DOI:10.16016/j.1000-5404.1999.06.003

肺冲击伤对大鼠学习、记忆能力的影响及其机制*

蒋建新** Ibolja Cernak 王正国 廖维宏 徐 红 刘大维 石 林 李晓炎 王克万 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第四研究室) 重庆,400042

提 要 目的:探讨胸部局部冲击伤后大鼠神经行为功能改变,及肺冲击伤对中枢神经系统的影响。方法:致伤前,动物均在一计算机控制的双向穿梭箱内连续训练6 d,每天连续训练20次,以获得主动回避反射(AAR)。在最后2 d的训练中,AAR≥80%的大鼠被选用于冲击伤实验。采用BST-Ⅱ生物激波管致大鼠单纯肺冲击伤。脑组织内 NO_2^-/NO_3^-、cGMP含量分别采用比色测定试剂盒和酶免疫测定试剂盒进行测定。结果:①肺冲击伤后,大鼠AAR和ER明显下降,主动回避反应潜伏期(AARL)明显延长。②肺冲击伤后3、24 h和5 d,海马和脑干组织内 NO_2^-/NO_3^-、cGMP含量明显升高。③海马和脑干组织内 NO_2^-/NO_3^- 水平变化分别与肺冲击伤伤情、AAR、ER和AARL值呈显著相关性。结论:单纯肺冲击伤可引起远隔器官-中枢神经系统功能损害,其机制可能与海马和脑干组织内NO释放增多有关。

关键词 肺冲击伤;神经创伤

中图法分类号 R338.64;R642

肺脏是冲击波作用的主要靶器官,因而肺损伤往往是决定冲击伤伤情发展、转归及预后的主要因素[1]。临床观察发现[2],冲击伤伤员也常常出现意识障碍、昏睡、眩晕、头痛、近事遗忘等症状。这种中枢神经系统损害是否为肺冲击伤的继发性改变,迄今尚未得到阐明。

近年研究表明[3~5],一氧化氮(nitric oxide,NO)在神经、免疫、心血管等多个系统中具有广泛而复杂的生理与病理作用。然而,关于冲击伤时脑组织内NO的变化及其与神经行为功能改变的关系,迄今尚未见文献报道。本研究采用我室自行设计的BST-Ⅲ型生物激波管,以主动回避反应(Active avoidance response,AAR)作为学习和记忆的指标,探讨了单纯肺冲击伤后神经行为功能改变、海马和脑干组织内NO的变化及其相互关系,为阐明肺冲击伤对中枢神经系统功能的影响及其机制提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

研究选用雄性Wistar大鼠20只,体重220~270 g。致伤前,所有动物均进行AAR训练。实验选用经训练后AAR≥80%的动物。随机将动物分为冲击伤后3 h(n=6)、24 h(n=8)和5 d(n=6)3组。

1.2 胸部局部冲击伤模型

用BST-Ⅱ型生物激波管致伤。氯胺酮肌注麻醉(35 mg/kg)后,将大鼠侧放入盒内(铺有海绵),使激波管口正对着右侧胸部中央,同时用一铁板保护身体其它部位。管口距离胸部6.25 cm,入射超压峰值为440 kPa,正压作用时间为50 ms。

1.3 AAR训练

采用自行设计、计算机控制的光信号刺激的双向穿梭箱(Two-way shuttle box),大小为48 cm×22 cm×22.5 cm,两室之间有拱形小门相通。箱底由铜棒组成,可通交流电(5 mA,持续5 s)产生足电震(foot shock)。两室内各装一小灯泡,以灯光作为条件刺激,建立条件性穿梭反应,即AAR。其方法是:先让大鼠在箱内适应环境5 min,然后呈现灯光(为条件刺激,约40 lux,持续5 s),如果大鼠在灯亮后不逃至暗室,5 s后则自动给予电击(为非条件刺激,5 mA,持续5 s),使大鼠学会见到灯光即跑到暗室的条件反应。若动物见灯亮后自行跑到暗室则为AAR,所需时间为主动回避反应潜伏期(Active avoidance response latency,AARL),若动物见灯亮后仍需电刺激才跑到暗室则为逃避反应(Escape response,ER),所需时间为逃避反应潜伏期(Escape response latency,ERL)。依此方法动物每天连续训练20次,每次间隔为30 s,连续训练6 d,以AAR次数占训练次数的百分比即为AAR习得率(Acquisition),反映其学习能力。然后选取最后2 d内习得率均≥80%的动物用于冲击伤实验。分别在冲击伤后3、24 h和5 d,再测试动物AAR,检测其记忆保持能力。以上实验均在避光和安静的环境中进行。

1.4 冲击伤伤情评估

对冲击伤伤情同时进行定性和定量评估。伤情的定性评估标准为:无伤;轻伤:出血点呈点状或散在性分布,出血总面积小于全肺面积的10%;中度:较多的点状出血,有片状出血,出血总面积<全肺面积的50%;重度:较多片状出血,偶见大片出血,出血总面积约为50%的全肺表面积,肺切面有泡沫状水肿液溢出;极重度:较多大片状出血,甚至肺实变,出血面积大于50%肺表面积,气管中有较多的血性泡沫液。

冲击伤伤情的定量评估采用Yelverton记分法[6]。

1.5 亚硝酸盐/硝酸盐(NO_2^-/NO_3^-)含量测定

分别在冲击伤后3、24 h和5 d,断头活杀动物,取海马和脑

* 全军"九五"指令性课题,No. 96L040

** 蒋建新,男,36岁,研究员,博士

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

干组织，置液氮速冻，－70℃ 保存。脑组织于磷酸盐缓冲液(pH 7.4，1∶10，g/v)中匀浆，匀浆液置高速冷冻离心机中离心，10 000×g，10 min，随后超高速离心，100 000×g，15 min。应用 0.45 μm 滤器过滤，随后采用 10 kDa 分子量的滤器进行超滤。采用 NO 比色测定试剂盒(Cayman Chemical Company，USA)进行测定。

1.6　cGMP 测定

将脑组织置磷酸缓冲液(0.05 mmol/L，pH7.4)-10%三氯乙酸中(1∶10，g/ml)匀浆，1 500×g 离心 10 min，取上清，上清液经乙醚反复抽提 3 次(5 份体积乙醚∶1 份体积样本)以去除三氯乙酸，然后 70℃，加热 5 min，去除样本中剩余的乙醚。采用酶免疫测定试剂盒测定 cGMP。

1.7　蛋白质测定

组织标本蛋白质含量测定采用 Bradford 法[7]。

1.8　统计学分析

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。选用软件 Staticica 5.0 进行 t 检验和相关分析。

2　结果

2.1　冲击伤伤情

大体解剖结果显示，胸部局部暴露冲击波后，绝大多数动物肺脏呈较多的点状或片状出血，出血总面积占全肺面积的 40%～50%，为中度肺损伤，仅少数动物肺脏呈散在的点状出血，出血总面积小于全肺面积的 10%，为轻度肺损伤，其它脏器未见明显改变。

Yelverton 评分结果显示，伤后 3、24 h 和第 5 天，肺冲击伤评分值分别为：35.6±12.5，23±8.9 和 7.2±6.3。

2.2　脑组织内 NO_2^-/NO_3^- 含量的变化

脑冲击伤后 3 h，海马和脑干组织内 NO_2^-/NO_3^- 含量即显著高于基础值，伤后 24 h 仍显著升高，脑干组织内 NO_2^-/NO_3^- 含量在伤后 5 d 仍明显高于伤前，见图 1。

2.3　脑组织内 cGMP 含量的变化

肺冲击伤后，海马和脑干组织内 cGMP 含量均明显高于伤前，见图 2。

2.4　ERL 和 AARL 变化

肺冲击伤时，AARL 分别在伤后 3、24 h 明显延长，ERL 无明显变化，见表 1。

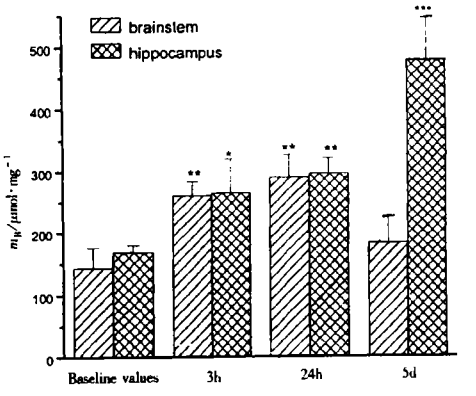


图 1　胸部局部冲击伤后海马与脑干组织内 NO_2^-/NO_3^- 含量的变化　与基础值比较，** ：$P<0.01$，*** ：$P<0.001$

Fig 1　Changes of NO_2^-/NO_3^- contents in hippocampus and brainstem tissues after local blast injury of chest　** ：$P<0.01$，*** ：$P<0.001$ *vs* baseline values

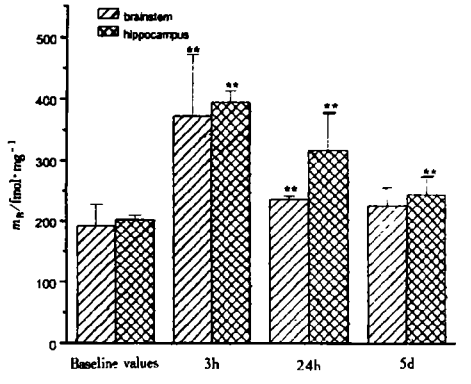


图 2　胸部局部冲击伤后海马与脑干组织内 cGMP 含量的变化　与基础值比较，* ：$P<0.05$，** ：$P<0.01$

Fig 2　Changes of cGMP contents in hippocampus and brainstem tissues after local blast injury of chest　* ：$P<0.05$，** $P<0.01$ *vs* baseline values

表 1　单纯肺冲击伤后 ERL 和 AARL 的变化

Tab 1　Changes of ERL and AARL after simple pulmonary blast injury

	Baseline	3 h	Baseline	24 h	Baseline	5 d
ERL	5.68±0.36	6.28±0.57	5.58±0.35	5.86±0.56	5.71±0.18	5.50±0.17
AARL	2.46±0.47	3.66±0.99#	2.73±0.42	3.32±0.56#	3.10±0.19	3.02±0.30

：$P<0.05$ *vs* baseline values

2.5　AAR 和 ER 变化

肺冲击伤后，AAR 均显著低于伤前，ER 明显高于伤前，见表 2。

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

表 2 单纯肺冲击伤后 AAR 和 ER 的变化

Tab 2 Changes of AAR and ER after simple pulmonary blast injury

	Baseline	3 h	Baseline	24 h	Baseline	5 d
AAR	80.8±14.2	39.2±22.7##	83.7±7.9	63.5±31.1#	84.2±8	75±10.9#
ER	20.8±15.6	59.2±22.2##	16.3±7.9	36.5±31.1#	15.8±8	25±10.9#

#: $P<0.05$, ##: $P<0.01$ *vs* baseline values

2.6 NO 变化与神经行为功能改变、冲击伤伤情的相关分析

肺冲击伤后，脑干组织内 NO_2^-/NO_3^- 含量变化也与冲击伤伤情、AAR、AARL、ERL 呈显著的相关性（$\gamma=0.87, -0.56, 0.75, 0.89$, $P<0.01$）。

3 讨论

大体解剖结果显示，胸部局部暴露冲击波后，动物肺脏呈较多的点状或片状出因，出血总面积占全肺面积的 40%～50%，为中度肺损伤，而其它脏器未见改变。说明胸部局部冲击波暴露仅造成单纯肺脏冲击伤。

神经行为功能检查显示，胸部局部冲击伤后，大鼠 AAR 明显下降，ER 明显升高，AARL 明显延长，提示大鼠学习和记忆能力下降，说明胸部局部暴露冲击波引起的肺冲击波可进一步造成远隔器官-中枢神经系统的损害。

研究结果进一步显示，肺冲击伤后，海马与脑干组织内 NO_2^-/NO_3^- 含量均显著升高，其中海马组织内 NO_2^-/NO_3^- 含量随伤后时间延长而递增。相关分析表明，脑组织内 NO_2^-/NO_3^- 含量变化与肺冲击伤伤情呈显著正相关。提示肺冲击伤后脑组织内 NO 生成明显增多，其机制可能与压力波传播、脑组织缺血缺氧以及神经内分泌反应有关。

现已研究证实[4]，正常情况下，在中枢神经系统内合成的 NO 是调节脑内信息传递、突触可逆性（学习与记忆）等方面的重要介质。然而，病理情况下，如脑缺血时，脑内 NO 产量显著增加，此时则产生细胞毒作用，因而又是神经系统损伤的重要机制[5]。相关分析显示，脑干组织内 NO_2^-/NO_3^- 含量变化与 AAR、ER、AARL 呈显著相关性。提示 NO 产生增加可能是肺冲击伤导致远隔器官-中枢神经系统损害的重要机制之一。

与其它介质不同，NO 的各种活性不是通过细胞膜受体介导的，主要是通过激活细胞内可溶性鸟苷酸环化酶，使细胞内 cGMP 浓度迅速升高，cGMP 随后调节蛋白激酶、磷酸二脂酶和离子通道等而产生不同的生物学作用[5]。本研究也发现，肺冲击伤后，海马与脑干组织内 cGMP 水平均显著升高。此外，NO 诱导颅脑冲击伤的作用机制可能还与以下因素有关：(1)协同或增强氧自由基作用[8]；(2)使含巯基类蛋白硝基化[9]，影响信息传导；(3)促进谷氨酸等兴奋性氨基酸释放，介导兴奋毒性损伤[9]。

参考文献

1 黎 鳌，盛志勇，王正国 主编. 现代战伤外科. 北京：人民军医出版社，1998. 93～126

2 Clemedson C J. Blast injury. Physiol Rev，1956，36(2)：336

3 Rosselli M，Keller P J，Dubey R K. Role of nitric oxide in the biology，physiology and pathophysiology of reproduction. Hum Reprod Update，1998，4(1)：3

4 赵保路，陈惟昌. NO 自由基的性质及其生理功能. 生物化学与生物物理进展，1993，20(5)：409

5 Dawson T M，Dawson V L，Snyder S H. Molecular mechanisms of nitric oxide actions in the brain. Ann N Y Acad Sci，1995，Nov. 17，738：76

6 Yeverton J T. Pathology scoring system for blast injuries. J Trauma，1996，40(Suppl)：S111

7 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem，1976，238(2)：248

8 Bechman J S，Chen J，Crow J P，*et al*. Reactions of nitric oxide，superoxide and peroxynitrite with superoxide dismutase in neurodegeneration. Prog Brain Res，1994，103(2)：371

9 Gross S S，Wolin M S. Nitric oxide：pathophysiological mechanism. Annu Rev Physiol，1995，57(3)：737

（收稿：1998-10-05；修回：1999-04-08）

（编辑 刘 鹏）

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

Effects of blast injury of the lungs on learning and memory capacity and their mechanisms in rats*

Jiang Jianxin, Ibolja Cernak, Wang Zhengguo, Liao Weihong, Xu Hong, Liu Dawei, Shi Lin, Li Xiaoyan, Wang Kewan (Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042)

Abstract Objective: To study the changes of learning and memory capacity after blast injury of the lungs in rats. Methods: Before the infliction of blast injury, all the rats were trained in a computer-controlled two-way shuttle box 20 trial sessions per day for 6 consecutive days to establish active avoidance response (AAR). The rats with an acquisition rate of 80% or more for AAR in the last 2 days were inflicted with pulmonary blast injury (PBI) in a BST-Ⅱ bio-shock tube. Cerebral content of NO_2^-/NO_3^- and cGMP was determined with colorimetric assay kit and enzyme immunoassay kit respectively. Results: ①After PBI, AAR was significantly decreased and the latency of AAR and escape response was markedly prolonged. ②The content of NO_2^-/NO_3^- and cGMP in the hippocampus and brainstem was significantly increased. ③The changes of NO_2^-/NO_3^- in the brain tissue were significantly correlated with injury severity, AAR, escape response and latency of AAR respectively. Conclusion: Our findings suggest that simple PBI can induce damages in the remote organs such as the central nervous system throuth the increased production of NO in the hippocampus and brainstem.

Key words pulmonary blast injury; neurotrauma; pathogenesis; nitric oxide; rat

* This project was supported by the "Ninth five" obligatory budget of PLA, No. 96L040

子宫腔纱条填塞术控制剖宫产出血 26 例

个案与短篇

Control of post-cesarean section hemorrhage with intra-uterine ribbon gauze packing——Report of 26 cases

樊国玉* （重庆市第八人民医院）重庆，400015
李良容 （重庆市巴南区人民医院）重庆，401320

1 临床资料

重庆市巴南区人民医院 1987 年 1 月至 1998 年 12 月分娩总数 10 885 例，其中剖宫产 2 300 例，剖宫产产后出血 226 例，发生率为 9.8%(226/2300)。剖宫产产后出血行宫腔纱条填塞术 26 例，年龄最大 37 岁，最小 20 岁，平均年龄 26.5 岁。孕产次：第一胎 2 例，≥2 胎 24 例；初产妇 21 例，经产妇 5 例。

术后观察一般情况及血压、脉搏等生命体征，注意观察宫底高度、子宫大小变化、阴道流血量。常规使用催产素静脉滴注加强宫缩 3 d，全部静脉滴注广谱抗生素防治感染。

纱条放置时间及取出经过：纱条放置时间 15～39 h，平均 23.3 h。在取纱条的同时静脉使用宫缩剂，外阴常规消毒后缓慢抽出纱条。17 例取出纱条全部血染，9 例纱条部分血染。所有病例纱条取出无困难。本组 26 例剖宫产产后出血经宫腔纱条填塞术后（或合用阴道纱条填塞），出血都得到及时控制。术后所有病人一般情况好，血压、脉搏正常。纱条放置至取出前阴道出血量一般不多。26 例中出血量最多的 1 例 100 ml，其余病例出血量小于 50 ml。1 例前置胎盘手术者在取出纱条 5 min 后阴道流血，用宫缩剂无效，出血达 400 ml。再次用纱条填塞阴道压迫止血成功。

26 例中 8 例发生术后病，占 30.8%，术后 4～10 d 体温恢复正常。其中 1 例有胎膜早破史，4 例有产前出血史。26 例剖宫产伤口均为一期愈合，无严重感染及晚期产后出血发生。术后住院天数 7～10 d，平均住院 7.8 d。

2 讨论

宫腔纱条填塞术是一种比较古老的止血方法，近年来国内外产科工作者重新评价了该方法，认为该方法不但可以争取产后出血抢救时间，而且对保留严重出血患者的生育机能具有一定意义。它适用于宫缩乏力及胎盘因素引起的产后出血[1]。本组 26 例剖宫产产后出血，由宫缩乏力所致 15 例，占 57.7%，居首位。胎盘因素所致 11 例，占 42.3%，居第二位。26 例经常规处理无效行宫腔纱条填塞术（7 例合用阴道纱条填塞）止血一次成功。术后无宫腔隐匿出血，无严重宫腔感染。文献报道剖宫产术后病率为 13%～59%，本组术后病率为 30.8%。故认为，宫腔纱条填塞术仍不失为剖宫产产后出血一种有效的止血方法。

关键词 剖宫产；产后出血；子宫腔纱条填塞术
中图法分类号 R714.461；R719.8

参考文献

1 熊 庆，张光渝. 产后出血的诊治与预防. 中华妇产科杂志，1995，30(4)：242

（收稿：1998-04-05；修回：1999-06-10）
（编辑 张大春）

* 樊国玉，女，54 岁，副主任医师

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