DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.11.027
第24卷第11期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 11
1310 2002年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)11-1310-03

严重烧伤早期腓肠肌损伤的形态学改变及其机制的初步探讨

王水明,刘友生,陈 锐 (第三军医大学附属西南医院病理学研究所,重庆 400038)

提 要:目的 探讨严重烧伤早期腓肠肌损伤及其发生机制。方法 应用光、电镜、组织化学染色及分光光度比色法对远离大鼠30%TBSA Ⅲ度烧伤部位的腓肠肌组织的病理变化,琥珀酸脱氢酶(Succinate dehydrogenase SDH)、乳酸脱氢酶(Lactic dehydrogenase LDH),一氧化氮(Nitric oxide NO)、黄嘌呤氧化酶(Xanthine oxidase XO)、髓过氧化物酶(Myeloperoxidase MPO)及丙二醛(Melondialdehyde MDA)的含量或活性进行一系列动态观测。结果 严重烧伤后腓肠肌肌纤维嗜酸性染色增强、肌纤维肿胀、横纹消失、肌浆溶解。电镜下核周基质水肿,Z线扭曲或中断,肌原纤维灶性溶解、线粒体肿胀或空化,肌浆网扩张和糖原颗粒减少。烧伤后6~24 h SDH活性进行性降低;而LDH活性在伤后1~12 h进行性增加,以后逐渐下降。NO、XO、MPO及MDA含量或活性分别在伤后6、6~12、24、12~24 h与相应正常对照组差异显著。结论 严重烧伤后腓肠肌也是受累的主要组织之一。能量生成减少、NO产生、XO活化、中性粒细胞浸润及脂质过氧化在严重烧伤后腓肠肌损伤中发挥着重要作用。

关键词:腓肠肌;损伤;烧伤
中图法分类号:R322.74;R644 文献标识码:A

Morphological changes and their mechanism of gastrocnemius muscle damage following early severe burn in rats

WANG Shui-ming, LIU You-sheng, CHEN Rui (Institute of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the damages of gastrocnemius muscle following severe burn and their mechanism. Methods A total of 30 rats were subjected to 30%TBSA Ⅲ degree burn on the back and another 10 served as normal control. Dynamic changes of activity or contents of succinate dehydrogenase (SDH), lactic dehydrogenase (LDH), nitric oxide(NO), xanthine oxidase (XO), myeloperoxidase (MPO), melondialdehyde(MDA) and pathological changes in the gastrocnemius muscle which was far from burn site were measured with histochemical staining, spectrophotography and light and electronic microscopy respectively. Results Reinforcement of acidophilic staining, swelling, extinction of stria, and lysis of sarcoplasm of muscle fiber in the gastrocnemius muscle were found following severe burn. Stroma edema around nuclei, distortion or breaks of Z lines, focal lysis of myofibrils, swelling or cavitation of mitochondria, dilatation of sarcoplasmic reticulum and reduction of granule particles were seen under electron microscope. The activity of SDH was progressively decreasing during 6th—24th hour while that of LDH progressively increasing during 1st—12th hour and then declined gradually. There was significant difference of actiivities or contents of NO, XO, MPO and MDA between normal control and burn group at the 6th, 6th—12th, 24th, 12th—24th hour respectively after severe burn. Conclusion Results show that gastrocnemius muscle is one of the main damaged organs after any severe burn. Decrease of capacity generation, development of NO, activitation of XO, infiltration of neutrophils and lipid peroxidation may play an important role in damage of gastrocnemius muscle following severe burn.

Key words: gastrocnemius muscle; damage; burn

严重烧伤、创伤后机体主要内脏器官如心、肝、肺、肾、肠等均可发生一系列病理性损害[1,2],骨骼肌作为机体重要的组织,在烧伤状态下其损害特点与机制文献报道甚少。我们以大鼠30% TBSA Ⅲ度烧伤为动物模型,观察了远离烧伤部位的腓肠肌的病理变化,并对其发生机制进行了初步探讨,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物分组、致伤

选用健康的Wistar大鼠40只,雌雄各半,体重(225±25)g,分为烧伤组30只和正常对照组10只,烧伤组于致伤后1、3、6、12、24 h活杀取材,各时相点的动物为6只。另以10只大鼠为正常对照。烧伤组:大鼠背部脱毛后,以3%凝固性汽油涂布于脱毛皮肤,燃烧25 s,造成30% TBSA Ⅲ度烧伤;正常对照组大鼠仅背部脱毛。大鼠于上述各时相点以1%戊巴比妥钠腹腔注入麻醉后,取腓肠肌。

1.2 观察指标与方法

1.2.1 光镜观察 腓肠肌经10%福尔马林固定后,常规石蜡包埋、切片、HE染色后,光镜观察组织学改变。

1.2.2 电镜观察 取烧伤后各时相点及正常对照的腓肠肌各2例标本,常规电镜制样,JEM-2000透射电镜下观察并摄像。

1.2.3 酶组织化学染色 琥珀酸脱氢酶(SDH)、乳酸脱氢酶(LDH)酶组织化学染色[3],酶活性定量采用Tiger 920图像仪,选择测定波长570 nm,以邻近组织周边(无染色组织)为空白对照,分别扫描5个随机视野相对于空白对照的吸光度值(*A*),酶活性用相对*A*值表示。

1.2.4 腓肠肌组织NO、XO、MPO及MDA含量或活性检测

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目("973"项目)(G1999054202)
作者简介:王水明(1970-),男,四川省仁寿县人,博士,助教,主要从事严重创伤后组织器官损害机制方面的研究,发表论文7篇。电话:13910387224
通信作者:刘友生,电话:(023)68754431
收稿日期:2001-09-15;修回日期:2001-12-25

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

应用分光光度比色法检测腓肠肌组织 NO 含量、XO 活性、MPO 活性、MDA 含量, 检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所, 操作按使用说明书进行。

1.3　统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 以 Excel 5.0 版专用统计分析程序包对各组数据进行单因素方差分析及相关性检验。

2　结果

2.1　严重烧伤后腓肠肌的病理变化

烧伤后 1～6 h, 光镜下主要表现为肌纤维嗜酸性染色增强、毛细血管充血、间质轻度水肿。伤后 12～24 h 上述病变加重, 并出现肌纤维肿胀、横纹及部分核消失、肌浆崩解, 见图 1, 可见颗粒变性、透明变性, 间质扩大、血管充血。电镜观察发现伤后 1～6 h 肌原纤维排列整齐, Z 线清楚, 肌膜光滑, 线粒体肿胀, 灶性空泡化, 毛细血管充血。伤后 12～24 h 核变形, 核膜呈锯齿状或不规则形, 核周基质水肿, Z 线扭曲或中断, 肌原纤维灶性溶解、线粒体肿胀、灶性或全部空化, 部分线粒体电子密度增高, 肌浆网扩张和糖原颗粒减少, 见图 2～4。间质血管内皮细胞增生并向管腔内伸出大量胞质突, 导致管腔狭窄, 部分血管内可见单个核细胞积聚, 血管充血更明显, 间质内可见大量退变的细胞器。正常对照组光、电镜均未见明显异常改变。

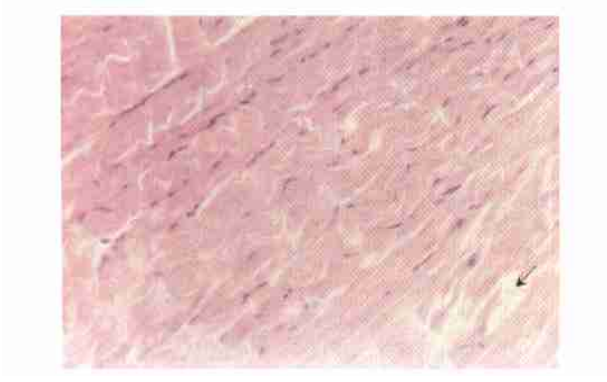


图 1　烧伤后 24 h 骨骼肌肌浆崩解(→)　(HE× 200)

Fig 1　Disintegration of sarcoplasm(→) in the gastrocnemius muscle of rat 24 h after burn　(HE× 200)

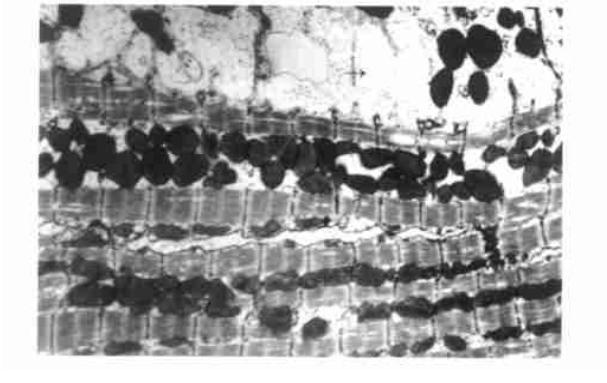


图 2　烧伤后 12 h 骨骼肌基质水肿(→), 线粒体电子密度增高　(TEM× 3 000)

Fig 2　Edema of stroma(→) and increased electric density of mitochondria in the gastrocnemius muscle 12 h after burn　(TEM× 3 000)

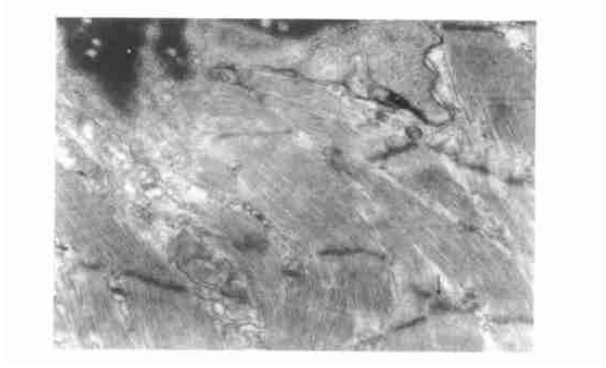


图 3　烧伤后 24 h 骨骼肌 Z 线中断, 肌原纤维排列紊乱(→)　(TEM× 8 000)

Fig 3　Distortion or breaks of Z lines and derangement of myofibrilsat(→) 24 h after burn　(TEM× 8 000)

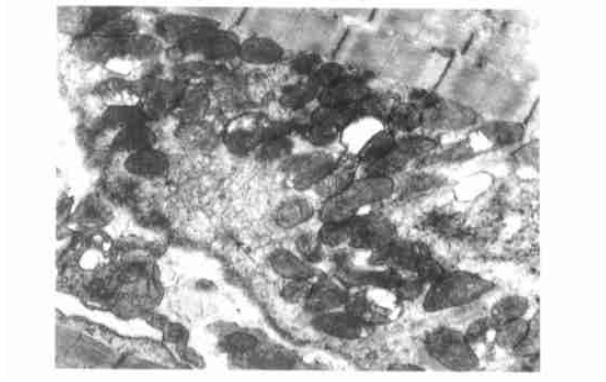


图 4　烧伤后 24 h 肌纤维灶性溶解(→)　(TEM× 8 000)

Fig 4　Focal lysis of myofibrils(→) 24 h after burn　(TEM× 8 000)

2.2　严重烧伤后早腓肠肌 SDH、LDH 活性的动态变化

正常骨骼肌组织纵行肌纤维 SDH、LDH 紫色反应物沿肌纤维走向呈线状平行排列, 横断面紫色反应物围绕中心呈旋涡状排列。烧伤后 1～6 h SDH 染色无明显改变, 而 LDH 在伤后 1～12 h 染色加深; 伤后 12～24 h SDH、LDH 均可见灶性、片状或大片状染色变浅。图像分析结果显示, 伤后 6～24 h SDH 活性进行性降低, 而 LDH 活性在伤后 1～12 h 进行性增加, 以后逐渐下降, 见表 1。

表 1　严重烧伤后琥珀酸脱轻酶及乳酸脱氢酶活性变化($\bar{x}\pm s$, A)

Tab 1　SDH and LDH activities in the gastrocnemius muscle of rats after severe burns($\bar{x}\pm s$, A)

Group	SDH	LDH
Control	0.375±0.039	0.348±0.061
PBH 1	0.357±0.023	0.407±0.014
3	0.341±0.019	0.463±0.071**
6	0.316±0.020*	0.662±0.104**
12	0.232±0.034**	0.718±0.032**
24	0.214±0.024**	0.530±0.053*

PBH: Post burn hour;　*: $P<0.05$,　**: $P<0.01$ *vs* Control

2.3　严重烧伤后腓肠肌 NO、XO、MPO、MDA 含量或活性变化

腓肠肌组织 NO 含量、XO 活性、MPO 活性及 MDA 含量分别在烧伤后 6、6～12、24、12～24 h 与相应正常对照组差异显著, 见表 2。相关分析显示, 组织 XO 及 MPO 活性分别与 MDA 含量呈显著正相关($r=0.956$, $P<0.01$; $r=0.940$, $P<0.01$)。

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

表2 严重烧伤后腓肠肌 NO、XO、MPO、MDA 含量或活性变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Contents of NO, XO, MPO, and MDA in the gastrocnemius muscle of rats after severe burn($\bar{x}\pm s$)

Group		NO(μmol/g)	XO(U/g)	MPO(U)	MDA (nmol/mg)
Control		0.334±0.099	1.221±0.242	0.385±0.104	0.665±0.125
PBH	1	0.350±0.097	1.246±0.101	0.409±0.104	0.674±0.181
	3	0.394±0.081	1.490±0.161	0.391±0.080	0.734±0.125
	6	0.543±0.092 **	1.715±0.283 **	0.425±0.096	0.865±0.190
	12	0.444±0.106	1.412±0.150 *	0.467±0.100	0.892±0.103 **
	24	0.381±0.128	1.204±0.163	0.597±0.104 *	1.097±0.164 **

*: $P<0.05$ **: $P<0.01$ *vs* Control

3 讨论

骨骼肌虽作为机体的重要组织之一，然而仅仅在肌肉移植研究、急性动脉栓塞、外伤及血管重建手术时才得到人们的重视，而在其它病理条件的改变常常被忽视。由于骨骼肌损害可引起钾、磷酸肌酸激酶、乳酸及肌红蛋白的逸出，进一步可发展为高钾血症和酸中毒，导致心肌抑制。因此，骨骼肌损害的研究主要集中在代谢方面[4,5]。本研究作者观察到严重烧伤后远离烧伤部位的腓肠肌也可出现一系列病理性损害，光镜下主要表现为肌原纤维嗜酸性染色增强、肿胀，可出现颗粒变性、肌浆溶解、间质充血、水肿等。电镜下核周基质水肿、Z 线扭曲或中断，肌原纤维灶性溶解、线粒体肿胀、灶性或全部空化、肌浆网扩张和糖原颗粒减少等。这表明严重烧伤后骨骼肌也是受累的主要组织之一。

能量代谢改变是严重烧伤、创伤、手术、缺血缺氧后机体组织细胞最常见的反应。我们的结果显示严重烧伤后腓肠肌琥珀酸脱氢酶活性进行性下降；而乳酸脱氢酶活性先升高，继而下降。乳酸脱氢酶可代表糖代谢无氧酵解的活性，而琥珀酸脱氢酶则反映有氧代谢的改变。上述结果表明，一定时间内远离烧伤部位的腓肠肌能量代谢能够维持平衡，其有氧代谢降低可通过无氧酵解代偿，伴随烧伤后时间的延长，能量生成障碍，由此引起腓肠肌损伤。近年，在不同的动物模型及临床研究中观察到，黄嘌呤氧化酶活化、中性粒细胞浸润及脂质过氧化等均可参与组织细胞损害[6,7]。众所周知，NO 主要来源于可诱导性一氧化氮合酶合成，XO 主要存在于毛细血管内皮细胞，而骨骼肌组织含有较丰富的毛细血管网。本实验结果显示严重烧伤后腓肠肌组织内的 NO、XO、MPO 及 MDA 的含量或活性在烧伤后均不同程度升高；能量生成进行性降低引起细胞内 Ca^{2+} 升高(线粒体电子密度增高)，进而导致自由基产生增加。这表明腓肠肌组织是炎症介质来源的重要场所[8]。进一步分析发现组织 XO 及 MPO 活性分别与 MDA 含量呈显著正相关，提示 XO 活化及中性粒细胞浸润活化产生的氧自由基参与了腓肠肌脂质过氧化的形成，在不同时间阶段一种因素可能占主导作用。我们虽然没有发现 NO 与 MDA 之间存在明显相关性，但 NO 可与 O_2^- 结合产生过氧化亚硝基 $ONOO^-$，后者氧化蛋白质巯基使多种酶失活，其脂质过氧化速率是 H_2O_2 的 1 000 倍，因此 NO 可能参与部分氧自由基的产生。形态学的发展变化趋势与氧自由基的增加趋势基本一致。上述结果提示，严重烧伤后远离烧伤部位的腓肠肌局部 NO 产生、XO 活化、中性粒细胞浸润和脂质过氧化不仅在自身损害中发挥着重要作用[8,9]，它所产生的炎症介质还可进入循环血液，导致远处组织器官的损害[10]。

参考文献：

[1] Jeschke M G, Low J F, Spies M, *et al*. Cell proliferation, apoptosis, NF-kappaB expression, enzyme, protein, and weight changes in livers of burned rats[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2001, 280(6): G1314—1320.

[2] Arbak S, Ercan F, Hurdag C G, *et al*. Acute lung injury following thermal insult to the skin: a light and transmission electron microscopical study[J]. Acta Histochem, 1999, 101(3): 255—262.

[3] 詹熔洲. 病理组织制片和染色技术[M]. 上海：上海科学技术出版社, 1994. 96—97; 156—157; 330—333.

[4] Hart D W, Wolf S E, Mlcak R, *et al*. Persistence of muscle catabolism after severe burn[J]. Surgery, 2000, 128(2): 312—319.

[5] Hart D W, Wolf S E, Chinkes D L, *et al*. Determinants of skeletal muscle catabolism after severe burn[J]. Ann Surg, 2000, 232(4): 455—465.

[6] Dries D J, Lorenz K, Kovacs E J. Differential neutrophil traffic in gut and lung after scald injury[J]. J Burn Care Rehabil, 2001, 22(3): 203—209.

[7] Konaka A, Nishijima M, Tanaka A, *et al*. Nitric oxide, superoxide radicals and mast cells in pathogenesis of indomethacin-induced small intestinal lesions in rats[J]. J Physiol Pharmacol, 1999, 50(1): 25—38.

[8] Kadambi A, Skalak T C. Role of leukocytes and tissue-derived oxidants in short-term skeletal muscle ischemia-reperfusion injury[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000, 278(2): H435—443.

[9] Murrant C L, Andrade F H, Reid M B. Exogenous reactive oxygen and nitric oxide alter intracellular oxidant status of skeletal muscle fibres[J]. Acta Physiol Scand, 1999, 166(2): 111—121.

[10] Vaga V L, Mardones L, Maldonado M, *et al*. Xanthine oxidase released from reperfused hind limbs mediate kupffer cell activation, neutrophil sequestration, and hepatic oxidative stress in rats subjected to tourniquet shock[J]. Shock, 2000, 14(5): 565—571.

(编辑 薛国文)

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