DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.19.020
第25卷第19期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 19
2003年10月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Oct. 2003

文章编号:1000-5404(2003)19-1731-03

论著

二氮嗪对严重烧伤大鼠心肌损害的保护作用及其机制

梁晚益,黄跃生,杨宗城 (第三军医大学附属西南医院全军烧伤研究所,创伤烧伤复合伤国家重点实验室,重庆 400038)

提 要:目的 探讨二氮嗪对严重烧伤早期心肌损害的保护作用及其机制。方法 健康成年Wistar大鼠24只,随机分为正常对照组、烧伤组和烧伤二氮嗪处理组($n=8$)。烧伤组、烧伤二氮嗪处理组大鼠造成30%TBSA Ⅲ度烧伤,伤后30 min经腹腔补液,烧伤二氮嗪处理组同时于颈外静脉推注二氮嗪(剂量10 mg/kg)。烧伤组和烧伤二氮嗪处理组动物于伤后6 h抽血并活杀,测定线粒体K^+内流、呼吸功能、Ca^{2+}浓度([Ca^{2+}]m)、MDA及血清LDH、CK。结果 二氮嗪处理组线粒体K^+内流速率明显高于正常组与烧伤组,且线粒体呼吸控制率(RCR)、Ⅲ态呼吸速率(ST_3)明显高于烧伤组,而[Ca^{2+}]m、MDA含量显著低于烧伤组,Ⅳ态呼吸速率(ST_4)与正常对照组无显著差异;同时二氮嗪处理组血清CK、LDH显著低于烧伤组,分别是烧伤组的63.7%和52.0%。结论 二氮嗪可减轻严重烧伤早期心肌细胞损害,其机制可能与开放线粒体K^+通道,抑制线粒体Ca^{2+}超载及减少自由基产生有关。

关键词:烧伤;二氮嗪;线粒体;心肌
中图法分类号:R972.4;R644;R322.11 文献标识码:A

Protective effects of diazoxide on cardiomyocytes after severe burn injury and the related mechanism

LIANG Wan-yi, HUANG Yue-sheng, YANG Zong-cheng (Institute of Burn Research, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To investigate the protective effects of diazoxide on cardiomyocytes after severe burn injury. **Methods** A total of 24 healthy Wistar rats were randomized into normal control group (Control), burn group (Burn) and diazoxide-treated group (Diazo) ($n=8$). Rats in Burn and Diazo groups were inflicted with 30%TBSA Ⅲ degree burn and resuscitated with Ringer's solution intraperitoneally 30 min after burn. Diazoxide was injected into rats in Diazo group at the dose of 10 mg/kg through the external jugular vein. After rats were sacrificed at 6 h after burn, myocardial mitochondrial K^+ influx, respiratory function, Ca^{2+} concentration ([Ca^{2+}]m), MDA content, serum CK and LDH levels were determined. **Results** Mitochondrial K^+ influx of Diazo group was evidently higher than that in Control and Burn group. Mitochondrial respiratory control rate (RCR) and ST_3 in Diazo group were higher than that in Burn group. However, [Ca^{2+}]m, MDA, CK and LDH levels in Diazo group were significantly lower than those in Burn group. **Conclusion** Diazoxide can attenuate the damage to cardiomyocytes after severe burn injury, which might be related to the opening of mitochondrial K^+ channel, inhibition of mitochondria from Ca^{2+} overloading and decrease of free radical production.

Key words: burn; diazoxide; mitochondria; myocardium

严重烧伤后心肌损害与血容量不足导致心功能明显下降,出现烧伤后"休克心现象"[1]。减轻心肌损害、保护与恢复心功能是烧伤后抗休克的重要任务之一。我所既往研究表明,线粒体损害、能量代谢障碍是烧伤后心肌细胞损害和心功能下降的重要原因[2]。ATP敏感的线粒体K^+通道(Mitochondrial adenosine triphorphate-deperdent potarsium channel, MitoKATP)是细胞能量代谢的重要调节器,mitoKATP开放剂可促进K^+与H_2O进入线粒体,使其体积增大,加强线粒体呼吸功能[3]。本研究探讨mitoKATP开放剂二氮嗪对烧伤后心肌细胞的保护作用及其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 动物致伤模型与分组

健康成年Wistar大鼠24只,体质量(200±20)g,领回后喂养4~5 d以适应环境,随机分为正常对照组(Control)、烧伤组(Burns)、烧伤二氮嗪处理组(Diazo)($n=8$)。大鼠背部脱毛后,烧

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目("973"项目)(G1999054202),国家杰出青年科学基金资助项目(30125040),全军"十五"指令性课题(01L066),教育部高等学校骨干教师资助计划项目(2000),全军首批临床高新技术重大项目(2002)

作者简介:梁晚益(1967-),男,湖南省涟源市人,主治医师,博士,讲师,主要从事烧伤后脏器功能损害及瘢痕增生防治方面的研究。电话:(023)68754148-8064

收稿日期:2003-08-11;修回日期:2003-08-25

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

伤组、烧伤治疗组置脱毛区于92 ℃水浴中18 s，造成30%TBSA Ⅲ度烫(烧)伤，伤后30 min经腹腔注射乳酸林格液(每1%烧伤面积补液量2 ml/kg)，烧伤二氮嗪处理组同时于颈外静脉推注二氮嗪(剂量10 mg/kg)。正常对照组大鼠置脱毛区于37 ℃ 18 s，不进行补液及药物干预。各组大鼠均于6 h后抽血并活杀取心。

1.2 指标检测

1.2.1 线粒体分离 参照Zydocvo等[4]的方法。分离介质：0.25 mol/L蔗糖10 mmol/L Tris-HCl pH 7.4(去离子水配制)，4 ℃条件下分离心肌线粒体，1 h内完成。

1.2.2 线粒体呼吸功能测定 参照Poderoso等[5]的方法，以苹果酸钠和谷氨酸钠为底物，用BOM^{3}耗氧测量仪测定心肌线粒体呼吸功能并计算呼吸控制率(Respiratory control rate，RCR)和Ⅲ态呼吸速率(State 3 respiration，ST_3)、Ⅳ态呼吸速率(State 4 respiration，ST_4)。

1.2.3 线粒体K^+内流测定 按Garlid等[6]的方法进行。调线粒体蛋白至50 mg/ml；反应介质含KCl 45 mmol/L、KAc 25.4 mmol/L、TES 5 mmol/L、EGTA 0.1 mmol/L、$MgCl_2$ 1 mmol/L(pH 7.4)以及琥珀酸钠3 mmol/L、鱼藤酮2 μg/mg蛋白、细胞色素c 10 μmol/L。取反应介质3 ml于25 ℃保温10 min，加入线粒体悬液6 μl，于波长520 nm处每20 s测吸光度β一次，共测2 min，dβ/dt即可反映线粒体K^+内流情况。

1.2.4 线粒体Ca^{2+}测定 按Elizabeth等[7]的方法略作改进。线粒体悬浮于1%HCl中，150 W×10 s超声3次后，30 000×g离心60 min，取上清，邻甲酚酞络合酮显色，575 nm波长比色。

1.2.5 血清肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)及线粒体丙二醛(MDA)含量测定 用南京建成生物工程研究所提供检测试剂盒进行检测。

1.3 统计学处理

结果数据以$\bar{x}\pm s$表示，用华西医科大学Pems统计软件对实验结果进行方差分析和t检验和χ^2检验。

2 结果

2.1 二氮嗪对烧伤后心肌线粒体呼吸功能的影响

烧伤组线粒体RCR、ST_3显著低于对照组，二氮嗪处理组线粒体RCR、ST_3较烧伤组分别升高40.1%、27.1%，但仍低于正常对照组。烧伤组ST_4明显高于正常对照组，二氮嗪治疗组ST_4与对照组无明显差异($P>0.05$)，见表1。

表1 二氮嗪对烧伤后线粒体呼吸功能的影响($\bar{x}\pm s$，$n=8$)

Tab 1 Effects of diazoxide on myocardial mitochondrial respiratory function in rats after burn injury($\bar{x}\pm s$，$n=8$)

	Control	Burn	Diazo
RCR	3.82±0.36	1.97±0.28##	2.76±0.31##△△
ST_3	146.80±16.30	94.00±11.50##	119.50±13.10#△
ST_4	38.40±5.00	47.70±6.20#	43.30±6.80

#：$P<0.05$，##：$P<0.01$ *vs* control；△：$P<0.05$，△△：$P<0.01$ *vs* burn；ST_3，ST_4：as nanoatom O·mg^{-1}·min^{-1}

2.2 线粒体K^+内流变化

线粒体悬液吸光度的变化速率dβ/dt可反映线粒体K^+内流速率，见图1，烧伤组dβ/dt较正常对照组已有所升高，但差异不明显；而二氮嗪处理组dβ/dt较对照组及烧伤组均有明显升高，分别是正常对照组与烧伤组的1.73倍、1.41倍。

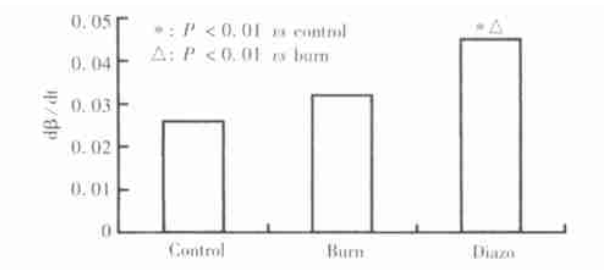


图1 二氮嗪对烧伤后心肌线粒体K^+内流的影响($n=8$)

Fig 1 Effects of diazoxide on myocardial mitochondrial K^+ influx in rats after burn

2.3 二氮嗪对烧伤后线粒体Ca^{2+}浓度及MDA含量的影响

烧伤组[Ca^{2+}]m、MDA均显著高于正常对照组，而二氮嗪处理组[Ca^{2+}]m、MDA较烧伤组分别降低36.9%、29.8%，见表2。

表2 二氮嗪对烧伤后线粒体Ca^{2+}浓度及MDA含量的影响($\bar{x}\pm s$，$n=8$)

Tab 2 Effects of diazoxide on myocardial mitochondrial [Ca^{2+}]m and MDA content in rats after burn injury($\bar{x}\pm s$，$n=8$)

	Control	Burn	Diazo
[Ca^{2+}]m(nmol·mg^{-1})	9.30±0.70	24.90±2.10##	15.70±1.50##△△
MDA(nmol·mg^{-1})	0.27±0.05	0.57±0.11##	0.40±0.06##△

##：$P<0.01$ *vs* control；△：$P<0.05$，△△：$P<0.01$ *vs* burn

2.4 二氮嗪对烧伤后血清肌酸激酶和乳酸脱氢酶的影响

烧伤组CK[(201.7±30.3) U/L]、LDH[(518.3±44.8) U]均显著高于正常对照组(42.8±10.4，121.5±17.1)、分别是对照组的4.71倍和4.27倍；二氮嗪处理组CK(128.5±25.6)、LDH(269.6±52.2)虽仍明显高于对照组，但与烧伤组相比均显著降低，分别是烧伤组的63.7%、52.0%。

3 讨论

烧伤早期脏器损害主要由缺血缺氧引起，目前临床治疗以补液抗休克为主。但对于大面积严重烧伤病人，单纯补液抗休克时仍伴有不同程度的脏器损害。心脏是机体血液循环的动力器官，在烧伤后血容量趋于下降的情况下，维护正常心功能对于保证包括心脏在内所有脏器的血氧供应具有十分重要的意义。由于严重烧伤后常出现以心肌细胞损害为实质的“休克心”现象，所以，很有必要选择适当的保护性药物减轻严重烧伤后心肌细胞损害[1]。

二氮嗪(Diazoxide)是一种苯丙噻二嗪类衍生物，曾作为一种降压药用于高血压的治疗。近年来研究表明，二氮嗪同时是一种心肌mitoKATP开放剂，具有抗心肌缺血缺氧性损伤的保护作用，且正常或血压较低条件下，二氮嗪无明显降压作用[8]。由于烧伤后“休克心”的发生与血容量减少所致缺血缺氧有关，本研究偿

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

试将二氮嗪应用于烧伤大鼠，观察其对伤后心肌细胞损害的防治效果，结果表明：二氮嗪治疗后血清 CK、LDH 均显著降低。血清肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)是衡量心肌细胞损伤重要指标。二氮嗪降低烧伤大鼠血清 CK 与 LDH，这说明其可有效减轻烧伤后心肌细胞损伤。

二氮嗪抗缺血缺氧性心肌细胞损害的机制目前尚不完全清楚，但大量研究提示可能与开放 mitoKATP 有关[9]。后者是线粒体内膜上一种选择性 K^+ 通道，可被 ATP 阻断。目前认为，mitoKATP 的功能之一是使 K^+ 进入线粒体并同时改变一定范围内的线粒体体积，调控其呼吸功能[10]。本研究烧伤二氮嗪处理组大鼠线粒体 K^+ 内流速率及线粒体呼吸功能均明显高于烧伤组，说明线粒体 K^+ 内流增加导致呼吸功能加强是二氮嗪保护烧伤后心肌细胞的具体机制之一。我所既往研究表明，线粒体 Ca^{2+} 超载与烧伤后心肌细胞损伤有关[11]。本实验二氮嗪处理组线粒体 Ca^{2+} 浓度明显低于烧伤组，说明二氮嗪开放心肌细胞 mitoKATP 后，可通过抑制线粒体 Ca^{2+} 摄取或促进其释放而减轻线粒体 Ca^{2+} 超载，从而发挥其心肌细胞保护作用。

自由基大量产生是烧伤后脏器损害的重要原因之一，而线粒体是自由基的重要来源。Han 等[12] 研究表明，mitoKATP 开放剂细胞保护作用的另一种可能机制是减少线粒体中自由基的生成。我们的实验结果也证实二氮嗪处理组心肌线粒体 MDA 含量显著低于烧伤组。提示抑制自由基产生也是二氮嗪保护细胞的机制之一。但二氮嗪通过何种机制减少自由基生成，目前尚不清楚，有待于进一步研究。

参考文献：

[1] 黄跃生，杨宗城，迟路湘，等. 烧伤后“休克心”的研究[J]. 中华烧伤杂志，2000，16(5)：275－278
[2] 梁晚益，唐立新，杨宗城，等. 大鼠严重烧伤早期心肌线粒体 F0F1-ATPase 活性变化及其对能量代谢的影响[J]. 第三军医大学学报，2001，23(7)：780－782
[3] Debska G, Kicinska A, Skalska J, *et al*. Opening of potassium channels modulates mitochondrial function in rat skeletal muscle[J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1556(2-3): 97－105.
[4] Zydocvo M M, Swierczy K J, Nagel G, *et al*. The respiration and Calcium content of heart mitochondria from rats with vitamin D induced cardionecrosis[J]. Biochem J, 1985, 226(1): 155－162.
[5] Poderoso J J, Fernadez S, Carreras M C, *et al*. Liver oxygen uptake dependence and mitochondrial function in septic rats[J]. Circ Shock, 1994, 44(2): 175.
[6] Garlid K D, Paucek P, Yarovoy V, *et al*. The mitochondrial KATP channel as a receptor for potassium channel openers[J]. J Biol Chem, 1996, 271(15): 8796－8799.
[7] Faulk E A, McCully J D, Tsukube T, *et al*. Myocardial mitochondrial Calcium accumulation modulates nuclear calcium accumulation and DNA fragmentation[J]. Ann Thorac Surg, 1995, 60: 338－344.
[8] 刘 蔚，王浩春，张雁芳，等. 二氮嗪对异丙肾上腺素诱发的大鼠心肌缺血损伤的保护作用[J]. 中国循环杂志，2002，17(1)：59－61.
[9] McCully J D, Levitsky S. The mitochondrial K(ATP) channel and cardioprotection[J]. Ann Thorac Surg, 2003, 75(2): S667－673.
[10] Garlid K D, Paucek P. The mitochondrial potassium cycle[J]. IUBMB Life, 2001, 52(3-5): 153－158.
[11] 梁晚益，唐立新，杨宗城. Ca^{2+} 在严重烧伤早期心肌线粒体呼吸功能损害中的作用及其机制研究[J]. 第三军医大学学报，2002，24(2)：135－137.
[12] Han J, Kim N, Park J, *et al*. Opening of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels evokes oxygen radical generation in rabbit heart slices [J]. J Biochem, 2002, 131(5): 721－727.

（编辑 刘洪娥）

文章编号：1000-5404(2003)19-1733-01

个案与短篇

放射科医疗设备的维护和保养

Experiences in the maintenance of radiological equipments

严景恩，龚水根，张伟国 （第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所放射科，重庆 400042）

放射科是以仪器检查为主的科室，放射科的所有医疗设备是医学中用于诊断、治疗和研究的必要工具，加强医疗设备的日常维护和保养是放射科日常工作中很重要的一个环节。

结合平时自己的工作经验，谈一下如何加强对仪器设备的维护和保养工作。

1 管理措施

医疗设备的档案管理：对于维修人员来说，医疗设备随机所带的仪器设备使用及维修说明书、工作原理图和电路图等往往是能找到的第一手资料，在设备引进投入使用后，就应建立相应的设备档案，随机的有关技术资料应作为重要的部分由专人建档妥善保管。

严格遵守机器操作规程：每台机器投入使用前，对操作人

（下转 1736 页）

作者简介：严景恩(1967－)，男，河南省抉沟县人，主管技师，主要从事介入放射方面的研究，发表论文 5 篇。电话：(023)68757950

收稿日期：2003-02-01；修回日期：2003-07-16

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net