

## · 论 著 ·

## 血必净对水下爆炸实验兔心肺损伤的治疗作用

丁体龙<sup>1</sup>, 齐晓林<sup>1</sup>, 黄奕江<sup>1</sup>, 郝建<sup>2</sup>, 马宏昊<sup>3</sup>, 吴楠<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的 研究血必净对水下爆炸实验兔心肺损伤的治疗作用。方法 实验对象新西兰大白兔随机分为 3 组, 正常对照组、爆炸损伤组和血必净治疗组, 每组 10 只。采用中国科技大学研制的可控爆炸装置对后 2 组实验兔心肺部位实施爆炸, 血必净治疗组于爆炸后立即以 50 mL/kg 血必净进行滴注治疗, 正常对照组及爆炸损伤组则以 50 mL/kg 等渗盐水滴注, 24 h 后采集各组标本分别检测动脉血气、心肺组织病理学改变、湿/干重比和 MMP-9mRNA 的表达情况。结果 爆炸损伤组动脉血 pH 为  $(7.02 \pm 1.15)$ , 低于正常对照组  $(7.38 \pm 1.04)$  和血必净治疗组  $(7.21 \pm 1.09)$ , 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 血氧分压为  $(76.91 \pm 5.86)$  mmHg, 低于正常对照组  $(97.92 \pm 15.11)$  mmHg 和血必净治疗组  $(86.65 \pm 8.73)$  mmHg, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 二氧化碳分压为  $(44.81 \pm 5.99)$  mmHg, 高于正常对照组  $(32.20 \pm 3.38)$  mmHg 和血必净治疗组  $(37.54 \pm 3.75)$  mmHg, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。心组织 MMP-9mRNA 表达相对含量为  $(29.24 \pm 1.87)$ , 高于正常对照组  $(1.00 \pm 0.15)$  和血必净治疗组  $(12.53 \pm 0.49)$ , 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 肺组织 MMP-9mRNA 表达相对含量为  $(13.14 \pm 0.77)$ , 高于正常对照组  $(1.14 \pm 0.17)$  和血必净治疗组  $(6.24 \pm 0.51)$ , 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。肺病理损伤明显, 可见明显水肿和出血, 血必净治疗组病理损伤有所改善; 肺组织湿/干重比为  $(6.16 \pm 2.34)$ , 高于正常对照组  $(4.38 \pm 0.75)$  和血必净治疗组  $(4.62 \pm 1.13)$ , 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论 水下爆炸冲击波可对实验兔心肺造成严重损伤, 血必净可改善其损伤程度。

**[关键词]** 血必净; 水下爆炸; 心肺损伤

**[中图分类号]** R459.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-271X(2017)03-0239-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1672-271X.2017.03.004

## The therapeutical effect of Xuebijing on cardiopulmonary injury rabbits by underwater explosion

DING Ti-long<sup>1</sup>, QI Xiao-lin<sup>1</sup>, HUANG Yi-jiang<sup>1</sup>, HAO Jian<sup>2</sup>, MA Hong-hao<sup>3</sup>, WU Nan<sup>1</sup>

(1. Laboratory Center, the 123th Hospital of PLA, Bengbu 233015, Anhui, China; 2. Department of Cardiopulmonary Rehabilitation, Hangzhou Sanatorium of PLA, Hangzhou 310007, Zhejiang, China; 3. Department of Modern Mechanics, University of Science and Technology of China, Hefei 230022, Anhui, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the therapeutical effect of Xuebijing on cardiopulmonary injury rabbits by underwater explosion. **Methods** All the New Zealand rabbits were divided randomly into three groups: normal control group, blast injury group and Xuebijing treated group. There were 10 rabbits in each group. Controllable explosion device invented by University of Science and Technology of China was applied to blast the cardiopulmonary parts of rabbits in blast injury group and Xuebijing treated group, Xuebijing (50 mL/kg) was dripped immediately after the explosion in Xuebijing treated group while the same rat saline was dripped in the other two groups. Arterial blood gas, cardiopulmonary tissue pathology and wet/dry weight ratio, the expression of MMP-9 mRNA were respectively detected in each group. **Results** The pH in artery of blast injury group was  $(7.02 \pm 1.15)$ , lower than those of normal control group  $(7.38 \pm 1.04)$  and Xuebijing treated group  $(7.21 \pm 1.09)$ .  $PO_2$  of blast injury group was  $(76.91 \pm 5.86)$  mmHg, lower than those of normal control group  $(97.92 \pm 15.11)$  mmHg and Xuebijing treated group  $(86.65 \pm 8.73)$  mmHg.  $PCO_2$  of blast injury group was  $(44.81 \pm 5.99)$  mmHg, lower than those of normal control group  $(32.20 \pm 3.38)$  mmHg and Xuebijing treated group  $(37.54 \pm 3.75)$  mmHg. The relative amount of MMP-9 expressed in heart tissue of blast injury group was  $(29.24 \pm 1.87)$ , higher than those of normal control group  $(1.00 \pm 0.15)$  and Xuebijing treated group  $(12.53 \pm 0.49)$ . The relative amount of MMP-9 expressed in lung tissue of blast injury group was  $(13.14 \pm 0.77)$ , higher than those of normal control group  $(1.14 \pm 0.17)$  and Xuebijing treated group  $(6.24 \pm 0.51)$ . Path-

作者单位: 1. 233015 蚌埠, 解放军第 123 医院中心实验室;  
2. 310007 杭州, 解放军杭州疗养院心肺康复科;  
3. 230022 合肥, 中国科学技术大学近代力学系

通信作者: 齐晓林, E-mail: xlqjs2010@126.com

引用格式: 丁体龙, 齐晓林, 黄奕江, 等. 血必净对水下爆炸实验兔心肺损伤的治疗作用[J]. 东南国防医药, 2017, 19(3): 239-242.

ological change of lung in blast injury group was found obviously pneumonema and hemorrhage, but the damage improved in Xuebijing treated group, wet/dry weight ratio of lung was  $(6.16 \pm 2.34)$ , higher than those of normal control group  $(4.38 \pm 0.75)$  and Xuebijing treated group  $(4.62 \pm 1.13)$ . The difference among the groups above were statistically significant ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** Underwater explosion shock wave can cause serious

cardiopulmonary damage to the experimental rabbits and Xuebijing injection has obvious curative effect to blast injury.

[Key words] Xuebijing; Underwater explosion; Cardiopulmonary injury

水下爆炸与空气中爆炸有较大区别,由于水的传导作用大于空气,爆炸产生的冲击波对生物体的损伤理论上将大于空气中爆炸,而爆炸产生的粉尘和碎片以及烧伤等损害将小于空气中爆炸。因此,水下爆炸的主要致伤因素为爆炸冲击波。为进一步探讨水下爆炸对生物体心肺功能的影响,本研究以家兔为研究对象,采用中国科学技术大学爆炸力学实验室研制的可控爆炸装置,观察水下爆炸前后实验兔心肺功能的变化,现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

**1.1.1 实验动物** 清洁级实验用新西兰大白兔 30 只,雌雄不拘,体重( $2.30 \pm 0.52$ ) kg,由安徽长临河医药科技有限公司提供,实验动物许可证号:scxk-(皖)2006-002。

**1.1.2 试剂与仪器** 血气分析采用美艾利尔 Epc<sup>®</sup>血气分析系统;9800 型荧光定量 PCR 仪为厦门安普利生物技术公司产品;总 RNA 提取试剂盒 Trizol Reagent 购自美国 ambion 公司(批号:113705),一步法实时 qRT-PCR 检测试剂盒购自北京厚生博泰(UPTECH)公司(批号:HS0624),MMP-9 及 GAPDH 内参上下游引物及探针均由上海生工生物技术公司合成,序列如下:MMP-9 上游引物:5'-ACACACGACGTCTTCCA-3',MMP-9 下游引物:5'-GAGCTTTGACATCCTGCA-3',MMP-9 探针:5'-FAM-CTACTTCTGCCAGGACCGCTTCTTCTG-TAMRA3',GAPDH 上游引物:5'-GCCATCACTGCCACCCA-3',GAPDH 下游引物:5'-CAGTGAGCTTCCCGTTC-3',GAPDH 探针:5'-FAM-CCGCCCAGAACATCATCCCTG-TAMRA3'。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 实验分组** 将 30 只新西兰兔采用抽签法随机分为 3 组,正常对照组,设 10 只( $n=10$ ),安静环境下正常饲养,避免爆炸声惊吓。余 20 只按事先设定好的爆炸参数进行实验,采用抽签法随机抽取 10 只列为爆炸损伤组( $n=10$ ),另 10 只爆炸后实验兔标为血必净治疗组,按 50 mL/kg 体重比例血必净滴注治疗,正常对照组及爆炸损伤组则以 50 mL/kg 等渗盐水滴注,治疗后 24 h 处死。治疗前及处死前分别抽动脉血作血气分析,处死后分别取心肺组织

作湿/干比分析、病理组织学观察和 MMP-9mRNA 的表达。实验过程中动物均存活,无意外死亡。

**1.2.2 爆炸方法** 爆炸前以氯胺酮 40 mg/kg,氟哌利多 1.6 mg/kg 经肌肉注射麻醉实验兔<sup>[1]</sup>,将兔固定于特制的实验装置平台上,暴露前胸及侧胸壁,其余部位由自行设计的保护装置进行防护。使用中科大研制的爆炸装置,并按照爆炸力学相关公式及组织病理观察结果设定合理爆炸剂量、距离。爆炸后即刻取出进行后续实验。

**1.2.3 MMP-9mRNA 检测方法** 按 Trizol Reagent 试剂盒说明书常规提取总 RNA,分光光度计检测计算其浓度,选取质量良好的 RNA,按 10 倍比例进行梯度稀释(5000、500、50、5、0.5 ng),制作 MMP-9 和 GAPDH 基因的标准曲线。反应体系:2×One Step qRT-PCR Buffer(with ROX) 25 μL,上游引物 1 μL,下游引物 1 μL,探针 0.5 μL,模板 2 μL, Taq/RTase Mix I 2 μL, RNase free ddH<sub>2</sub>O 18.5 μL。反应条件:45℃ 30 min,94℃ 3 min,94℃ 10 s,54℃ 20 s,72℃ 20 s,40 个循环。从标准曲线中选取合适的 RNA 浓度,本次选取 5000 ng。以上述体系和条件对提取的各组 RNA 进行荧光定量反应。获得的目的基因和内参基因的 Ct 值用<sup>ΔΔ</sup>Ct 法计算结果。

### 1.3 观察指标

**1.3.1 动脉血气分析** 分别从右颈动脉取正常对照组、爆炸损伤组(爆炸后 3 min 内)和血必净治疗组(治疗后 24 h)实验兔动脉血 3 mL,作动脉血气分析,包含动脉血 pH 值、氧分压(PO<sub>2</sub>)及二氧化碳分压(PCO<sub>2</sub>)。

**1.3.2 病理组织学观察** 取左肺中叶和心尖部位,等渗盐水冲洗干净后,立即置 10% 甲醛溶液固定 24 h 以上,石蜡包埋,切片厚度 4~5 μm,HE 染色,光镜下观察。

**1.3.3 心肺组织湿/干重比(W/D)** 取左下肺叶和心尖与心底的中间部位,吸干表面杂质,天平称取肺湿重后,置于 80℃ 干燥箱烘 72 h 后称取干重,计算湿/干重比。

**1.3.4 心肺组织 MMP-9mRNA 含量检测** 采用一步法实时 qRT-PCR 检测试剂盒(探针法)进行检测,严格试剂盒说明书和仪器操作规程操作。

**1.4 统计学分析** 采用 SPSS19.0 软件分析处理

数据。计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,两组间及组内数据比较采用  $t$  检验;多组间两两比较采用 SNK- $q$  检验; $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 动脉血气分析结果** 与正常对照组比较,爆炸损伤组血  $PO_2$  显著降低,  $PCO_2$  显著升高, pH 下降 ( $P<0.05$ )。血必净治疗组各指标均得到了明显改善 ( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 各组兔动脉血气分析结果比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	$n$	pH	$PO_2$ (mmHg)	$PCO_2$ (mmHg)
正常对照组	10	$7.38\pm 1.04$	$97.92\pm 15.11$	$32.20\pm 3.38$
爆炸损伤组	10	$7.02\pm 1.15^*$	$76.91\pm 5.86^*$	$44.81\pm 5.99^*$
血必净治疗组	10	$7.21\pm 1.09$	$86.65\pm 8.73$	$37.54\pm 3.75$

与正常对照组和血必净治疗组比较, \*  $P<0.05$ ; 1 mmHg=0.133 kPa

**2.2 病理组织学观察结果** 光镜下观察,爆炸损伤组心肺组织均明显充血、水肿,中性粒细胞浸润。肺组织损伤更为严重,肺泡间质内见大量细胞,肺泡腔内可见红细胞及淡粉色水肿液,甚至灶状或大片状出血。血必净治疗后损伤减轻。见图 1、图 2。

**2.3 心肺组织湿/干重比(W/D)** 爆炸损伤组肺组织 W/D 比值显著高于血必净治疗组和正常对照

组( $P<0.05$ )。而心组织 W/D 比值与另 2 组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

表 2 各组兔心肺组织湿/干重比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	$n$	湿/干重比	
		心	肺
正常对照组	10	$4.33\pm 0.94$	$4.38\pm 0.75$
爆炸损伤组	10	$5.21\pm 0.74$	$6.16\pm 2.34^*$
血必净治疗组	10	$4.92\pm 0.46$	$4.62\pm 1.13$

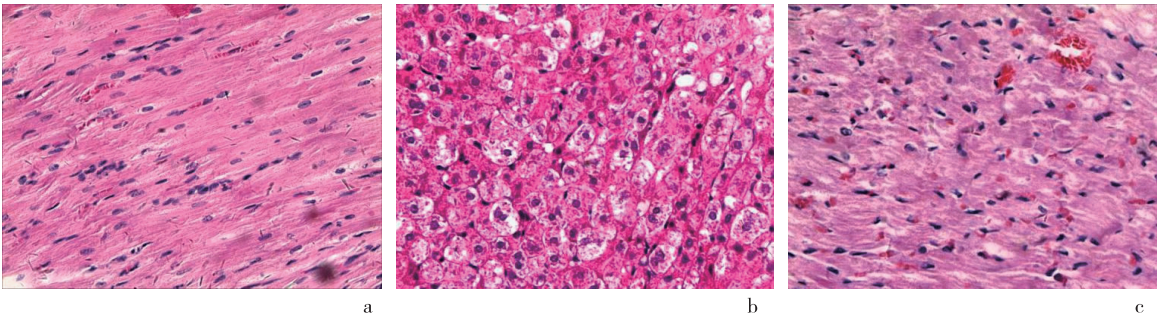
与正常对照组和血必净治疗组比较, \*  $P<0.05$

**2.4 各组心肺组织 MMP-9mRNA 检测结果** 采用 $\Delta\Delta Ct$ 法计算各组心肺组织中 MMP-9mRNA 的相关含量,爆炸损伤组心肺组织 MMP-9mRNA 表达明显高于其他两组,血必净治疗组 MMP-9mRNA 表达量明显减少( $P<0.05$ ),见表 3。

表 3 各组兔心肺组织中 MMP-9mRNA 相对含量比较( $\bar{x}\pm s$ )

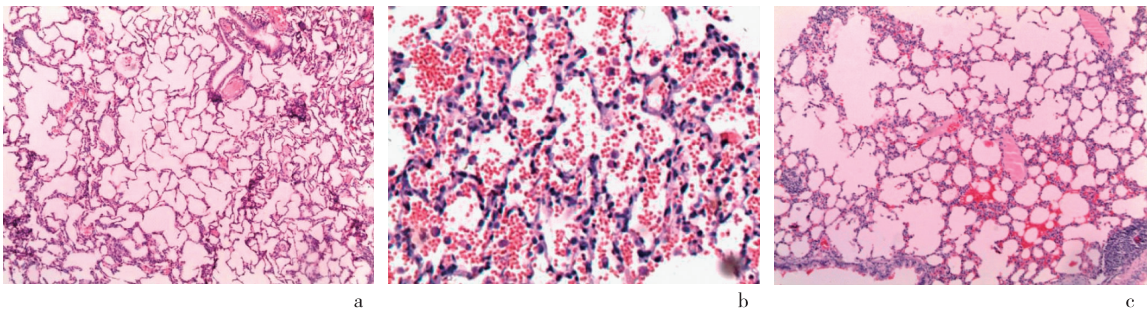
组别	$n$	MMP-9mRNA	
		心	肺
正常对照组	10	$1.00\pm 0.15$	$1.14\pm 0.17$
爆炸损伤组	10	$29.24\pm 1.87^*$	$13.14\pm 0.77^*$
血必净治疗组	10	$12.53\pm 0.49$	$6.24\pm 0.51$

与正常对照组和血必净治疗组比较, \*  $P<0.05$



a: 正常对照组; b: 爆炸损伤组; c: 血必净治疗组

图 1 各组兔心组织病理学观察比较(HE ×100)



a: 正常对照组; b: 爆炸损伤组; c: 血必净治疗组

图 2 各组兔肺组织病理学观察比较(HE ×100)



### 3 讨 论

冲击波是炸药在爆炸时发出的巨大压力,由于水的传导作用大于空气,因此水下爆炸时冲击波对机体的伤害远大于空气爆炸伤。有关冲击波作用造成的损伤的诊断、急救、治疗是军事医学和创伤外科研究的重点之一。冲击波对实验对象的损伤程度主要与炸药当量和爆炸源与实验对象的距离有关<sup>[2-4]</sup>。本实验采用中国科学技术大学爆炸力学实验室自主研发的爆炸装置,可对爆炸当量进行严格控制和监测,并通过预实验确定爆心与实验兔的距离,确保实验对象在实验过程中全部存活,观察水下爆炸冲击波对实验兔心肺的损伤作用,并采用血必净对伤兔进行治疗,探讨血必净在爆炸伤的应用。

水下爆炸不同于空气中爆炸,有其独特的特点,空气中爆炸常见的致伤因素如烧伤、碎片损伤及粉尘造成的窒息等,水下爆炸则很少见,其主要致伤因素是冲击波损伤,通常从体表看不出明显创伤。主要表现为缺氧症状,如口唇、耳部皮肤发绀、呼吸急促等,符合家兔急性肺损伤表现<sup>[5]</sup>。病理观察结果提示,爆炸后实验兔心肺组织均受到了损伤,大量炎细胞浸润,符合急性创伤的病理特点。采用血必净治疗 24 h 后,炎症反应明显减轻。湿/干重比是反应炎症性损伤的一个重要指标,研究中我们发现肺组织损伤后肿胀明显,湿/干重比显著大于正常对照组和治疗组,但心组织湿/干重比与另 2 组比较却无显著差异,提示空腔脏器在冲击波作用下损伤会更严重。从动脉血气分析结果来看,爆炸损伤组氧分压降低,二氧化碳分压升高,pH 值降低,与文献报道基本一致<sup>[6-7]</sup>,提示爆炸已使肺功能受损,导致机体缺氧,从而进一步加重了损伤程度。

MMP-9 与组织损伤关系密切,研究发现,MMP-9 是以酶原的形式从胞内分泌到胞外的,在体外,MMP-9 通过有机汞制剂反应才有活性,在体内则须经一系列蛋白酶级联而激活<sup>[8]</sup>。MMP-3 可能是 MMP-9 最有效的激活剂<sup>[9]</sup>。此外,MMP-9 可通过释放血管内皮生长因子(VEGF)以参与血管生成<sup>[10]</sup>。本实验中我们看到,爆炸后心肺组织 MMP-9mRNA 表达明显增高,血必净治疗组则相对较低,表明血必净可以抑制炎症因子。血必净注射液的主要成

份为赤芍、川芎、丹参、红花和当归等活血化瘀药<sup>[11]</sup>,通过抗炎和纠正凝血功能,可减少多器官功能障碍综合征的发生,在爆炸伤的救治中有显著疗效。由于心肺是爆炸冲击波的主要靶器官,因此,在处理爆破作业、面对恐怖袭击和处理易燃易爆危险品时,胸腹部的防护非常重要<sup>[12]</sup>,防护用具应采用高强度、低弹性的软质材料,并以充气式防护带效果较好。总之,爆炸冲击波是一种严重的创伤,必须积极做好防护和救治措施。

### 【参考文献】

- [1] 胡玉红. 一种新的家兔麻醉方法[J]. 中国实验动物学杂志, 2001, 11(3): 183.
- [2] 马晓艳, 黄晓峰, 任东青, 等. 爆炸冲击波致肝组织超微结构改变[J]. 医学研究生学报, 2009, 22(5): 469-471.
- [3] Paydar S, Sharifian M, Parvaz SB, *et al.* Explosive attack: lessons learned in Seyed Al Shohada mosque attack. April 2008, Shiraz, Iran [J]. J Emerg Trauma Shock, 2012, 5(4): 296-298.
- [4] Turner RC, Naser ZJ, Logsdon AF, *et al.* Modeling Clinically relevant blast parameters based on scaling principles produces functional & amp histological deficits in rats [J]. Exp Neurol, 2013, 248(8): 520-529.
- [5] 李成恩, 郝建, 李树雯, 等. 乌司他丁对爆炸致家兔急性肺损伤的作用及机制[J]. 安徽医科大学学报, 2016, 51(6): 795-799.
- [6] 张焱焱, 白俊清, 郑俊中. 瓦斯爆炸致大鼠肺损伤的研究[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2013, 16(11): 1871-1873.
- [7] 齐晓林, 吴升, 马宏昊, 等. 爆炸致兔急性肺损伤时细胞凋亡作用机制的实验研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2016, 41(2): 155-158.
- [8] Newby AC. Matrix metalloproteinases regulate migration, proliferation, and death of vascular smooth muscle cells by degrading matrix and non-matrix substrates[J]. Cardiovasc Res, 2006, 69(3): 614-624.
- [9] Huang PH, Chen YH, Wang CH, *et al.* Matrix metalloproteinase-9 is essential for ischemia-induced neovascularization by modulating bone marrow-derived endothelial progenitor cells [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009, 29(8): 1179-1184.
- [10] 王兆京, 张丹丹, 陈志伟, 等. MMP-9 及 VEGF 在成人肝血管瘤中的表达及意义[J]. 东南大学学报(医学版), 2014, 33(1): 66-70.
- [11] 高士杰, 邵洁, 刘峰, 等. 血必净注射液辅助治疗严重多发伤患者的疗效观察[J]. 东南国防医药, 2008, 10(3): 178-180.
- [12] 杨策, 蒋建新, 杜娟, 等. 基于冲击伤诊治思考—非战争性爆炸的防护策略[J]. 中华诊断学电子杂志, 2016, 4(1): 10-12.

(收稿日期: 2017-02-26; 修回日期: 2017-04-18)

(本文编辑: 叶华珍; 英文编辑: 王建东)