DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.05.031

经验交流

放射损伤、烧伤及放烧复合伤时大鼠心肌细胞膜 ATP酶的变化

Changes in myocardial membrane ATPase activity after radiation, burn and combined radiation-burn injury in rats

李 敏 肖家思 阎淑枝 万子兵 (第三军医大学基础部生理学教研室) 重庆, 630038

研究表明[1,2],放射损伤和烧伤均可以破坏心肌超微结构。且放射损伤、烧伤及放烧复合伤均可使心肌肌球蛋白 ATP酶活性显著降低[3],烧伤导致心肌线粒体 ATP酶活性明显下降[4]。但三伤心肌细胞膜 ATP酶活性的变化及其在心肌超微结构损害中的作用尚未见报道。因此,本文着重研究三伤早期心肌细胞膜 ATPase活性变化,为深入探讨三伤致伤机理提供依据。

1 材料和方法

1.1 动物和分组

健康成年 Wistar大鼠60只,体重200 g~250 g,雌雄不拘,由本校实验动物中心提供,随机分为4组:① 正常对照组(C组);② 单纯放射损伤组(R组);③ 单纯烧伤组(B组);④ 放烧复合伤组(RB组)。每组15只动物。

1.2 致伤方法

1.2.1 放射伤 采用本校防原教研室建立的方法,动物经 $^{60}Co\gamma$ 射线6 Gy全身一次照射,剂量率为170 mGy/min。

1.2.2 烧伤 采用施新猷氏方法,动物在乙醚麻醉下,在腰背部相当于35%体表面积的皮肤脱毛后,用3%凝固汽油烧30 s,造成体表35%总体表面积Ⅲ°烧伤。

1.2.3 复合伤 动物照射后30 min内完成烧伤,致伤方法同上。

1.3 心肌细胞膜的制备

将大鼠击昏后,立即开胸取心脏(致伤大鼠于伤后8 h取其心脏),冲净积血。参照文献[5]的方法加以改进:① 取心室肌加入25倍体积(W/V)0.25 mol/L蔗糖/10 mmol/L Tris-HCl/2 mmol/L DTT(二硫苏糖醇)pH 8.2的缓冲液,制备心肌匀浆;② 匀浆液以3000× g离心15 min留上清;③ 上清以200000× g离心1 h留沉淀;④ 沉淀加以2 ml缓冲液 B(10 mmol/L Tris-HCl/2 mmol/L DTT pH 7.5),超声粉碎后铺于蔗糖梯度液上(蔗糖浓度分别为60%、42%、37%、30%、25%),100000× g离心2 h;⑤ 分别取0%~25%层,25%~30%层及30%~37%层溶液混合,用缓冲液 B稀释后,以200000× g离心1 h,取沉淀加2 ml缓冲液 B,-20℃保存,24 h内测 ATP酶活性。全过程均在4℃下进行操作。

1.4 ATP酶活性的测定

按照文献[5]的方法加以改进,各测酶活性反应体系为:Tris 40 mmol/L(pH 7.5),Mg^{2+} 5 mmol/L,K^+ 14 mmol/L,Na^+ 140 mmol/L,EDTA 0.5 mmol/L及膜酶100 μl,± 10 mmol/L哇巴因100 μl,37℃水浴振荡3 min后加入15 mmol/L ATP-Na_2 100 μl,反应管总体积为1 ml,37℃水浴振荡25 min后立即置冰浴中,加入10%三氯醋酸溶液1 ml终止反应,再于对照管中加入膜酶100 μl。各管以3000× g离心10 min,小心取上清液1 ml,按钼蓝比色法测定无机磷。

按 Lowry法进行蛋白定量。

酶活性以每毫克蛋白质每小时分解 ATP释放无机磷微克分子数表示(μmol·mg^{-1}·h^{-1})

按下式计算各酶活性:

总 ATPase= 膜反应管活性 - 膜空白对照管活性

Mg^{2+}-ATPase= Ouabain管活性 - 膜空白对照管活性

Na^+-K^+-ATPase= 总 ATP酶活性 - Mg^{2+}-ATPase活性

2 结果

由附表可见,大鼠三伤后,心肌细胞膜总 ATP酶,Mg^{2+}-ATP酶及 Na^+-K^+-ATP酶活性均非常显著地低于对照组($P<0.01$),且 B和 RB组各酶活性均显著低于 R组,RB组 Na^+-K^+-ATP酶活性显著低于 B组,但 RB组和 B组总 ATP酶,Mg^{2+}-ATP酶活性差别不显著。伤后8 h心肌细胞膜 Na^+-K^+-ATP酶活性分别降为正常值的26.7%(RB组)、83.8%(B组)和70.5%(R组)。

附表 伤后8 h大鼠心肌细胞膜 ATP酶活性变化(单位:ρs μmol·pi·h^{-1}·mg^{-1})

	对照组(C)	放射伤组(R)	烧伤组(B)	复合伤组(RB)
总 ATPase	51.7± 1.6	16.9± 3.5**	7.6± 0.8**#	7.1± 1.7**#
Na^+-K^+-ATPase	7.10± 2.5	5.0± 1.9*	2.4± 0.8**#	1.9± 0.6**#
Mg^{2+}-ATPase	42.00± 5.9	12.0± 2.0**	5.5± 0.6**#	5.4± 1.2**#

*:与 C组相比 $P<0.05$,**:与 C组相比 $P<0.01$;#:与 R组相比 $P<0.01$

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

3 讨论

各种细胞的细胞膜上普遍存在一种称为钠-钾泵的 Na^+-K^+-ATP酶,它的基本功能是将 Na^+ 自细胞内转运到细胞外,将 K^+ 自细胞外运到细胞内,维持细胞膜内外的渗透压平衡和跨膜电化学梯度,在维持细胞的生理活动、细胞的正常代谢及细胞内外离子平衡中起重要作用。

许多研究已表明[6,7],在很多疾病或病理过程中,细胞膜上的 Na^+-K^+-ATP酶活性均有明显改变。如:离体灌流的兔心室乳头肌缺血过程中,伴有心肌细胞膜 Na^+-K^+-ATP酶的损害[6]。肾性高血压大鼠心肌 Na^+-K^+-ATP酶活性降低[7]等。

本实验结果显示,放射伤、烧伤及放烧复合伤时心肌细胞膜总 ATP酶、Na^+-K^+-ATP酶及 Mg^{2+}-ATP酶活性均显著降低,且复合伤与单纯烧伤时酶活性均显著低于单纯放射伤组,说明单纯放射伤对膜的损害较轻。RB组 Na^+-K^+-ATP酶活性显著低于 B组,但 RB组和 B组总 ATP酶和 Mg^{2+}-ATP酶活性差异不显著,表明复合伤在 Na^+-K^+-ATP酶损害中表现出放射和烧伤的叠加效应,而放射伤并不显著加重烧伤对总 ATP酶和 Mg^{2+}-ATP酶的损害。

心肌细胞膜 Na^+-K^+-ATP酶活性降低,则对 Na^+、K^+ 的转运能力下降,心肌细胞内 Na^+ 难以移向细胞外,造成心肌细胞内 Na^+ 储留和细胞外高 K^+,引起细胞水肿和功能障碍,同时细胞内高 Na^+ 时能激活 Na^+/Ca^{2+} 交换,造成细胞内 Ca^{2+} 超负荷,继发细胞损伤,引起心肌细胞结构和功能的进一步破坏,这可能是烧伤、放射伤时心肌细胞超微结构破坏和心脏功能降低的原因之一。

心肌细胞膜 Na^+-K^+-ATP酶对维持心肌细胞正常生理功能具有重要作用。因此保护心肌细胞膜 Na^+-K^+-ATP酶,减轻其损害,对放射伤、烧伤时心脏防护有指导意义。

关键词 辐射损伤;灼伤;;放烧复合伤;心肌;细胞膜;ATP酶

中图法分类号 R818.8

参考文献

1 郭 鹞 主编.放射损伤病理学.北京:人民卫生出版社,1987.222~223

2 胡伟钢,陈意生.大鼠严重烧伤后1周内的心室肌匀浆丙二醛含量与心室形态学改变.中华创伤杂志,1993;9(1):4

3 熊 业,陈宗荣,程天民等.放烧复合伤早期心肌能量代谢变化.第三军医大学学报,1995;17(4):284

4 叶本兰,萧加思.烧伤血浆毒性物质对豚鼠心肌线粒体呼吸功能的影响.四川生理科学杂志,1994;16(4):1

5 Yoshio Y, Jun F. Depressed Na^+-K^+-ATPase activity in the failing rabbit heart. Jap Heart J, 1972; 13(1): 73

6 Cascio W, Yan G X, Kleber G. Early changes in extracellular potassium in ischemic rabbit myocardium. Circ Res, 1992; 70(2): 409

7 陈连红,王有林,丁建华. Effect of tetrandrine on myocardial Na^+-K^+-ATPase in renovascular hypertensive rats. 中国药理学报,1991;12(6):488

(收稿:1995-12-05;修回:1996-09-15)

(编辑 刘 鹏)

肝硬化尿 PGs排泄量与肾功能关系的研究

Study on the relationship between the urinary excretion of prostaglandins and renal function in liver cirrhosis patients

陈文生 周子成 刘为纹 (第三军医大学附属西南医院消化内科)重庆,630038

肝硬化腹水的发生机理尚未完全明了,调节水盐代谢激素的变化参与其发生。本研究旨在探讨肝硬化患者肾前列腺素(PGs)的代谢变化,及其与肾有效血浆流量(ERPF)、内生肌酐清除率(Ccr)和肾钠潴留的关系,为肝硬化腹水发生机理及临床治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

肝炎后肝硬化近期无并发症患者44例,根据临床及肝功能减退程度分为:(1)肝硬化失代偿组(DC)27例,均有腹水,男19例,女8例,年龄21岁~67岁,平均44.7岁;(2)肝硬化代

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