文章编号:1000-5404(2010)19-2045-04

论著

爆炸致舱内大鼠高加速度负载时脑损伤的病理特点

张子焕[1,2],许民辉[1],赖西南[2],王丽丽[2],许明伟[2],崔 红[2] (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所:神经外科[1],第六研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室[2])

【摘要】 目的 观察爆炸致舱内大鼠高加速度负载时脑损伤的病理特点,探讨其相关机制。方法 引爆密闭舱室下方聚能盘内点爆源,模拟装甲车触雷爆炸,制作爆炸致舱内大鼠(坐姿)高加速度负载时脑损伤模型;48只SD雄性大鼠随机分为对照组、400 mg TNT爆炸当量致伤组(400 mg组)及800 mg TNT爆炸当量致伤组(800 mg组),每组16只,其中8只用于测量舱室内座位与大鼠头颅的加速度峰值(PA)及持续作用时间(TD),于伤后6 h处死,取脑、脊髓组织行病理检查,对海马CA1区正常锥体细胞记数及组织损伤分级,另8只行Morris水迷宫实验检测大鼠空间学习记忆功能。结果 400 mg组$PA_{座位}$为(5745±1036)g,$TD_{座位}$为(6.87±0.58)ms,$PA_{头颅}$为(701±309)g,$TD_{头颅}$为(1.00±0.14)ms;800 mg组$PA_{座位}$为(13 109±1167)g,$TD_{座位}$为(11.08±1.43)ms,$PA_{头颅}$为(3383±935)g,$TD_{头颅}$为(1.32±0.18)ms,两组数据对应参数之间差异显著($P<0.01$)。伤后6 h大鼠大体解剖无明显异常,但光镜下大脑、脊髓存在神经元急性损伤改变,800 mg组电镜下还见大脑毛细血管、轴索损伤。海马CA1组织学损伤分级:800 mg组>400 mg组>对照组;神经元密度:800 mg组<400 mg组<对照组($P<0.01$)。与对照组比较,第1~4天800 mg组逃避潜伏期延长($P<0.05$),学习记忆曲线右移,延后1 d趋于稳定,经过平台次数及跨越目标象限时间减少($P<0.05$);400 mg组介于两者之间。结论 爆炸致舱内大鼠高加速度负载时大鼠可出现轻度弥漫性脑损伤,可能产生相应的早期症状或晚期后遗症,可推得装甲车辆触雷爆炸底板未击穿、变形小时乘员存在脑损伤可能。

【关键词】 密闭舱室;加速度;脑损伤;病理特点
【中图法分类号】 R-322;R642;R651.15 【文献标志码】 A

Pathological characteristics of brain injuries of rats exposed to blast high acceleration in airtight cabin

Zhang Zihuan[1,2], Xu Minhui[1], Lai Xinan[2], Wang Lili[2], Xu Mingwei[2], Cui Hong[2] (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, [1]Department of Neurosurgery, [2]Department 6, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

【Abstract】 Objective To observe the pathological characteristics of brain injuries of rats exposed to blast high acceleration in airtight cabin and to study the relevant mechanism. Methods Columnar explosive in a metal energy concentration disk under airtight cabin was detonated, imitating armored vehicle mine blast, to establish a model of brain injuries induced by blast high acceleration in airtight cabin. Forty-eight rats were randomly divided into control group, 400 mg TNT explosion equivalent group (400 mg group) and 800 mg TNT explosion equivalent group (800 mg group), 16 rats in each group. Eight rats in each injury group were used to record the peak acceleration (PA) and the time of acceleration duration (TD) of the seat and skull as evaluation indexes of the acceleration load on the rats. Six hours after explosion, pathological changes of spinal cord and brain tissues in rats were examined under light microscope or transmission electron microscope (TEM). Meanwhile, the number of intact pyramidal cells per 1 mm linear length of CA1 was determined and neuronal damage to the hippocampal CA1 subfield was semi-quantitatively graded using a 0 - 3 rating system according to the method of Kato *et al*. The spatial learning and memory of another 8 rats were assessed with Morris water maze (MWM) after explosion. Results The PA and TD of seat were (5 745 ± 1 036) g and (6.87 ± 0.58) ms, (701 ± 309) g and (1.00 ± 0.14) ms of skull respectively in 400 mg group, (13 109 ± 1167) g and (11.08 ± 1.43) ms, (3 383 ± 935) g and (1.32 ± 0.18) ms of skull respectively in 800 mg group ($P<0.01$). No visible change was observed in brain of injury groups, but acute neuronal damage to cerebral cortex, hippocampus and spinal cord was observed under microscope. Damage to capillary and axon was

【基金项目】 全军医学科研"十一五"计划专项课题(06Z034);"十一五"国家科技支撑计划(2009BAI87B00)
【通信作者】 许民辉,电话:(023)68757976,E-mail:minhuixu66@yahoo.com.cn
赖西南,电话:(023)68757463,E-mail:laixinan@sohu.com

observed in 800 mg group under TEM. The damage score was the highest in 800 mg group and the lowest in control group. The neuronal density of hippocampal CA1 subfield was the lowest in 800 mg group and the highest in control group ($P<0.01$). During the first 4 d after explosion, the escape latency was significantly longer in 800 mg group than in control group ($P<0.05$). The learning and memory curve was shifted right in 800 mg group and became stable after 1 d. The frequency of crossing the target platform was lower and the time spent in crossing the target quadrant was longer in 800 mg group than in control group ($P<0.05$). The value of these 2 parameters was a median in 400 mg group. **Conclusion** Rats exposed to blast high acceleration in airtight cabin may suffer from mild diffused brain injury which may induce early clinical symptoms or late sequel. Occupants may suffer from brain injuries while armored vehicles can be attacked by landmines in the absence of a bottom penetration and large displacement, which should attract more attention of armored vehicle designers and clinicians.

[Key words] airtight cabin; acceleration; brain injury; pathological characteristics

Supported by the Mandatory Research Project of the "Eleventh Five-year Plan" for Medical Science Development of PLA (06Z034) and the "Eleventh Five-year Plan" of National Key Technology R&D Program (2009BAI87B00). Corresponding author: Xu Minhui, Tel: 86-23-68757976, E-mail: minhuixu66@yahoo.com.cn, Lai Xinan, Tel: 86-23-68757463, E-mail: laixinan@sohu.com

在现代战争中,由于地雷与简易爆炸装置被广泛使用,装甲车辆触雷爆炸发生率高,造成人员伤亡大[1]。当装甲车辆触雷爆炸底板未被击穿时,底板加速度为主要致伤因素[2]。由于爆炸后底板加速度很高,作用时间很短,仅为数百微秒至数毫秒,致伤部位常见于乘员与底板接触的身体部分,故之前的研究主要集中在下肢损伤上[3],而对非接触部位如中枢神经系统的损伤研究较少。本研究观察爆炸致密闭舱室内大鼠高加速度负载时脑损伤的病理特点,探讨大鼠高加速度负载时脑损伤的相关机制,为装甲车辆防护设计及装甲车辆触雷爆炸致伤成员的临床诊治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

SD雄性大鼠48只(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),体质量180~200 g,随机分为正常对照组、400 mg TNT爆炸当量致伤组(400 mg组)及800 mg TNT爆炸当量致伤组(800 mg组),每组16只,其中8只用于加速度测试与病理检查,另外8只行Morris水迷宫实验检测大鼠空间学习记忆功能。正常对照组除不致伤外,其他处理均与致伤组相同。

1.2 爆炸致舱内大鼠高加速度负载时脑损伤模型制备与加速度物理参数测量

本实验所用密闭舱室为模拟某型装甲车、按人体与大鼠的体积比等比例缩小、由4 mm厚度钢板焊接而成。大鼠用3%戊巴比妥钠(0.12 ml/100 g)腹腔内注射麻醉后,取俯卧位,固定于操作台上,横向切开头皮至顶骨,拭干创面,用502快干胶将加速度传感器固定于顶骨上,缝合切口,并使大鼠端坐于舱室内座位上;将头颅与座位上的加速度传感器用数据线与wavebook516A数据采集系统连接;爆炸当量为400 mg TNT或800 mg TNT的点爆源置于舱体下方聚能盘(目的将爆炸能量集中作用于舱体,以使舱内大鼠承受高加速度负载)内,与座位垂直,电击发,采集器自动收集数据。

1.3 Morris水迷宫测试

采用MT-200 Morris水迷宫视频跟踪系统(成都泰盟科技有限公司),实验时在池壁选择4个入水点,相邻2个入水点间距离不小于50 cm,向池内加自来水,用奶粉染成不透明的乳白色,水面高于平台面2 cm,水温保持在(24±1)℃,保持室内安静、亮度一致及周围参照物不变。致伤前1 d让大鼠自由游泳60 s以适应周围环境,伤后当天为第1天,每天训练4次,每次随机选择1个入水点,将大鼠面向池壁放入水中,观察并记录大鼠寻找并爬上平台的路线图及所需时间(逃避潜伏期)。如果大鼠在60 s内未找到平台,需将其引至平台,并停留15 s。这时潜伏期记为60 s,每次训练间隔30 s,连续6 d。第6天训练结束后2 h进行空间探索实验,记录大鼠经过平台次数及跨越目标象限时间。

1.4 病理检查

1.4.1 光镜检查 伤后6 h大鼠经4%多聚甲醛灌注固定后,取左侧大脑、颈髓置于4%多聚甲醛固定液48 h,石蜡包埋,冠状切片,片厚4 μm,常规HE染色,并参照Kato等[4]分级方法对海马CA1区组织损伤情况进行分级,高倍镜(×400)下计数海马CA1区每1毫米区段内细胞膜完整、细胞核饱满、核仁清晰的锥体细胞数目,每张切片计数3个区段,取平均数为神经元密度。

1.4.2 电镜检查 大鼠经2%戊二醛固定液灌注固定后,分别切取大脑皮质、髓质及海马各1 mm^3脑组织,再固定于30 g/L戊二醛固定液中6 h,10 g/L饿酸4 ℃固定2 h,漂洗后丙酮梯度脱水,醋酸铀4 ℃染色4 h,环氧树脂618包埋。行超薄切片,枸橼酸铅染色,TECNAI-10透射电子显微镜下观察。

1.5 统计学处理

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 13.0统计软件,组间比较采用完全随机设计资料两样本Student's t检验;多组均数间比较采用随机区组设计资料单因素方差分析,均数间的两两比较用SNK检验。

2 结果

2.1 伤后一般情况

伤后大鼠均存活,体表(除头部切口外)无明显外伤,早期

出现轻度呼吸变慢、血压下降，其中 800 mg 组呼吸频率下降（10～30）次/min，血压下降 10～20 mmHg，并在 20～30 min 内血压、呼吸逐渐恢复至伤前水平，清醒后可进食、饮水，但反应较正常对照组迟钝。

2.2　爆炸瞬间大鼠所负载的加速度物理参数

爆炸当量越大，大鼠负载的加速度也越大，且大鼠头颅的加速度随舱室内座位的加速度增加而增加，不同致伤组对应位置加速度峰值大小、加速度峰值上升时间、加速度作用持续时间差异显著（$P<0.01$）。见表 1。

表 1　舱体座位与大鼠头颅的加速度物理参数（$n=8$，$\bar{x}\pm s$）

组别	加速度峰值（g）	加速度峰值上升时间（ms）	加速度作用持续时间（ms）
400 mg 组 座位	5745 ± 1036	1.41 ± 0.28	6.87 ± 0.58
头颅	701 ± 309	0.78 ± 0.18	1.00 ± 0.14
800 mg 组 座位	13 109 ± 1167[a]	0.81 ± 0.14[a]	11.08 ± 1.43[a]
头颅	3383 ± 935[b]	0.40 ± 0.12[b]	1.32 ± 0.18[b]

a：$P<0.01$，与 400 mg 组座位比较；b：$P<0.01$，与 400 mg 组头颅比较

2.3　Morris 水迷宫测试

与对照组比较，第 1～4 天 800 mg 组逃避潜伏期延长（$P<0.05$），学习记忆曲线右移，延后 1 d 趋于稳定（表 2）；800 mg 组经过平台次数为（2.3 ± 1.2）次，与正常对照组（4.5 ± 1.0）次存在显著差异（$P<0.05$），800 mg 组跨越目标象限时间为（23.49 ± 3.82）s，与正常对照组（29.98 ± 5.79）s 存在显著差异（$P<0.05$），400 mg 组两指标分别为（3.8 ± 0.8）次、（28.64 ± 6.81）s，介于两者之间。

2.4　病理分析

肉眼观大鼠脑未见明显出血、挫裂伤。光镜下可见神经元细胞体缩小变形、细胞核固缩，HE 染色示细胞质深红染等急性坏死性改变，而后出现细胞核溶解，残留细胞轮廓，均可见于脊髓、大脑皮层、海马的锥体细胞及小脑蒲肯野细胞。组织学分级：800 mg 组 > 400 mg 组 > 正常对照组；海马 CA1 神经元密度：800 mg 组 < 400 mg 组 < 正常对照组（$P<0.01$）。见图 1、表 3。

表 2　高加速度负载对大鼠逃避潜伏期的影响（$n=8$，s，$\bar{x}\pm s$）

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天
正常对照组	41.64 ± 4.50	27.67 ± 3.63	13.97 ± 1.92	10.72 ± 1.88	9.34 ± 1.20	8.87 ± 0.75
400 mg 组	45.50 ± 4.25	31.63 ± 3.90	16.74 ± 2.65	12.61 ± 1.33	9.82 ± 1.74	9.56 ± 1.75
800 mg 组	48.97 ± 3.69[a]	34.99 ± 3.62[a]	22.62 ± 5.20[a]	14.37 ± 2.44[a]	10.18 ± 2.73	11.23 ± 2.77

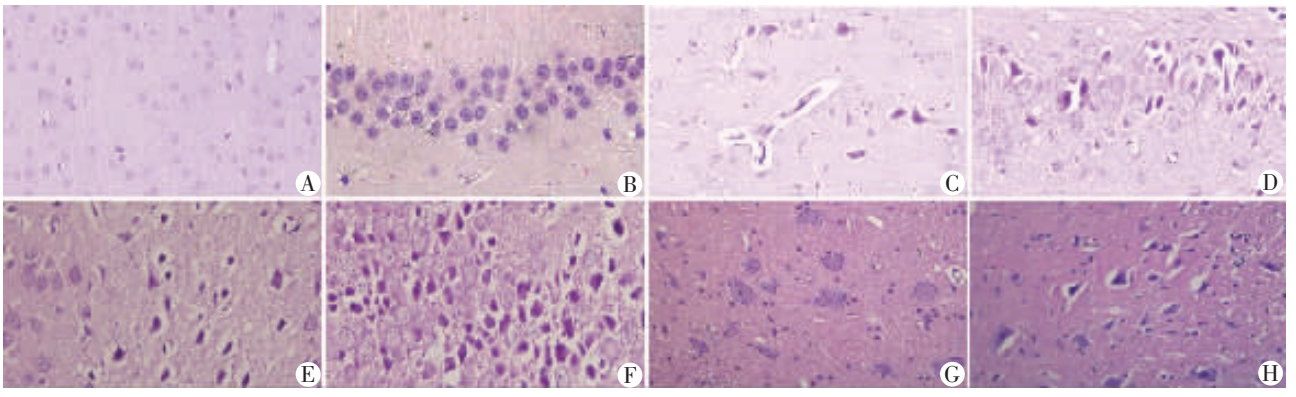
a：$P<0.05$，与正常对照组比较

表 3　各组海马 CA1 区组织学分级及神经元密度（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

组别	组织学分级				神经元密度
	0	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	
正常对照组	6				210.12 ± 6.56
400 mg 组	4	2			185.37 ± 7.42[a]
800 mg 组		5	1		153.12 ± 9.85[ab]

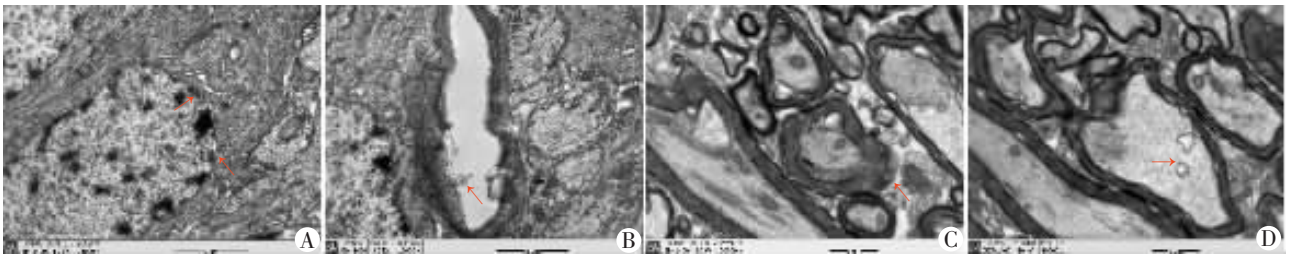
a：$P<0.01$，与正常对照组比较；b：$P<0.01$，与 400 mg 组比较

正常对照组镜下示神经元细胞核形态结构正常，电子密度正常，细胞核膜及细胞核周隙结构清晰；毛细血管内皮细胞结构正常，完整，基膜均匀连续；轴索神经元纤维结构清晰，未见脱髓鞘现象。800 mg 组镜下示神经元细胞核略显水肿，可见轻微损伤，表现为内质网囊腔扩张，细胞核周隙扩张；毛细血管可见内皮及基膜破损、不完整；髓鞘排列较为紊乱，轴索可见水肿，电子密度降低，可见明显脱髓鞘现象，少量轴索中可见泡状结构。见图 2。



A、B：正常对照组脑皮质、海马；C、D：400 mg 组脑皮质、海马；E、F：800 mg 组脑皮质、海马；G：400 mg 组脊髓；H：800 mg 组脊髓

图 1　光镜观察各组大鼠大脑皮层、海马及脊髓　（HE ×400）



A：内质网囊腔及核周隙扩张（↑）（×15 000）；B：毛细血管内皮及基膜破损、不完整（↑）（×15 000）；C：轴索脱髓鞘现象（↑）（×20 000）；D：轴索内泡状结构（↑）（×20 000）

图 2　电镜观察爆炸致伤后 800 mg 组大鼠大脑皮质、髓质及海马

3 讨论

在现代战争中,装甲车辆触雷爆炸发生率很高,但随着新技术、新材料的应用,其防护抗打击能力不断增强,底板未被击穿的可能性很大。此时,底板加速度成为主要致伤因素,分为两种类型:一是底板低加速度、高位移(变形);二是底板高加速度、低位移(变形)[5]。前者加速度为数 g ~ 数十 g,作用时间数毫秒至数秒,由于底板变形幅度大,伤型常表现为挤压伤、碰撞伤,与汽车碰撞类似,这方面已有广泛研究;后者加速度可高达上万 g,作用时间仅为数十微秒至数毫秒,与本实验所测数据基本相符,而与航空医学所讲的 6 ~ 14 g、作用时间超过 15 s 的高正加速度[6,7]明显不同。

当装甲车辆触雷爆炸、底板未击穿、低变形时,爆炸产生的大部分能量迅速转化为底板高加速度,作用于与底板接触的身体部位,由于能量传导超过足踝吸收限值而引起下肢骨折,尤其是足踝骨折[3]。Ragel 等[8]对北约士兵战伤资料进行回顾性分析,发现装甲车辆触雷爆炸乘员胸椎骨折发生率也很高,表明加速度容易在脊柱、四肢骨骼等致密组织传播,导致其位移(变形)而损伤。另外,乘员伤情与其是否约束有关。若乘员未有约束、固定时,还会发生抛掷、碰撞伤等 2 次损伤;但若乘员有约束、固定时,乘员与座位或舱壁接触更紧密,爆炸能量会更容易、更多地传入体内引起损伤,甚至远处软组织损伤,可出现轻-中度脊髓损伤[5]。而在本实验中除了发现有脊髓前角神经元损伤外,还存在大脑皮层、海马的锥体细胞及小脑蒲肯野细胞损伤,海马 CA1 区正常神经元随加速度增加而减少,这些结果提示乘员暴露于高加速度负载时,还可能存在脑、脊髓等软组织损伤,但其具体损伤机制尚不清楚。

目前加速度引起颅脑损伤的机制有加减速损伤、血流动力学异常及缺血再灌注损伤等,这些机制都有相应的致伤环境,如加减速损伤在颅脑交通伤中常见[9],血流动力学异常、缺血再灌注损伤在航空医学脑损伤中常见[6,10-12]。装甲车辆触雷爆炸、底板未击穿、低变形时,乘员承受的高加速度作用时间极短,仅有数十微秒至数毫秒,单纯用加减速损伤、血流动力学异常或缺血再灌注损伤机制难以解释弥漫性脑损伤、脊髓损伤等远处软组织损伤效应,而考虑是由于爆炸后底板变形小,大部分能量转化底板、座位的加速度后作用于乘员下肢、躯干骨骼,而这些组织致密、变形较小,能量衰竭少,以致更多能量继续传递、作用于远处毗邻器官、组织,如脊髓、脑等。这有待于进一步研究证实。

总之,乘员暴露于高加速度负载时可能出现轻度弥漫性脑损伤,提示除了在装甲车辆整体防护设计上做好抗打击与减震工作[13,14]外,还需在乘员座位固定装置设计时,既要采取约束固定装置减少抛掷、碰撞伤,又要尽量避免因采取约束固定而带来更大的加速度损伤。另外,在本实验中大鼠出现的脑损伤为轻度,却伴有早期空间学习记忆能力下降,而如今许多从伊拉克、阿富汗战争中退役人员正在饱受着记忆力下降、失眠等痛苦,因不可能进行病理学检查,而被误诊为精神、心理疾病等非器质性疾病,但事实上可能是轻度创伤性颅脑损伤(mild TBI)[15]。综上,了解这种爆炸产生底板高加速度致装甲车辆内乘员颅脑损伤的病理特点,对临床医师的诊断与治疗具有重要的意义。

参考文献:

[1] Owen-Smith. Armoured fighting vehicle casualties. 1977[J]. J R Army Med Corps, 2007, 153(3):210-215.

[2] Nechaev E A, Gritsanov A I, Fomin N F, *et al*. Mine Blast Trauma (Monograph Synopsis)[M]. St. Petersburg:Russian Ministry of Public Health and Medical Industry, 1994:2-6.

[3] McKay B J, Bir C A. Lower extremity injury criteria for evaluating military vehicle occupant injury in underbelly blast events[J]. Stapp Car Crash J, 2009, 53:229-249.

[4] Kato H, Liu Y, Araki T, *et al*. Temporal profile of the effects of pretreatment with brief cerebral ischemia on the neuronal damage following secondary ischemic insult in the gerbil:cumulative damage and protective effects[J]. Brain Res, 1991, 553(2):238-242.

[5] Boyd S D. Acceleration of a plate subject to explosive blast loading:trial results, DSTO-TN-0270[R]. Melbourne:DSTO Aeronautical and Maritime Research Laboratory, 2000.

[6] 刘红巾,蔡庆,姜树强,等. 大鼠脑组织经反复高加速度暴露后 bcl-2, bax, p53 和白细胞介素 1β 转化酶的表达[J]. 中国临床康复, 2005, 9(13):213-215.

[7] 徐冶,李质馨,田洪艳,等. +Gz 暴露对大鼠海马毛细血管超微结构的影响[J]. 吉林医药学院学报, 2005, 26(2):73-75.

[8] Ragel B T, Allred C D, Brevard S, *et al*. Fractures of the thoracolumbar spine sustained by soldiers in vehicles attacked by improvised explosive devices [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2009, 34(22):2400-2405.

[9] 姜利人,陈力学,陈庆胜,等. 重庆主城区 346 例颅脑交通伤流行病学特点及临床救治分析[J]. 创伤外科杂志, 2006, 8(2):127-129.

[10] Werchan P M. Physiologic bases of G-induced loss of consciousness (G-LOC)[J]. Aviat Space Environ Med, 1991, 62(7):612-614.

[11] Serrador J M, Schlegel T T, Black F O, *et al*. Cerebral hypoperfusion precedes nausea during centrifugation[J]. Aviat Space Environ Med, 2005, 76 (2):91-96.

[12] 康建毅,彭承琳,赖西南,等. 密闭舱室内冲击波作用下胸部动态响应规律的研究[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(1):60-63.

[13] Ramasamy A, Harrisson S E, Clasper J C, *et al*. Injuries from roadside improvised explosive devices[J]. J Trauma, 2008, 65(4):910-914.

[14] Tabiei A, Nilakantan G. Axial crushing of tubes as an energy dissipating mechanism for the reduction of acceleration induced injuries from mine blasts underneath infantry vehicles[J]. Int J Impact Eng, 2009, 36 (5):729-736.

[15] Bhattacharjee Y. Neuroscience. Shell shock revisited:solving the puzzle of blast trauma[J]. Science, 2008, 319 (5862):406-408.

(收稿 2010-04-28 修回 2010-07-15)

(编辑 邓强庭)