DOI:10.16016/j.1000-5404.1986.s1.012

高速枪弹伤后局部肌肉组织琥珀酸脱氢酶活力变化

赖西南 刘荫秋 巫胡兰 傅小兵 万 芃 李曙光 王大田 蒋苏平 徐贵文

（野战外科研究所 第六研究室）

提 要 1. 本文报告了高速枪弹（5.56mm弹丸）致伤后，在伤后1和6小时，距伤道壁0.5、2、3 cm处肌组织SDH活力变化的特点，并和相应部位的膜电位测定值对照，实验动物为6只成年狗。

2. 实验结果表明，在距伤道壁0.5cm处SDH活性持续下降，和该处膜电位变化相符。

2cm处SDH活性维持在一个低的恒定水平，该处膜电位下降不明显。

3cm处SDH和膜电位下降均不明显。

3. 上述改变说明肌细胞死亡，膜电位下降时SDH活性即持续下降，提示肌组织SDH活性测定可作为判定火器伤失活组织界限实验研究的可靠指标。

关键词 琥珀酸脱氢酶；膜电位；高速枪弹

对四肢肌肉火器伤的处理和对其它软组织损伤一样，最重要的基本手段是靠医生的经验。由于现代高速小口径武器所致损伤广泛，因此寻找判断沿伤道周围组织状态的客观而准确的方法，实为战伤治疗研究中迫切需要解决的问题之一。

判定失活组织的界限的关键是确定细胞氧化磷酸化是否进行，能量代谢有无障碍。已知在组织缺血坏死时线粒体的早期损伤发生于不可逆的细胞损伤之前[1]，而在线粒体缺血损伤时，线粒体内膜的琥珀酸脱氢酶（SDH）的活力急剧下降[6][7]。

本实验采用测定犬肌伤道周围肌组织SDH活力，并和相应部位的细胞膜电位测定值对照，以期为火器伤后失活组织判定的实验研究提供一可靠的客观指示。

材 料 和 方 法

采用重庆地区健康雄性杂种犬6只，体重10～15kg，用1.5%戊巴比妥钠静脉注射麻醉（30mg/kg），实验过程中少量追加麻醉。将动物单一后肢悬吊在致伤架上，肢体厚度为5cm左右，射击点为股部中段，避开股骨和大血管，致伤采用固定枪架的M16弹道枪，射距20m，人工击发，弹丸为5.56 mm制式弹丸，初速为987m/s。致伤后立即在伤道出口处解剖内收肌群，在一定时间内测定伤道膜电位变化和活检测定肌匀浆SDH活力。

肌匀浆SDH活力测定 伤后1小时和6小时，距出口处伤道壁0.5，2，3 cm 处沿肌纤维走向手术切取0.5×0.5×0.4cm的肌组织，洗净血迹，迅速去除组织块上所附结缔组织，立即将组织块置入预冷的玻璃组织研磨器，加入5倍体积的预冷的pH7.4，50 mM Tris-HCl缓冲液，以手动方式在冰浴中匀浆5分钟。吸取匀浆液按TTC（氯化三苯四氮唑）法测定SDH活性[8]。即SDH作用于琥珀酸钠，生成的氢离子使氯化三苯四氮唑还原生成红色的三苯甲臜，420nm比色测定。

以Folin-Phenol法[9]测定匀浆液蛋白含量作为对照。SDH活性表示为37℃下每小时每毫克蛋白氧化琥珀酸钠，使TTC还原的微克量。

以伤前健肢取材测定值为正常对照值。

膜电位测定 采用尖端约0.5μ左右，尖端电阻约10～30兆欧的玻璃微电极测定其中5只犬的活检部位的细胞膜电位。以微电极操纵器控制电极的插入深度，将微电极引导出的电位差经微电极放大器放大，输入SBR-I型双线示波器显示，测定值以mv计。

统计学，以t检验评定相差显著。

结 果

伤后不时时间内伤道周围肌组织SDH活性和膜电位测定值见表：

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

	伤前值	伤后1小时			伤后6小时		
		0.5cm	2 cm	3 cm	0.5cm	2 cm	3 cm
SDH (n=6)	7.52±1.24	3.23±1.04*	4.58±0.63*	7.72±1.54	1.30±0.85*	4.65±0.65*	7.96±1.78
膜电位 (n=5)	87.5±2.87	18.13±5.54*	61.25±10.31	76.8±3.75	25.0±4.08*	76.8±3.75	84.38±3.05

* 和伤前值比较相比非常显著（$P<0.01$）

距伤道不同距离的SDH活性均随时间推移而下降：0.5cm 处，伤后下降非常显著。伤后1小时下降57%，6小时下降82%，二者相比$t=6.89$，$P<0.01$，相差非常显著。相应部位的膜电位也在伤后下降非常显著，伤后1小时下降79%，6小时后略有回升，下降率为71%。

2 cm处SDH活性伤后1小时下降39%，6小时下降38%，二者相比，$t=0.23$，$P>0.05$。而相应部位的膜电位值在伤后1小时下降30%，而在6小时则略有回升，仅下降12%，但经统计学处理和伤前比均下降不明显。

3 cm处的SDH活性和膜电位值均在正常范围之内，在伤后6小时SDH略有上升，但统计学上无意义。

讨　论

SDH为一分子量2万的黄素脱氢酶，它只位于线粒体内膜，故在分离线粒体时常以此作为标志。该酶为呼吸链的重要酶，它参加三羧酸循环，催化琥珀酸脱氢酶形成延胡索酸，脱下的电子经辅酶Q进入呼吸链，经过一系列电子传递过程，最后和分子氧结合生成水[11]。在这一电子传递过程中，发生磷酸化作用，生成ATP。由此可知，SDH活性高低直接和线粒体氧化磷酸化有关，反映了线粒体内膜状况。由于活存细胞的基本条件是能量的产生[5]，故细胞死亡即可见SDH活性迅速消失[6]。

细胞将要死亡的一个有力证据为低而持久的跨膜电位。Haljamäe等[3]曾测定了高速投射物所致犬肌不同距离在6小时内的膜电位。见距伤道0.5cm处膜电位在6小时内保持在36.86±8.0mv的低水平上，和对照值相比相差非常显著。而距伤道2和3cm处的膜电位，在致伤后6小时内基本正常。膜电位的不可逆下降证实该处细胞坏死，细胞内能量低谢严重障碍。本实验采用跨膜电位记录的方法确定骨骼肌细胞的存活性，以和该部位的SDH活性比较，采用该方法较其它方法准确，损伤轻微，便于肌肉进一步活检。

本实验观察时间定为伤后1和6小时，这是因为通常认为感染限于伤口局部的时间为6小时[1][16]，故在此时间内利于观察高速投射物所致的肌肉损伤。

由实验可知，距原发伤道0.5cm处肌细胞跨膜电位，在伤后6小时内保持在低水平上。这和Haljamäe所见一致[3]。该部位的SDH活性在伤后下降明显，在伤后6小时和伤后1小时相比，$P<0.01$，呈持续下降的趋势。这说明该部位的肌细胞线粒体严重损伤，肌细胞进行性坏死，难以维持正常的氧化磷酸化过程。Holmström等人[5]曾证实该处ATP、CP值下降幅度大，致10小时已近为零。王正国等人[4]曾观察该处组织的超微结构改变为伤道挫伤区特征，线粒体肿胀，嵴断裂，空泡化，形成致密体和髓样体，故可推测造成SDH活性下降的原因可能有两个：一是弹丸击中组织以压力波的形式释放传递能量，致使细胞器受损[12][15]。一定量的冲击波可能引起细胞膜的破裂，并且冲击波前面发生的强烈局部加热效应也可能引起组织细胞蛋白凝固[13]，这同样可致酶蛋白的变性。二是瞬时空腔所致的局部血液循环受损，导致微循环障碍，局部组织严重缺血[14]，氧化作用和清除废物能力下降，细

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

胞代谢能力降低，无氧酵解增强，乳酸和H+增多，曾测得该部位乳酸甚至可达650%以上[14][15]。导致细胞内pH下降从而或加速线粒体膜的脂蛋白分解为蛋白质和类脂质，或是和弱碱性的SDH结合抑制其功能，或是直接导致蛋白质结构变性，以使酶活性下降[10]。乳酸增加过多，可致细胞内溶酶体破裂释放多种水解酶，进而导致细胞破坏，释放毒性因子，引起邻近细胞死亡，表现为SDH活性持续下降。

距原发伤道2cm处肌组织SDH下降辐度较0.5cm处小，且保持在一恒定的低水平。该处膜电位下降不明显，提示该部位细胞损伤轻微。病理学观察已曾证实该部位为震荡区病理改变特点，细胞损伤较0.5cm处轻，墨汁灌注示该部位血液循环好[2]，故认为该处虽部分线粒体受损，但残余SDH活性增强，导致SDH活性保持在一恒定的低水平上，无进行性下降趋势。结合该处膜电位下降不明显这一事实，可以认为该处受损的肌组织随着时间推移可望恢复正常。

在距伤道3 cm处，膜电位和SDH活性均无明显变化，说明对该部位细胞线粒体的功能影响甚微，该处ATP测定也示无明显减少[5]。

由于本实验致伤肢体为单肢，厚度约为5 cm左右，仅为人大腿肌肉厚度的一半，故弹丸释放的能量不完全同于击中人体时，因而上述肌组织SDH活性的变化只能作为研究人体时的参考。

小　结

本实验探讨了高速枪弹伤所致肌细胞SDH活性的变化特点，并和该部位的膜电位对照。由实验可看出，在距伤道不同距离的肌细胞的SDH下降不一，尤以0.5cm处明显。说明低而持久的SDH活性表明该处细胞氧化磷酸化障碍，细胞死亡，提示SDH测定可作为判定火器伤的失活肌组织的参考指标。

参考文献

1. Radams C, et al. Am Surg 1979; 45(4): 255～268
2. 王正国, 等, Acta Chir Scand Suppl 1982; 508:185～195
3. Haljamae H, et al. Acta Chir Scand Suppl 1979; 489:165～172
4. 王正国, 等. Acta Chir Scand Suppl 1982; 508; 187～210
5. Holmström A, et al. Acta Chir Scand Suppl 1983; 149:729～734
6. 武忠弼主编。病理学。人民卫生出版社，1984: 23
7. 陈啸梅，等。组织化学手册。人民卫生出版社，1982:210
8. Ernest K, et al. Science 1949; 109(11): 144～146
9. Loury OH, et al. J Biol Chem 1951; 193: 265
10. NC BEPNTOB著，何瑞荣译。肌肉和神经系统普通生理学。人民卫生出版社，1963:213～216
11. 沈同，等。生物化学。人民教育出版社，1980:425
12. 王正国。解放军医学杂志 1982; 5(7)
13. Rybeck, et al. Internation Review of Army Nary and Air Force. Medical Series 1978: 51(2):1028
14. Holmström A, et al. Acta Chir Scand Suppl 1982; 508:257～259
15. Berlin RH. Acta Chir Scand Suppl 1977; 480
16. 刘荫秋，等 Acta Chir Scand Suppl 1982; 508:211～221

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

Changes of Succinate Dehydrogenase Activity of Muscles Wounded with High Velocity Bullets

Lai Xinan, et al(Research Institute of Surgery, Third Military Medical College)

The changes of succinate dehydrogenase (SDH) activity and the transmembrane potential at areas 0.5, 2, and 3 cm away from the wound track respectively of the hind legs of 6 dogs in the 1st and 6th hour after injury with high velocity bullets(5.56mm) were studied.

It was found that both the SDH activity and transmembrane potential lowered significantly and continuously in the 0.5 cm area. In the 2 cm area, the SDH sctivity was maintained at a low level, and the changes of the transmembrane potential were not remarkable. In the 3 cm area, both the SDH activity and transmembrane potential showed no obvious changes.

The results suggest that the assay of the SDH activity of the injured muscles proves to be an effective and reliable method to predict the viability of muscles.

Key words: Succinate dehydrogenase; Transmembrane potential; High velocity bullet

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