletal muscle of SI group at 3 h after trauma decreased obviously ($P<0.01$) and went up form 6 to 12 h, then decreased again at 24 h as compared with those before trauma. The dynamic change of Na^+-K^+-ATPase activities and ATP content is consistent with the characteristic change of muscle tissue mitochondria. **Conclusion** There is a compensation course in energy metabolism of skeletal muscle of rabbit limbs wounded with firearm after seawater immersion at 6 – 12 h post-trauma, which is a best period of time to carry on surgical debridement.

Key words: seawater immersion; firearm wound; Na^+-K^+-ATPase; ATP; ultrastructure

在海战中,四肢火器伤的发生率高达40%~60%,同时常有不同程度的海水浸泡[1,2]。探讨海水浸泡肢体火器伤骨骼肌组织的能量代谢特点和病理变化特点,有助于提高海战早期救治水平,尤其是外科清创时机的选择。

1 材料与方法

1.1 实验动物和方法

采用健康大白兔24只(由第三军医大学大坪医院实验动物中心提供),雌雄不限,体质量2.5~3.5 kg,以3%戊巴比妥钠麻醉。用7.62 mm滑膛枪,发射质量为0.25 g、速度600~800 m/s的钢珠,射距3.5 m;以激光测速装置测定钢珠靶前、靶后速度,计算传递能量。钢珠弹着点为兔后肢股部肌肉丰满处,避免直接伤及股骨、大血管及神经。伤后立即包扎,输入失血量3~4倍的平衡盐液。

伤后将致伤兔分为两组,即海水浸泡组(seawater immersion group, SI)14只和单致伤组(simple wound group, SW)10只。将海水浸泡组实验兔浸入由粗制海盐配制的人工海水中(盐度

基金项目:全军"九五"指令性课题(96L004)
Supported by the Mandatory Scientific Research Project of the "Ninth Five-year Plan" of PLA (96L004)

作者简介:朱方强(1965-),男,四川省宜宾市人,硕士研究生,主治医师,主要从事泌尿外科、感染方面的研究。电话:(023)68757344

收稿日期:2004-10-09;修回日期:2005-01-28

2.54%，pH 8.4，水温 21 ℃）30 min 后出水，更换包扎敷料，热风吹干水迹。实验室温度 25 ℃。单致伤组除不浸泡海水外，其余处理及取材相同。伤前切取非致伤侧后肢大腿肌肉为伤前对照。

1.2 测定指标

动物伤后 3、6、12、24 h，分别沿肌纤维走向手术切取距伤道边缘 0.5 cm（A 区）、1.5 cm（B 区）处的肌组织，立即置于液氮保存待测下述项目：采用改良的 Goldberg 法测 Na^+-K^+-ATP 酶活性[3]；以虫荧光素酶发光法测定 ATP 含量[4]；以 Lowry 法测定标本蛋白含量；部分取材固定于 2.5% 戊二醛中，进行电镜标本常规处理、观察。

1.3 统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 11.0 统计软件进行 t 检验和相关分析。

2 结果

2.1 钢珠弹初速、能量和伤道情况

钢珠弹初速为（775.24 ± 45.93）m/s，靶后速度为（632.78 ± 73.29）m/s，传递能量为（25.95 ± 8.34）J，伤道长度为 25 mm，平均传递能量为（1.03 ± 0.33）J/mm。骨骼肌 Na^+-K^+-ATP 酶活性：海水浸泡组各区骨骼肌 Na^+-K^+-ATP 酶活性均明显低于伤前，下降幅度与距伤道壁距离呈反比，并呈现伤后 3 h 下降，6～12 h 明显较 3 h 回升，24 h 较 12 h 有下降趋势。伤后单致伤组 Na^+-K^+-ATP 酶活性下降趋势与海水浸泡组相同，但下降幅度小于海水浸泡组，尤以伤后 3 h 明显，见表 1。

2.2 骨骼肌 ATP 含量变化

海水浸泡组各区骨骼肌 ATP 含量均明显低于伤前，下降幅度与距伤道壁距离呈反比，并呈现伤后 3 h 下降，6～12 h 明显较 3 h 回升，24 h 较 12 h 有下降的趋势。伤后单致伤组 ATP 含量下降趋势与海水浸泡组相同，但下降幅度小于海水浸泡组，尤以伤后 3 h 明显。SI 组与 SW 组比较，伤后 3、12 h 和 24 h，SI 组的骨骼肌 ATP 含量明显高于 SW 组。伤后骨骼肌 ATP 含量变化与 Na^+-K^+-ATP 酶活性呈明显正相关（海水浸泡组 $r = 0.98$，$P < 0.01$；单致伤组 $r = 0.79$，$P < 0.01$），见表 2。

表 1 两组伤后骨骼肌 Na^+-K^+-ATP 酶活性变化（$\mu mol \cdot mg^{-1} \cdot h^{-1}$，$\bar{x} \pm s$）

Tab 1 Changes of Na^+-K^+-ATPase activities in skeletal muscle of two groups ($\mu mol \cdot mg^{-1} \cdot h^{-1}$, $\bar{x} \pm s$)

Peri-wound zone (cm)	Pretrauma	Post-trauma							
		3 h		6 h		12 h		24 h	
		SI	SW	SI	SW	SI	SW	SI	SW
A(0.5)	0.67 ± 0.11	0.06 ± 0.01 **△	0.08 ± 0.01 **	0.13 ± 0.05 **	0.11 ± 0.01 **	0.39 ± 0.04 **△	0.42 ± 0.04 *	0.22 ± 0.03 **△	0.25 ± 0.02
B(1.5)		0.08 ± 0.01 **△△	0.12 ± 0.01 **	0.19 ± 0.06 **	0.16 ± 0.04 **	0.38 ± 0.04 **△	0.47 ± 0.06 *	0.30 ± 0.05 **	0.30 ± 0.02

*：$P < 0.05$，**：$P < 0.01$，*vs* pretrauma；△：$P < 0.05$，△△：$P < 0.01$，*vs* SW

表 2 两组伤后骨骼肌 ATP 含量变化（nmol/mg，$\bar{x} \pm s$）

Tab 2 Changes of ATP contents in skeletal muscle of two groups (nmol/mg, $\bar{x} \pm s$)

Peri-wound zone (cm)	Pretrauma	Post-trauma							
		3 h		6 h		12 h		24 h	
		SI	SW	SI	SW	SI	SW	SI	SW
A(0.5)	17.74 ± 0.81	1.44 ± 0.45 **△△	2.50 ± 0.26 **	4.15 ± 0.10 **	3.84 ± 0.17 **	8.47 ± 0.32 **△△	9.40 ± 0.15 *	5.48 ± 0.21 **△△	6.97 ± 0.36 **
B(1.5)		2.45 ± 0.65 **△△	3.72 ± 0.23 **	4.38 ± 0.16 **	4.10 ± 0.05 **	10.01 ± 0.68 **△△	12.94 ± 0.41 **	6.34 ± 0.29 **△△	7.82 ± 0.33 **

*：$P < 0.05$，**：$P < 0.01$，*vs* pretrauma；△：$P < 0.05$，△△：$P < 0.01$，*vs* SW

2.3 骨骼肌超微结构变化

2.3.1 单致伤组（未浸泡组） 挫伤区（A 区）：伤后 3 h，部分肌纤维断裂成碎片，部分肌原纤维出现不同程度变性、坏死，变性肌纤维表现为 Z 线排列紊乱，呈锯齿状，I 带消失，M 线模糊不清。局灶性肌原纤维溶解、消失或排列紊乱，其间可见絮状物、空泡和线粒体。肌纤维间有大量大小不一的空泡形成，多为肌膜下扩张的肌浆网，线粒体呈轻至中度肿胀，其嵴减少或断裂，基质电子密度下降。

伤后 6 h，肌原纤维溶解、坏死加重，肌原纤维变性也更为明显，部分坏死肌原纤维形成团块状的无结构物质，电子密度较高，一些变性细胞器、空泡游离于坏死组织之间。部分肌间隙空泡增多、增大，可见沿肌纤维纵轴成串排列的大小不一的线粒体，线粒体肿胀、空化、气球样变非常明显，其中出现少量结构、形态、电子密度相对正常的线粒体。

伤后 12 h，形态、结构相对正常的线粒体更为多见，即线粒体增生改变明显，其余改变不显著。至伤后 24 h，线粒体则再度空化、髓鞘样变，而肌原纤维的溶解、坏死面积也明显扩大。

震荡区（B 区）：伤后 3 h，肌纤维轻度肿胀，肌间隙较宽，其间可间较多细小空泡、髓鞘样结构、轻中度肿胀的线粒体。肌原纤维变性，Z 线呈阶梯状排列或错位排列，部分肌原纤维呈波纹状改变。可见少量局灶性肌浆溶解，肌丝离散、溶解或消失。

伤后 6 h，局灶肌浆溶解有所增多，线粒体明显肿胀，部分线粒体嵴少、断离甚至空化或髓鞘样变，同时可见少量形态结构相对正常的线粒体。而伤后 12 h，主要是线粒体增生明显。至伤后 24 h，线粒体则发生肿胀、空化、髓鞘样变，肌原纤维的溶解、坏死，较伤后 3 h 有所增加。

2.3.2 海水浸泡组 挫伤区（A 区）：伤后 3 h，大部分肌纤维失去正常的超微结构。部分肌纤维断裂呈碎片，且电子密度增高，肌节消失。肌原纤维出现不同程度变性、溶解、坏死和离散，Z 线增宽、模糊，其余改变同未浸泡组，只是程度加重。肌间隙增宽，其间有一些中等电子密度的絮状物、变性细胞器、大小不一的空泡和大量肿胀、空化线粒体。线粒体高度肿胀，基质

稀释，透明，嵴排列紊乱，断裂或数目减少，基质颗粒消失，尚可见到成堆的变性、肿胀线粒体。

伤后 6 h，肌原纤维坏死较彻底，肌纤维的正常超微结构完全消失。在见到大量线粒体变性改变的同时，尚可见少量形态结构和电子密度相对正常的线粒体。12 h 最为显著，至 24 h 线粒体再度肿胀、变性以及髓鞘样变。

震荡区（B 区）：伤后 3 h，肌原纤维改变同单纯火器伤组，只是局灶性肌原纤维溶解更为多见，肌纤维肿胀更为明显，肌间隙变窄甚至消失，其间仍可见一些小空泡和大量肿胀、空化的变性线粒体。

伤后 6 h，除了肿胀、空化、髓鞘样变的线粒体外，尚可见到成堆增生、肥大的线粒体，线粒体体积大、嵴增多、基质密度正常，基质内散在少量高电子密度的致密颗粒。12 h 线粒体增多更为明显，这些线粒体的形态和电子密度均正常；伤后 24 h 大量线粒体则再度出现退行性变，同时肌原纤维溶解、坏死也明显加重。

3　讨论

本实验参照我国特定海域的盐度及年平均水温，以粗制海盐配制模拟海水，建立海水浸泡兔肢体弹道伤实验模型，探讨这类损伤病理及病理生理机制。海水浸泡组与单致伤组比较，前者有如下特点：伤后 3 h，挫伤区（A 区）肌原纤维的变性、坏死较单致伤组明显加重；震荡区（B 区）肌原纤维肿胀明显，肌间隙明显变窄，甚至消失，肌原纤维溶解、坏死灶明显增大、增多；线粒体肿胀、退变较单致伤组更为明显。此外，不论是海水浸泡组或是单致伤组，线粒体于伤后 3 h 出现肿胀、空化和髓鞘样变，6 h 则出现增生性改变，12 h 增生性改变尤为明显，24 h 再度改变，海水浸泡组线粒体的损伤性改变较单致伤组为重。火器伤后肌组织线粒体的这一动态变化过程在以往国内外文献中尚少见报道。因此，本实验病理观察结果显示：致伤后 3 h 各实验组均有明显超微结构改变，病变类型相同，仅存在损伤程度的差异，海水浸泡组肌组织损伤程度较单致伤组明显加重，尤其是伤后 24 h，海水浸泡组震荡区（B 区）出现大面积坏死灶。光镜观察也显示伤后 24 h，肌组织出现大面积坏死[5]。因此，早期清创手术显得尤为重要，可以减轻继发损伤。

火器伤外科清创黄金时间通常认为是伤后 6 ~ 12 h 为佳[6,7]，但没有充分的理论依据支持这一时间的选择，仅凭临床经验发现在伤后 6 h 清创效果最佳。而本实验结果为这一临床经验发现提供了最为有力的理论支持。

本实验结果显示，无论是海水浸泡组还是单致伤组均发现伤后 3 h，线粒体变性坏死明显，而伤后 6 h 出现线粒体增生性改变，12 h 增生明显，24 h 线粒体再度发生退行性变。线粒体内膜的基粒即为 ATP 酶，ATP 的生成主要是在线粒体内进行。生化结果显示：各实验组骨骼肌组织 ATP 酶活性和 ATP 含量于伤后 3 h 显著下降（$P < 0.01$），6 h 开始回升，12 h 达峰值，24 h 再次下降，由此可见 ATP 酶活性和 ATP 含量的动态变化与线粒体经历的变性、代偿性增生和再退变过程是一致的。同时，与单致伤组比较，海水浸泡组 ATP 酶活性和 ATP 含量下降幅度明显，这与线粒体超微结构改变是一致。这些变化特点提示：海水浸泡伤较单纯火器伤严重，海水浸泡伤清创应尽早争取在伤后 6 ~ 12 h 进行，可以大大减少继发性肌肉坏死。

海水浸泡伤的损伤程度不仅与海水里浸泡的时间有关，还与海水所含的致病菌、海水的高渗、碱性、低温等特性有关[8]，后者可以直接加重火器伤局部组织的损伤。此外，组织的缺血缺氧造成的线粒体损伤能进一步加重组织的继发性损伤。本实验观察到的线粒体这一动态变化特点在以往文献中少见报道。线粒体是对各种损伤最为敏感的细胞器之一，其中最常见的损伤因素为缺氧，此外生物毒素、渗透压改变亦可引起线粒体损伤[9]。线粒体的肥大和增多是细胞对损伤因子出现的代偿性反应和适应性反应，线粒体有自我复制能力，线粒体的这一变化特点正是细胞对损伤因子出现的保护性反应[10]。海水浸泡伤肌组织肿胀和低温海水（21 ℃）均可加重局部血液循环障碍，加重肿胀缺血缺氧，缺血缺氧首先受累的即为线粒体。急早清创、复温可改善局部循环障碍和缺氧状况，从而阻止或减少线粒体在 12 h 后的再度退变，减少肌组织坏死面积。

参考文献：

[1] Harvison J. Naval medicine in the Falklands conflict April-July 1982: overall policy and operations[J]. Trans Med S Lond, 1984, (99-100): 75 - 81.

[2] 龚锦涵. 航海医学[M]. 北京：人民军医出版社，1996. 558 - 560.

[3] Goldberg W J, Watson B K, Busto R, *et al*. Concurrent measure-ment of Na^+ - K^+ - ATPase activity and lipid peroxides in ratbrain following reversible global ischemia[J]. Neurochem Res, 1984, 9(12): 1737 - 1747.

[4] 严　涛. 组织 ATP、ADP、AMP 的荧光素酶系测定[J]. 第三军医大学学报，1989, 9(4): 294 - 296.

[5] 黄　宏，王正国，赖西南. 浸泡弹道伤骨骼肌组织的病理变化[J]. 第三军医大学学报，2001, 23(7): 753 - 755.

[6] 程天民. 创伤战伤病理学[M]. 北京：解放军出版社，1992. 156 - 166.

[7] 柳荫秋，王正国，马玉媛. 创伤弹道学[M]. 北京：人民军医出版社，1991. 167 - 197.

[8] 黄　宏，王正国，赖西南，等. 海水浸泡弹道伤骨骼肌组织的病理变化[J]. 第三军医大学学报，1999, 23(7): 753 - 755.

[9] 刘发全. 细胞坏死的研究近况[J]. 国外医学生理病理科学与临床分册，2003, 23(6): 618 - 662.

[10] Shoftner J M, Wallace D C. 陈　敏 译. 线粒体遗传：原理和实践[J]. 国外医学遗传学分册，1994, (2): 76 - 80.

（编辑　栾　嘉）