DOI:10.16016/j.1000-5404.1985.04.001

小鼠肠型放射损伤合并烧伤对小肠上皮细胞的复合效应

粟永萍 程天民

（卫防系 防原医学教研室）

提 要 体重30～35g杂种健康雄性小鼠746只，分设四组：单放（^{60}Co 12 Gy）、单烧（15%Ⅲ度）、放烧（两伤复合）和正常对照组。对比研究放烧复合后的死亡效应和肠上皮损伤效应的动态变化。结果表明复合效应有明显的病程阶段性差异：伤后48小时内放烧组死亡率较单放组为高，肠上皮损伤亦较重，其原因可能与早期休克有关。而伤后49～96小时，放烧组的死亡率却较单放组为低，肠上皮恢复亦较好。由此可见，机体对复合伤的反应十分复杂，必须对其作具体分析，有针对性地进行防治。

关键词 复合效应；放射损伤；放烧复合伤；肠型放射病；小肠上皮细胞损伤；烧伤

放射复合伤是核爆炸引起的重要伤类。肠型放射损伤可复合不同程度的烧伤和(或)冲击伤，通常复合暴露部位烧伤居多。单纯放射病、包括肠型放射病的肠上皮变化已有大量研究，而对复合烧伤后，肠上皮细胞复合效应的发生与否，复合效应的特点及机理，以及对整体效应的影响等文献报导极少。本文以单一伤和复合伤相对比，多项指标相结合，研究轻型肠型放射损伤复合略大于暴露部位面积深度烧伤时在肠上皮所发生的复合效应，希能对复合效应规律性的认识有所深化，对探讨治疗原则有所参考。

材料与方法

本实验设单纯放射损伤（单放）、单纯烧伤（单烧）、放烧复合伤（放烧）及正常对照组。共用746只杂种健康雄性小鼠（体重30～35g）。

单放：^{60}Co-γ线12Gy全身一次照射，照射量率1.36Gy/分；单烧：用3%凝固汽油（0.05ml/cm^2）燃烧7秒造成15%Ⅲ度烧伤；放烧：烧伤后30分钟内接受照射（方法同上），单放和放烧两组动物同时照射。对照组除不致伤外，其余条件均与致伤组相同。

动物分组、观察指标及取材时相点综列于表1。

1. 小肠上皮光、电镜观察

按改进方法制成全小肠卷肠HE染色切片（图1），作光镜观察。电镜取材部位固定在Treitz韧带下3cm处空肠，常规制片、观察。

2. 全小肠湿重称量

取下全段小肠，除净系膜，冲净肠内容物，剖开肠管，用滤纸吸去浸露水分，以扭力天平称湿重。

3. 全小肠隐窝计数

对卷肠切片从十二指肠始端到回肠末端逐个计数全小肠一个纵切面上的“活存隐窝”，将保留有活存细胞（不论其数）的隐窝均作为“活存”隐窝。

4. 小肠上皮嗜银细胞变化

对卷肠切片作Grimelius[1]嗜银染色。由内圈到外圈逐层计数50个视野（×40）的嗜银细胞，并观察其形态变化。

5. 全小肠^{3}H－TdR掺入量测定

小鼠活杀前1小时腹腔注入^{3}H-TdR 10μci/1ml/只。制作全段全层小肠样品进行放射性液体闪

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

表 1　实验动物分组、指标、取材时相一览表

时相点	肠重 光镜观察 隐窝计数 嗜银细胞观察				^{3}H-TdR掺入				AKP半定量 电镜观察				死亡效应		
(伤后小时)	单烧	单放	放烧	对照	单烧	单放	放烧	对照	单烧	单放	放烧	对照	单烧	单放	放烧
1	5	5	5		8	8	8		5	5	5				
3	5	5	5		8	8	8		5	5	5				
6	5	5	5		8	8	8		5	5	5				
12	5	5	5		8	8	8		5	5	5				
24	5	5	5		8	8	8		5	5	5				
48	5	5	5		8	8	8		5	5	5				
60	5	5	5		8	8	8		(2)	(3)	(3)				
72	5	5	5		8	8	8		5	5	5				
96	5	5	5		8	8	8		5	5	5				
合计	45	45	45	15	72	72	72	20	40	40	40	15	51	87	87
	150				236				135				225		

电镜材料单放和放烧组每时相点各取3只，单烧组每时相点取2只，对照2只

（ ）内为60小时点电镜取材数。

烁计数，结果经淬灭校正。

6．小肠上皮碱性磷酸酶(AKP)活性变化

取Treitz韧带下5cm处空肠，用恒冷切片机制作5μ厚肠横切面冰冻切片，同一时相点的所有切片用Pearse偶氮偶联法[2]同步染色。AKP半定量在双盲法下进行，观察完5μ厚的一个完整小肠横切面后记分。

7．96小时内病情表现及死亡效应

225只小鼠分别造成上述的单放、单烧和放烧复合伤，但不作以上指标，观察伤后96小时内的病情表现和死亡效应。

结　果

1．肠上皮细胞及超微结构变化

烧伤后肠壁各层瘀血水肿，毛细血管内皮细胞肿胀，粒细胞侵入上皮层增多，几类肠上皮细胞发生变性，表现为线粒体肿大，内质网扩张，髓样体形成，溶酶体增多等。72小时后，小肠瘀血水肿和肠上皮病变减轻。

单放和放烧组于伤后1、3、6小时隐窝核分裂相完全消失，在隐窝下1/3处出现较多核溶解小体（图2）。未坏死细胞核边缘不清晰，或核膜明显缺损，核扭曲，常染色质与异染色质混乱，染色质间颗粒及染色质周围颗粒减少以至消失。线粒体肿胀如气球样，嵴隐约可见或完全消失，内质网及高尔基氏器高度扩张，粗面内质网局部脱颗粒。绒毛各段上皮细胞个别坏死脱落。

伤后12小时，单放和放烧组的肠上皮变化有所差异（图3、4），单放组坏死细胞清除快，残迹少，放烧组清除慢，残迹多；单放组隐窝细胞排列稀，放烧组密；单放组隐窝细胞为核和胞浆都呈泡沫状的大细胞，放烧组则很少见到这类细胞；单放组再现的核分裂多，放烧组少。再现的核分裂有明显异形性，有的发生增殖死亡，难以见到核分裂后形成的正常新生细胞。并且再现的核分裂不仅见于隐窝，也见于绒毛（图5），电镜

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

见核分裂细胞内有较多线粒体和内质网（图6）。

伤后24、48小时，绒毛枯瘦，上皮细胞变矮、增宽。隐窝进行性破坏、崩解。伤后48小时残存于隐窝和绒毛下部主要由畸形细胞构成。畸形细胞有异常核分裂，有的发生增殖死亡，隐窝和绒毛底部出现双核细胞（图7）。

伤后60、72、96小时，残存隐窝、畸形细胞逐渐减少，再生隐窝逐渐增多。但是，单放和放烧组的肠上皮损伤修复速度有较明显差异，同一段时间内的残存隐窝放烧组比单放组多，隐窝再生放烧组比单放组快（图8）。

潘氏细胞、粘液细胞及肠内分泌细胞的辐射抗性相对较高，但细胞器和分泌颗粒均有不同程度退变。

单放和放烧组于伤后1～48小时，肠壁各层瘀血水肿明显，以放烧组尤甚，60小时后渐减轻。

2、全小肠湿重变化

对照组全小肠湿重为2.22±0.09g。三伤（单烧、单放和放烧）组结果见图9。

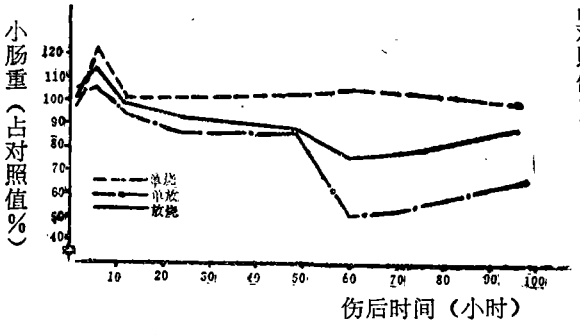


图9　三伤组全小肠湿重的动态变化

总的看来，48小时以内，各伤组肠重与对照组无明显差异，伤后60、72、96小时放烧组肠重非常显著地高于单放组（$P<0.01$）。

3、全小肠“活存”隐窝计数

按一张全小肠卷肠切片（相当于全小肠一个纵切面）计数结果，对照组15只小鼠的隐窝数均值为8159±109个。三伤组计数结果见图10。

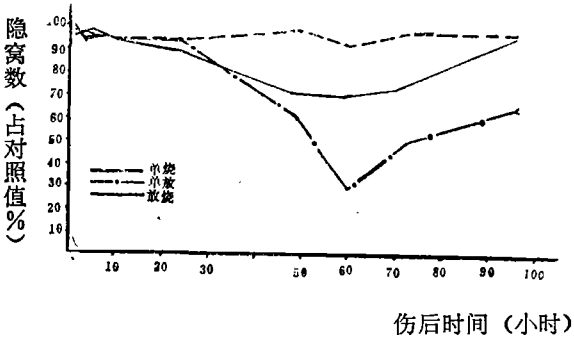


图10　三伤组全小肠“活存”隐窝数的动态变化

单烧组各时相点隐窝计数与对照组无显著差异。伤后24小时前，三伤组与对照组均无显著差异（$P>0.05$）。60、72、96小时放烧组高于单放组（$P<0.01$）。

4、肠上皮嗜银细胞变化

嗜银细胞数于三伤组、不同时相点有一定差异，见图11。

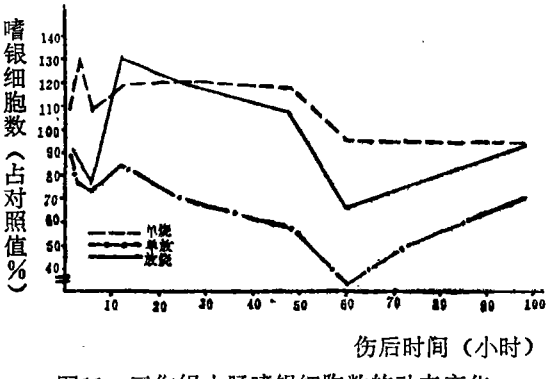


图11　三伤组小肠嗜银细胞数的动态变化

单烧组伤后48小时内，肠嗜银细胞数高于对照值，3小时为峰值（$P<0.01$）。伤后12～96小时放烧组嗜银细胞数均非常显著地高于单放组。

5、小肠^{3}H－TdR掺入量测定

伤后^{3}H-TdR掺入量有明显变化，见图12。

烧伤后1小时高于对照值（$P<0.05$），6小时非常显著地低于对照值（$P<0.01$）。余各时相点与对照值无显著差异。

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

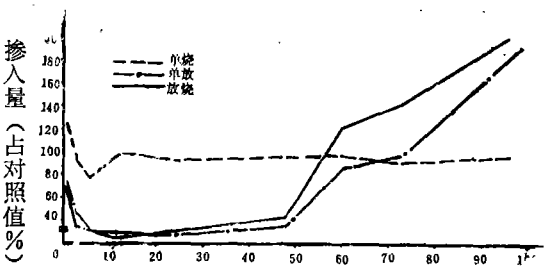


图12　三伤组小肠^{3}H-TdR掺入量的动态变化

48小时内各时相点，单放和放烧组显著低于对照组（$P<0.01$）。12小时前放烧组低于单放组，3小时差异非常显著（$P<0.01$）。60～96小时放烧组非常显著地高于单放组（$P<0.01$）。

6、小肠上皮AKP活性变化

从图13可以看出，烧伤和放射损伤均可引起小肠上皮AKP活性变化。伤后24小时内，单放与放烧组间无显著差异，而伤后48～96小时放烧组非常显著地高于单放组（$P<0.01$）。AKP活性变化与绒毛上皮形态变化基本吻合。

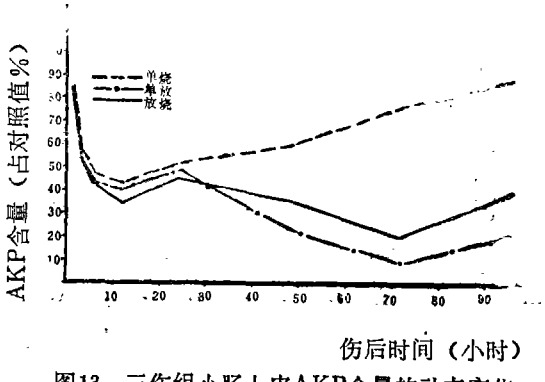


图13　三伤组小肠上皮AKP含量的动态变化

7、96小时内的病情表现和死亡效应

小鼠烧伤后48小时内精神萎靡、少动、纳食少、饮水多、肢端冷，少数动物瘫软直到死亡。活存动物渐趋好转，48小时后极少发生死亡。单放组伤后48小时内的活动、饮食变化不明显，48小时后一般情况渐进性变差，72小时后进入危重阶段，大量动物死亡。放烧组早期症象较单烧和单放组动物为重，72小时后显危重症象的动物比单放组为少。单放和放烧组72小时后，均发生水样腹泻，或血水便，但未见排出膜样物。

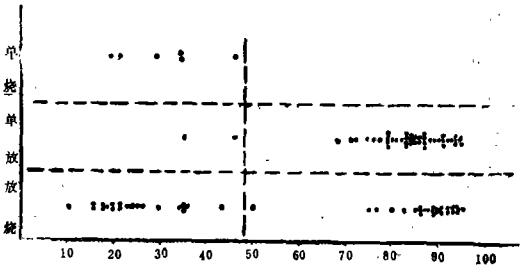


图14　三伤组死亡时间分布情况
（每点代表1只动物）

三伤组225只小鼠在96小时内共死亡98只，死亡时间分布示意如图14，不同时间死亡率列于表2。平均活存时间单放组和放烧组分别为80.80和61.24小时，两组相差非常显著（$P<0.01$）。

表2　三伤组不同时间的死亡率比较

伤后时间(小时)	单放与放烧	单放与单烧	单烧与放烧
0～48	$T=4.32^{**}$	$T=1.10$	$T=2.58^{**}$
49～96	$T=2.11^{*}$	$T=7.49^{**}$	$T=5.08^{**}$
0～96	$T=0.40$	$T=5.77^{**}$	$T=6.22^{**}$

T：表示T值　　*差异显著　　**差异非常显著

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

讨　论

放烧复合后的死亡效应有其特殊性。本实验15%Ⅲ度烧伤组，按烧伤程度划分标准，属重度伤情范围，从实际伤情表现和死亡率看，为中度偏重或重度偏轻伤情；12Gy单纯放射病和放烧复合伤无疑均属肠型放射损伤。在伤后96小时的观察期内，单烧组死亡数少，主要发生在伤后2天内；单放组死亡数多，集中发生在伤后3～4天内；放烧组死亡数也多，却在伤后2天以内和3～4天出现两个死亡高峰。以伤后48小时（2天）为界，48小时内放烧组死亡率显著高于单放或单烧组（$P<0.01$），并高于两单伤之和（"1＋1＞2"）；而49～96小时单放组死亡率显著高于放烧组（$P<0.05$）；综观0～96小时，单放组与放烧组死亡率则无显著差异（$P>0.05$）。主要由于放烧组早期死亡多，因而其平均活存时间比单放组显著缩短（$P<0.01$）。

大量文献报告，在接受致死性骨髓型放射病照射剂量复合不同种类不同程度损伤后，大多显示复合后死亡率增加，并高于两单伤(单烧、单放)死亡率之和[3-8]。而本实验小鼠受12Gy(肠型剂量)照射当然会100%死亡，15%Ⅲ度烧伤也会使部分动物死亡，两伤复合后不可能在总死亡率上显示差异。经分析不同时间内的死亡情况，却揭示了伤后48小时内放烧组死亡率非常显著地高于单放组，49～96小时则低于单放组的特点。

放烧复合后肠上皮变化在不同的病程阶段表现出不同的特点。伤后48小时内的主要特点是：（1）肠壁瘀血放烧组较单放组严重；（2）肠上皮坏死细胞清除放烧组比单放组迟缓；（3）伤后3小时$^{3}H-TdR$掺入量放烧组非常显著地低于单放组。伤后49～96小时的主要特点是：（1）残存隐窝放烧组比单放组多；（2）绒毛枯萎裸露放烧组比单放组轻；（3）再生隐窝放烧组比单放组多；（4）小肠重量恢复放烧组比单放组快；（5）肠嗜银细胞丧失放烧组比单放组少；（6）$^{3}H-TdR$掺入量放烧组比单放组多；（7）肠上皮AKP活性放烧组比单放组高。不难看出，放烧复合后肠上皮具有类似整体死亡效应那样的变化特点。要强调指出，对肠上皮的多项观察指标结果相互吻合，肠上皮变化与整体病情及死亡效应一致，可以排除偶然性，大量受试个体的综合结果可以减少个体差异的影响。

放烧复合伤早期死亡的原因，根据其病情表现，小肠壁以血循障碍为主，并有一定的损伤变化特点，死亡主要发生在相当于烧伤的休克期，故认为休克可能是放烧复合后早期死亡的主要原因。这与文献[7][8][9][10]报导较一致。Maisin[11]用5－HT作为抗放预防用药，发现伤后12小时肠上皮核分裂相用药组比未用药组少，而24小时后用药组比未用药组多，并且烧伤病员尿中5－HT含量比正常增高[12]。本实验致伤48小时后，肠上皮的病变特点与分泌5－HT有关的肠上皮嗜银细胞的反应有否关系，值得进一步研究。

早期对复合伤的研究大多通过观察死亡率来探讨复合效应，少数研究者[6][8]也曾探讨过组织器官水平的复合效应。一般认为"相互加重"是复合伤(包括放射复合伤)的基本规律，有的将复合伤即称为"相互加重综合征"。近年苏联学者[13]提出非照射因子对受照机体的作用具有阶段性。本实验12Gy照射复合15%Ⅲ度皮肤烧伤后的结果，突出地表明肠上皮复合效应有明显的病程阶段性差异。如早期未发生死亡，活存到一定时候，肠上皮的损伤效应比相应时间内的单放组为轻，因此，早期积极防治休克，有可能争取到较好的病理过程。

由此可见，不同损伤复合后，机体发生一系列变化，所反映出来的复合效应是极为

21994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

复杂的，因损伤种类、程度、致伤前后次序、相隔时间不同及在复合伤的阶段不同等其复合效应亦有差异；在不同脏器、组织和细胞的效应也不尽相同。因此，对复合效应必须进行具体的、而不是笼统的，有条件的、而不是泛指的分析，才能深化对复合伤的认识，并藉以指导防治的实践。

（本实验承蒙古德全、林远以及电镜室、钴源室等同志的大力协助，谨致谢意！）

参 考 文 献

1. 杜卓民主编：《实用组织学技术》人民卫生出版社，1982年，P217

2. Lojda ZR, et al: Enzyme Histochemistry. Berlin Heidelberg, New York 1979, P65

3. Brooks JW, et al: The influence of external body radiation on mortality from thermal burns. Ann Surg 1952;136:533

4. Brooks JW, et al: A comparison of local and systemic effects following contact and flash burns. Ann Surg 1956;144:768

5. Baxter H, et al: Reduction of mortality in swine from combined total body radiation and thermal burns by streptomycin. Ann Surg 1953; 137:450

6. Valeriote FA, et al: The combined effects of thermal trauma and X-irradiation on early mortality. Red Res 1964;22:693

7. Alpen EL, et al: The combined effects of thermal burns and whole body X-irradiation on survival time and mortality. Ann Surg 1954; 140:113

8. Baker DG, et al: Effects of thermal burn and X-irradiation on early mortality. Proc Soc Exp Biol Med 1966; 121:1275

9. Åhren C, et al: Mucosal lesions in the small intestine of the cat during low flow. Acta Physiol Scand 1973; 88: 541

10. Chiu CJ, et al: Intestinal mucosal lesion in low-flow states. Arch Surg 1970; 101:478

11. Maisin JR, et al: Influence of a mixture of radio-protectors on the cell renewal in the duodenum of x-irradiated mice. Int J Radiat Biol 1967;13(1):35

12. 三医大烧伤防治研究协作组主编：《烧伤治疗学》1977年，P65

13. 汤家骥：军事医学动向。1984;(1):1

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

The Effect of Combined Radiation–Burn Injury on Intestinal Epithelium in Mice

Su Yongpin, Chen Tianmin

(Department of Antiatomic Medicine, Third Military Medical College)

Seven hundred and forty-six mice, weighing 30～35 grams, were divided into four groups randomly. The animals of the first three groups were inflicted with radiation injury (12 Gy total body irradiation from a Co^{60} source), burn injury (15% of third degree burns), and combined injury of radiation and burns(12 Gy total body irradiation and 15% of third degree burns) respectively. The fourth group worked as normal control.

The mortality and the dynamic changes of the intestinal epithelium of the experimental animals were studied. It was found that the clinical course of the combined injury group was quite different from other two. The mortality of the combined injury group was higher and the damage on the intestinal epithelium was more severe than those of the radiation injury group in the first 48 hours after injury. In the second 48 hours, the mortality of the combined injury group became lower and the recovery of the intestinal epithelium faster.

The reactions of the experimental animals to the combined injury of radiation and burn were very complicate. Further investigation is essential to elucidate the mechanism and to formulate appropriate therapeutic measures.

Key words: Combined effect; Irradiation; Combined radiation-burn injuries; Irradiation disease of intestinal type; Injury of intestinal epithelial cells; Burn

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

小鼠肠型放射损伤合并烧伤对小肠上皮细胞的复合效应 （正文见第321页）

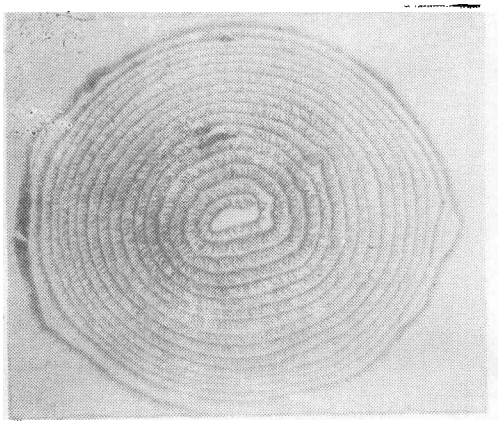


图 1　全小肠卷肠切片示小肠的一个完整纵切面，从内向外为十二指肠至回肠。HE×5.1

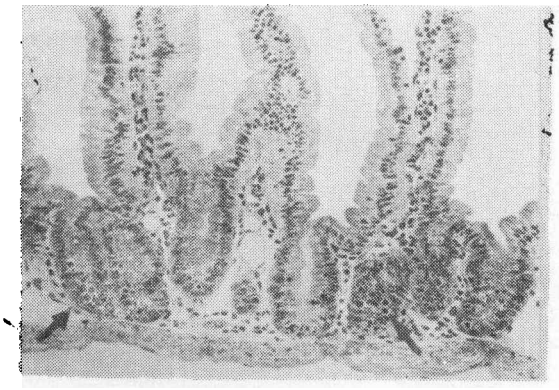


图 2　隐窝核分裂相消失，隐窝下部较多核溶解小体（箭头）和组织碎片。单放后一小时 HE×198

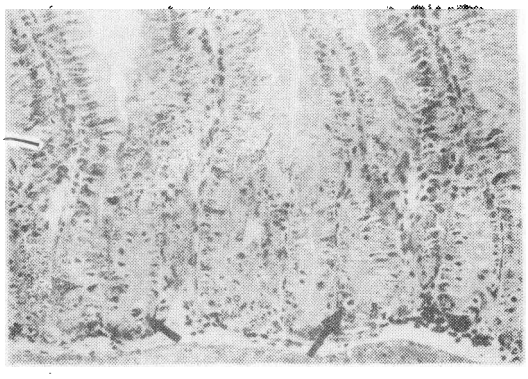


图 3　隐窝核分裂相出现，有的是病理性核分裂（黑指针），增殖死亡（黑箭头）。隐窝细胞环死残迹少，细胞排列稀，核增大，较明亮（白指针）。粘膜下基质水肿。单放后12小时　HE×198

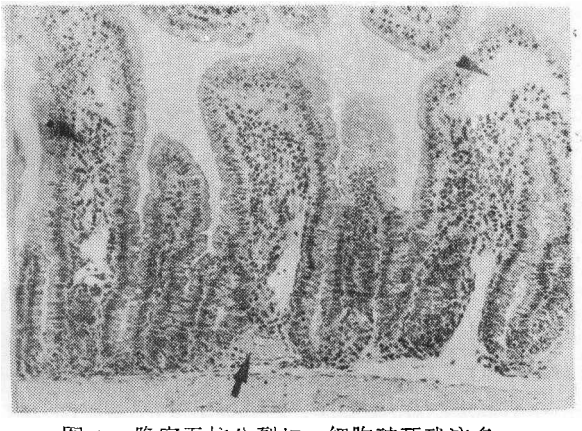


图 4　隐窝无核分裂相，细胞破死残迹多，细胞排列密，绒毛下间隙形成（指针），血管淤血（箭头）。放烧后12小时　HE×158

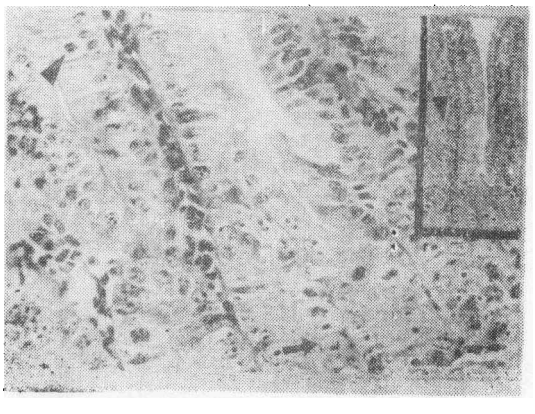


图 5　隐窝中部出现核分裂（黑指针），隐窝有异常核分裂（黑箭头）和增殖死亡（白指针），隐窝细胞体大，核仁大而多。细胞连接线增宽。单放后12小时　HE×396
右上角为缩小图　HE×99

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

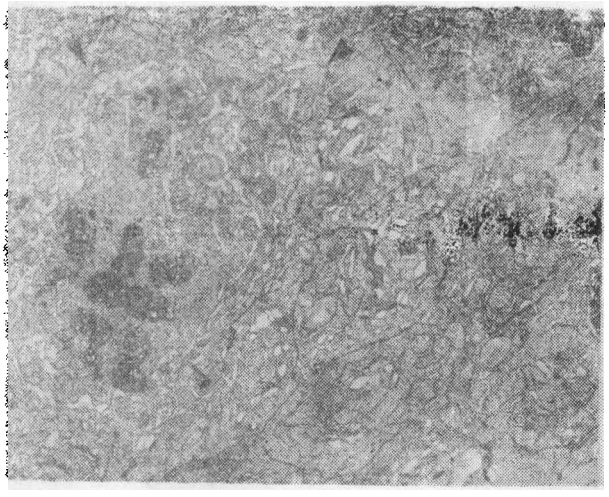


图 6　肠上皮增殖细胞核分裂相，分裂细胞内有较多分化线粒体及扩张的内质网，细胞界限清晰（箭头）。分裂细胞周围细胞内有丰富的分化细胞器。单放后12小时 ×8,100



图 7　隐窝和绒毛下部出现双核细胞（箭头），有些隐窝细胞发生增殖死亡（指针）。单放后48小时　HE×198

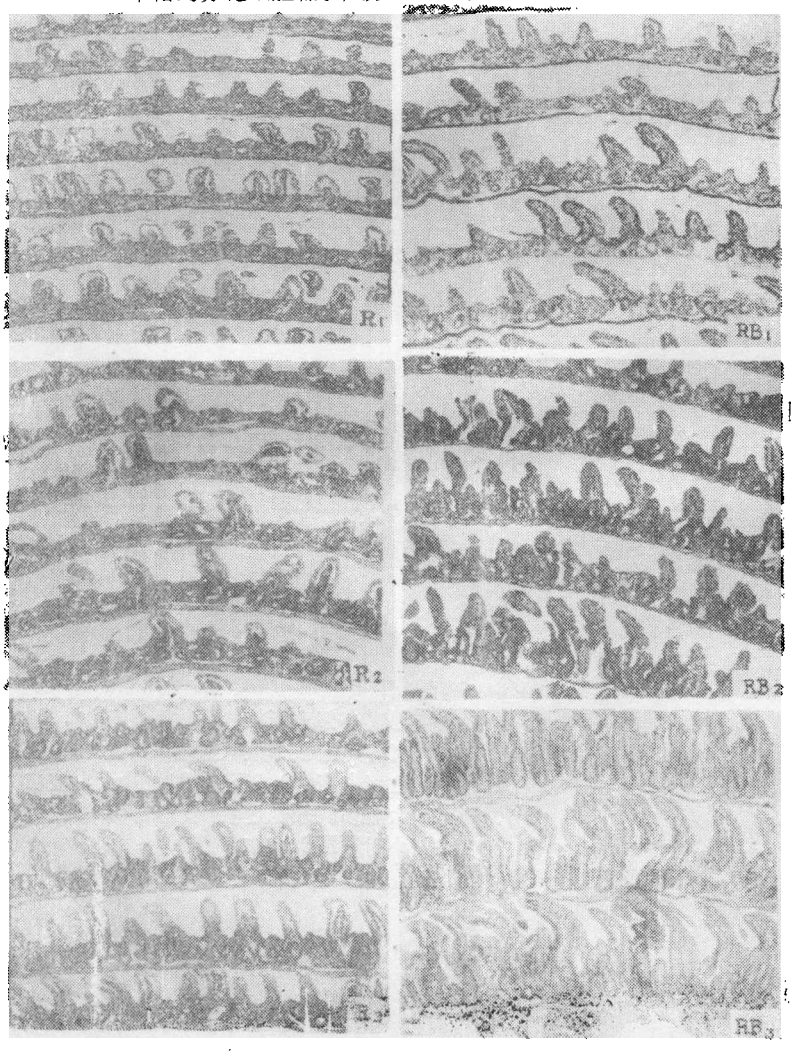


图 8　R—单放，RB—放烧，R_1、RB_1为伤后60小时，R_2、RB_2为伤后72小时，R_3、RB_3为96小时，均显示放烧组再生隐窝比单放组明显。HE×40

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