DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.05.024

高速投射物所致流体扰动和创伤血清对培养血管内皮细胞的影响

李开龙 (第三军医大学附属大坪医院肾内科) 重庆,630042
刘荫秋 赖西南 练伟坤 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第六研究室) 重庆,630042

提 要 利用体外模拟循环管路和远达效应动物模型,观察致伤瞬间流体扰动和创伤血清对培养的猪主动脉内皮细胞(VEC)的作用特点,探讨这两种致伤因素在损伤VEC过程中的关系。发现高速投射物所致流体扰动可使VEC的结构和功能发生明显改变。表现为VEC膜破裂或皱缩;局灶性胞浆疏松、水肿;胞浆内空泡增多,细胞器离散、数目减少。内皮细胞生成和释放的6-keto-PGF$_{1\alpha}$明显降低,ACE、ET和vWF:Ag显著增加。猪发生远达效应后,其4、6 h血清也可使VEC结构和功能发生类似改变,但没有扰动流体所致VEC结构和功能的改变严重。提示高速投射物致伤机体瞬间,循环管路内剧烈扰动的流体已可造成远隔部位组织脏器微血管内皮的损伤,这可能为远达效应的发生创造了条件。创伤后神经体液因子的改变则促使这种损伤进一步加剧,并为创伤后某些严重并发症的发生发展提供了病理形态学和病理生理学基础。

关键词 高速投射物;流体扰动;创伤血清;血管内皮细胞
中图法分类号 R64; R826.5

高速投射物致伤机体后,不仅造成致伤局部的广泛严重损伤,还可使远离原发伤道的组织、器官受到不同程度的影响,称之为“远达效应”(Remote effect)[1,2]。远达效应是高速投射物伤的特点之一,主要表现为远隔脏器(心、肺、脑等)的点片状出血[1,2]。由于这种损伤远离原发伤道、伤情隐蔽,容易漏诊误诊;而它本身又可成为伤后早期严重并发症(ARDS、DIC、MOF等)发生发展的重要病理基础,容易造成严重后果[1,2]。因此,研究远达效应的发生机理,对于提高高速投射物伤的防治水平具有非常重要的意义。以往关于远达效应的发生机理报道的不多,有人认为系冲击波压力[3]所致,也有人提出创伤后神经体液因子的影响[4]或与血流扰动因素[1,5]有关。众说不一,缺乏实验依据。近几年来,国内有人通过模拟介质(水)和动物大量的实验发现,致伤瞬间,远离原发伤道部位的血管内压力比伤前高10~30倍、血流量增加2~8倍[5,6]。而扰动流体作用于灌流脐静脉时,距撞击点不同距离(17 cm~38 cm)的灌流脐静脉内皮细胞,其结构和功能均有损伤性改变[6]。说明致伤瞬间压力波作用于循环管路,使血管内的血流急剧扰动,导致压力增高和脏器的不同程度的出血。以往已有实验证明[7,8],血管内皮细胞损伤是创伤、感染休克过程中最常见的形态学变化,并可导致脏器功能不全。而本研究旨在利用体外模拟循环管路[9]和远达效应动物模型,观察致伤瞬间体液扰动和创伤血清对培养的猪主动脉内皮细胞(VEC)的作用特点,探讨这两种致伤因素在损伤VEC过程中的关系。借以丰富远达效应的血流扰动理论,为提高战创伤防治水平提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 创伤猪血清的制备

采用5.56 mm M-193枪弹射击成年猪单后肢软组织;同时以END-EVCO 8537-50型压力传感器测定致伤瞬间猪主动脉弓内的压力。按伤前、伤后即刻、2、4、6 h五个时间点采取静脉血,分离血清冻存备用。

1.2 实验分组

1.2.1 对照组(C) 取培养6 d~10 d生长良好的猪主动脉VEC制成悬液,分装于灭菌避孕套内(培养液量3 ml,VEC数4×10^{6}个左右),加入2 ml伤前猪血清,使套内的液体总量为5 ml,扎紧套口后,将套置体外模拟循环管路运行1 min,取出细胞,移入CO$_2$孵箱内继续培养。6 h后将细胞取出,作VEC形态和功能检测(具体见后)。

1.2.2 扰动流体致伤VEC组(R) 同对照组,盛有VEC的避孕套在体外模拟循环管路内运行1 min后,以5.56 mm M-193弹(制式速度)射击水箱,使循环管路内产生扰动流体(其压力峰值和波形与发生远达效应的动物主动脉弓内记录到的压力峰值和波形相似),作用于VEC同时,以压力传感器测定放置细胞的管腔内压力。取出细胞,孵育6 h,余皆同对照组。

1.2.3 创伤血清孵育VEC组(X_n) 用0(伤后即刻)、2、4、6 h猪血清依次替换C组的正常猪血清,其余方法和步骤均同对照组。故在本组中又形成X_0、X_2、X_4和X_6 4个分组。

1.3 生化指标检测

各实验组中,经不同因素作用后的VEC悬液,孵育6 h后离心(3000 r/min),其上清和猪伤前血清、伤后不同时间点血

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

清一并作以下生化指标检测: (1) ACE(血管紧张素转换酶)活性测定: 使用血清血管紧张素Ⅰ转换酶(紫外法)测定试剂盒(海军总医院); (2) ET(内皮素)和 PGI_2分别使用相应的放射免疫分析试剂药盒(解放军总医院)测定。因 PGI_2极不稳定,实际上系测定 PGI_2的稳定代谢产物 6-keto-$PGF_{1\alpha}$; (3) ⅧR Ag(因子Ⅷ相关抗原)的测定系参照南通医学院徐静山"双抗体夹心酶免疫试验测定因子Ⅷ相关抗原"的方法进行。

1.4 形态学观察

各实验组中,经不同因素作用后的 VEC分别作光镜和透射电镜观察。

1.5 数据处理

培养液离心后,其上清(以下简称上清)中所检测的各项指标值,都要减去该培养液中所加猪血清内相应指标的含量,这样校对后的值才为 VEC的实际生成量。数据以单因素方差分析处理。结果以 $\bar{x}\pm s$表示。

2 结果

2.1 投射物所致模拟循环管路内压力变化

5.56 mm弹丸射击水箱后,距射击点 45 cm处的循环管路内测得的最高压力峰值为 142 kPa,平均压力峰值为 109.67 kPa,弹击前的基础压力为 17.3 kPa这一平均压力峰值与动物实验时的狗或猪主动脉弓内的平均压力峰值(92.3 kPa)相近。

2.2 扰动流体和创伤血清对培养 VEC功能的影响

见附表

附表 不同致伤因素对内皮细胞功能的影响($\bar{x}\pm s$)

Table Effects of different factors on the functions of endothelial cells ($\bar{x}\pm s$)

	n	Group C	Group Xn				Group R
			X_0	X_2	X_4	X_6	
ACE (u)	8	23.370± 3.620	30.370± 3.330$^{\#}$	34.870± 3.230$^{\#}$	39.060± 4.010$^{**\#}$	40.040± 4.090$^{**\#}$	42.183± 4.500**
ⅧR Ag (u/ml)	6	0.459± 0.040	0.569± 0.074$^{\#}$	0.581± 0.065$^{\#}$	0.685± 0.034$^{**\#}$	1.591± 0.254**	1.669± 0.251**
ET (pg/ml)	7	150.733± 23.622	155.143± 19.156	139.590± 52.526	192.239± 74.948$^{*\#}$	303.522± 37.210**	279.387± 34.333**
6-keto-$PGF_{1\alpha}$ (pg/ml)	5	910.150± 239.410	775.980± 184.890	562.790± 94.710$^{*\#}$	389.260± 30.330*	338.660± 75.920**	320.220± 67.950**

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* group C; #: $P<0.05$ *vs* group R

2.3 扰动流体和创伤血清对培养 VEC结构的影响

光镜下,C组细胞呈不规则形或多角形。核规则,多呈卵圆形,核仁 1~2个,清晰可见; R组细胞浓缩,胞核界线不清,形态不完整,核质染色变淡,并见核质与胞质融合现象; Xn组,伤后即刻血清孵育内皮细胞后,其形态结构与 C组 VEC形态结构相似,基本无异常改变,伤后 2 h血清孵育 VEC后,仅见少数内皮细胞核染色变淡,余未见异常;伤后 4 h和 6 h血清孵育 VEC后,大部分细胞失去原有的正常形态,呈现圆形,细胞体积变小,胞浆内空泡增多,核界限不清,染色变淡,并见核膜或核质与胞质融合现象。透射电镜下: C组细胞呈多角形或圆形,胞膜完整,胞浆内可见内质网和线粒体等细胞器。胞核呈卵圆形,核质均匀,染色质可见。在细胞膜附近偶尔见到微绒毛的横切和纵切面; R组细胞膜破裂或皱缩,局灶性胞浆疏松、水肿,细胞器离散,数目减少,个别细胞器变性,如线粒体嵴消失,并见胞浆内空泡明显增多,见图 1; Xn组,伤后即刻血清孵育内皮细胞组,细胞超微结构和对 C相似,无异常改变;伤后 2 h血清孵育内皮细胞组,仅见少数细胞胞膜和细胞器出现水肿;伤后 4 h和 6 h血清孵育内皮细胞后,除 4 h组中偶见正常内皮细胞外,其它内皮细胞均呈现与流体扰动组内皮细胞基本相似的超微结构改变,见图 2

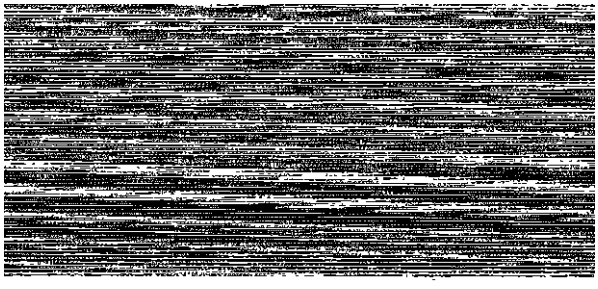


图 1 R组,胞浆内空泡增多、细胞器数目减少(TEM× 1 000)

Fig 1 Increase of vacuoles in cytoplasm and decrease of organelle numbers of VEC in group R (TEM× 1000)

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

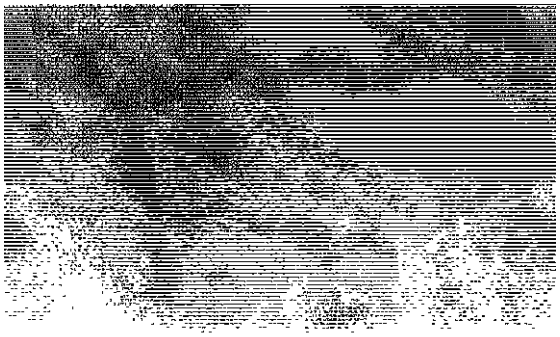


图 2　X_6组,VEC膜皱缩、局灶性胞浆水肿　(TEM× 10 000)

Fig 2　Shrinkage of VEC membrane and focal swelling in cytoplasm of VEC in group X_6　(TEM× 10 000)

3　讨论

动物实验证明[1,5],高速投射物致伤机体瞬间,远离原发伤道的组织脏器可出现点片状出血,这是远达效应的基本特征。本实验模拟致伤动物发生远达效应时的流体扰动波,获取发生了远达效应的动物血清,分别以它们作用于培养良好的猪主动脉内皮细胞。结果发现,这种对内皮细胞仅产生瞬间作用的流体扰动波,足以对内皮细胞的结构和功能造成严重的影响;而伤后即刻、乃至 2 h的创伤血清则对内皮细胞无明显的损害作用;直到伤后 4~6 h的创伤血清才对内皮细胞产生明显的毒性作用。且这种毒性作用不如扰动流体对内皮细胞的机械损伤作用严重。可见,高速投射物伤远达效应的发生,在投射物击中机体瞬间,便形成了它的病理形态学基础。这主要是由于高速高能致伤时,产生较强的冲击波(压力波),作用于循环管路系统,引起体液(主要是血液)的剧烈扰动。这种扰动波以"血锤效应"的方式迅速向远隔部位传播[10],直致终末脏器。在这一过程中伴有大量的能量释放。接收了过多能量的血管内皮细胞,可能导致其自身原有功能性质的改变[11],出现细胞间连接的破坏、血管通透性的增加,以至血液有形成分的外渗,从而表现为脏器的点片状出血。

因此,本文认为,高速投射物致伤机体后,首先是瞬间剧烈扰动的流体作用于远隔部位组织脏器的终末毛细血管,造成这些血管的内皮、尤其是内皮细胞的毁坏,形成了远达效应发生的病理形态学基础。随后、特别是伤后 4 h~6 h以后,如果这种损伤不能得到及时修复,由于继发神经体液因子的改变(包括血管内皮细胞自分泌的紊乱)[12],就可能使早期的血管内皮细胞损伤进一步加剧。如果内皮本身的损伤已相当严重、机体的全身状况又相当差(如失血过多、出现严重感染、并发多脏器伤和/或复合伤等)、同时又得不到适时的救治,就可能出现严重的创伤后并发症(ARDS、DIC、MOF等)。

参考文献

1　Liu Y Q, Chen Y, Chen L *et al*. Mechanism, exploration and characteristics of the remote effects of projectiles. J Trauma(China), 1990; 6(2) Suppl: 16

2　刘荫秋.从创伤弹道学谈现代火器伤.解放军医学杂志, 1986; 6(5): 431

3　王德文,崔彩兵,李全岳等.68例火器伤远达效应分析报告.中华创伤杂志, 1991; 7(增刊): 89

4　Berlin R H.(王正国译).致伤因子能量创伤.创伤杂志, 1986; 2(1): 58

5　刘荫秋,周宝桐,李曙光等.高速投射物伤远达效应的机理及其对伤情转归的初步探讨.中华创伤杂志, 1991; 7(增刊): 8

6　王建民,刘荫秋,赖西南等.高速投射物所致模拟循环管路内流体扰动对灌流脐静脉功能的影响.解放军医学杂志, 1994; 19(1): 32

7　Mittermayer C. Systemic alteration of endothelial cells in shock. In: Paubertbraquet M Ed. Lipid mediators in the immunology of shock. New York: Raven Press, 1987: 429~434

8　李开龙,刘荫秋,赖西南等.猪高能创伤后远隔部位血管内皮细胞的形态学变化.第三军医大学学报, 1995; 17(2): 147

9　王建民,刘荫秋,李曙光等.循环管路内流体扰动物物理模型的研制.第三军医大学学报, 1993; 15(6): 546

10　李曙光,刘荫秋,陈　洪等.高速投射物致伤瞬间的血流扰动特点和对组织器官的影响.中华创伤杂志, 1991; 7(增刊): 12

11　Newby A C, Henderson A H. Stimulus-secretion coupling in vascular endothelial cells. Annu Rev Physiol, 1990; 52: 661

12　李开龙,刘荫秋,赖西南等.高能创伤后血清内皮素的变化及其意义.中国病理生理杂志, 1995; 11(2): 155

(收稿: 1995-12-30;修回: 1996-08-26)

(编辑　刘　鹏)

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

Effects of high-velocity projectile-induced fluid disturbance and post-traumatic serum on vascular endothelial cells

Li Kailong, Liu Yinqiu, Lai Xi'nan, Lian Weikun (Department of Nephrology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630042)

Abstract The effects of temporary disturbance induced by high-velocity projectiles and post-traumatic serum of pigs on the vascular endothelial cells (VECs) of swine aorta were observed with a simulating circulatory apparatus on rat model serving to observe the remote effects. It was found that the temporary fluid disturbance due to high-velocity projectiles resulted in a disruption and shrinkage of the vascular membrane, focal loosening of the cytoplasm, edema, increase of the vacuoles in number in the cytoplasm, dissociated organelles with a decrease in their number, an obvious decrease of the synthesis and release of 6-keto-PGF1a by VECs and a marked increase of ACE, ET and ⅧR:Ag. Similar structural and functional changes of VECs were induced by the post-traumatic serum 4 and 6 h after wounding. These findings suggest that the vascular endothelium of distant organs and tissues can be damaged by the violent temporary fluid disturbance when the body is subjected to a high-velocity projectile injury and the changes of neuro-humoral factors after wounding further aggravate the damages to the VECs to lay down the pathomorphological and pathophysiological basis of gun-shot injuries.

Key words high-velocity projectile; fluid disturbance; serum/post-traumatic; vascular endothelial cell; pig

尿毒性脑病致癫痫持续状态救治成功一例

Rescuing a case of continuous convulsion caused by uremic encephalopathy

袁发焕 商玉萍* 杨惠标 缪新文 (第三军医大学附属新桥医院肾内科) 重庆, 630037

我科1990年以来收治尿毒症患者303例, 6例发生尿毒性脑病癫痫样抽搐, 5例为一过性, 一例呈持续状态长达12 d,较为罕见,特报道如下。

患者男性, 40岁, 因肾衰7年, 移植肾切除术后18 d,合并球菌性肺炎、消化道和皮下广泛出血、肠道菌群失调、重度营养不良、褥疮、低白细胞血症,于1995年7月8日由泌尿外科转入我科。转科后给予腹膜透析、抗炎、升白细胞、止血等综合治疗4 d,患者出血停止,一般情况好转。7月13日,患者突然出现频繁的四肢强直性抽搐,抽搐时牙关紧闭,眼球上翻,双眼球水平震颤,每次抽搐持续30 s至1 min,间隔时间最短为2 min,抽搐时心率增速,未发现心律失常,抽搐间歇期血压最高达28/16 kPa,无神经系统定位体征。既往无类似发作史。静脉注射安定40 mg不能中止抽搐发作,静脉注射苯妥因钠0.5 g能使发作频率稍减少。眼底、脑CT、腰穿无异常发现,血钙正常,血培养阴性, 1 d后进入浅昏迷状态,抽搐不减,并出现大量黑便。考虑为尿毒性脑病、消化道应激性溃疡出血。遂增加腹透液交换量至12000 ml/d,并给予积极降压、镇静、止血、输血、支持等综合治疗。7月25日抽搐停止,神志转清。此后,患者出血停止,腹部伤口和褥疮愈合,食欲佳,体重由39 kg增至51 kg,住院93 d出院行家庭腹透,随访半年,生活能自理。

尿毒性脑病癫痫样抽搐是由于脑细胞在尿毒性物质的作用下出现癫痫样放电所致,也有人报道与过量应用头孢类抗菌素或血压过高有关[1-3]。对其治疗应重点抓住透析这一关键环节,同时兼顾降压、营养支持等治疗,停用可能与抽搐有关的抗菌素,而不宜片面依赖镇静药物。本例癫痫样抽搐持续状态长达12 d之久,全身一般情况极差,经积极治疗仍获痊愈,提示只要治疗得当,尿毒性脑病癫痫样抽搐持续状态仍然预后较好。

关键词 尿毒性;癫痫

中图法分类号 R695.9; R742.1

参考文献

1 De-Deyn P P, Saxena V K, Abts H *et al*. Clinical and pathophysiological aspects of neurological complications in renal failure. Acta Neurol Belg, 1992; 92(4): 191

2 李永龙,赵红仪,杨吉华.慢性肾功能不全与抽搐.临床儿科杂志, 1994; 12(2): 80

3 Chetaille E, Masmoudi K, Dimier-David L *et al*. Convulsions associated with the administration of excessive dose of cefatazidime in patients with renal failure. Therapie 1994; 49(5): 435

(收稿: 1995-12-17;修回: 1996-08-17)

(编辑 冯崇英)

* 重庆钢铁公司职工医院 重庆, 630000

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