DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.04.003

放烧复合伤早期心肌能量代谢变化*

熊 业 陈宗荣 程天民 楼淑芬 (第三军医大学预防医学系复合伤研究室)重庆,630038

提 要 文中报告了6 Gy放射损伤合并30%Ⅲ度烧伤后48 h内大鼠心肌线粒体氧化磷酸化功能和肌球蛋白ATP酶活力变化与补液的作用。结果表明6 Gy全身照射、30%Ⅲ度烧伤和放烧复合伤后心肌线粒体氧化磷酸化功能和肌球蛋白ATP酶活力显著下降,放烧复合伤时下降更严重。这些变化与伤后动脉血压下降关系十分密切。补液显著改善放烧复合伤后心肌的能量代谢。这些结果揭示缺血缺氧是心肌能量代谢障碍的重要诱因。

关键词 灼伤;电离辐射;线粒体;氧化磷酸化;ATP酶;心肌

中国法分类号 R644;R818

本室近期工作表明,大鼠放烧复合伤后心肌固有收缩力下降[1],其机理尚待探讨。少数学者观察到烧伤后心肌细胞中高能磷酸化合物含量下降[2],能量代谢障碍可能是伤后心功能下降的重要原因。本实验观察了放烧复合伤后心肌能量的产生和利用变化与补液的作用。

1 材料与方法

1.1 试剂

谷氨酸钠、苹果酸钠、二氯酚靛酚和ATP均为Sigma产品,ADP和PMS(N-methyl phenazonium methyl sulfate)为Fluka产品,其余为分析纯。

1.2 仪器

DU-7紫外可见光分光度计(Beckman,美国)J2-21型低温高速离心机(Beckman,美国),SP-2测氧仪(上海植物生理研究所)。

1.3 动物与分组

健康雄性Wistar大鼠,体重170~250 g,随机分成5组:正常对照组(N),6 Gy γ射线全身照射组(R),30%Ⅲ度光辐射烧伤组(B),6 Gy照射合并30%Ⅲ度烧伤的放烧复合伤组(C),C组另设补液组(S,45 ml/kg生理盐水,伤后即刻和12 h腹腔注射总量的1/2)。致伤的具体方法见我室的以前的报道[1]。

1.4 血压测定

动物经25%乌拉坦腹腔麻醉,经颈总动脉插管直接测定平均动脉压。

1.5 心肌线粒体制备

线粒体分离参考Zydowo等的方法[3]。分离介质为:0.25 mol·L^{-1}蔗糖,0.01 mol·L^{-1} Tris-HCL,pH7.4。从心肌匀浆到线粒体分离的过程在0~4℃进行,1 h完成。

1.6 线粒体呼吸功能测定

反应介质为[4]:0.25 mol·L^{-1}蔗糖,3 mmol·L^{-1} KH_2PO_4,0.4 mmol·L^{-1} EDTA,pH7.4。反应池体积为2.2 ml,温度恒定在30℃,用Clark氧电极测定线粒体耗氧量。反应介质以空气饱和,加入0.1 ml线粒体,保温1 min后加入10 μl 1.25 mol·L^{-1}的谷氨酸钠和苹果酸钠,间隔1 min后加入4 μl 0.088 mol·L^{-1}ADP。根据耗氧量计算呼吸控制率(RCR)、磷氮比(ADP/O)和氧化磷酸化速率(OPR)。

1.7 线粒琥珀酸脱氢酶(SDH)活力测定

线粒体分离过程同前。SDH活力参考Acrell等的方法[5]。

1.8 心肌球蛋白ATP酶活力测定

取心脏,沾干,称取150 mg心室肌,加3.0 ml 0℃的0.05 mol·L^{-1}硼酸缓冲液,用预冷玻璃匀浆器匀浆,加入预冷的蒸馏水45 ml,于4℃冷室放置4 h,3000×g离心30 min(0~4℃)弃上清,沉淀加入10 ml硼酸缓冲液,混匀,放4℃冷室过夜,再离心,弃沉淀,上清液用于蛋白含量测定(Lowry法)及肌球蛋白ATP酶活力的测定[6]。

1.9 统计学处理

数据为$\bar{x} \pm s$,用第四军医大学的SPLM医学统计软件作统计处理,作t检验和方差分析。以$P<0.05$作为显著差异。

2 结果

2.1 伤后血压变化及补液的影响

R组动物伤后血压有所波动,与N组比,无统计学差异。B组血压在伤后3、8及12 h显著下降。C组血压在伤后1~48 h均显著下降,以伤后8 h为最低。在伤后8 h与48 h,C组血压显著低于B组。补液显著提高C组血压,S组与N组血压比较,无统计进差异(表1)。

* 全军"八五"攻关项目,国家自然科学基金资助项目,No. 39370692

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

表1　不同组大鼠血压变化

Tab 1　Changes of blood pressure in different groups of rats ($\bar{x}\pm s$)

Group	Hours post injury					
	1	3	8	12	24	48
R	12.37±1.04	12.96±1.89	10.63±1.37	11.25±1.50	13.24±0.53	12.51±1.10
	(5)	(5)	(4)	(5)	(4)	(5)
B	10.80±3.07	9.05±1.85※	9.45±3.25※	6.66±3.82※	11.59±3.08	11.96±1.97
	(7)	(7)	(8)	(13)	(9)	(9)
C	9.84±1.85※	7.38±1.47※	6.40±0.65※△	6.91±0.47※	10.00±1.33※	8.69±1.04※△
	(5)	(6)	(5)	(5)	(5)	(6)
S	13.01±0.83▲	10.30±2.18▲	12.16±0.86▲	11.89±1.58▲	12.40±1.58▲	12.34±0.28▲
	(5)	(7)	(5)	(5)	(5)	(5)

Control Values (N) are 13.94±1.41 kPa, (n =14); The numbers in parentheses account for those of rats;
※: *vs* N, △: *vs* B, ▲: *vs* C, $P<0.05$

2.2　心肌线粒体呼吸功能变化

心肌线粒体 RCR 在 R 组伤后12～48 h、B 组和 C 组伤后1～48 h 显著下降(表2)。ADP/O 比值在 R 组伤后12～48 h、B 组伤后8、12及48 h 和 C 组伤后1～48 h 显著下降(表3)。OPR 在 R 组伤后12～48 h、B 组和 C 组伤后3～48 h 显著下降(表4)。补液显著改善复合伤组 RCR、ADP/O 比值和 OPR。

表2　不同组心肌线粒体 RCR 变化

Tab 2　Changes of heart mitochondrial respiratory control rates in different groups of rats ($\bar{x}\pm s$)

Group	Hours post injury					
	1	3	8	12	24	48
R	4.23±0.54	4.30±0.43	4.30±0.45	3.11±0.17※	3.11±0.28※	2.4±0.28※
	(5)	(5)	(4)	(5)	(4)	(5)
B	3.64±0.27※	3.49±0.48※	3.33±0.21※	3.33±0.52※	3.59±0.42※	3.41±0.33※
	(8)	(8)	(7)	(9)	(7)	(6)
C	2.89±0.43※△	3.25±0.30※	3.05±0.20※	2.85±0.38※	2.55±0.36※△	2.85±0.31※
	(5)	(6)	(5)	(5)	(5)	(6)
S	4.15±0.22▲	2.97±0.25※	4.12±0.44▲	3.66±0.46▲	3.37±0.29▲	3.71±0.17▲
	(50	(7)	(5)	(5)	(5)	(4)

Control values (N) are 4.61±0.58 (n =11); The numbers in parentheses account for those of rats;
※: *vs* N, △: *vs* B, ▲: *vs* C, $P<0.05$

表3　不同组心肌线粒体 ADP/O 比值变化

Tab 3　Changes of heart mitochondrial ADP/O ratios in different groups of rats ($\bar{x}\pm s$)

Group	Hours post injury					
	1	3	8	12	24	48
R	2.47±0.18	2.79±0.09	2.75±0.06	2.29±0.26※	2.28±0.06※	1.98±0.16※
	(5)	(5)	(4)	(5)	(4)	(5)
B	2.56±0.11	2.47±0.10	2.37±0.06※	2.16±0.18※	2.48±0.15	2.29±0.11※
	(8)	(8)	(7)	(9)	(7)	(6)
C	1.98±0.02※△	2.16±0.20※	2.12±0.08※	2.00±0.15※	1.88±0.14※△	2.05±0.13※
	(5)	(7)	(5)	(5)	(5)	(4)
S	2.86±0.07▲	2.02±0.12※	2.81±0.19▲	2.52±0.29▲	2.29±0.22※	2.57±0.16▲
	(5)	(7)	(5)	(5)	(5)	(4)

Control values(N)are 2.89±0.17 (nmols ADP added/natoms oxygen consumed, n =11); The numbers in parentheses are those of rats; ※: *vs* N, △: *vs* B, ▲: *vs* C, $P<0.05$

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

表4 不同组心肌线粒体 OPR 变化

Tab 4 Changes of heart mitochondrial oxidative phosphorylation rates in different groups of rats ($\bar{x}\pm s$)

Group	Hours post injury					
	1	3	8	12	24	48
R	0.56±0.12	0.68±0.08	0.71±0.10	0.33±0.09※	0.35±0.05※	0.33±0.09※
	(5)	(5)	(4)	(5)	(4)	(5)
B	0.37±0.04	0.35±0.05※	0.32±0.07※	0.30±0.08※	0.34±0.07※	0.30±0.09※
	(8)	(8)	(7)	(9)	(7)	(6)
C	0.36±0.07	0.34±0.09※	0.30±0.05※	0.30±0.08※	0.30±0.05※	0.31±0.06※
	(5)	(6)	(5)	(5)	(5)	
S	0.63±0.06▲	0.31±0.09※	0.61±0.14▲	0.36±0.08	0.39±0.09	0.48±0.11▲
	(5)	(7)	(5)	(5)	(5)	(4)

Control values(N) are 0.57±0.11 (μmoles ATP/min/mg, $n=11$); The numbers in parenthesis indicate those of rats; ※: *vs* N, ▲: *vs* C, $P<0.05$

2.3 心肌线粒体 SDH 活力变化

R 组伤后无明显变化。B 组伤后12 h、C 组伤后12～48 h 显著下降。补液显著改善 C 组 SDH 活力(表5)。

2.4 心肌球蛋白 ATP 酶活力变化

R 组伤后8～48 h、B 组伤后12～48 h 及 C 组伤后3～48 h 显著下降。补液显著改善该酶活力(表6)。

表5 不同组心肌线粒体 SDH 活力变化

Tab 5 Changes of heart mitochondrial succinate dehydrogenase activities in different groups of rats ($\bar{x}\pm s$)

Group	Hours post injury					
	1	3	8	12	24	48
R	92.16±5.36	88.45±8.67	88.89±7.63	88.79±6.07	85.89±5.99	85.82±6.40
	(5)	(5)	(4)	(5)	(4)	(5)
B	98.56±14.60	82.97±12.97	92.70±7.39	67.67±12.24※	75.27±21.33	75.13±14.49
	(8)	(7)	(7)	(8)	(12)	(9)
C	80.72±5.19	79.32±3.74	74.01±8.00	52.61±4.40※	55.94±6.52※△	57.38±3.29※
	(5)	(6)	(5)	(5)	(5)	(6)
S	89.68±6.57	83.37±7.93	83.82±6.23	81.66±7.24▲	78.67±4.96▲	84.25±6.18▲
	(5)	(7)	(5)	(5)	(5)	(4)

Control values (N) are 95.22±18.82 (μmoles DCIP reduced/min/mg, $n=11$); The numbers in parentheses account for those of rats; ※: *vs* N, △: *vs* B, ▲: *vs* C, $P<0.05$

表6 不同组肌球蛋白 ATP 酶活力变化

Tab 6 Changes of cardiac myosin ATP ase activities in different groups of rat ($\bar{x}\pm s$)

Group	Hours post injury					
	1	3	8	12	24	48
R	1.73±0.09	1.68±0.11	1.41±0.13※	1.32±0.10※	1.32±0.10※	1.27±0.43※
	(5)	(5)	(4)	(5)	(4)	(5)
B	1.72±0.11	1.68±0.14※	1.56±0.12	1.28±0.09※	1.27±0.10※	1.34±0.11※
	(8)	(7)	(8)	(8)	(9)	(9)
C	1.83±0.13	1.42±0.12※	0.85±0.07※△	0.62±0.12※△	0.81±0.09※△	0.88±0.06※△
	(5)	(6)	(5)	(5)	(5)	(6)
S	1.83±0.06	1.59±0.09	1.48±0.08▲	1.37±0.08▲	1.32±0.10▲	1.42±0.09▲
	(5)	(7)	(5)	(5)	(5)	(4)

Control values (N) are 1.86±0.30 (μmoles Pi/min/mg, $n4=13$); The numbers in parentheses are those of rats; ※: *vs* N, △: *vs* B, ▲: *vs* C, $P<0.05$

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

3 讨论

本实验结果表明6 Gy 全身一次照射、30% Ⅲ度烧伤及放烧复合伤早期 心肌能量代谢发生重要变化，包括外在原因和内在原因。

外在原因是心肌供血供氧状态的变化。烧伤和放烧复合伤大鼠血压下降，甚至发生严重休克，从而导致心肌缺血缺氧。由于心肌是体内严格需氧代谢的组织之一，对缺氧敏感，缺血缺氧直接或间接激活糖酵解，最终引起心肌细胞内酸中毒[7]。酸中毒本身可引起心肌收缩力下降[8]。

伤后心肌能量代谢变化的内在原固包括能量的产生和利用两个方面。线粒体是细胞内参与细胞的各项活动提供能量。本实验结果表明6 Gy 照射、30% Ⅲ度烧伤及放烧复合伤早期心肌线粒体功能严重受损，ATP 生成减少。烧伤和放烧复合伤心肌线粒体 SDH 活力显著下降。由于 SDH 与线粒体膜紧密结合，被认为是线粒体的标志酶。它的活性下降反映了线粒体膜受损。

本实验结果显示伤后心肌肌球蛋白 ATP 酶活力显著下降，放烧复合伤时下降更严重，这说明伤后心肌能量的利用也发生障碍。肌球蛋白由 V_1、V_2和 V_3三种同功酶组成，具有 ATP 酶活性，心肌收缩速率与其活力的大小有密切关系[9]。照射后该酶活力下降与甲状腺素 T_3分泌下降而 V_3升高，由于 V_3的 ATP 酶活力最低，V_3升高导致肌球蛋白 ATP 酶活力下降；结果照射前注射 T_3可防止 V_3升高，从而防止肌球蛋白 ATP 酶活力下降[10]。烧伤后甲状腺分泌功能是下降的[11]，因此，烧伤后肌球蛋白 ATP 酶活力下降与甲状腺功能下降有关。放烧复合伤大鼠由于受射线和烧伤这两种因素的作用，甲状腺功能必然下降，结果导致肌球蛋白 ATP 酶活力下降更严重。

本实验结果表明补液显著提高了伤后血压，完全避免了休克的发生。补液对伤后心肌能量代射的改善作用主要在以下环节：(1)显著提高 RCR、ADP/O 比值和 OPR 以及 SDH 活力，改善心肌细胞的能量产生；(2)显著提高肌球蛋白 ATP 酶活力，改善心肌细胞的能量利用。

因此可见，射线的直接和间接作用(主要产生自由基)以及烧伤引起的休克是心肌能量代谢障碍的重要原因。心肌能量代谢障碍可能是导致心功能下降的重要机理。

参考文献

1 邹仲敏，陈宗荣. 放射损伤、烧伤和放烧复合伤心功能的早期改变. 第三军医大学学报，1993；15(1)：58

2 夏照帆，方之杨，葛绳德等. 应用^{31}P 核磁共振研究严重烧伤大鼠心肌细胞能量代谢和 pH 变化. 中华整形烧伤外科杂志，1987；3(2)：145

3 Zydowo MM, Swierczynskki J, Nagel G et al. The respiration and calcium content of heart mitochondria from rats with vitamin D induced cardionecrosis. Biochem J, 1985; 226 (1): 155

4 Ceconi C, Curellos S, Albertini A et al. Effect of lipid peroxidation on heart mitochondrial oxygen consuming and calcium transporting capacities. Mol Cell Biochem, 1988; 82 (2): 131

5 Acrell BAO. Mammalian succinate dehydrogenase. Methods in Enzymology, 1978; 53: 13 Academic Press NY.

6 朱　平，杨同书. 心肌损害动物模型心肌肌球蛋白 ATP 酶的变化特点及其意义. 白求恩医科大学学报，1984；10(4)：375

7 程天民主编. 创伤战伤病理学. 北京：解放军出版社，1992：239～283

8 Hollis DP. Phosphorous NMR of cells, tissues and organs. In: "Biological Magnetic Resonance." Berliner LJ (eds). New York: Plenum Press. 1980: 1～73

9 Schwartz K, Lecarpentier Y, Martin JL et al. Myosin isoenzymic distribution correlates with speed of myocardial contraction. J Mol Cell Cardiol, 1981; 13(12): 1071

10 Litten RZ, Walden TL, Gainey GT et al. Alteration of cardiac myosin isozyme after whole-body irradiation. Br J Radiol 1989; 62(734): 189

11 Litten RZ, Fein HG, Gainey GT et al. Alterations in rat cardiac myosin isozymes induced by 3, 5, 3′-triiodothyronine. Metabolism, 1990; 39(739): 64

(收稿：1994-08-09；修回1995-05-15)

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

Disturbance of myocardial energy metabolism in the early stage following combined radiation-burn injury in rats

Xiong Ye, Chen Zongrong, Cheng Tianmin, Lou Shufen (Department of Radiation Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract The changes of cardiac mitochondrial oxidative phosphorylation and myosin ATPase activity and the effects of fluid therapy on the changes were observed in a period of 48 hours after a combined injury of 6 Gy radiation and 30% TBSA full chickness burns in rats. It was found that the capacity of cardiac mitochondrla oxidative phosphorylation and the activity of myosin ATPase were significantly decreased after 6 Gy radiation, 30% full thickness burns and a combination of the 2 and the decrease was more marked in the combined injury. There was a close correlation of the 2 parameters with the decrease of blood pressure. Fluid therapy greatly improved the myocardial energy metabolism. These findings suggest that ischemia and hypoxia are the main factors to result in disturbance of ebergy metabolism after combined radiation-burn injury.

Key words burns; ionizing radiation; mitochondrium; oxidative phosphrylation; ATPase; heart; rat

****

拇腕掌关节形态结构与实验力学研究

The morphological and biomechanical research of trapeziometacarpal joint

田青业 刘正津 王成琪 (第三军医大学基础部解剖学教研室) 重庆,630038

本项研究用人类学测量方法和结构光立体测量技术测量了拇腕掌关节面的形态,观察了关节面在不同运动方位时的咬合关系。用巨微解剖、组织切片和生物塑化技术观察了拇腕掌关节囊、韧带及关节软骨的形态、结构、动脉供应和微血管构筑,并用实验力学的方法测试了拇腕掌关节主要韧带和组成拇腕掌关节的第一掌骨的力学特性,探讨了拇腕掌关节形态及力学特性与关节稳定和运动的关系,主要研究结果如下:(1)大多角骨远侧端关节面的掌一背径(10.9±0.9 mm)比第一掌骨底关节面的掌一背径(11.5±1.2 mm)小,掌背曲率大于第一掌骨。但两关节面的表面积、关节面周长基本相等,说明两关节面形状相互适应,大小配合相当。按关节面的高度和曲率将拇腕掌关节面分为中央区、掌侧区、背侧区、尺侧区和桡侧区,关节面的中央区呈近似等曲率区。

(2)大多角骨远侧端和第一掌骨底关节软骨均以关节面中部较厚,边缘部较薄。关节面不同区域,关节软骨的组织结构也有差别。关节面的接触部位和接触面积,因活动方式不同而异,对掌运动时接触面积最大,其次是屈、伸和外展,内收时接触面积最小。

(3)拇腕掌关节囊背桡侧厚而紧张,掌侧和尺侧薄而松弛,拇长展肌腱分成2~3束止在关节囊桡侧附着部,掌侧有拇短屈肌腱保护;拇腕掌关节的韧带以背桡侧韧带交强状。供应拇腕掌关节的动脉主要来自桡动脉主干,桡动脉掌浅支,第一掌背动脉和拇主要动脉;供应关节囊的动脉有多个来源,动脉支在关节囊表面吻合成第一层动脉网,然后分支进入关节囊纤维层和韧带内,并形成"绳梯状"血管网;分布关节囊滑膜层的血管形成与滑膜腔面平行的多层血管网,网的末端是毛细血管襻。供应骨关节面区域的动脉来自滋养动脉和骨膜动脉,在骨内形成树枝样血管网,血管网发弓状毛细血管襻伸至关节软骨下方。

(4)第一掌骨应力一应变关系呈线性关系,说明第一掌骨是基本符合 HooK 定律的弹性材料,其本构方程是:$\sigma = 2859.03\varepsilon - 0.3665$,杨氏弹性模量是:2517.51±576.78 MPa,破坏扭转强度是33.38±6.93 MPa,最大扭角平均13.2±1.2度,扭角一应变关系和扭角一扭矩关系均呈指数函数关系,剪切弹性模量(737.78±249.70 MPa)小于其压缩弹性模量。

(5)拇腕掌关节前斜韧带和背桡侧韧带的应力一应变关系呈幂函数关系:背桡侧韧带的杨氏弹性模量:2.6501±0.6838 MPa,前斜韧带的杨氏弹性模量:1.0904±0.3689 MPa;背桡侧韧带的抗张强度(13.42±1.76 N/mm^2)大于前斜韧带的抗张强度(6.23±0.97 N/mm^2)。两韧带均主要由胶原纤维束组成,韧带受力前,纤维束呈波纹状外观,当张力负荷达到韧带抗张强度10%时,纤维束的波纹状外观基本消失,负荷达抗张强度的70%时,纤维束开始断裂,张力负荷达抗张强度时,纤维束完全断裂。

关键词 拇腕掌关节;关节面;韧带;形态学;生物力学

中图法分类号 R322.7

(收稿:1995-06-09;修回:1995-07-27)

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