文章编号:1000-5404(2006)17-1781-03

论著

冲击波暴露后豚鼠耳蜗基底膜撕裂伤

李朝军[1],刘兆华[1],朱佩芳[2],王正国[2],杨 成[1],陈海斌[2],周继红[2],宁 心[2] (第三军医大学大坪医院野战外科研究所:[1]耳鼻咽喉-头颈外科,[2]第四研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400042)

提 要:目的 探讨爆炸冲击波和实验性冲击波负压引起耳蜗基底膜机械损伤的组织病理学特点。**方法** 将豚鼠暴露于爆炸冲击波和实验性冲击波负压后,分别应用火棉胶包埋组织切片技术和基底膜硬铺片技术,于光学显微镜下观察。**结果** 爆炸冲击波和实验性冲击波负压暴露后8~24 h即可见基底膜外毛细胞大部分缺失。当爆炸冲击波超压峰值达到121 kPa和实验性冲击波负压峰值达到-78.4 kPa时,分别发现穿透基底膜全层的位于第二转的横形及纵形机械性撕裂伤,横形撕裂伤穿透基底膜全层,从内毛细胞内侧直至第三排外毛细胞外侧;纵形撕裂形状不规则,长度相当于与其相邻的10个内毛细胞空间位置,宽度累及第二、三排外毛细胞区,一端累及内毛细胞区。**结论** 较大强度的爆炸冲击波和实验性冲击波负压均可导致豚鼠耳蜗基底膜的机械性撕裂性损伤。

关键词:基底膜;耳蜗;撕裂伤;冲击波;冲击波负压;豚鼠
中图法分类号:R361.2;R649.1;R764.83 **文献标识码**:A

Lacerating injury in basilar membrane of guinea pig exposed to blast

LI Chao-jun[1], LIU Zhao-hua[1], ZHU Pei-fang[2], WANG Zheng-guo[2], YANG Cheng[1], CHEN Hai-bin[2], ZHOU Ji-hong[2], NING Xin[2] ([1]Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgey, [2]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 4, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To observe the histological characteristics of injury to basilar membrane in guinea pig exposed to explosive blast waves and experimental blast underpressure. **Methods** The guinea pigs were respectively exposed to explosive blast waves or experimental blast underpressure. The basilar membranes in guinea pigs were observed by light microscope. **Results** Most of the outer hair cells were lost and lacerating injury was seen in the basilar membrane of guinea pigs in 8-24 h after exposure to explosive blast waves and experimental blast underpressure. Transverse and longitudinal lacerating injuries were seen in the second turn when the peak pressure of explosive blast waves and experimental blast underpressure respectively reached 121 kPa and -78.4 kPa. Transverse lacerating injuries covered from the IHC to the third row of OHC. Longitudinal lacerating injury was irregular and its length equaled to that of ten IHCs. Its width covered from the IHC to the second or third row of OHC. **Conclusion** The exposure to explosive blast waves and experimental blast underpressure may induce lacerating injuries in the basilar membrane of guinea pigs.

Key words: basilar membrane; cochlea; lacerating trauma; blast wave; blast underpressure; guinea pig

听觉器官冲击伤主要发生于战争时期,而在和平时期的军事训练、军事演习、工矿企业生产中的意外爆炸或恐怖性的爆炸事件中,也有较高的发生率[1-3]。听器冲击伤除了表现为鼓膜穿孔和听骨骨折等中耳创伤外,还常发生耳蜗基底膜螺旋器毛细胞散乱、倒伏和缺失等内耳创伤,但基底膜的较大范围严重创伤报道极少。此外,过去有关冲击波超压对听器的致伤作用已得到国内外学者的一致公认,但对于负压对听器的影响意见并不统一,而且缺乏具有充分说服力的实验依据[4-6]。我们在进行听觉器官爆炸冲击伤以及和冲击波负压对听器的致伤效应研究中,通过耳蜗切片和基底膜铺片,观察到高强度爆炸冲击波和实验性冲击波负压引起的豚鼠基底膜较为严重的撕裂性创伤,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物分组及致伤

本研究分为两部分。在爆炸冲击伤实验中,选用成年豚鼠30只,雌雄和色泽不限,体质量220~470 g,(331.9±65.2)g,由南京军区总医院实验动物中心提供。按完全随机化分组法将动物随机分为5组,每组6只,分别布放于距爆心14~40 m处。将处于清醒状态的豚鼠装入铁丝笼内使其不能调头,水平

作者简介:李朝军(1961-),男,河南省新蔡县人,博士,副主任医师,副教授,主要从事听觉器官冲击伤和耳聋的发生机制和防治方面的研究。电话:(023)68757240, E-mail: dapinghearing@263.net

收稿日期:2005-09-19;修回日期:2006-01-06

放置于地面上，豚鼠头端均朝向爆心。

在冲击波负压伤实验中，选用健康成年豚鼠20只，由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供，其耳廓反射灵敏，体质量250～450 g，雌雄不拘，体毛色泽多为杂色，少数为纯白色。除正常对照组2只外，其余18只动物按完全随机化分组法平均分为3组，每组6只，分别接受中等强度、高强度和极高强度的实验性冲击波负压暴露1次。冲击波负压由冲击波负压发生装置产生[7]，将豚鼠置于特制的铁丝笼中并妥善固定后，一并置入实验舱内。豚鼠处于清醒状态，不给予任何麻醉。

1.2 冲击波物理参数测试

爆炸冲击伤实验中，预先在各测试点距地表面（略低于豚鼠头部位置）安放好压力传感器，传感器的导线埋置于地下，连接到位于测试室内的信号接收、放大及分析系统。当炸弹静爆时，该系统均自动同步记录各测压点信号，经计算机分析后给出各点的冲击波超压峰值。

在冲击波负压实验中，应用美国IOtech公司生产的1 MHz数据采集系统WaveBook/512，自动采集由压力传感器传送来的冲击波负压压力信号。经微机处理后，得到有关冲击波负压的压力峰值、降压时间和持续时间等参数。

1.3 耳蜗标本观察

爆炸冲击伤豚鼠进行硝酸银染色及全耳蜗基底膜铺片观察。豚鼠1%戊巴比妥钠（30 mg/kg）全麻后处死，取下耳蜗，打开蜗尖、前庭窗和蜗窗，以临用时配制的0.5%硝酸银水溶液行耳蜗灌注染色3次，蒸馏水冲洗，10%甲醛灌洗4次，再用蒸馏水冲洗，然后将耳蜗置于蒸馏水中在自然日光或白炽灯灯光下曝光显色1～1.5 h，直至蜗壳呈现黄褐色，最后再置于10%甲醛中还原固定。在解剖显微镜下分离出耳蜗基底膜，为便于观察毛细胞病变，尽量将盖膜揭去，显露基底膜，铺片后在光镜下观察照相。

冲击波负压伤豚鼠进行耳蜗火棉胶包埋组织切片观察。豚鼠腹腔注射1%戊巴比妥钠（30 mg/kg）全麻后，以Susa固定液400～500 ml经主动脉行活体灌注固定。解剖观察中耳伤情后，将完整耳蜗浸入Susa氏液继续固定5～10 d，现场死亡的豚鼠则直接取出双侧耳蜗浸入Susa氏液固定10 d以上。完成固定后，以5%三氯醋酸溶液室温下脱钙3～4 d，按常规程序进行梯度乙醇脱水、火棉胶浸胶及定位包埋。平行蜗轴切片，片厚为15 μm，HE染色，光镜观察照相。

2 结果

2.1 冲击波物理参数

爆炸时自由场超压测试结果表明，布放豚鼠的实验区域内冲击波超压峰值介于40～121 kPa之间，距爆心越近冲击波超压峰值越高。冲击波负压的负压峰值、降压时间和持续时间等主要物理参数，见表1。

表1 冲击波负压的物理参数

组别	负压峰值（-kPa）	负压降压时间（ms）	负压持续时间（ms）
中强度负压组	22.4～48.8	6.8～7.5	24.2～41.1
高强度负压组	53.6～63.3	9.5～10.8	43.2～45.9
极高强度负压组	76.4～78.4	9.5～11.1	55.9～64.3

2.2 耳蜗病变观察结果

对爆炸冲击伤动物的耳蜗基底膜铺片观察发现，各布放点豚鼠耳蜗毛细胞损伤程度差异明显，距爆心越近（即超压峰值越大），损伤越重。距炸弹爆炸的爆心较近的豚鼠，由于暴露的冲击波压力峰值很大，伤后早期即可见基底膜毛细胞的明显病变，在伤后8 h即可见基底膜毛细胞大部分缺失（图1），至伤后24 h，即可见部分外毛细胞的纤毛几乎全部缺失，而内毛细胞仍未见明显损害。有2只豚鼠距爆心最近者，分别出现了基底膜横形及纵形的机械性撕裂伤。两动物均系布放于距爆心14 m处（压力峰值为121 kPa）伤后8 h处死者。其中1只动物耳蜗第二转基底膜的横形撕裂穿透基底膜全层，从内毛细胞内侧直至第三排外毛细胞外侧，宽度约40 μm（图2）；另一动物耳蜗基底膜纵形撕裂也在第二转，长约125 μm（相当于正常括排列的连续15个外毛细胞或10个内毛细胞所占据的空间长度），形状不规则，宽度累及第二、三排外毛细胞区，一端累及内毛细胞区（图3），其周围基底膜组织结构未见有人工损伤的痕迹，可以排除标本制作过程中的人为损伤，而系冲击波传入内耳所造成的严重机械性损伤。

对冲击波负压伤豚鼠的耳蜗组织切片观察发现，当负压峰值低于-23.9 kPa，耳蜗组织切片未见明显病变；当负压峰值达到-45.5 kPa以上时，耳蜗组织切片出现较明显改变，且随着负压峰值的增大而加重。最常见而且典型的病变是底转鼓阶、中阶螺旋韧带与血管纹出血。有一暴露于峰值为-78.4 kPa冲击波负压、并在伤后40 min处死的豚鼠，其左侧鼓膜与外耳道腔相对应的紧张部完全穿孔，边缘外翻，锤骨骨折并外翻，同侧耳蜗组织切片显示第二转基底膜从外侧缘撕裂，并向鼓阶内翻折，同时伴有鼓阶底、外壁的大量积血，基底膜下面也有微小的凝血块（图4）。该动物处死前采用活体灌注固定，在耳蜗标本的制备、包埋及切片过程中，均未对耳蜗造成人为损伤，而且切片上亦见耳蜗骨壳是完整的。

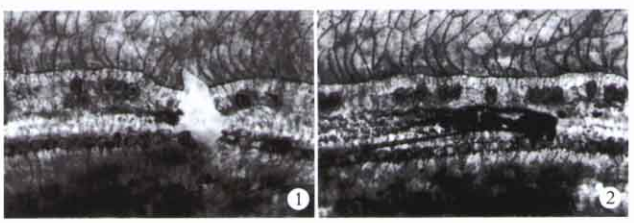


图1 豚鼠耳蜗第二转基底膜横形撕裂伤，从内毛细胞内侧直至第三排外毛细胞外侧 （硝酸银染色×400）

图2 豚鼠耳蜗第二转基底膜规则纵形断裂 （硝酸银染色×400）

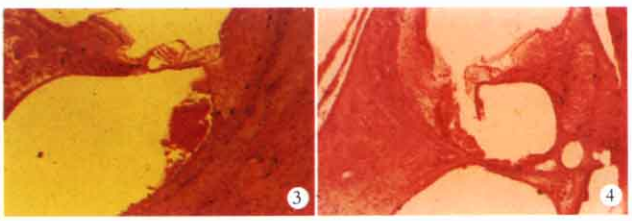


图3 冲击波负压暴露后8 h豚鼠耳蜗底转鼓阶外侧壁凝血块形成 （HE×400）

图4 冲击波负压暴露后豚鼠耳蜗第二转基底膜撕裂 （HE×100）

3　讨论

大量研究表明，冲击波和强脉冲噪声（统称为压力波）对内耳的创伤主要在耳蜗，通常认为有机械性破坏和代谢紊乱两大机制，伤后早期首先发生机械性损伤，然后发生代谢性障碍。大量应用光镜和电镜技术进行的实验研究表明，冲击波和强脉冲噪声暴露后，豚鼠等动物的耳蜗螺旋器损伤部位与压力波的频谱特性有关，常规武器发射或爆炸时，一般以第二转损伤最重，第三转和底转次之，顶转损伤较轻。各排听毛细胞损伤的程度，以第三排外毛细胞最重，第二排次之，第一排又次之，内毛细胞损伤最轻，甚至无损伤。耳蜗机械性损伤包括：①Corti 器毛细胞损伤；②整个 Corti 器完全从基底膜上撕脱并悬浮于中阶内淋巴中，重者长达数毫米的感觉毛撕裂；③基底膜破裂；④前庭膜破裂，使得内、外淋巴互相混合，由于生化环境改变而损伤了听毛细胞；⑤网状板撕裂形成裂孔，使内淋巴流入 Corti 器内；⑥紧密细胞连接撕裂分离；⑦受损区段两端 Corti 器的毛细胞、神经纤维及神经末梢肿胀、退行性变[5,8-11]。

将灰鼠重复暴露于 160 dB 脉冲噪声后，出现耳蜗毛细胞缺失，严重者可见外毛细胞、Deiter 细胞和 Hensen 细胞构成的长达 5 ~ 7 mm 片段从网状板和基底膜上撕裂，其碎片漂浮于中阶内淋巴液中[10,12]。有作者研究发现耳蜗机械性损伤与压力波使基底膜位移增强有关。在自由声场，峰值 2.5 kPa（约 162 dB）的爆炸波可引起耳蜗内 0.1 kPa 的压力差。当基底膜伸展幅度超过其宽度的1/10时，即有可能发生破裂；当基底膜伸展幅度为其宽度的 2 倍时，必然发生破裂[13]。

当高强度的压力波作用于内耳时，首先引起内耳外淋巴和内淋巴的强烈振动，进而再将膜性蜗管等内耳结构的过度运动，导致基底膜、血管纹和螺旋韧带机械性破坏，可表现为螺旋器从基底膜的撕裂、听毛细胞与神经纤维间的突触连接断离、听毛细胞静纤毛与盖膜脱离等。而当强度较弱的压力波作用于内耳时，听毛细胞可因载荷过大而引起酶和代谢产物的耗竭，最终发生代谢紊乱。耳蜗是机体内最复杂的机械系统，其基底膜固定于螺旋板和螺旋韧带之间，在冲击波或声波刺激时，基底膜中部的振动幅度最大。在四排毛细胞中，第三排外毛细胞因距基底膜中部最近，振动幅度最大，故最易受损；而内毛细胞靠近基底膜在螺旋板上的附着支点，振动幅度最小，故损伤最轻。

本研究表明，爆炸冲击波和实验性冲击波负压均可引起明确的豚鼠耳蜗基底膜毛细胞创伤。当爆炸冲击波压力峰值达到 121 kPa 或者实验性冲击波负压峰值达到 -78.4 kPa 时，均可致耳蜗第二转基底膜的明显撕裂性机械性创伤。显而易见，这种创伤的深度穿透基底膜全层，宽度从内毛细胞内侧直至第三排外毛细胞外侧，纵形撕裂时长度可达 10 个内毛细胞所占据的空间长度。另一方面，这些撕裂性创伤的周围基底膜组织结构并未见有人工损伤的痕迹，因此可以排除标本制作过程中的人为损伤，从而成为基底膜机械性撕裂性创伤的直接的组织病理学证据。

参考文献：

[1] HELLING E R. Otologic blast injuries due to the Kenya embassy bombing[J]. Mil Med, 2004, 169(11): 872-876.

[2] PERSAUD R, HAJIOFF D, WAREING M, *et al*. Otological trauma resulting from the Soho Nail Bomb in London, April 1999[J]. Clin Otolaryngol Allied Sci, 2003, 28(3): 203-206.

[3] MELLOR S G, COOPER G J. Analysis of 828 servicemen killed or injured by explosion in Northern Ireland 1970-84: the Hostile Action Casualty System[J]. Br J Surg, 1989, 76(10): 1006-1010.

[4] WHITE C S, BOWEN I G, RICHMOND D R. The relation between eardrum failure and blast-induced pressure variations[J]. Space Life Sci, 1970, 2(2): 158-205.

[5] PATTERSON J H, Jr., HAMERNIK R P. Blast overpressure induced structural and functional changes in the auditory system[J]. Toxicology, 1997, 121(1): 29-40.

[6] KERR A G. Trauma and the temporal bone. The effects of blast on the ear[J]. J Laryngol Otol, 1980, 94(1): 107-110.

[7] 李朝军，朱佩芳，刘兆华，等. 冲击波负压听器创伤动物模型的建立及其评价[J]. 重庆医学，2002，31(12)：1201-1204.

[8] 郑杰夫，姜泗长，顾　瑞，等. 爆震对耳蜗内电位影响的实验观察[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志，1992，27(6)：328-330.

[9] ROBERTO M, ZITO F. Scar formation following impulse noise-induced mechanical damage to the organ of Corti[J]. J Laryngol Otol, 1988, 102(1): 2-9.

[10] HAMERNIK R P, TURRENTINE G, WRIGHT C G. Surface morphology of the inner sulcus and related epithelial cells of the cochlea following acoustic trauma[J]. Hear Res, 1984, 16(2): 143-160.

[11] KERR A G. Blast injury to the ear: a review[J]. Rev Environ Health, 1987, 7(1-2): 65-79.

[12] HAMERNIK R P, TURRENTINE G, ROBERTO M, *et al*. Anatomical correlates of impulse noise-induced mechanical damage in the cochlea[J]. Hear Res, 1984, 13(3): 229-247.

[13] BUFFE P, CUDENNEC Y F, BEN-AZZOUZ M, *et al*. Major acoustic injuries caused by firearms[J]. Ann Otolaryngol Chir Cervicofac, 1986, 103(4): 251-257.

（编辑　陈聪连）