DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.07.021
第25卷第7期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 7
2003年4月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Apr. 2003

文章编号:1000-5404(2003)07-0611-03

论著

弹烧复合伤后海水浸泡对血管内皮细胞影响的实验研究

闫 红[1],赖西南[2],葛衡江[1] (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所:[1]麻醉科;[2]第六研究室,重庆 400042)

提 要:目的 探讨弹烧复合伤合并海水浸泡对血管内皮细胞损伤的原因和机制,为海水浸泡早期救治提供一定的理论依据。方法 建立弹烧复合伤的犬实验模型,致伤后将犬随机分为非浸泡组和浸泡组,将浸泡组犬在海水中浸泡4 h后捞出,然后于伤后4、7、10、20、28 h分别取血检测循环内皮细胞(CEC)以及血管性假血友病因子(vWF)的变化。非浸泡组除不浸泡海水外,余检测时相及指标同浸泡组。结果 非浸泡组于致伤后4 h和7 h CEC、vWF升高($P<0.05$),而浸泡组于伤后4、7、10、20、28 h CEC和vWF均持续增高($P<0.05$, $P<0.01$)。组间比较:CEC从伤后4 h至伤后28 h,浸泡组与非浸泡组相比有显著差异($P<0.05$, $P<0.01$),vWF于伤后7 h至伤后28 h浸泡组与非浸泡组相比有显著差异($P<0.05$, $P<0.01$)。结论 弹烧复合伤合并海水浸泡伤后可引起全身EC急性损伤,并且这种损伤比单纯弹烧复合伤(不浸泡)更严重,更持久。

关键词:海水浸泡;弹烧复合伤;犬;内皮细胞
中图法分类号:R322.12;R644;R826.5 文献标识码:A

An experimental investigation of the effect of seawater immersion on endothelial cells in dogs sustained by burn-firearm combined injury

YAN Hong, LAI Xi-nan, GE Heng-jiang (Research Institute of Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To study the influence and mechanism of seawater immersion on endothelial cell injury sustained by burn-firearm combined injury to improve the early therapeutic efficacy. Methods The dogs with burn-firearm combined injury were randomly divided into two groups: immersion group and control group. In immersion group, the dogs were immersed in seawater for 4 hours, then taken out from seawater. Blood samples were collected from central vein at 4 h, 7 h, 10 h, 20 h and 28 h following wound for the detection of changes of the circulating endothelial cells (CEC) and von Willebrand Factor (vWF). The same procedures except immersion were performed in the control group. Results The levels of CEC and vWF elevated at 4 h and 7 h following wound in control group ($P<0.05$), but the levels of CEC and vWF significantly elevated at 4 h, 7 h, 10 h, 20 h and 28 h in immersion group ($P<0.05$ or $P<0.01$). There was significant difference between the immersion group and the control group ($P<0.05$ or $P<0.01$). Conclusion Seawater immersion after burn-firearm combined injury can cause extensive acute damage to endothelial cells. The damage of immersion and burn-firearm combined injury is more severe and longer than that of simple burn-firearm combined injury.

Key words: burn-firearm combined injury; seawater immersion; dog; endothelial cells

陆地战争条件下单纯型或复合型烧伤和弹片伤救治的实验及临床研究已有大量报道,但在海域战争条件下同样的创伤救治的实验研究尚为空白。本实验通过建立海水浸泡弹烧复合伤动物模型,并对其在海水浸泡这一特殊病理生理状态下内皮细胞(Endothelial cell, EC)损伤的变化进行动态观察,以探讨其形成的原因和机制,为伤员的早期救治提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物和分组

健康成年杂种犬20只,体质量12~15 kg,雌雄不拘。将实验犬随机分为浸泡组和非浸泡组两组,各10只犬。浸泡组:致伤后置入海水(盐度25.3,水温21~23 ℃,pH 8.1)中浸泡(使其

基金项目:全军"十五"医学科研指令性课题(01L011)
作者简介:闫 红(1969-),女,重庆市人,硕士研究生,主治医师,讲师,主要从事凝血-纤溶方面的研究。电话:(023)68757347
收稿日期:2002-09-01;修回日期:2002-12-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

头颈、双前肢露于水面),4 h 后捞出置入环境温度为25 ℃的室内进一步观察。非浸泡组:致伤方法及程度同浸泡组,致伤后同样放置于温度为 25 ℃的室内。

1.2 动物模型制作

1.2.1 动物致伤前准备 实验犬3%戊巴比妥钠 30 mg/kg 静脉注射,背部 10% 区域剪毛,15%硫化钠脱毛剂脱毛。分离右颈外静脉后插入 5F 的 Swan-Ganz 漂浮导管(美国 Arrow International),并接压力传感器(Edwards Lifesciences LLC)测定各项血流动力学指标;经右颈动脉插入动脉导管以监测平均动脉压以及应用 I-STAT 血气分析仪(Abbott laboratories Inc.)测定血气等。

1.2.2 弹烧复合伤模型制备 Ⅱ度烧伤:按每 20 cm^2 1 ml 凝固汽油涂于背部 10%区域,点燃烧伤 10 s 后湿巾灭火(经病理证实),燃烧要求完整均匀。弹片伤:使犬仰卧,将其后肢垂直悬吊于固定架,采用 53 式滑膛枪发射药量为 0.65 g,钢珠重量 1.03 g,直径 6.35 mm,致犬右后肢切线伤,并避开股骨、大血管及神经,伤口面积为(15.68±4.96) cm^2。弹片速度为(867±19.2) m/s,射距为 2 m,能量吸收为(387.1±0.2) J。

1.3 测试指标

经Swan-ganz 漂浮导管分别于伤前、浸泡出水后即刻(相当于非浸泡组伤后4 h)、出水后3 h(相当于非浸泡组伤后7 h)、出水后6 h(相当于非浸泡组伤后 10 h)、出水后16 h(相当于非浸泡组伤后20 h)、出水后24 h(相当于非浸泡组伤后28 h)等6 个时相点采集静脉血(注:为便于对照比较,后文中浸泡组各时相点均以伤后时间表述)。分别测定以下指标:①浸泡出水后死亡率;②血循环内皮细胞(CEC)计数;③血管性假血友病因子(vWF)。

1.4 统计学方法

所有计量资料采用SPSS10.0统计软件处理,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验。

2 结果

2.1 浸泡出水后死亡率

单纯弹烧复合伤(非浸泡组)伤后 4 h 死亡率为 0。弹烧复合伤合并海水浸泡(浸泡组)伤后 4 h 死亡率为 9.9%。

2.2 循环内皮细胞(CEC)的变化

2.2.1 组内比较 非浸泡组致伤后 4、7、10 h CEC 明显增加,与伤前相比均有显著性差异($P<0.05$)。浸泡组出海水后 CEC 持续增加,于伤后 4、7 h 与伤前比有显著性差异($P<0.05$),于伤后 10、20、28 h 与伤前比有非常显著性差异($P<0.01$)。

2.2.2 组间比较 浸泡组与非浸泡组于伤后4、7 h 相比有显著差异($P<0.05$),于伤后 10、20、28 h 相比有非常显著性差异($P<0.01$),见表1。

表1 伤后循环内皮细胞的变化(cells/0.9 μl,$\bar{x}\pm s$)

Tab 1 The change of circulating endothelial cells after wound (cells/0.9 μl, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	Before wound	After wound				
			4 h	7 h	10 h	20 h	28 h
Control	10	0.54±0.17	0.75±0.11 *	0.88±0.15 *	0.92±0.20 *	0.67±0.25	0.63±0.12
Immersion	10	0.53±0.11	0.92±0.12 *#	1.14±0.21 *#	1.43±0.34 *#	2.00±0.14 **##	2.08±0.21 **##

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* Before wound; #: $P<0.05$, ##: $P<0.01$ *vs* Control group

2.3 血管性假血友病因子(vWF)的变化

2.3.1 组内比较 非浸泡组致伤后4、7、10 h vWF 明显增加,与伤前相比有显著性差异($P<0.05$);浸泡组于伤后 4 h 与伤前比有显著性差异($P<0.05$),于伤后 7、10、20、28 h 与伤前比均有非常显著性差异($P<0.01$)。

2.3.2 组间比较 浸泡组与非浸泡组于伤后 7、10 h 相比有显著性差异($P<0.05$),于伤后 20、28 h 相比有非常显著性差异($P<0.01$),见表2。

表2 伤后血管性假血友病因子(vWF)的变化(%,$\bar{x}\pm s$)

Tab 2 The change of Von Willebrand Factor after wound(%, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	Before wound	After wound				
			4 h	7 h	10 h	20 h	28 h
Control	10	93.87±13.01	128.22±22.33 *	128.12±29.52 *	127.73±25.30 *	122.55±11.45	119.95±18.32
Immersion	10	100.78±26.78	138.91±16.37 *	173.65±15.78 **#	174.33±20.4 **#	185.78±8.99 **##	189.79±9.97 **##

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* Before wound; #: $P<0.05$, ##: $P<0.01$ *vs* Control group

3 讨论

由于海上作战战场环境特殊,伤员获得早期外科处理的时间明显延长,如果伤员伤情太重,浸泡于海中存活不到 3~4 h 就会死亡,这也就失去了本实验研究的意义,因此,我们选择犬后肢弹片伤合并Ⅱ度烧伤(10%面积)为实验模型。本实验结果显示:弹烧复合伤合并海水浸泡于伤后 4 h 犬死亡率为 9.9%,提示弹烧复合伤合并海水浸泡的动物模型制作成功。

在弹烧复合伤合并海水浸泡过程中,各种损伤 EC 的因素都有可能存在,可分为两大部分:即原发伤弹烧复合伤导致的 EC 损伤,以及弹烧复合伤后海水浸泡

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

对 EC 损伤的加重效应。

弹烧复合伤导致的 EC 损伤: 烧伤引起血管损伤的因素有: ①机械因素, 烧伤后由于组织受热力的作用, 使得血管壁的结构发生变化, 致血管内皮细胞损伤[1]。②感染因素; ③代谢产物和免疫因素、微生物、异性蛋白等能直接损伤内皮细胞, 使得血管内壁表面粗糙, 有利于血栓形成。弹片伤时, 投射物能量主要以撕裂、瞬时空腔以及冲击波的形式急剧传递于致伤组织[2]。以前的研究已表明, 高速投射物伤包括弹片伤对内皮细胞有直接和间接形态学上的损害[3,4], 并且证实弹片伤后循环内皮细胞增多和血浆内皮素升高是内皮细胞受损的标志[5]。此外弹片伤的初期感染是不可避免的, 侵入细菌或污物在伤道组织内增殖, 白细胞在骨骼肌组织内扣压和激活, 释放内毒素、TNF 以及其它细胞因子, 间接造成对内皮细胞的损害[6], 加重组织的继发损伤。由于分离技术的改进, 人们认为 CEC 的检测是目前在活体惟一可以连续而直接反映血管 EC 损伤的指示物, 血浆 vWF 水平增高能反映血管 EC 损伤的程度, 本实验结果也表明: 弹烧复合伤后 CEC 和 vWF 与伤前比均明显增高($P<0.05$), 提示弹烧复合伤可致内皮细胞急性损伤。

弹烧复合伤后海水浸泡对 EC 损伤的加重效应: 针对海水高渗、碱性、低温和有菌的特点, 战伤合并海水浸泡出水后, 海水沿血馆破裂处进入, 使动脉壁处于局部高渗环境中, 管壁组织细胞内的水份不断弥散到细胞间隙中, 细胞内脱水, 细胞内溶质浓度和渗透压也相应增高[7]。细胞内外的高渗状态可能从内、外两侧损伤细胞膜, 使膜表面蛋白质表面的水分脱失, 蛋白质变性; 同时碱性、低温环境也有可能导致膜表面酶的活性下降或丧失, 从而造成细胞膜通透性增高, 大量金属离子和水分进入胞内, 最终引起细胞肿胀, 内皮细胞表现为细胞间规则纵行的皱裂变浅, 并且紊乱[8]。其次, 组织损伤后, 促使海水中的细菌侵入、增殖和炎细胞在损伤组织浸润、激活, 炎症递质的循环浓度增加, 这些炎症介质的最初靶细胞是血管内皮细胞。此外, 已有实验报道, 海水浸泡可导致严重的代谢性酸中毒[9]。酸中毒的代谢产物, 如酮体、乳酸等, 对内皮细胞有损伤作用。由于上述多种因素的综合作用, 在原发伤基础上海水浸泡对内皮细胞损伤有加重和持续效应。

在弹烧复合伤合并海水浸泡的过程中, 其对 EC 的损伤是多因素参与的连锁的过程。当最初的原发伤介导的 EC 损伤消退时, 伴随着内毒素、低温、高渗和碱性等因素作用, 引起一个更长期的 EC 损伤, 导致破坏性结果。因此, 在大多数情况下, 本实验可观察到: 弹烧复合伤所导致的 EC 损伤如不合并海水浸泡, 这一过程应在伤后 10~20 h 结束, 而合并海水浸泡出水后, 机体可由于海水浸泡所启动的上述直接性或继发性损伤因素, 将会加重和继续损伤 EC, 并且随时间延长, 在本实验的最长观察范围内即伤后 28 h, 对 EC 的损伤呈进行性加重。以上提示弹烧复合伤后海水浸泡所致的血管 EC 损伤程度比单纯弹烧复合伤更重, 更持久。

因此, 对于弹烧复合伤合并海水浸泡者, EC 的损伤随时间延长呈加重趋势, 血栓以及 DIC 形成的危险大, 我们应着重改善微循环, 抑制高凝状态, 不能因其有一开放性创面而盲目加用止血药, 并且在脱离海水后除采取一般复苏措施以外, 应在浸泡出水后尽早加用抗生素。

参考文献:

[1] 徐宜宜, 陈茂华, 罗珠儿. 烧伤病人血浆因子 VIII 相关抗原检测的临床意义[J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1992, 8(4): 242.

[2] Charters A C, Thomas R N. Wounding mechanism of high velocity projectiles[J]. J Trauma, 1977, 16(3): 464.

[3] Lai X N, Liu Y Q. The hydrodynamic injury to the endothelial cells produced by high velocity projectile wound[J]. Chin J Trauma, 1994, 10(2): 129

[4] Meallor S G. Modern war wounds[A]. In: Mason J K. The Pathology of Tranma[M]. 2nd. ed. Great Britain: Hodder and stoughton, 1993. 86.

[5] Lai X, Liu Y, Wang J, *et al*. Injury to vascular endothelial cells and the change of plasma endothelin level in dogs with gunshot wounds[J]. J Trauma, 1996, 40(3 Suppl): S60—62

[6] Mcever R P, Moore K L, Cummings R D. Leukocyte trafficking mediated by selectin-carbohydrate interactions[J]. J Biol Chem, 1995, 270(19): 11025—11028.

[7] Doronin Iu G, Grigor'ev V V. Light optical and electron microscopic changes in striated muscle tissue under the effects of sea water and thymogen in experimental animals[J]. Biull Eksp Biol Med, 1992, 113(1): 94—96.

[8] 赖西南, 黄　宏, 吴国萍, 等. 海水浸泡火器伤失活肌组织的外科判定标准[J]. 中华航海医学杂志, 2000, 3(1): 35.

[9] 姜忠华, 范　静, 冯增文, 等. 低温海水淹溺死大鼠血气与酸碱失调的研究[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2001, 3(1): 30—33

(编辑　陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net