DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.05.008

慢性缺氧大鼠膈肌线粒体形态计量研究*

王东林 毛宝龄 钱桂生 郭先健 李淑平 (第三军医大学附属新桥医院呼吸内科研究所) 重庆, 630037
张新立 (第三军医大学基础部病理学教研室) 重庆, 630038

提 要 通过慢性常压和减压间断缺氧模型,用计算机图像分析系统对大鼠膈肌线粒体形态学指标进行了立体计量。结果: 各缺氧组膈肌线粒体体密度显著增加,其它形态学参数变化不大。提示慢性缺氧大鼠膈肌线粒体主要是数量和体积等量的变化,反映了膈肌氧化能力增强。

关键词 缺氧;组织适应;膈肌;线粒体
中图法分类号 R329.24

慢性缺氧常见于高原环境和慢性呼吸系统疾病,可使肌肉产生结构和功能的适应性变化。慢性缺氧条件下,心肌和肢体骨骼肌线粒体适应性变化已有较深入研究,膈肌是主要的呼吸肌,但对其研究则少见报道。本文通过复制大鼠慢性常压和减压间断缺氧大鼠模型,对膈肌线粒体体密度等形态学指标进行了立体计量研究,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物分组

健康雄性 Wistar大鼠20只,体重170 g~260 g,随机分为4组:① 常压间断缺氧1月组(NH1m)。② 减压间断缺氧1月组(HH1m)。③ 减压间断缺氧3月组(HH3m)。④ 正常对照组(Control),每组5只。

1.2 模型

1.2.1 常压间断缺氧 动物置密闭舱内,向舱内充入氮气,使舱内氧浓度迅速下降至10%左右,续以2L/min的流速持续充入低氧混合气体(10% O_2+ 90% N_2),使舱内氧浓度稳定为(10±1.0)%。动物每天缺氧8 h,共1月。于缺氧最后1 d,颈外动脉插管留置,活杀前在舱内抽取动脉血,作血气分析等检测。

1.2.2 减压间断缺氧 动物置减压舱内,减压至模拟海拔5 000 m高度(舱内压力为 -47.3 kPa,相当于海平面氧浓度11.1%)。每日8 h,分别减压1月和3月。减压最后1 d,颈外动脉插管,舱内抽取动脉血作血气分析等检测。

1.3 取材与病理观察

取右侧肋膈肌中部作冰冻切片,HE染色,光镜观察。于右侧肋膈肌中部作常规透射电镜取材,固定、包埋、定位后,顺肌纤维方向作超薄切片,用H-300型电镜观察。每例取3块组织包埋切片,每张切片随机摄取5张照片(× 30 K),供图像分析用。

1.4 图像分析

采用 TECBIAS-6803型计算机图像分析系统测定。照片用JVC-KY201B摄像机摄取,经MVP图像板转化后存入计算机。测量时,逐幅调出图像,较正定标后,用交互式半自动测量方式测定线粒体平均长轴(Long axis, LA)、短轴(Short axis, SA)、等效直径(Equivalent diameter, ED)、面积(Area, A)和比表面(Specific surface, δ)。线粒体体密度(Mitochondrial volume density, Vvmt)为线粒体体积(Vmt)与参照系体积(Vref)之比值,即: Vv= Vmt/Vref 根据 Delesse原理,二维剖面图像上两种结构的截面积比,等于它们在空间的体积比,即: Vvmt= Vmt/Vref= Amt/Aref[1]。

1.5 统计学处理

数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,用完全随机设计资料方差分析进行显著性检验。

2 结果

2.1 血气分析、血红蛋白浓度(Hb)和红细胞压积(Ht)见表1

表 1 缺氧大鼠动脉血气、血红蛋白浓度和红细胞压积变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Changes in the arterial blood gases, hemoglobin concentration and hematocrit in rats exposed to chronic hypoxia ($\bar{x}\pm s$)

	pH	PO_2 (p/kPa)	PCO_2 (p/kPa)	HCO_3^- (c_B/mmol L^{-1})	Hb (p/g L^{-1})	Ht
Control	7.32±0.03	12.16±0.98	5.54±0.82	21.57±3.09	124.0±16.6	0.416±0.059
NH1m	7.31±0.09	6.55±1.70**	5.66±0.98	20.23±4.28	146.6±15.1**	0.564±0.076**
HH1m	7.29±0.05	5.86±1.02**	4.65±0.71*	16.40±3.10*	152.5±20.7**	0.575±0.055**
HH3m	7.34±0.07	5.32±1.43**	3.96±0.53**	18.90±2.43	188.8±25.5**	0.720±0.060**

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* control

* 国家自然科学基金资助项目, No. 39370302

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

2.2 病理观察

光镜下肌纤维形态结构基本正常。透射电镜观察,肌原纤维、肌丝正常,未见明显病理改变。缺氧膈肌可见肌膜下和肌原纤维间线粒体增多、增大和基质密度增加,部分可见线粒体髓鞘样结构。只偶见线粒体峭减少,紊乱,基质密度降低和线粒体空化。未见明显线粒体肿胀。

2.3 形态学参数变化见表 2

各缺氧组膈肌线粒体形态学参数均无显著性变化($P>0.05$),但 A呈增加趋势。

表 2 缺氧大鼠膈肌线粒体形态学参数变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Changes of mitochondrial morphological parameters of the diaphragm in rats exposed to chronic hypoxia ($\bar{x}\pm s$)

	A [p_A/(×10^{-3})·(μm^2)$^{-1}$]	LA [p_A/(×10^{-2})·μm)$^{-1}$]	SA [p_A/(×10^{-2})·μm^{-1}]	ED [p_A/(×10^{-2})·μm^{-1}]	δ (υ/μm^{-1})
Control	62.3± 38.6	38.2± 15.3	22.9± 7.1	27.4± 9.2	13.7± 5.3
NH1m	65.9± 34.7	40.4± 23.1	20.4± 8.3	28.7± 10.4	12.9± 3.3
HH1m	66.7± 32.1	42.3± 22.8	23.2± 9.4	28.9± 11.9	14.2± 5.7
HH3m	71.4± 39.5	42.7± 25.0	24.6± 10.2	30.5± 6.7	13.1± 3.8

2.4 Vvmt变化见表 3

各缺氧组 Vvmt均有显著增加($P<0.05$~ 0.01)。

表 3 缺氧对大鼠膈肌线粒体体密度的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Effect of chronic hypoxia on the mitochondrial volume density of the rat diaphragm ($\bar{x}\pm s$)

	Control	NH1m	HH1m	HH3m
q_B	6.18± 0.88	6.77± 0.92*	6.83± 1.05*	7.36± 1.17**
Δq_B		(+ 9.5)	(+ 10.5)	(+ 19.1)

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* control

3 讨论

实验结果表明,慢性缺氧大鼠膈肌除少数线粒体发生髓鞘样结构等非特征性的退行性变外,大部分线粒体形态结构正常,无肿胀。线粒体的变化主要是数量和体积等量的变化,表现为 Vvmt增加,是对慢性缺氧的适应。组织的有氧氧化主要在线粒体中进行,Vvmt的增加间接反映了膈肌氧化能力增强。

用立体学原理,对形态指标进行定量分析,更为客观、准确。本实验观测的形态学参数中,反映线粒体大小的参数(如 A ED等)虽有增加趋势,但无统计学差异,可能因为线粒体是随机分布在立体空间的近似椭圆形的立体结构,在随机的二维剖面上,线粒体截面积大小,与此截面所经线粒体的部位有关,因而反映单个线粒体大小的参数的离散程度较大,解决的途径是加大样本。另一方面,Vvmt是一定空间内线粒体总体积与参照空间体积之比,受线粒体大小和数量两个因素影响,能较好地反映线粒体量的变化。比表面 δ指结构的膜表面积与其体积之比值,用来描述细胞器肿胀、扩张或固缩等形态变化。本实验结果无显著变化,表明无线粒体肿胀。

线粒体改变是研究慢性缺氧肌肉适应性的重要观测内容之一,过去对心肌和肌体骨骼肌研究较多,大部分结果表明,线粒体数量和体积增加[2]。也有报道,慢性缺氧肌肉线粒体蛋白含量显著增加。我们采用生化和组化的方法,观测了慢性缺氧膈肌氧化酶(琥珀酸脱氢酶、柠檬酸合成酶等,另见报道)活性,发现氧化酶活性显著增加并与 Vvmt增加正相关,说明 Vvmt一定程度上反映了膈肌氧化能力变化。

近些年,一些学者对实地或模拟(低压舱)攀登珠穆朗玛峰的运动员进行观测,得到相反所结果,发现肢体肌 Vvmt降低[3,4],原因尚不清楚,可能与缺氧程度(海拔 8 848 m)、缺氧模式(连续缺氧)、营养和功能活动减少有关,有待更深入的研究。

参考文献

1 郑富盛.细胞形态立体计量学.北京:北京医科大学、中国医科大学联合出版社,1990: 19~ 21

2 Shertzer H G, Cascarano J. Mitochondrial alteration in heart, liver and kidney of altitude-acclimated rats. Am J Physiol, 1992; 223(3): 632

3 Cerrtelli P. Muscle energetics and ultrastructure in chronic hypoxia. Respiration, 1992; 59(suppl 2): 24

4 Hopper H, Kleiner E, Classen H *et al*. Morphological adaptations of human skeletal muscle to chronic hypoxia. Int J Sports Med, 1990; 11: S3

(收稿: 1995-12-16;修回: 1996-09-27)

(编辑　冯崇英)

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

Changes of mitochondrial volume density of the diaphragm in response to chronic hypoxia in rats*

Wang Donglin, Mao Baoling, Qian Guisheng, Guo Xianjian, Li Shuping (Research Institute of Respiratory Disease, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630037)

Zhang Xinli (Department of Pathology, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract The changes of the mitochondrial morphological parameters of the diaphragm in response to chronic hypoxia were observed in rats. It was found that after exposure to hypobaric hypoxia or normobaric hypoxia 8 h per day for one or three months, the mitochondrial volume density of the diaphragm was significantly increased by 9.5%~19.1% ($P < 0.05$~0.01) while other parameters were not significantly changed. The findings suggest that the aerobic oxidative capacity of the diaphragm could be partly improved through an increase of the mitochondrial volume density.

Key words hypoxia; tissue adaptation; diaphragm; mitochondrion

* This project was supported by the National Natural Science Fundation of China, No. 39370302

地塞米松防治根管治疗期间疼痛的前瞻性研究

A prospective study of preventing endodontic interappointment pain with dexamethasone

邓红镭 师幼兰 初颜兵 (第三军医大学附属西南医院口腔科) 重庆,630038

病人在根管治疗后、充填前出现的疼痛,称根管治疗期间痛(Endodontic interappointment pain, EIP)。临床上发病率较高,国外文献报道,最高达就诊病人的40%[1]。经光盘检索,国内尚无报道。本文采用前瞻双盲研究方法,观察地塞米松防治EIP的疗效。

1 资料和方法

1.1 研究对象

将50例需作根管治疗,且患牙为单根管前牙,牙髓有活力、临床和X线片显示无明显根尖病变的门诊病人,其中男性23例,女性27例,年龄18岁~55岁,列为研究对象。

1.2 规范操作

所有病人由同一医生操作。常规开髓,行根管治疗。如有明显炎症,则先开髓引流,待急性症状控制后,再行根管治疗。封入甲醛甲酚(FC)纸尖和棉球各一个,一周复诊。

1.3 方法

1.3.1 分组 将列为研究对象50例病人,随机分成两组,实验组(A组)和对照组(B组)各25例。

1.3.2 给药方法 根管治疗后,采用双盲法给药。A组给地塞米松5片(每片0.75 mg),治疗后即服2片,以后每4 h 1片;B组给安慰剂5片,用法同A组。

1.4 疗效观察

疼痛分四级:0级无痛,I级轻微疼痛,II级中度疼痛,III级重度疼痛[2]。记录下病人治疗前及治疗后8、24、48 h的痛级。

2 结果

2.1 疼痛发生率的比较

二组病人治疗前后疼痛发生例数变化见表1

表1 治疗前后疼痛发生例数比较

组别	总例数	疼痛例数			
		治疗前	治疗后8 h	治疗后24 h	治疗后48 h
A组	25	20	7	3	2
B组	24*	19	15	13	7

* B组一例病人因治疗后疼痛剧烈而加服了乙酰螺旋霉素,将其排除。

经χ^2检验,二组病人治疗前疼痛发生率差异无显著性($P > 0.05$),治疗后8、24、48 h差异均有显著性($P < 0.01$)。

2.2 疼痛程度的比较见表2

表2 治疗前后不同时间疼痛程度比较

	0		I		II		III	
	A	B	A	B	A	B	A	B
治疗前	5	5	4	5	6	4	10	10
治疗后								
8 h	18	9	5	7	2	5	0	3
24 h	22	11	2	7	1	4	0	2
48 h	23	17	2	5	0	2	0	0
合计			9	19	3	11	0	5

(下转428页)

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