·休克与复苏·

严重烧伤后早期大鼠肝脏细胞内外钠离子分布和化学状态的变化

夏照帆　田建广　熊杰　马兵　卫伟　韦多

【摘要】 **目的** 观察大鼠严重烧伤后肝脏细胞内、外 Na^+ 在分布和化学状态上的改变，为烧伤后早期液体复苏方案的选择提供理论指导。 **方法** 选取成年雄性 SD 大鼠 19 只，随机分为对照组（12 只）、烧伤组（7 只），采用钠-23 磁共振（^{23}Na NMR）波谱技术和位移试剂，测定两组大鼠肝脏细胞内、外 Na^+ 的纵向弛豫时间（T_1）和横向弛豫时间（T_2）的变化。 **结果** 输注位移试剂后，烧伤组大鼠肝脏细胞外 Na^+ 浓度降低 17%，其快 T_2 所占百分比较对照组有所增加（$P<0.01$），提示细胞外可与 Na^+ 结合或可影响 Na^+ 的位点增加；细胞内 Na^+ 浓度升高了 59%，但其弛豫行为却未发生变化。 **结论** 烧伤后早期细胞外的 Na^+ 可因向细胞内流失或受其周围大分子可逆性结合位点的影响，使瞬时可发挥渗透粒子作用的 Na^+ 相对不足，提示烧伤后第 1 个 24 h 选择适量高钠溶液复苏较合理。

【关键词】 烧伤；　肝细胞；　磁共振波谱学；　钠通道；　休克；　复苏医嘱

Study on the changes in the distribution and chemical states of the hepatic intra-and extra-cellular sodium ion in the rats with severe burns at early stage

XIA Zhao-fan, TIAN Jian-guang, XIONG Jie, MA Bing, WEI Wei, WEI Duo. Burn Center of PLA, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, P. R. China

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the changes in the distribution and chemical states of the hepatic intra- and extra-cellular sodium ion in the rats with severe burns, so as to provide guidance for fluid resuscitation at early postburn stage. **Methods** Nineteen adult male Sprague-Dawley (SD) rats were employed in the study and were randomly divided into control ($n=12$) and burn ($n=7$) groups. The changes in the longitudinal (T_1) and transverse (T_2) relaxation times of hepatic intra-cellular and extra-cellular sodium in the two groups were studied with ^{23}Na NMR spectroscopy and a shift reagent. **Results** After infusion of the shift reagent, the extra-cellular sodium content in rat liver decreased by 17%, with obvious increase in fast T_2 component ($P<0.01$), indicating an increase in the fraction of Na^+ binding sites in the extra-cellular space. The characteristics of relaxation of intra-cellular sodium remained unchanged despite a 57% increment in intra-cellular sodium content. **Conclusion** The deficiency of sodium as a permeable molecule might be related to the postburn movement of hypertonic sodium from extra-cellular to intra-cellular space. The results indicatd that it is reasonable to administer high concentration of sodium in fluid resuscitation during the first 24 postburn hours.

【**Key words**】 Burns; Hepatocytes; Magnetic resonance spectroscopy; Sodium channels; Shock; Resuscitation regimen

严重烧伤后早期血浆 Na^+ 浓度降低，由于 Na^+ 在体内参与细胞的多种代谢并影响其功能，其浓度、分布及与其他分子间相互作用的改变在烧伤休克治疗中应当受到关注。以往受技术所限，临床医师只对病理情况下血浆 Na^+ 浓度的改变有所了解，而不知道机体其他部位 Na^+ 分布的变化特点，更无法知道 Na^+ 所在环境场中其他分子对它的影响。近年来，各种高科技手段飞速发展，磁共振波谱技术成为研究活体生物代谢功能变化的有力手段。笔者曾在位移试剂 $TmDOTP^{5-}$ 的帮助下观察到大鼠烧伤后肝脏细胞内、外区域 Na^+ 在分布上的显著改变[1]，但对重新分布后的 Na^+ 化学状态的改变即所在环境场对其的影响，尚缺乏研究。本研究通过钠-23 磁共振（^{23}Na NMR）波谱技术测定活体严重烧伤大鼠肝脏中 Na^+ 的纵向弛豫时间（T_1）和横向弛豫时间（T_2），旨在进一步了解烧伤后肝脏细胞内、外 Na^+ 分布和化学状态的改变。

材料与方法

一、动物分组及处理

成年雄性 SD 大鼠（美国得克萨斯大学西南医学中心动物实验中心）19 只，300～350 g，随机分为烧伤组（7 只）和对照组（12 只）。按照文献[1]方法在烧伤组大鼠背部造成 40% TBSA 的Ⅲ度烫伤（经病理切片证实，以下称烧伤），伤后按 Parkland 公式经颈静脉给予连续液体复苏治疗。对照组用室温水

作者单位：200433　上海，第二军医大学长海医院全军烧伤中心

版权所有 盗用必究　Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

浴模拟烧伤过程，不予液体复苏，其他处理均同烧伤组。伤后两组大鼠均按照标准方法单笼饲养。伤后 24 h，两组大鼠在氟吸入麻醉下，分别行左股动、静脉和左颈静脉插管，便于实验中输注麻醉药物、测定动脉压和注射 $TmDOTP^{5-}$。动脉插管导管内为等渗盐水（含 9 U/ml 肝素）。沿腹中线切口暴露肝脏，将 NMR 探头表面线圈置于肝脏表面，然后逐层缝合腹壁切口，以避免在 NMR 测定过程中损耗大鼠体液和热量。

二、NMR 测定

1. 主要仪器：NT180 波谱仪（美国 Nicolet 公司），4.2T 垂直腔超导磁体（腔径 10.5 cm，英国 Oxford 公司），脉冲宽度 40 μs，脉冲间隔 205 ms，累加次数 100，采样数据点 1 024，谱宽 3 000 Hz。

2. 操作方法：测定基线图谱作为参照，然后静脉滴注 $TmDOTP^{5-}$，初始速度为 0.5 mmol · kg^{-1} · h^{-1}，随后在 12 min 内将灌注速度缓慢增加到 1.2 ~ 1.6 mmol · kg^{-1} · h^{-1}，同时连续采集 ^{23}Na NMR 波谱。当细胞外 Na^+ 共振信号向低场位移约 4×10^{-6} 后，将灌注速度降至 0.6 mmol · kg^{-1} · h^{-1}，并维持该速度。于输注 $TmDOTP^{5-}$ 前、后分别测定 ^{23}Na NMR 的 T_1、T_2 值。

3. 数据分析：在傅立叶变换前将 ^{23}Na NMR 波谱的充零点数定为 4K。细胞内、外 Na^+ 共振信号相对面积利用 GEMCAP 曲线分析软件（美国 Nicolet 公司）进行测定。弛豫时间通过软件程序的 F 曲线将共振信号峰拟合为一次函数和二次函数而计算获得，T_1 呈一次函数衰减，而 T_2 呈二次函数衰减。在 $TmDOTP^{5-}$ 存在的情况下，细胞内、外 Na^+ 共振信号发生顺磁性位移，因此可对细胞内 Na^+ 进行定量分析。由于受到 $TmDOTP^{5-}$ 的顺磁性影响，细胞外 Na^+ 共振信号的弛豫时间可能会缩短，笔者通过以下方法来获取其真实值：假定细胞内 Na^+ 的弛豫特性不受只存在于细胞外区域的 $TmDOTP^{5-}$ 的影响；细胞外 Na^+ 弛豫时间，可从加入 $TmDOTP^{5-}$ 前的混合弛豫时间中减除细胞内 Na^+ 的 T_1、T_2 值而获得。

三、统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用非配对 t 检验。

结　果

一、输注 $TmDOTP^{5-}$ 前大鼠肝脏细胞内、外 Na^+ 的混合弛豫时间

输注 $TmDOTP^{5-}$ 前大鼠肝脏细胞内、外 Na^+ 混合弛豫时间如表 1 所示。烧伤组的 T_1 显著小于对照组（$P < 0.05$），而快 T_2（T_{2F}）和慢 T_2（T_{2S}）值两组间比较，差异无统计学意义（$P > 0.05$），但烧伤组 T_{2F} 占 T_2 的百分比显著高于对照组（$P < 0.01$）。

表 1 两组大鼠输注 $TmDOTP^{5-}$ 前肝脏细胞内、外 Na^+ 的混合弛豫时间（$\bar{x} \pm s$）

Tab 1 The relaxation time of intracellular and extracellular sodium in rat hepatocytes of the two groups before $TmDOTP^{5-}$ infusion（$\bar{x} \pm s$）

组别	鼠数（只）	T_1（ms）	T_{2S}（ms）	T_{2S}/T_2（%）	T_{2F}（ms）	T_{2F}/T_2（%）
对照组	12	36.3 ±4.8	15.1 ±1.0	79 ±4	1.4 ±0.3	21 ±4
烧伤组	7	30.5 ±4.4*	15.4 ±1.4	68 ±4#	1.9 ±0.3	32 ±4#

注：T_1 为纵向弛豫时间；T_{2S} 为慢横向弛豫时间；T_{2F} 为快横向弛豫时间；与对照组比较，* $P < 0.05$，# $P < 0.01$

二、输注 $TmDOTP^{5-}$ 后大鼠肝脏细胞内、外 Na^+ 弛豫时间

1. T_1 值：输注 0.7 mmol/kg $TmDOTP^{5-}$ 后，大鼠肝脏细胞内、外 Na^+ 的 NMR 波谱 T_1 曲线呈一次函数衰减。烧伤组和对照组比较，细胞内、外 Na^+ 的 T_1 值差异无统计学意义（$P > 0.05$），尽管细胞内、外 Na^+ 共振信号的面积总和相同，但烧伤组细胞内 Na^+ 共振信号面积却增加了 59%（表 2），而细胞外 Na^+ 共振信号面积减少了 17%（表 3）。即 NMR 检测到的两组 Na^+ 总量是相等的，只是细胞内、外区域的 Na^+ 浓度发生了明显改变（$P < 0.05$）。

表 2 两组大鼠肝脏细胞内 Na^+ 弛豫时间（$\bar{x} \pm s$）

Tab 2 The relaxation time of intracellular sodium in rat liver hepatocytes of the two groups（$\bar{x} \pm s$）

组别	鼠数（只）	Na^+i/Na^+i+e（%）	T_1（ms）	T_{2S}（ms）	$\%T_{2S}$（%）	T_{2F}（ms）	$\%T_{2F}$（%）
对照组	12	0.22 ±0.03	20.1 ±4.0	12.9 ±2.1	55 ±3	1.4 ±0.3	45 ±3
烧伤组	7	0.35 ±0.03*	19.3 ±4.3	12.5 ±2.5	53 ±3	1.7 ±0.5	47 ±3

注：T_1 为纵向弛豫时间；T_{2S} 为慢横向弛豫时间；T_{2F} 为快横向弛豫时间；与对照组比较，* $P < 0.05$

表 3 两组大鼠肝脏细胞外 Na^+ 弛豫时间（$\bar{x} \pm s$）

Tab 3 The relaxation time of extracellular sodium in rat hepatocytes of the two groups（$\bar{x} \pm s$）

组别	鼠数（只）	Na^+e/Na^+i+e（%）	T_1（ms）	T_{2S}（ms）	$\%T_{2S}$（%）	T_{2F}（ms）	$\%T_{2F}$（%）
对照组	12	0.78 ±0.03	40.4 ±6.0	15.4 ±0.8	84 ±3	1.4 ±0.3	16 ±3
烧伤组	7	0.65 ±0.03*	35.9 ±5.6	15.6 ±1.1	73 ±3#	1.9 ±0.3	27 ±3#

注：T_1 为纵向弛豫时间；T_{2S} 为慢横向弛豫时间；T_{2F} 为快横向弛豫时间；与对照组比较，* $P < 0.05$，# $P < 0.01$

2. T_2 值：与 T_1 不同，细胞内、外 Na^+ 的 T_2 值呈二次函数衰减。两组间比较，细胞内、外 Na^+ 的 T_2 值差异均无统计学意义（$P > 0.05$）。值得注意的

Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

是，输注位移试剂前后的细胞外 T_{2S} 没有明显变化，说明位移试剂对细胞外 Na^+ 的弛豫行为没有太大影响。惟一发生明显变化的是细胞外 Na^+ T_{2S} 和 T_{2F} 的百分比，烧伤后分别自(84 ± 3)%、(16 ± 3)% 变至(73 ± 3)%、(27 ± 3)%（$P < 0.01$）。见表 2、3。

讨　论

根据 ^{23}Na 的物理特性，其核自旋为 3/2，这类原子核在强电场中（比如生物大分子带电基团产生的电场）可以发生有效弛豫，因此通过 ^{23}Na NMR 波谱技术测定 Na^+ 的弛豫曲线，可直接获取其浓度及与环境场中其他分子相互作用的信息[2,3]。^{23}Na NMR 结果显示，细胞内液无论在黏滞度或是在大分子分布上都与细胞外液不同，表现在细胞内 Na^+ 弛豫时间较细胞外 Na^+ 弛豫时间短。此外，肝脏细胞内、外 Na^+ 的 T_2 均显著小于 T_1，说明无论是细胞内或是细胞外，均存在能与 Na^+ 可逆性结合并影响其化学和物理状态的位点。本实验中 Na^+ 横向磁衰变曲线可被分离为两个组分这一现象，也证实了笔者的推测。

严重烧伤导致全身毛细血管通透性增高，大量血浆由血管内向外渗漏，或被阻隔于第三间隙，或由烧伤创面丢失，最终使有效循环血量减少引发烧伤休克。过去五十多年里，尽管液体复苏治疗已经显著提高了患者休克期的生存率，但边补边漏导致的进行性组织水肿仍会妨碍组织供血供氧，加重回吸收期心肺负担，诱发烧伤创面脓毒症，甚至引起多器官功能障碍综合征（MODS）。以往在讨论烧伤休克和组织水肿时对毛细血管壁通透性的改变给予了较多的关注，而对细胞膜通透性的改变重视较少，研究结果也不一致。一些研究显示家兔烧伤休克期红细胞内 Na^+ 含量增高[4]，而另一些研究则报道烧伤后骨骼肌细胞内 Na^+ 含量无变化[5]。由于红细胞可能随血流经过烧伤部位而受到热力的直接作用，红细胞膜功能的变化还不能完全代表肢体远端组织或重要脏器细胞膜的变化。笔者采用 ^{23}Na NMR 波谱技术研究观察到：烧伤后 24 h 大鼠肝脏细胞内的 Na^+ 即显著增加[3]。由于正常情况下 Na^+ 不能自由通过细胞膜，其数量在细胞外所有起渗透作用的粒子中又具有绝对优势，因此，它对细胞外电解质渗透压的维持起主要的作用。Na^+ 的转移通常伴随有水分子的转移，烧伤后体内 Na^+ 再分布表明被阻隔于第三间隙的体液有相当多一部分进入了细胞内而导致细胞水肿。能与 Na^+ 可逆性结合的位点可能是存在于细胞膜上的膜蛋白或膜磷脂，这些大分子或细胞组分含有羟基和氨基，可以与水分子或其他带电荷小分子如 Na^+ 相结合。本研究结果还显示，烧伤组大鼠肝细胞外 Na^+（主要存在于细胞间质和血管内）T_{2F} 的百分比显著增加，表明烧伤后 24 h 细胞外可与 Na^+ 结合的位点或是瞬间结合的 Na^+ 相对增加，而瞬间游离态的 Na^+ 相对不足，提示早期补钠具有重要性。

总之，体表烧伤不但可导致肢体远端重要脏器细胞膜功能障碍[6]、细胞外液随 Na^+ 向细胞内转移，而且因组织分解产物和血浆蛋白在细胞间隙的积聚，造成细胞膜外的带电结合位点增加，使每一瞬间可发挥渗透粒子作用的 Na^+ 减少。这些现象从另一个方面解释了为何烧伤后早期采用高钠溶液复苏有利于减轻组织水肿和容量负荷[7]。

参　考　文　献

1 夏照帆，王光毅，唐洪泰，等. 严重烧伤后早期肝细胞内外钠离子分布的研究. 中华烧伤杂志，2002，18：276 - 278.

2 田建广，夏照帆，叶朝辉，等. 活体 ^{23}Na NMR 及在生物医学中的应用. 波谱学杂志，2000，19：419 - 425.

3 田建广，夏照帆，杜泽涵，主编. 生物核磁共振. 上海：第二军医大学出版社，2001. 25 - 29.

4 夏照帆，方之扬，葛绳德，等. 高张盐液治疗家兔烧伤休克对红细胞钠、钾和肾小管钠钾 ATP 酶的影响. 中华实验外科杂志，1987，4：65 - 68.

5 Chiao JJ, Jones WG, Shires T, et al. Effect of sepsis on intracellur sodium activity, sodium concentration, and water content in thermal injured rat. Cir Shock, 1992, 38: 42 - 49.

6 朱世辉，霍正禄，葛绳德，等. 严重烧伤早期应用不同浓度含钠复苏液对机体内环境的影响. 中华烧伤杂志，2001，17：263 - 265.

7 Benito RJ, Baena MP, Navarro MA. Sick cell syndrome in a burned patients. Burns, 1990, 16: 309 - 312.

（收稿日期：2005 - 05 - 17）
（本文编辑：赵　敏）

· 消息 ·

《中国修复重建外科杂志》征订启事

《中国修复重建外科杂志》以“医学实践中，结构、功能、形态的完美结合”为办刊宗旨，主要报道与修复缺损、重建功能、改善外形等有关的临床和基础研究成果、经验总结、新技术、新疗法。期刊以中高级外科临床医师、医科学生及与修复重建外科工作相关的科研工作者、生物医学工程研究者为主要对象。本刊为月刊，每月 15 日出版。每期定价 10.00 元。邮发代号为：62 - 80。地址：四川省成都市武侯区外南国学巷 37 号四川大学华西医院内，邮编：610041。电话：(028)85422431，传真：(028)85422432；Email：cjrrs@163.net。

Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?