DOI:10.16016/j.2097-0927.202404091

RSR13 对高原大鼠肺冲击伤的保护作用及机制研究

何青盈[1],李 悦[1],文 静[1],向伦理[2],段家翔[1],廖先建[1],易 斌[1],甯交琳[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院:麻醉科[1],肾内科[2]

[**摘要**] **目的** 探究血红蛋白变构剂乙丙昔罗[efaproxiral(RSR13)]对高原地区爆炸冲击波致大鼠肺损伤的影响及其作用机制。**方法** 8周龄SD健康雄性大鼠,共82只,按照随机数字表法分为冲击伤组和RSR13+冲击伤组,RSR13+冲击伤组大鼠在接受冲击前2 h腹腔注射RSR13(150 mg/kg);其中60只大鼠放置在距爆源同侧5 m处,为5 m冲击伤组(n=30)、5 m RSR13+冲击伤组(n=30);16只大鼠放置在距爆源同侧6 m处,6 m冲击伤组(n=8)、6 m RSR13+冲击伤组(n=8),余下6只大鼠为对照组(n=6)。观察距爆源5 m处各组大鼠24 h内生存情况。对距爆源6 m处存活24 h大鼠,采用HE染色与肺损伤病理评分比较各组大鼠肺组织损伤情况,测定大鼠动脉血气;采用比色法检测肺组织谷胱甘肽(glutathione,GSH)、丙二醛(malondialdehyde,MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)水平;通过蛋白免疫印迹法检测肺组织中剪切胱天蛋白酶-3(cleaved caspase-3)、闭合蛋白(occludin)的表达水平。**结果** RSR13预处理可增加高原环境下距爆源5 m处爆炸后即刻存活率[46.7%(冲击伤组) *vs* 93.3%(RSR13+冲击伤组),P<0.01]和爆炸后1 h存活率[46.7%(冲击伤组) *vs* 86.7%(RSR13+冲击伤组),P<0.01]。RSR13可降低高原环境下距爆源6 m处大鼠肺损伤病理评分[(13.70±0.78)(冲击伤组)*vs*(8.27±0.93)(RSR13+冲击伤组),P<0.01]。RSR13对高原环境下肺冲击伤大鼠动脉血气无明显影响(P>0.05),RSR13可增加高原距爆源6 m处大鼠肺组织GSH含量[(22.62±10.88)(冲击伤组)*vs*(40.27±12.47)(RSR13+冲击伤组)μg/g, P<0.05)、但对MDA含量与SOD活性无明显影响(P>0.05),降低肺组织cleaved caspase-3表达量(P<0.01)、增加occludin表达量(P<0.05)。**结论** RSR13对高原爆炸冲击波所致大鼠肺损伤具有显著的保护作用,这可能与其增加组织抗氧化能力,减少细胞凋亡和降低肺通气屏障通透性有关。

[**关键词**] RSR13;高原地区; 爆炸伤; 冲击波;肺损伤
[**中图法分类号**] R730.51; R730.53; R735.2 [**文献标志码**] A

Protective effect and mechanism of RSR13 on lung blast injury in rats at high altitude

HE Qingying[1], LI Yue[1], WEN Jing[1], XIANG Lunli[2], DUAN Jiaxiang[1], LIAO Xianjian[1], YI Bin[1], NING Jiaolin[1]
[1]Department of Anesthesiology, [2]Department of Nephrology, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the impact and mechanism of efaproxiral (RSR13), a hemoglobin allosteric agent, on lung injury in rats caused by explosion-induced shock waves in plateau areas. **Methods** Eighty-two healthy male SD rats (8-week-old, transferred from an altitude of 2 880 m to 4 700 m within 6 h) were randomly divided into blast injury group and RSR13+blast injury group (intraperitoneal injection of 150 mg/kg RSR13 2 h before explosion). Sixty rats were positioned at 5 m from the explosion source and divided into 5-m blast injury group (n = 30) and 5-m RSR13+blast injury group (n = 30). Additionally, 16 rats were positioned at 6 m from the explosion source and then assigned into 6-m blast injury

[**通信作者**] 甯交琳,E-mail:ningjiaolin@tmmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

group ($n=8$) and 6-m RSR13+blast injury group ($n=8$). The left 6 rats served as control ($n=6$). Survival outcomes of each rat group positioned 5 m from the explosion source were observed over a 24-hour period. HE staining was used to evaluate the pathological score of the surviving rats positioned at 6 m from the explosion source in 24 h after explosion, along with arterial blood gas analysis. The contents of glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in the lung tissues were determined by colorimetry. Western blotting was conducted to measure the expression levels of cleaved caspase-3 and occludin in the lung tissue. **Results** RSR13 pretreatment increased the survival rate immediately after explosion (93.3% *vs* 46.7%, $P<0.01$) and at 1 h after explosion (86.7% *vs* 46.7%, $P<0.01$) in plateau areas of 5 m from the explosion source. At high altitude, RSR13 pretreatment reduced the pathological score of lung injury in rats 6 m away from the explosion source (8.27±0.93 *vs* 13.70±0.78, $P<0.01$), but had no significant effect on the results of arterial blood gas analysis in rats with lung blast injury ($P>0.05$). In addition, RSR13 pretreatment also increased GSH content (40.27±12.47 *vs* 22.62±10.88 μg/g, $P<0.05$), but showed no obvious effect on MDA content and SOD activity ($P>0.05$), decreased the protein level of cleaved caspase-3 ($P<0.01$) and increased that of occludin ($P<0.05$) in the lung tissues. **Conclusion** RSR13 exerts significant protective effect on lung injury in rats caused by explosion-induced shock waves in high-altitude environment, which may be related to its increasing antioxidant capacity, reducing cell apoptosis and decreasing barrier permeability of lung ventilation.

[**Key words**] RSR13; plateau areas; blast injury; blast waves; lung injury

Corresponding author: NING Jiaolin, E-mail: ningjiaolin@tmmu.edu.cn

现代战争使用大量高能高爆武器[1-2],爆炸冲击伤明显增多,严重威胁战士的生命安全和战斗力生成[3]。我国高原地区边界线漫长,在地区和国家冲突中具有极其重要的战略防御地位,研究高原环境下冲击伤的救治措施具有迫切需求[4]。高原冲击伤是指生物体在高原环境下直接或间接受到爆炸冲击波的作用而发生的损伤。由于随海拔升高大气压逐渐降低、氧含量降低、温度降低等因素,导致机体对冲击波的耐受性下降,表现为冲击伤的伤情较平原和低海拔地区更重[5-7]。其中严重的肺损伤是引起高原爆炸伤伤员早期死亡的主要原因之一。平原肺冲击伤的救治措施主要通过吸氧、高压氧[8]、机械通气[9]、体外膜肺氧合[10]等增加肺氧合进而增加组织氧供。然而在高原特殊环境下,机体对高原环境缺氧低压环境的代偿、医疗卫勤保障资源有限导致的早期救治及后送相对困难,使得高原肺冲击伤的救治尤其困难,因此探索易于在高原环境中实施的肺冲击伤救治策略具有现实意义。

乙丙昔罗[efaproxiral(RSR13)]是一种合成血红蛋白变构剂,其主要作用为降低血红蛋白与氧的结合力,增加血红蛋白在组织中的氧释放能力,增加外周器官组织氧供,减轻缺血-缺氧相关损害,因此目前已尝试于增强肿瘤对放疗和化疗的敏感性和心脑卒中的救治[11-12]。RSR13 是否可以减轻高原肺冲击伤目前尚不清楚。本试验研究以 SD 大鼠为研究对象,在高原地区进行现场致伤,探索 RSR13 对大鼠高原冲击伤生存率和肺损伤的影响及其机制,从而为高原肺冲击伤的防治提供新思路。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

RSR13(HY-13619,美国 MedChemExpress 公司),手持式 i-STAT 动脉血气检测仪(美国雅培公司),血气生化多项测试卡片 CG4+(美国雅培公司),HE 染色试剂盒(G1120)、还原型谷胱甘肽(glutathione,GSH)含量检测试剂盒(BC1175)、丙二醛(malondialdehyde,MDA)含量检测试剂盒(BC0025)均购自北京索莱宝科技有限公司,总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase,T-SOD)测定试剂盒(A001-3-2,南京建成生物工程研究所),cleaved caspase-3 抗体(9661S,美国 CST 公司),occludin 抗体(13409-1-AP)、β-actin 抗体(66009-1-Ig)均购自武汉三鹰生物技术有限公司,辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG(H+L)(A0216)、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG(H+L)(A0208)均购自江苏碧云天有限公司。

1.2 实验动物分组及给药

8 周龄健康雄性 SD 大鼠 82 只,体质量为(200±

20)g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司。大鼠置于特制铁笼中接受爆炸致伤(图 1A),采用 8 kg 三硝基甲苯(trinitrotoluene, TNT)当量炸药爆炸致伤。按随机数字表法分为冲击伤组和 RSR13+冲击伤组,其中 60 只放置在距爆源同侧 5 m 处,分为 5 m 冲击伤组(n=30)、5 m RSR13+冲击伤组(n=30);16 只大鼠放置在距爆源同侧 6 m 处,分为 6 m 冲击伤组(n=8)、6 m RSR13+冲击伤组(n=8),如图 1B 所示;另外 6 只大鼠为对照组(n=6)。大鼠在 6 h 内由驻地(海拔 2 880 m)运送至高原(海拔 4 700 m)开展实验,其中对照组大鼠在实验现场,但不受冲击致伤。RSR13+冲击伤组大鼠于爆炸前 2 h 腹腔注射 RSR13(150 mg/kg)[13]。本研究动物实验方案经过陆军军医大学实验动物福利伦理审查委员会批准(AMUWEC20223572)。

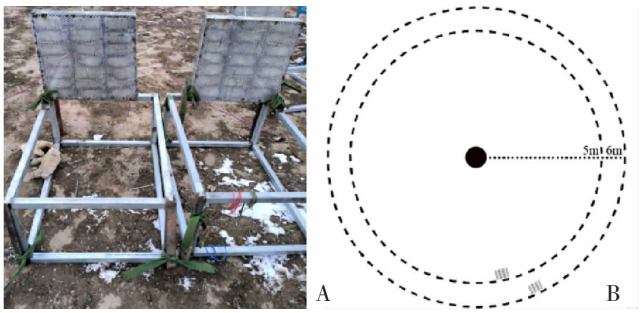


图 1 爆炸致伤大鼠特制铁笼(A)与爆源距离(B)示意图

1.3 观察指标

1.3.1 大鼠死亡率 爆炸致伤后,观察记录爆炸即刻、爆炸后 1、6、24 h 大鼠死亡情况并绘制距爆源 5 h 处大鼠生存曲线。

1.3.2 标本采集 在距爆源 6 m 处大鼠经爆炸致伤后,将存活大鼠转移至驻地(海拔 2 880 m)观察 24 h 后,采用腹腔注射丙泊酚(50 mg/kg)与 5%水合氯醛(5 mL/kg)麻醉后,收集其血液和肺组织标本进行后续研究。

1.3.3 组织病理学观察 取大鼠肺组织置于 4%多聚甲醛进行固定,梯度乙醇脱水,二甲苯浸泡,石蜡包埋,切片,行 HE 染色,观察各组大鼠肺组织的病理变化,并对其进行病理损伤评分。肺组织病理损伤根据以下标准进行评分:肺泡和间质炎症、肺泡和间质出血、水肿、肺泡融合、肺泡间隔增厚。7 项指标的严重程度分别为:无损伤为 0 分,<25%的损伤为 1 分,25%~<50%的损伤为 2 分,50%~<75%的损伤为 3 分,≥75%的损伤为 4 分,评分为各指标的总和[14]。每个动物随机选择 5 个显微镜视野(放大倍数为 40 倍)对 7 个指标进行评分,最后病理得分为 5 个视野总分均值。

1.3.4 血气分析 自腹主动脉取新鲜抗凝全血,采用血气分析仪检测动脉血气参数:pH、二氧化碳分压(partial pressure of carbon dioxide, PCO_2)、氧分压(partial pressure of oxygen, PO_2)、碱剩余(base excess, BE)、碳酸氢根(carbonic acid hydrogen radical, HCO_3^-)、总二氧化碳(total carbon dioxide, TCO_2)氧饱和度、(blood oxygen saturation, SO_2)、乳酸(lactic acid, Lac)。

1.3.5 肺组织中 GSH、MDA、SOD 水平测定 比色法测定肺组织中 GSH、MDA、SOD 水平。

1.3.6 Western blot 检测肺组织中 cleaved caspase-3 和 occludin 蛋白表达 肺组织加入蛋白酶抑制剂、RIPA 裂解液后加入研磨珠进行研磨,冰上裂解 40 min。4 ℃离心,13 000 r/min,10 min,取上清,使用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度并调整蛋白浓度,95 ℃变性 10 min。通过 10% SDS-PAGE 凝胶电泳(80 V 20 min、130 V 60 min)后快速转膜液转印(400 mA 25 min),快速封闭液室温封闭 1 h,4 ℃摇床孵育相应一抗(β-actin 1∶5 000, cleaved caspase-3 1∶1 000, occludin 1∶5 000)过夜。室温孵育相应二抗,60 min,然后进行 ECL 发光,使用 Image J 分析条带灰度值。以β-actin 为内参蛋白,计算 cleaved caspase-3 和 occludin 的相对表达水平。

1.4 统计学处理

采用 GraphPad Prism 9.0 软件对实验数据资料进行统计学处理。Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,生存分析采用 Wilcoxon 检验。计数资料用例(%)表示,采用 Fisher 确切概率法比较各组差异。计量资料采用 Shapiro-Wilk 检验进行数据的正态性检验。若为正态分布,则以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较用单因素方差分析。若数据为非正态分布,则以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较用 Kruskal-Wallis 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RSR13 对高原冲击波致大鼠 24 h 存活率的影响

距爆源 5 m 处,冲击伤组 16 只(53.3%)大鼠即刻死亡,后续 24 h 内无新增死亡,RSR13+冲击伤组 2 只大鼠(6.7%)即刻死亡、1 h 内共死亡 4 只大鼠(13.3%)、6 h 内共死亡 12 只大鼠(40%)、24 h 内共死亡 14 只大鼠(46.7%)。组间比较 2 组 24 h 存活率异具有统计学意义($P<0.05$,图 2),其中 2 组即刻存活率差异具有统计学意义(46.7% *vs* 93.3%,$P<0.01$)、

爆炸后 1 h 存活率差异有统计学意义(46.7% *vs* 86.7%, $P<0.01$),见表 1。距爆源 6 m 处,冲击伤组(87.5%, 7/8)与 RSR13+冲击伤组(100%,8/8)存活率差异无统计学意义($P>0.05$)。

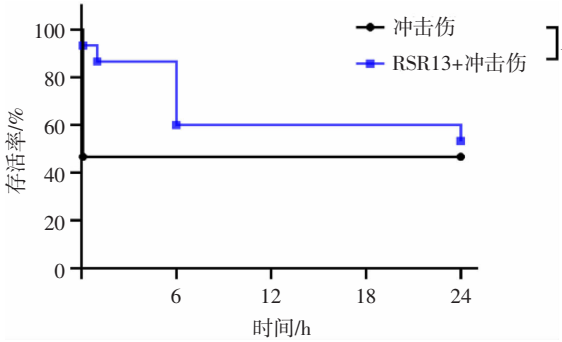


图 2　距爆源 5 m 处高原爆炸后大鼠生存曲线

表 1　距爆源 5 m 大鼠 24 h 内存活情况[例(%),$n=30$]

时间	冲击伤组	RSR13+冲击伤组
爆炸后即刻	14(46.7)	28(93.3)[a]
爆炸后 1 h	14(46.7)	26(86.7)[a]
爆炸后 6 h	14(46.7)	18(60.0)
爆炸后 24 h	14(46.7)	16(53.3)

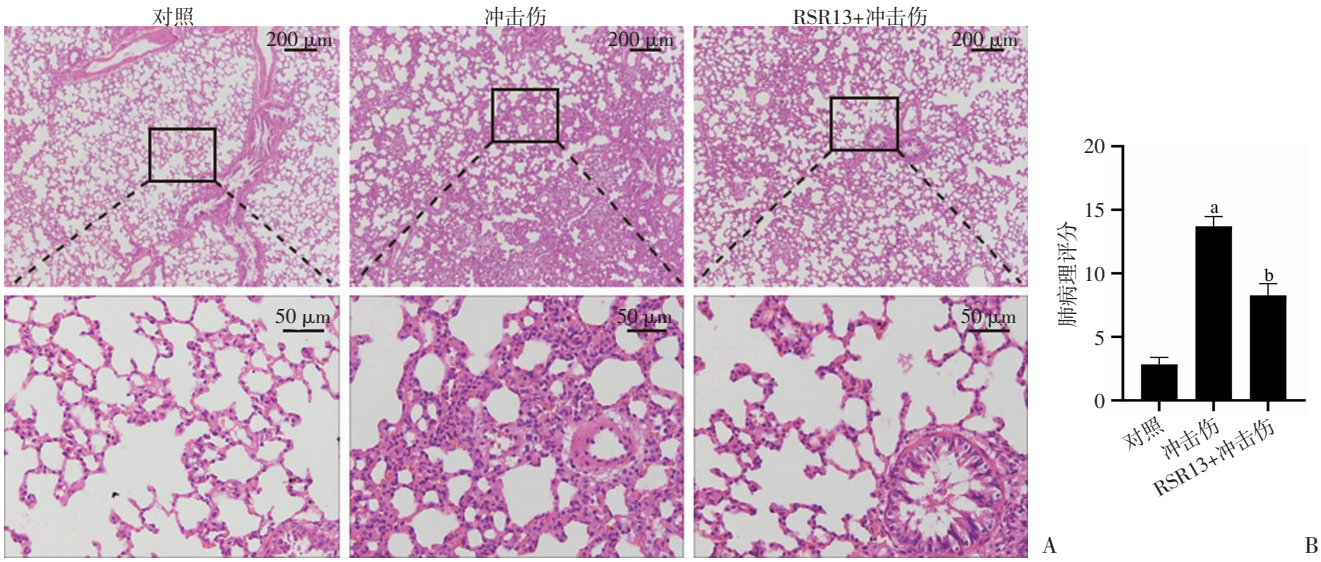
a:$P<0.01$,与冲击伤组比较

2.2　RSR13 对高原肺冲击伤大鼠肺组织病理改变的影响

距爆源 6 m 处,存活 24 h 大鼠的肺组织病理改变见图 3A。爆炸冲击波导致大鼠肺泡间隔增宽、炎症细胞浸润、出血、水肿;RSR13 预处理明显减轻肺泡腔炎症细胞浸润与肺泡间隔增宽程度。对照组、冲击伤组、RSR13+冲击伤组存活 24 h 大鼠肺病理损伤评分分别为(2.83±0.56)、(13.70±0.78)、(8.27±0.93)分(图 3B)。与对照组比较,冲击伤组肺病理损伤评分显著增加($P<0.01$);与冲击伤组比较,RSR13+冲击伤组肺病理损伤评分显著降低($P<0.01$,图 2B)。现场血气检测冲击伤组与 RSR13+冲击伤组均有 2 只大鼠没有测定结果,故 6 m 处冲击伤组和 RSR13+冲击伤组纳入统计观察数据为 6 只。

2.3　RSR13 对高原肺冲击伤大鼠血气分析的影响

距爆源 6 m 处,与对照组比较,冲击伤组和 RSR13+冲击伤组大鼠 PO_2、SO_2 下降,PCO_2 增加,但差异均无统计学意义($P>0.05$,表 2)。与冲击伤组比较,RSR13+冲击伤组大鼠动脉 pH、PCO_2、PO_2、BE、HCO_3^-、TCO_2、SO_2、Lac 无明显变化($P>0.05$,表 2)。



a:$P<0.01$,与对照组比较;b:$P<0.01$,与冲击伤组比较

图 3　距爆源 6 m 各组大鼠肺组织 HE 染色(A)及其病理评分(B)　($n=6,\bar{x}\pm s$)

表 2　距爆源 6 m 各组大鼠动脉血气情况($n=6,\bar{x}\pm s$)

组别	pH 值	PCO_2 /mmHg	PO_2 /mmHg	BE /(mmol/L)	HCO_3^- /(mmol/L)	TCO_2 /(mmol/L)	SO_2 /%	Lac /(mmol/L)
对照组	7.34±0.05	37.87±3.79	80.33±12.03	−4.83±2.71	20.48±2.33	21.67±2.42	94.50±1.64	4.38±1.97
冲击伤组	7.35±0.13	42.03±13.82	63.67±17.51	−3.50±3.78	22.15±1.71	23.33±1.86	83.67±23.96	3.81±1.86
RSR13+冲击伤组	7.31±0.05	40.37±6.86	56.50±14.68	−5.67±0.82	20.33±1.10	21.67±1.37	82.83±13.38	4.33±1.46

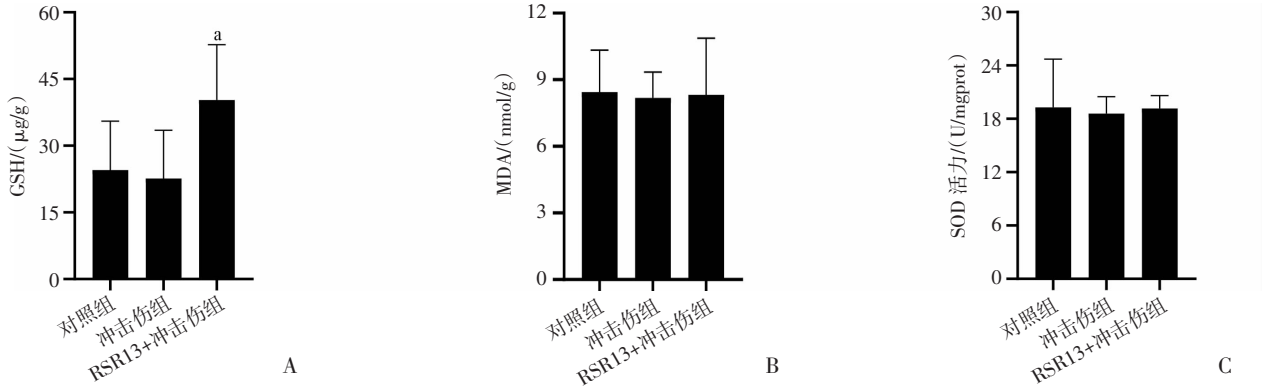
2.4 RSR13 对高原肺冲击伤大鼠肺组织 GSH、MDA、SOD 的影响

距爆源 6 m 处,RSR13+冲击伤组大鼠 GSH 显著高于冲击伤组[(22.62±10.88) *vs* (40.27±12.47) μg/g,$P<0.05$,图 4A]。对照组、冲击伤组、RSR13+冲击伤组大鼠 MDA 含量分别为(8.45±1.88)、(8.19±1.16)、(8.32±2.55) mmol/g,组间比较差异无统计学意义(图 4B)。对照组、冲击伤组、RSR13+冲击伤组大鼠 SOD 活力分别为(19.29±5.42)、(18.59±1.90)、18.33(18.22, 20.57) U/mgprot,组间比较差异无统计学意义(图 4C)。

2.5 RSR13 对高原肺冲击伤大鼠肺组织 cleaved caspase-3 和 occludin 表达的影响

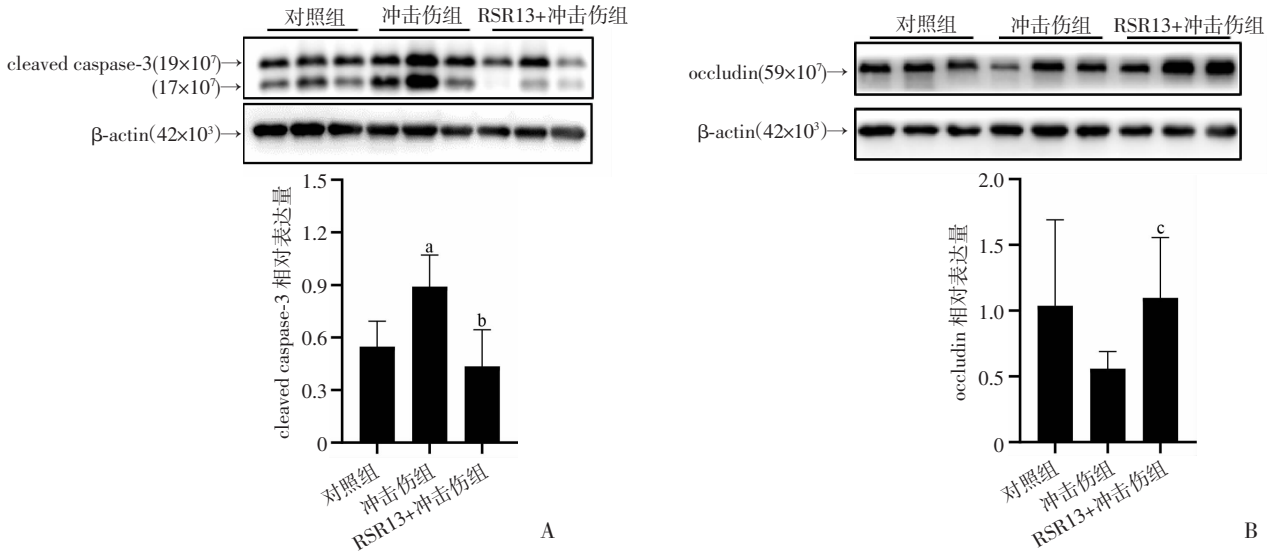
距爆源 6 m 处,冲击伤导致大鼠肺组织 cleaved caspase-3 表达升高;RSR13+冲击伤组大鼠肺组织 cleaved caspase-3 表达水平低于冲击伤组,2 组间差异具有统计学意义($P<0.01$,图 5A)。

冲击伤导致大鼠肺组织闭合蛋白 occludin 表达降低,但组间差异无统计学意义。RSR13+冲击伤组大鼠肺组织闭合蛋白 occludin 水平高于冲击伤组,组间比较差异具有统计学意义($P<0.05$,图 5B)。



a:$P<0.05$,与冲击伤组比较

图 4 距爆源 6 m 各组大鼠肺组织 GSH(A)、MDA 含量(B)、SOD 活力(C) ($n=6, \bar{x}\pm s$)



a:$P<0.01$,与对照组比较;b:$P<0.01$,与冲击伤组比较;c:$P<0.05$,与冲击伤组比较

图 5 距爆源 6 m 各组大鼠肺组织 cleaved caspase-3(A)、occludin(B)相对表达量 ($n=6, \bar{x}\pm s$)

3 讨论

本研究为高原(海拔 4 700 m)地区现场实验,采用实弹爆炸致大鼠肺损伤。本研究结果表明:①RSR13 预处理可显著降低爆炸伤后 1 h 内的死亡率;②RSR13 通过增强组织抗氧化能力、减轻肺组织细胞凋亡、改善肺血气屏障通透性缓解肺冲击伤。

肺冲击伤是爆炸伤最常见的死亡原因之一[11]。冲击波除了导致肺损伤外,还可以引起血液动力学变化。动物研究已经证实了暴露于冲击波后即刻的心动过缓、低血压和呼吸暂停三联征,此三联征相互作用可导致恶性循环,引起组织缺氧[15]。本研究发现在距爆源 5 m 处,单纯致伤组大鼠死亡均发生在爆炸伤后早期(1 h 内),24 h 内无新增死亡,因此心动过缓、低血压和呼吸暂停极有可能也是高原爆炸伤大鼠早期死亡的原因,且心动过缓、低血压和呼吸暂停均可导致组织器官氧供降低,这一作用在高原低氧低压条件下尤为明显。WEISS 等[12]与 WASTON 等[13]发现使用 RSR13 预处理可通过增加血红蛋白在组织中释放氧气进而减轻脑和心肌缺血再灌注损伤。本研究发现 RSR13 预处理能显著增加高原爆炸伤大鼠即刻和 1 h 存活率,增加爆炸伤后 6 h 和 24 h 存活率,而不增加动脉血氧含量,提示增加爆炸伤后存活率与 RSR13 降低氧结合力、增加组织氧供,进而缓解冲击波后三联征(心动过缓、低血压和呼吸暂停)导致重要脏器缺氧密切相关。

RSR13 降低血红蛋白与氧的结合力[16],一方面增加组织中血红蛋白释放氧气的能力,另一方面则有可能降低肺组织血红蛋白的氧合,其对机体的作用取决于增加组织氧释放和减少肺组织氧合的净效益。血红蛋白氧解离曲线受环境氧分压影响,理论上来讲,大气氧分压的降低尚未显著降低血红蛋白氧饱和度时,降低血红蛋白氧结合力越多,血红蛋白在组织释放氧能力越强,对高原缺氧引起的外周组织缺氧损伤更有利[17-18]。本研究发现 RSR13 预处理在一定程度上降低了肺组织氧合,表现为动脉氧分压有所降低[(63.67±17.51) *vs* (56.50±14.68) mmHg],说明 RSR13 降低高原爆炸伤后早期死亡率与增加血红蛋白在组织中释放氧有关,但会一定程度上影响肺组织氧合。

氧化应激是活性氧过表达导致的氧化损伤,在冲击波所致的急性肺损伤中发挥关键作用。积累过量的活性氧会消耗内源性抗氧化剂,破坏体内防御系统,引起脂质过氧化、细胞死亡以及组织损伤。GSH、MDA、SOD 是反映肺组织氧化应激水平的重要指标。本研究发现 RSR13 预处理可增加爆炸伤大鼠 GSH 水平,而对 MDA 含量和 SOD 活力无明显影响。GSH 是一种主要在肝脏合成的三肽,是主要的内源性抗氧化剂,清除具有强氧化性的过氧化氢,拮抗氧化剂对细胞中含硫基酶的破坏,阻止脂质过氧化反应的发生,可以与过氧化物及自由基结合,减轻体内的氧化应激;另外 GPX4 抑制铁死亡依赖于 GSH 的存在[19]。SOD 是生物体内存在的一种抗氧化金属酶,它能够催化超氧阴离子自由基歧化生成氧和过氧化氢,在机体氧化与抗氧化平衡中起到至关重要的作用,与很多疾病,包括肺冲击伤继发损害的发生发展密不可分[20]。MDA 是膜脂质发生过氧化反应的产物,过量积累会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合,导致细胞膜的结构和功能发生改变;MDA 含量直接反映细胞质膜过氧化水平。由此可见 RSR13 主要通过增加肺组织 GSH 含量,减轻冲击波导致的继发肺损伤,其具体调控机制有待研究予以阐明。

肺泡毛细血管通透性由细胞间连接决定,包括紧密连接、间隙连接和粘附连接[21]。作为毛细血管-肺泡结构的关键组成部分之一,紧密连接对于维持上皮屏障的完整性至关重要。最早发现的紧密连接蛋白之一是 occludin,它已被证明是紧密连接结构和功能所必需的整合蛋白[22]。CONG 等[23]发现,冲击波可导致肺组织 occludin 表达下降。RSR13 是降脂药物苯扎贝特结构类似物,既往研究表明苯扎贝特可显著上调小鼠小肠组织 occludin 表达[24]。本研究发现使用 RSR13 预处理可以改善由冲击波致伤引起的 occludin 表达降低,说明 RSR13 预处理对爆炸冲击波导致的气体交换屏障功能损害有保护作用。

细胞凋亡是生物体内由基因控制的自主程序性死亡。Caspase 是一组天门冬氨酸特异性的半胱氨酸蛋白酶,其活化是最主要的细胞凋亡途径,其中 caspase-3 是各条凋亡通路的重要枢纽[25]。本研究发现爆炸冲击波致伤后 24 h 后肺组织 caspase-3 的活化形式——cleaved caspase-3 表达增加,提示细胞凋亡增加,RSR13 预处理能明显减少肺组织 cleaved caspase-3 表达,说明 RSR13 预处理可以减少冲击波导致的肺组织细胞凋亡从而减轻肺损伤,这可能是由于 RSR13 增加组织氧供,从而使部分本会因缺氧而凋亡的细胞免于凋亡,其具体调控机制有待研究予以阐明。

综上所述,RSR13 可通过增强肺组织抗氧化能力、缓解肺组织细胞凋亡、维护肺通气血流屏障功能,缓解高原肺冲击伤、降低早期死亡率,为高原爆炸伤伤员的救治和后送赢得时间。

参考文献:

[1] MACGREGOR A J, ZOURIS J M, WATROUS J R, *et al*. Multimorbidity and quality of life after blast-related injury among US military personnel: a cluster analysis of retrospective data[J]. BMC Public Health, 2020, 20(1): 578. DOI: 10.1186/s12889-020-08696-4.

[2] KAZMIRCHUK A, YARMOLIUK Y, LURIN I, *et al*. Ukraine's experience with management of combat casualties using NATO's four-tier "changing as needed" healthcare system[J]. World J Surg, 2022, 46(12): 2858-2862. DOI: 10.1007/s00268-022-06718-3.

[3] 胡方超, 柴家科, 曲毅睿, 等. 乌司他丁对原发性冲击伤小鼠早期肺损伤治疗作用的研究[J]. 解放军医学院学报, 2023, 44(9): 1010-1017. DOI: 10.12435/j.issn.2095-5227.2023.010.
HU F C, CHAI J K, QU Y R, *et al*. Therapeutical effect of ulinastatin on early lung injury in mice with primary blast injury[J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2023, 44(9): 1010-1017. DOI: 10.12435/j.issn.2095-5227.2023.010.

[4] 王正国. 野战外科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
WANG Z G. Field surgery[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2010.

[5] 王峰, 杨志焕, 朱佩芳, 等. 高原冲击伤伤情特点的实验研究[J]. 创伤外科杂志, 2008, 10(6): 549-551. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4237.2008.06.026.
WANG F, YANG Z H, ZHU P F, *et al*. Experimental study on characteristics of blast injury at high altitude[J]. J Trauma Surg, 2008, 10(6): 549-551. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4237.2008.06.026.

[6] 杨志焕. 高原战创伤的特点及其救治[J]. 创伤外科杂志, 2006, 8(4): 289-292. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4237.2006.04.001.
YANG Z H. Characteristics and treatment of war wound and trauma at high altituderegion[J]. J Trauma Surg, 2006, 8(4): 289-292. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4237.2006.04.001.

[7] 陈雪梅, 崔欢欢, 郭丽琼, 等. 高原肺冲击伤特点及救治研究进展[J]. 中华灾害救援医学, 2022, 10(1): 26-29. DOI: 10.13919/j.issn.2095-6274.2022.01.006.
CHEN X M, CUI H H, GUO L Q, *et al*. Research progress on the characteristics and treatment of lung injury caused by high altitude blast[J]. Chin J Disaster Med, 2022, 10(1): 26-29. DOI: 10.13919/j.issn.2095-6274.2022.01.006.

[8] 邓志龙, 杨志焕, 李晓炎, 等. 高压氧、山莨菪碱和地塞米松对高原冲击伤大鼠的治疗作用[J]. 创伤外科杂志, 2012, 14(2): 165-168. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4237.2012.02.022.
DENG Z L, YANG Z H, LI X Y, *et al*. Therapeutic effects of hyperbaric oxygen, anisodaminum and dexamethasome on blast injury in rats exposed to high altitude[J]. J Trauma Surg, 2012, 14(2): 165-168. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4237.2012.02.022.

[9] 单佑安, 蒋建新, 杨志焕, 等. 大剂量地塞米松对犬严重肺冲击伤的治疗作用[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(11): 935-937. DOI: 10.3321/j.issn: 1000-5404.2003.11.001.
SHAN Y A, JIANG J X, YANG Z H, *et al*. Effect of high-dose dexamethasone on canine severe lung blast injury[J]. J Third Mil Med Univ, 2003, 25(11): 935-937. DOI: 10.3321/j.issn: 1000-5404.2003.11.001.

[10] 易云峰. 确立重度肺爆震伤救治中体外膜肺氧合的地位[J]. 创伤外科杂志, 2019, 21(7): 558-561. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4237.2019.07.018.
YI Y F. Establishing the role of extracorporeal membrane oxygenation in the treatment of severe pulmonary blastinjury[J]. J Trauma Surg, 2019, 21(7): 558-561. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4237.2019.07.018.

[11] HAMELE M, POSS W B, SWENEY J. Disaster preparedness, pediatric considerations in primary blast injury, chemical, and biological terrorism[J]. World J Crit Care Med, 2014, 3(1): 15-23. DOI: 10.5492/wjccm.v3.i1.15.

[12] WEISS R G, MEJIA M A, KASS D A, *et al*. Preservation of canine myocardial high-energy phosphates during low-flow ischemia with modification of hemoglobin-oxygen affinity[J]. J Clin Invest, 1999, 103(5): 739-746. DOI: 10.1172/JCI6030.

[13] WATSON J C, DOPPENBERG E M, BULLOCK M R, *et al*. Effects of the allosteric modification of hemoglobin on brain oxygen and infarct size in a feline model of stroke[J]. Stroke, 1997, 28(8): 1624-1630. DOI: 10.1161/01.str.28.8.1624.

[14] MENG X Y, LU Q Y, ZHANG J F, *et al*. A novel animal model of primary blast lung injury and its pathological changes in mice[J]. J Trauma Acute Care Surg, 2022, 93(4): 530-537. DOI: 10.1097/TA.0000000000003571.

[15] GUY R J, KIRKMAN E, WATKINS P E, *et al*. Physiologic responses to primary blast[J]. J Trauma, 1998, 45(6): 983-987. DOI: 10.1097/00005373-199812000-00001.

[16] HOOFD L, BOS C. Extraction pressures calculated for rat heart and dog skeletal muscle and application in models of tissue oxygenation[J]. Adv Exp Med Biol, 1997, 428: 679-685. DOI: 10.1007/978-1-4615-5399-1_95.

[17] BALABAN D Y, DUFFIN J, PREISS D, *et al*. The *in-vivo* oxyhaemoglobin dissociation curve at sea level and high altitude[J]. Respir Physiol Neurobiol, 2013, 186(1): 45-52. DOI: 10.1016/j.resp.2012.12.011.

[18] LIARD J F, KUNERT M P. Hemodynamic changes induced by low blood oxygen affinity in dogs[J]. Am J Physiol, 1993, 264(2 Pt 2): R396-R401. DOI: 10.1152/ajpregu.1993.264.2.R396.

[19] HAN Y M, YOON H, LIM S, *et al*. Risk factors for vitamin D, zinc, and selenium deficiencies in Korean patients with inflammatory bowel disease[J]. Gut Liver, 2017, 11(3): 363-369. DOI: 10.5009/gnl16333.

[20] QIU X C, LI H Y, TANG H T, *et al*. Hydrogen inhalation ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice[J]. Int Immunopharmacol, 2011, 11(12): 2130-2137. DOI: 10.1016/j.intimp.2011.09.007.

[21] YANG J, WANG Y, LIU H, *et al*. C2-ceramide influences alveolar epithelial barrier function by downregulating Zo-1, occludin and claudin-4 expression[J]. Toxicol Mech Methods, 2017, 27(4): 293-297. DOI: 10.1080/15376516.2017.1278812.

[22] FURUSE M, HIRASE T, ITOH M, *et al*. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions[J]. J Cell Biol, 1993, 123(6 Pt 2): 1777-1788. DOI: 10.1083/jcb.123.6.1777.

[23] CONG P F, TONG C C, MAO S, *et al*. DDAH1 promotes lung endothelial barrier repair by decreasing leukocyte transendothelial migration and oxidative stress in explosion-induced lung injury[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 8407635. DOI: 10.1155/2022/8407635.

[24] LIU B H, ZHANG J, SUN P, *et al*. Raw bowl tea (Tuocha) polyphenol prevention of nonalcoholic fatty liver disease by regulating intestinal function in mice[J]. Biomolecules, 2019, 9(9): 435. DOI: 10.3390/biom9090435.

[25] LOSSI L, CASTAGNA C, MERIGHI A. Caspase-3 mediated cell death in the normal development of the mammalian cerebellum[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(12): 3999. DOI: 10.3390/ijms19123999.

(收稿:2024-04-18;修回:2024-06-27)

(编辑 李 玥)