论著

文章编号:1000-5404(2007)17-1666-04

控制性低温对大鼠肢体爆炸伤后继发肺损伤的作用

莫立稳,赖西南,甯交琳,朱剑武,王丽丽 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所第六研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400042)

提 要:目的 观察早期全身和局部控制性低温对大鼠肢体爆炸伤后继发肺损伤的作用,探讨控制性低温在肢体爆炸伤后继发肺损伤防治中的临床应用价值。**方法** 采用大鼠肢体爆炸伤模型,动物按随机数字表法分为4组(每组8只):正常对照组(C)、单纯致伤组(Ⅰ:致伤)、全身低温组(Ⅱ:致伤+全身低温6 h)和局部低温组(Ⅲ:致伤+局部低温6 h);各组分别于致伤后6 h取标本。测定肺TNF-α、IL-6、IL-10和MDA浓度;观察肺脏病理学变化。**结果** 大鼠致伤6 h后肺TNF-α、IL-6、IL-10和MDA浓度显著升高($P<0.01$);肺脏充血水肿和炎细胞浸润明显;致伤大鼠经全身低温或局部低温处理6 h后肺、IL-6、IL-10及MDA浓度均明显降低($P<0.05$);肺脏充血水肿和炎细胞浸润程度明显减轻。**结论** 早期全身或局部控制性低温可明显抑制肢体爆炸伤大鼠肺脏的炎性损伤和氧化损伤,减轻肺脏充血水肿和炎细胞浸润程度,有利于减轻爆炸伤后继发性肺损伤。

关键词:肢体爆炸伤;控制性低温;肺损伤

中图法分类号:R454.5;R563.05;R642 **文献标识码**:A

Controlled hypothermia relieves secondary lung damage after explosive injury of limb in rats

MO Li-wen, LAI Xi-nan, NING Jiao-lin, ZHU Jian-wu, WANG Li-li (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 6, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objectives To study the potential effects and clinical application value of controlled hypothermia on secondary lung damage after explosive injury of limb in rats. **Methods** Explosive limb injury model was adopted. Healthy male Sprague-Dawley rats (210 – 220 g) were randomly divided into four groups with 8 in each group: simple explosive injury group (Ⅰ), systemic hypothermia group [Ⅱ, (32.0 ± 0.5)℃ for 6 h], regional hypothermia group [Ⅲ, (10.0 ± 1.0)℃ for 6 h], and normal control group (C). TNF-α, IL-6, IL-10, and MDA concentrations in lung homogenate were determined. Lung pathological changes were observed. **Results** TNF-α, IL-6, IL-10, and MDA concentrations in lung were remarkably increased after injury as compared with control group ($P<0.01$). Severe inflammatory cell infiltration and pneumonedema were seen in Group Ⅰ. In systemic or regional hypothermia therapy group, however, TNF-α, IL-6, IL-10, and MDA concentrations were significantly lower than Group Ⅰ ($P<0.05$), and inflammatory cell infiltration and pneumonedema were also remarkably relieved. **Conclusion** Early controlled systemic or regional hypothermia can inhibit inflammatory reaction and oxidative reaction, relieve explosive injury-induced lung damage. Furthermore, regional hypothermia has a mild impact on blood-clotting function as compared with systemic hypothermia, so it may be superior to systemic hypothermia in the fields of therapy for explosive injury.

Key words: explosive injury of limb; controlled hypothermia; lung damage

在战争中,四肢战伤约占全身各部位战伤的60%~70%;随着战争战略战术的转变和武器工业的飞速发展,各种爆炸性武器得以广泛应用,战时肢体爆炸伤发生率日益增加[1,2]。有统计资料显示前南斯拉夫战争中四肢战伤的70%~80%为爆炸伤[3]。爆炸伤所致肢体毁损重,并发症多,伤情恶化快,多须紧急救治;但战时卫勤保障能力有限,伤员寻找后送困难,常常延

基金项目:全军医学科研"十一五"计划专项课题(06Z034)
Supported by the Mandatory Scientific Project of the "Eleventh Five-year Plan" of PLA (06Z034)

作者简介:莫立稳(1981-),男,河北省秦皇岛市人,硕士研究生,主要从事战伤早期救治和创面修复等方面的研究。电话:(023)68757574,E-mail:mlwen2000@163.com

通讯作者:赖西南,电话:(023)68757574,E-mail:laixinan@163.com

收稿日期:2007-01-23;修回日期:2007-03-25

误救治的黄金时间，导致严重脏器并发症的发生；因此探索一种可迅速缓解伤情、延长救治黄金时间、减少早期脏器并发症的战时紧急处理措施是一个较好选择。近年大量研究提示控制性低温（以下简称："低温"）可降低创伤动物能量代谢，抑制伤后炎症反应，减轻伤后并发症、提高早期存活率[4-6]，且目前低温已应用于脑保护、心跳骤停的临床救治[7]。故本实验采用大鼠肢体爆炸伤模型研究不同低温策略在肢体爆炸伤后继发肺损伤中的作用，探讨低温在战时肢体爆炸伤紧急救治中的价值。

1　材料与方法

1.1　肢体爆炸伤大鼠模型的制作

健康雄性 SD 大鼠 32 只（大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供），体质量 210～220 g，按随机数字表法分为 4 组（n=8）。实验前 12 h 禁食，自由饮水。实验过程中室温维持在（25.0±1.0）℃。3% 戊巴比妥钠（30 mg/kg）腹腔注射麻醉；温度探头插入直肠 3 cm 连监护仪全程监测直肠温度（rectal temperature，RT），分离右侧股动脉行股动脉插管用于全程监测平均动脉压（mean artery pressure，MAP）等。动物稳定 30 min 后坐姿固定在座椅上（略后仰以减轻肺脏原发损伤），柱状纸质点爆源（80 mg 二硝基重氮酚，Diazodinitrophenel，DDNP）固定在左后肢下 1/3 段内侧，引爆器引爆致伤（0 h）；取下大鼠固定于实验台上，立即用干纱布加压包扎伤肢，伤后 5 min 常规给予青霉素钠（40 万 U/kg，腹腔注射），伤后 5 min 经动脉导管缓慢推注 1 ml 无菌生理盐水，伤后 3 h 再推注 1 ml 无菌生理盐水；其他处理按相应分组给予。实验结束（6 h）时过量麻醉处死，立即取下左肺，等分为 2 份，一份液氮保存备用，一份浸入 4%（质量体积比）多聚甲醛固定液（paraformaldehyde，PFA）中固定 48 h。

1.2　动物各组的处理

正常对照组（C 组）：大鼠稳定 30 min 后并开始持续监测 MAP 和 RT（0 h）至实验结束（6 h）；单纯致伤组（Ⅰ组）：大鼠稳定 30 min 后爆炸致伤（0 h），持续监测 MAP 和 RT 至实验结束（6 h）；全身降温组（Ⅱ组）：致伤（0 h）5 min 后体表酒精喷洒、冰袋降温使 RT 在迅速降至（32.0±0.5）℃维持至实验结束（6 h）；局部降温组（Ⅲ组）：致伤（0 h）5 min 后伤肢局部依次纱布简单加压包扎、塑料薄膜覆盖、冷盐水纱布袋冷敷使创口表面温度迅速降至（10.0±1.0）℃并维持至实验结束（6 h）。

1.3　观察指标

1.3.1　肺组织病理学　　取相同部位肺组织修成 4 mm×4 mm×1.5 mm 的小块，经 4%（质量体积比）PFA 固定 48 h 后制作常规 HE 染色石蜡切片，镜下（×200）观察肺组织病理学变化。

1.3.2　肺 TNF-α、IL-6、IL-10、MDA 浓度测定　　4 ℃融化液氮冻存的肺组织，称取 150 mg 加入 1.5 ml 预冷组织裂解液（0.01 mol/L PBS+1% TritonX-100），稍剪碎后匀浆机破碎离心（3 500 r/min，15 min，4 ℃）取上清，考马斯亮蓝法蛋白含量。酶标记免疫吸附法（enzyme-labeled immunosorbent assay，ELISA）测定匀浆肿瘤坏死因子 α（tumor necrosis factor alpha，TNF-α）、白细胞介素-6/10（Interleukin-6/10，IL-6/10）浓度（TNF-α 和 IL-6 ELISA 试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司，IL-10 ELISA 试剂盒购自 PIERCE 公司）；比色法测定匀浆丙二醛（malondialdehyde，MDA）浓度（MDA 试剂盒购自南京建成生物工程研究所）。

1.4　统计学分析

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，用 SPSS 13.0 统计软件进行方差齐性检验和单因素方差分析。

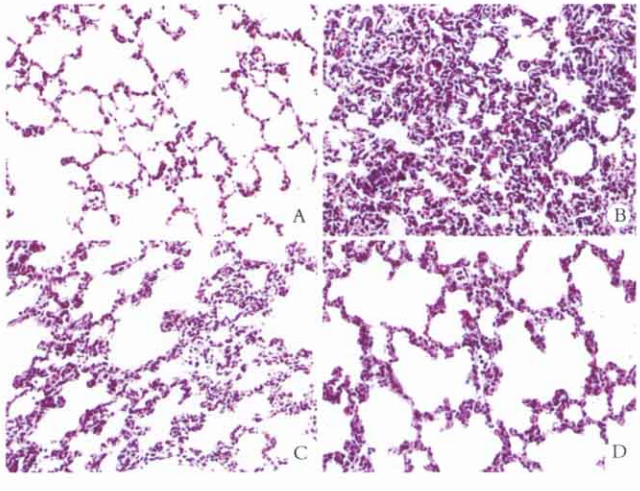
2　结果

2.1　大鼠肢体爆炸伤大体观察

均为开放性爆炸伤，皮肤和浅层软组织缺损，缺损面积约（2.5±0.3）mm^2，股骨中下段粉碎性骨折，断端外露，呈锯齿状或哆开；股动静脉断裂，股神经断端外露；股内/后侧肌群断裂外翻，近断端肌肉坏死失活；远断端和股外侧肌肉严重充血水肿；肢体远端血运障碍，针刺无出血；其他部位未见明显损伤。实验过程中致伤大鼠出血 3～4 ml，MAP 由致伤前的（128.6±11.1）mmHg 逐渐下降到伤后 6 h 的（105.6±12.9）mmHg；肺脏大体解剖观察和 HE 染色石蜡切片镜下观察发现大约在伤后 1 h 肺脏开始出现充血水肿和炎细胞浸润并逐渐加重，一般于伤后 6 h 达高峰，伤情严重者高峰可明显提前。

2.2　肺脏组织病理学改变

正常大鼠肺泡形态正常，肺泡壁完整，无明显炎细胞浸润和液体渗出；致伤后 6 h 则呈典型炎性损伤表现，可见肺泡壁和肺间质显著增厚，部分肺泡壁完整性破坏，肺间质、肺泡壁和肺泡腔内有大量炎细胞浸润和液体渗出，细小血管管腔内充满大量红细胞；致伤大鼠经全身低温或局部低温处理 6 h 后肺脏的炎性损伤程度明显减轻。结果提示低温可显著减轻大鼠肢体爆炸伤后肺脏的炎性损伤（图 1）。



A：正常对照组；B：单纯致伤组；C：全身降温组；D：局部降温组

图 1　4 组大鼠肺组织病理学变化　（HE×200）

2.3　肺组织匀浆 TNF-α、IL-6、IL-10 浓度变化

正常大鼠肺匀浆 TNF-α、IL-6、IL-10 浓度分别为（8.36±1.38）、（21.84±1.79）、（2.89±0.43）pg/mg；大鼠致伤后 6 h 肺组织匀浆 TNF-α、IL-6、IL-10 浓度显著升高，分别为［（111.61±15.86）、（70.73±7.46）、（31.04±8.25）］pg/mg（均 $P<$

0.01，与C组比较）；经全身低温或局部低温处理6 h后肺炎症因子显著降低[依次为（63.76±11.69）/（39.76±4.85）、（24.56±9.35）/（23.39±4.50）、（8.09±3.10）/（8.55±2.11）pg/mg]（$P<0.01$），但全身低温和局部低温处理之间统计学差异不显著（$P>0.05$）。提示低温可显著降低大鼠肢体爆炸伤后肺脏主要炎症因子浓度，减轻肺脏的炎性损伤。

2.4 肺组织匀浆MDA浓度变化

正常大鼠肺组织匀浆MDA浓度为（1.28±0.22）nmol/mg；致伤后6 h肺MDA浓度则显著升高（7.82±2.28）nmol/mg（$P<0.01$）；经全身低温或局部低温处理6 h后肺MDA浓度显著下降，分别为（4.27±0.60）（$P<0.01$）和（4.25±0.44）nmol/mg（$P<0.05$）；但全身低温和局部低温处理之间统计学差异不显著（$P>0.05$）。提示低温可显著降低大鼠肢体爆炸伤后肺脏MDA浓度，减轻肺脏脂质过氧化损伤。

3 讨论

爆炸伤是由冲击波、爆轰波、金属破片和高温等多种物理因素单独或综合作用的结果。本实验所采用的80 mg DDNP纸质点爆源致伤模型的主要致伤因素为爆轰波，无金属破片；爆炸可导致严重的肢体软组织开放伤，合并股骨骨折、股动静脉股神经断裂等；其伤情伤势与战时伤员实际情况相似，且伤情伤势稳定，模型重复性好，操作简单易行，可用于战时中重度肢体爆炸伤研究。

肢体爆炸伤创面污染严重，且多伴有大块皮肤软组织缺损、肌肉血管神经损伤、粉碎性骨折等。更为严重的是，创伤局部可产生大量的炎症介质、自由基等有害物质，这些有害物质一方面加重局部损伤，一方面经血循环远隔播散引发继发脏器损伤。肺由于其的结构和功能的特殊性，易首先遭受有害因素的侵害，成为继发损伤的首位靶器官；而被激活的肺组织细胞又可通过瀑布效应，进一步加重脏器损伤[8]。在伤员批量突然发生不能早期及时给予有效的救治的情况下，继发性脏器损伤迅速出现，多在伤后数小时内出现并迅速达到高峰，严重威胁着伤员的生命[9,10]。因此本实验就早期低温处理在肢体爆炸伤后继发肺损伤防治中的作用问题进行了深入探讨。通常低体温是指中心体温<35 ℃（轻度低温：32～35 ℃，中度低温：28～32 ℃，重度低温：<28 ℃）。低体温可分为事故性低温和控制性低温[11]两类。意外性低温是创伤后常见并发症之一，与凝血功能障碍、酸中毒合称为创伤后“死亡三角”，被认为是预后不佳的危险因素[12]。控制性低温可通过降低能量代谢、减少氧耗、减轻继发性脏器炎症反应和脂质过氧化反应等途径发挥其保护作用，但中心温度过低会引起心血管系统抑制、凝血纤溶功能紊乱、心律失常等副作用[13,14]；10℃左右局部低温对损伤肢体有较好的保护作用[15]，长时间局部体温过低（<5 ℃）容易产生较大的生理扰动，还可造成局部组织冻伤等副作用[16]；故本实验采用了轻中度全身低温（32.0±0.5）℃或局部低温（10.0±1.0）℃处理致伤大鼠以尽量避免低温的副作用。

本实验结果显示，大鼠肢体爆炸伤后6 h肺脏TNF-α、IL-6、IL-10和MDA浓度显著升高，肺脏显著充血水肿，大量炎细胞浸润；而早期轻度全身低温和局部低温处理可显著降低肺脏TNF-α、IL-6、IL-10和MDA浓度，减轻肺脏充血水肿和炎细胞浸润程度，减轻肺脏继发性损伤。TNF-α和IL-6是由巨噬细胞和淋巴细胞分泌的具有活化内皮细胞、中性粒细胞作用的重要促炎介质，IL-10则是由Th_2巨噬细胞产生的具有抑制细胞因子产生作用的抗炎介质之一，三者都是炎症瀑布反应的关键因子。机体遭受严重创伤后促/抗炎反应均被激活，如二者之间“交叉对话”失控，不断相互加强，又可造成机体更大的损伤。而过氧化反应可通过与核酸、蛋白质和细胞质膜相互作用，最终导致组织细胞过氧化损伤。MDA是脂质过氧化反应的终产物之一，其浓度可间接反映细胞损伤程度。本实验结果提示大鼠肢体爆炸伤可引起肺脏显著的炎症反应和过氧化反应，炎症反应和过氧化反应可通过瀑布效应及相互作用导致肺毛细血管通透性增加、内皮血细胞和炎细胞活化、炎细胞浸润等，最终导致严重的肺损伤；而早期轻度全身低温和局部低温处理在尽量减轻心血管系统和凝血纤溶系统等副作用的同时，下调肺脏的炎症反应水平和过氧化反应水平，减轻肺脏充血水肿和炎细胞浸润程度，减轻伤后继发性肺脏损伤。

目前低温减轻创伤后肺脏继发损伤的机制尚不十分清楚，其机制可能是多方面的：核因子κB（NF-κB）是目前公认的调节炎症反应的重要核转录因子，低温可通过抑制IκB-γ-激酶（IKK）催化的IκB（inhibitor κB）的磷酸化进而抑制IκB降解，减少NF-κB释放和核转位活化，最终减少炎症因子的表达释放[17,18]；低温也可抑制与炎症反应密切相关的另一核因子AP-1的活化[19]；核因子Nrf-2是机体细胞重要内源性抗氧化损伤核因子，本课题组研究表明短期轻度全身低温和局部低温可以激活肺组织细胞Nrf-2活性，上调肺组织细胞内源性抗氧化损伤能力（另文发表）；另外，一氧化氮、一氧化碳等气体信号分子也可能参与了创伤后炎症的低温保护效应[20]。

本实验采用更贴近实战的大鼠肢体爆炸伤模型，研究早期轻度全身低温和局部低温处理对肢体爆炸伤后继发肺损伤的作用，为战时大批量肢体爆炸伤的紧急处理、延长救治黄金时间、减轻继发肺损伤、提高战时肢体爆炸伤救治质量提供了一条新思路，也为控制性低温在战时肢体爆炸伤紧急处理中的应用提供了初

步实验依据。

参考文献：

[1] 黎 鳌,盛志勇,王正国. 现代战创伤外科学[M]. 北京:人民军医出版社,1998: 949-953.
[2] 张进军,孙 鲲, 李兵仓. 四肢爆炸伤临床救治的研究进展[J]. 创伤外科杂志, 1999, 1(1): 32-34.
[3] Stanec Z, Skrbic S, Depina I, *et al*. Surgical management of war injuries involving soft tissue defects[J]. Lijec Vjesn,1993, 115(9-10): 283-289.
[4] Tisherman S A. Hypothermia and injury[J]. Curr Opin Crit Care, 2004, 10(6): 512-519.
[5] Alzaga A G, Cerdan M, Varon J. Therapeutic hypothermia[J]. Resuscitation, 2006, 70(3): 369-380.
[6] Hildebrand F, van-Griensven M, Giannoudis P, *et al*. Effects of hypothermia and re-warming on the inflammatory response in a murine multiple hit model of trauma[J]. Cytokine, 2005, 31(5): 382-393.
[7] 楚燕飞,李兵仓,陈 菁,等. 大鼠爆炸性脑创伤模型建立[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(6): 606-607.
[8] 王兴胜,吴国明,钱桂生. 肺脏在MODS中的地位及ARDS与MODS的关系[J]. 国外医学:内科学分册, 2005, 32(2): 58-61.
[9] Peleg K, Aharonson-Daniel L, Stein M, *et al*. Gunshot and Explosion injuries: characteristics, outcomes, and implications for care of terror-related injuries in Israel[J]. Ann Surg, 2004, 239(3): 311-318.
[10] Bumbasirevic M, Lesic A, Mitkovic M, *et al*. Treatment of blast injuries of the extremity[J]. J Am Acad Orthop Surg, 2006, 14 (10 Suppl): S77-S81.
[11] Connolly E, Worhtley L I. Induced and accidental hypothermia[J]. Crit Care Resusc, 2000, 2(1): 22-29.
[12] Tsuei B J, Kearney P A. Hypothermia in the trauma patient[J]. Injury, 2004, 35(1): 7-15.
[13] L'Her E, Amerand A, Vettier A, *et al*. Effects of mild induced hypothermia during experimental sepsis[J]. Crit Care Med, 2006, 34 (10): 2621-2623.
[14] Chen Z, Chen H, Rhee P, *et al*. Induction of profound hypothermia modulates the immune/inflammatory response in a swine model of lethal hemorrhage[J]. Resuscitation, 2005, 66(2): 209-216.
[15] Schaser K D, Stover J F, Melcher I, *et al*. Local cooling restores microcirculatory hemodynamics after closed soft-tissue trauma in rats [J]. J Trauma, 2006, 61(3): 642-649.
[16] 李靖年,李 郃,赵文志, 等. 局部低温对肢体缺血/再灌注损伤的保护作用实验研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2000, 7(1): 53-55.
[17] Yenari M A, Han H S. Influence of hypothermia on post-ischemic inflammation: role of nuclear factor kappa B(NFkappaB)[J]. Neurochem Int, 2006, 49(2): 164-169.
[18] Hassoun H T, Fischer U M, Attuwaybi B O, *et al*. Regional hypothermia reduces mucosal NF-kappaB and PMN priming *via* gut lymph during canine mesenteric ischemia/reperfusion [J]. J Surg Res, 2003, 115(1): 121-126.
[19] Qing M, Woltje M, Schumacher K, *et al*. The use of moderate hypothermia during cardiac surgery is associated with repression of tumour necrosis factor-alpha via inhibition of activating protein-1: an experimental study[J]. Crit Care, 2006, 10(2): R57.
[20] Amon M, Menger M D, Vollmar B. Heme oxygenase and nitric oxide synthase mediate cooling-associated protection against TNF-alpha-induced microcirculatory dysfunction and apoptotic cell death [J]. FASEB J, 2003, 17(2): 175-185.

(编辑 邓强庭)

文章编号:1000-5404(2007)17-1669-01

个案与短篇

青年肺黏液细胞癌伴全身多处转移1例

杨 丽,黎 燕,陈思阳 (第三军医大学新桥医院全军呼吸内科研究所,全军呼吸病研究重点实验室,重庆 400037)

1 临床资料

患者,女性,23岁,间断咳嗽,咳痰,发热3月余,痰血,胸、腰痛2个月,加重伴气促5 d入院。3个月前胸部CT示右肺门肿块,右下肺多个结节影及左侧少量胸腔积液。外院诊断为"肺结核",抗结核治疗10 d后,症状减轻。1个月后出现下腹痛,B超示盆腔积液,考虑为结核引起,继续抗结核。腰疼持续存在。入院前5 d上症状明显加重,伴发热、盗汗、气促。上腹部CT示:肝内多发性占位,性质待定;右侧胸腔积液。查体:体温37.3 ℃,脉搏135次/min,呼吸40次/min。右锁下及右胸锁乳突肌前缘分别可扪及一黄豆、蚕豆大小肿大淋巴结,质地中等,活动度尚可,与周围组织无黏连,无触痛。口唇无紫绀,气管居中。左下肺呼浊,右肺呼吸音粗,右下肺可闻及少量湿啰音。心率135次/min,律齐。右上腹轻压痛。肝脏位于剑突下4 cm,右肋缘下3 cm,触痛明显。入院诊断:1)继发性肺结核双肺?2)原发性支气管肺癌左肺?3)肝内多发性占位转移癌?4)肠外阿米巴病?入院后胸部CT示:1)纵隔、双肺门及肺内多发结节、性质待定(结核、结节病或淋巴瘤不能除外);2)右侧胸腔积液,双侧胸膜增厚、黏连;3)肝内低密度灶。腹部彩超示:1)肝内多发性囊实性占位;2)双侧胸腔积液。妇科彩超:盆腔积液。心电图:窦性心动过速。血常规:WBC 16.13×10⁹/L、中性粒细胞0.77,HGB 81 g/L。肝功:TP 65.2 g/L,ALB 33 g/L,GGT 93 U/L,ALP 494 U/L。血沉113 mm/h。心肌酶

(下转1676页)

作者简介:杨 丽(1983-),女,重庆市人,医师,电话:(023)62008487,E-mail: yangli_0189@sina.com

收稿日期:2006-11-30;修回日期:2007-05-31