

# 血必净对水下爆炸致兔急性闭合性肝损伤早期干预的效果研究

陆德锟<sup>1</sup>, 黄奕江<sup>2</sup>, 齐晓林<sup>2</sup>, 黄峻松<sup>3</sup>, 邵先安<sup>4</sup>, 徐长江<sup>5</sup>, 马宏昊<sup>6</sup>, 郝建<sup>7</sup>

**[摘要]** **目的:**探讨血必净对水下爆炸致兔急性闭合性肝损伤早期干预的效果研究。**方法:**健康新西兰兔 15 只, 随机分为对照组、损伤组和用药组(给予血必净), 以水下爆炸致兔急性闭合性肝损伤, 用酶联免疫法检测爆炸后 0、4、12、24 h 血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、白细胞介素(IL)-6、基质金属蛋白酶(MMP)-9 的浓度。**结果:**爆炸后 4 h 各组间 ALT 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 损伤组水平高于对照组( $P < 0.05$ ); 爆炸后 12 h 各组间 IL-6 水平差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), 损伤组水平高于对照组和用药组( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ); 爆炸后 24 h MMP-9 水平各组间差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 损伤组水平高于对照组和用药组( $P < 0.05$ ); 损伤组爆炸后 4 h 与爆炸后 12 h 和 24 h MMP-9 间水平差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 用药组爆炸后 4 h 与爆炸后 12 h MMP-9 间水平差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论:**血必净对水下爆炸致兔急性闭合性肝损伤有保护作用。

**[关键词]** 肝损伤; 水下爆炸; 血必净; 新西兰兔

**[中图分类号]** R 642 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.02.003

## Study on the effect of Xuebijing on the early intervention of acute closed liver injury induced by underwater explosion

LU De-kun<sup>1</sup>, HUANG Yi-jiang<sup>2</sup>, QI Xiao-lin<sup>2</sup>, HUANG Jun-song<sup>3</sup>, SHAO Xian-an<sup>4</sup>, XU Chang-jiang<sup>5</sup>, MA Hong-hao<sup>6</sup>, HAO Jian<sup>7</sup>

(1. Department of Hepatobiliary Surgery, 2. Organs, 3. Department of General Surgery, 4. Department of Laboratory, 5. Department of Pathology, The 902th Hospital of PLA, Bengbu Anhui 233010; 6. Department of Modern Mechanics, University of Science and Technology of China, Hefei Anhui 230026; 7. Department of Cardiopulmonary Rehabilitation Center, The 128th Hangzhou Hospital, Hangzhou Zhejiang 310007, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effects of Xuebijing on the early intervention of acute closed liver injury induced by underwater explosion. **Methods:** Fifteen healthy New Zealand rabbits were randomly divided into the control group, injury group and intervention group (treated with Xuebijing), and the acute closed hepatic injury in three groups was established by underwater explosion. The serum levels of ALT, IL-6 and MMP-9 in three groups after 0, 4, 12 and 24 h of explosion were detected using enzyme-linked immunoassay. **Results:** The differences of the ALT levels among three groups after 4 h of explosion were statistically significant ( $P < 0.05$ ), and the level of ALT in injury group was higher than that in control group ( $P < 0.05$ ). The differences of the IL-6 levels among three groups after 12 h of explosion were statistically significant ( $P < 0.01$ ), and the level of IL-6 in injury group was higher than that in control group and intervention group ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ). The differences of the MMP-9 levels among three groups after 24 h of explosion were statistically significant ( $P < 0.05$ ), and the level of MMP-9 in injury group was higher than that in control group and intervention group ( $P < 0.05$ ). The differences of the MMP-9 levels in injury group between after 4 h and 12 h, 24 h of explosion were statistically significant ( $P < 0.05$ ), and the difference of the MMP-9 level in intervention group between after 4 h and 12 h of explosion was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusions:** Xuebijing plays a protective effect on the acute closed liver injury caused by underwater explosion in rabbits.

**[Key words]** liver injury; underwater explosion; Xuebijing; New Zealand rabbit

近年来各国海上争端不断, 海上局部战争时有发生,

无论在和平环境还是在战争中, 爆炸冲击波致大量人员伤亡时有报道, 肝脏是此类损伤时易受伤的器官之一。在闭合性腹部外伤中急性闭合性肝损伤约占 20%, 仅次于脾破裂和肾损伤, 居第 3 位<sup>[1]</sup>。水下爆炸是特殊条件下尤其是未来战争发生的可能致伤因素之一, 针对水下爆炸当前资料少之又少, 对此有必要进行相关研究。本研究利用中国科学技术大学近代力学的水下爆炸装置进行试验, 对水下爆炸致急性闭合性肝损伤兔早期给予血

**[收稿日期]** 2017-09-30 **[修回日期]** 2018-11-30

**[作者单位]** 中国人民解放军联勤保障部队第 902 医院(原 123 医院)1. 肝胆外科, 2. 机关, 3. 普外科, 4. 检验科, 5. 病理科, 安徽 蚌埠 233010; 6. 中国科学技术大学 近代力学系, 安徽 合肥 230026; 7. 杭州一八二医院 心肺康复医学中心, 浙江 杭州 310007

**[作者简介]** 陆德锟(1983-), 男, 硕士研究生。

**[通信作者]** 黄奕江, 硕士, 硕士研究生导师, 副主任医师。E-mail: hyjalp@163.com

必净治疗,通过监测血清白细胞介素(IL)-6 和基质金属蛋白酶(MMP)-9 变化,探讨血必净对水下爆炸致急性闭合性肝损伤兔 IL-6 和 MMP-9 表达的影响,从而为这种肝损伤的致病机制和临床救治提供有益参考。现作报道。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 健康新西兰兔(雌雄不限)15 只,体质量 1.4~2.0 kg,购于安徽长临河医药科技有限公司,许可证号 syxk(皖)2007-002,实验前新西兰兔均按标准饲养条件饲养 1~2 d。将实验动物随机分为对照组、损伤组和用药组,每组各 5 只。

1.2 试剂 DNM-9602 酶标分析仪(北京普朗);兔 IL-6 ELISA 试剂盒, MMP-9 ELISA 试剂盒,兔丙氨酸氨基转移酶(ALT) ELISA 试剂盒(上海江莱生物科技有限公司,批号:1306-06-5、201601、201602),血必净(天津红日,批号 1603131)。

1.3 爆炸装置 采用 1.0 g 太安炸药制成雷管爆炸装置,爆炸操作全部由专业人员实施<sup>[2]</sup>,爆炸装置为爆炸储水仓、保护装置实物图、安捷伦示波器、水下压力传感器(由中国科学技术大学近代力学系爆炸实验室提供)。

1.4 实验方法 40 mg/kg 氯胺酮和 1.6 mg/kg 氟哌利多于兔臀大肌肌肉注射麻醉<sup>[3]</sup>;备皮[去除上腹部(肋弓上下约 5 cm)及颈部的毛发];颈部消毒,将 2 个 24 G 套管针分别置入左侧颈总动脉,右侧颈外静脉内,并将套管针的尾端妥善固定于兔的颈后(见图 1),便于后从左侧颈内动脉内抽血及通过右侧颈外静脉置管给予血必净或 0.9% 氯化钠注射液。然后将新西兰兔放入保护装置内,固定在封水仓中,仅上腹部外露,紧贴保护装置开窗部位的透明薄膜,其余各处给予相应保护,按照预实验中组织病理及血清转氨酶观察结果,设定合理爆炸剂量、距离进行爆炸试验。爆炸后即刻对兔进行简单救助,解绑,清理呼吸道,注意动物保暖,记录兔精神状态,呼吸、心率、应激反应等情况。对照组不致伤,其他 2 组致伤,用药组兔在爆炸后即刻通过右侧颈外静脉置管给予血必净,血必净用量 50 mL/kg,对照组和损伤组给予同等容积 0.9% 氯化钠注射液,3 组测 0 h、4 h、12 h、24 h 血清 MMP-9、IL-6、ALT 数值,采用 ELISA 试剂盒检测 ALT、IL-6、MMP-9 含量,严格按照说明书进行操作。24 h 全部颈动脉放血处死后取右叶肝脏组织,10% 甲醛固定,石蜡包埋,常规切片,HE 染色后于光镜下观察。

1.5 统计学方法 采用方差分析和  $q$  检验。



图1 颈动静脉置管后的兔

## 2 结果

2.1 病理变化 爆炸后兔裸露的上腹部皮肤可见瘀斑瘀点,皮肤无破损。对照组兔肝脏大体标本表面正常(见图 2A);损伤组兔肝脏包膜完整,肝实质明显充血,色泽暗红,部分有点状出血(见图 2B);用药组兔肝脏包膜完整,肝实质充血较损伤组缓解,色泽变浅(见图 2C)。

镜下观察发现:对照组兔肝脏无明显病理变化(见图 3A);损伤组中兔肝脏出现汇管区扩大,炎细胞浸润,见碎片状坏死,肝窦见中性粒细胞浸润,肝小叶内见点状坏死(较多),窦内皮细胞增生(上述描述均有窦内皮细胞增生),部分区域血管淤血,部分区域见有出血灶(见图 3B);用药组损伤减轻,见轻度血管堵塞及汇管区少量炎细胞浸润(见图 3C)。

2.2 各组不同时间点血清 ALT 水平比较 爆炸前 3 组 ALT 水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ );爆炸后 4 h 时间点各组间 ALT 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),损伤组水平高于对照组( $P < 0.05$ );而 12 h 和 24 h 各组间 ALT 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。3 组爆炸前及之后各时间点间 ALT 水平差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )(见表 1)。

2.3 各组不同时间点血清 IL-6 水平比较 爆炸前 3 组 IL-6 水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ );爆炸后 12 h 各组间 IL-6 水平差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),损伤组水平高于对照组和用药组( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ );而 4 h 和 24 h,各组间 IL-6 水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。3 组爆炸前及之后各时间点 IL-6 水平差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )(见表 2)。

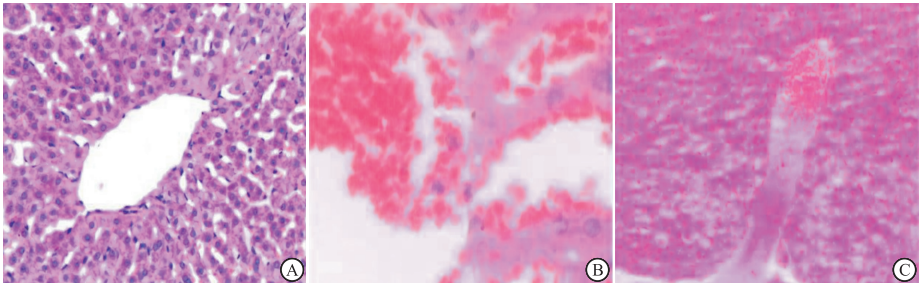
2.4 各组不同时间点血清 MMP-9 水平比较 爆炸前 3 组 MMP-9 水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ );爆炸后 24 h 时各组间 MMP-9 水平差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),损伤组水平高于对照组和用药组( $P < 0.05$ );损伤组爆炸后 4 h 与爆炸后 12 h 和

24 h MMP-9 水平差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 用药组爆炸后 4 h 与爆炸后 12 h MMP-9 水平差异有

统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (见表 3)。



A:对照组; B:损伤组; C:用药组  
图2 各组兔肝脏大体观察



A:对照组; B:损伤组; C:用药组  
图3 各组兔肝脏镜下观察

表 1 各组不同时间点血清 ALT 水平比较 ( $n_i = 5; \bar{x} \pm s; \text{mmol/L}$ )

分组	0 h	4 h	12 h	24 h	F	P	MS <sub>组内</sub>
对照组	50.80 ± 20.00	42.80 ± 7.05	50.40 ± 8.85	47.20 ± 7.82	0.47	>0.05	147.294
损伤组	59.40 ± 10.10	61.40 ± 13.05*	71.20 ± 22.68	78.60 ± 37.73	0.72	>0.05	552.562
用药组	49.00 ± 6.52	51.00 ± 7.17	50.80 ± 5.54	46.40 ± 13.20	0.30	>0.05	74.713
F	0.85	4.80	3.40	3.05	—	—	—
P	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05	—	—	—
MS <sub>组内</sub>	181.507	90.471	207.799	552.982	—	—	—

q 检验:与对照组比较 \*  $P < 0.05$

表 2 各组不同时间点血清 IL-6 水平比较 ( $n_i = 5; \bar{x} \pm s; \text{mmol/L}$ )

分组	0 h	4 h	12 h	24 h	F	P	MS <sub>组内</sub>
对照组	236.20 ± 47.49	205.40 ± 39.66	171.20 ± 44.09	223.40 ± 69.97	1.49	>0.05	2 666.986
损伤组	281.60 ± 95.32	317.60 ± 139.90	400.80 ± 107.51*	250.40 ± 90.87	1.74	>0.05	12 118.417
用药组	219.60 ± 82.90	247.00 ± 76.45	175.40 ± 52.85##	159.60 ± 50.98	1.78	>0.05	4 527.274
F	0.85	1.79	15.88	2.07	—	—	—
P	>0.05	>0.05	<0.01	>0.05	—	—	—
MS <sub>组内</sub>	6 071.204	8 996.509	5 431.817	5 250.706	—	—	—

q 检验:与对照组比较 \*  $P < 0.05$ ; 与损伤组比较## $P < 0.01$

### 3 讨论

水下爆炸冲击波的传播速度相当于同等强度空气中的 3~4 倍,同质量炸药水下爆炸与地面相比,同距离的峰值压力可相差 200 倍左右。肝脏是人体内最大的实质性器官,是腹部遭受创伤时最易受损的器官。ALT 是反映肝损伤时肝细胞损害最直接、

最敏感的指标,肝脏受损可引起肝组织和外周血清中 ALT 浓度的升高。本实验结果表明损伤组伤后 4、12 h ALT 均明显升高,结合损伤组兔肝脏病理结果说明水下爆炸对兔肝脏造成了一定的损伤。

早期炎细胞浸润是继发性肝损伤重要因素,IL-6、MMP-9 是炎症反应中重要的细胞因子,与炎症反应程度密切相关。在早期肝损伤的过程中,有效



表 3 各组不同时间点血清 MMP-9 水平比较 ( $n_i = 5; \bar{x} \pm s; \text{mmol/L}$ )

分组	0 h	4 h	12 h	24 h	F	P	MS <sub>组内</sub>
对照组	12.20 ± 2.17	17.20 ± 4.21	18.00 ± 8.60	19.40 ± 2.61	1.90	>0.05	25.801
损伤组	13.40 ± 4.16	13.80 ± 7.98	28.60 ± 12.82 <sup>Δ</sup>	31.60 ± 11.01 <sup>*Δ</sup>	5.03	<0.05	91.640
用药组	13.20 ± 3.90	7.60 ± 3.13	18.2 ± 5.21 <sup>Δ</sup>	15.4 ± 6.47 <sup>#</sup>	4.29	<0.05	23.503
F	0.17	3.90	2.08	6.29	—	—	—
P	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	—	—	—
MS <sub>组内</sub>	12.408	30.401	88.486	56.631	—	—	—

q 检验:与对照组比较 \*  $P < 0.05$ ;与损伤组比较# $P < 0.05$ ;与 4 h 比较  $\Delta P < 0.05$

控制肝组织炎症反应是治疗的关键。血必净具有活血化瘀、疏通经络、溃散毒邪的作用,可以拮抗内毒素并抑制内源性炎性介质失控释放。创伤性炎症发生时,细菌感染导致机体爆发级联性炎症细胞因子释放,导致包括肝脏在内的多脏器继发性损伤。早期给予血必净可明显减轻炎症反应,增加肝脏解毒能力,减少肝损伤<sup>[4-5]</sup>。临床研究<sup>[6-7]</sup>发现,血必净对急性胰腺炎并发的肝损伤有明显治疗作用。

本研究结果显示,损伤组 IL-6 在爆炸后 12 h 内明显升高,12 ~ 24 h 降低,用药组在 12 h 内就开始下降,并且峰值明显低于损伤组。IL-6 由单核巨噬细胞和成纤维细胞产生,具有强烈的促炎作用,且与炎症反应严重程度正相关<sup>[8]</sup>。IL-6 是肝脏损伤和恢复期间急性期反应的重要调节介质,不仅在损伤和炎症反应期间活化中性粒细胞,而且可以延长巨噬细胞对衰老和功能失调的中性粒细胞的清除,从而增加中性粒细胞的细胞毒性功能而加重组织损伤,甚至可能导致损伤后器官功能失调。当 IL-6 跨信号转导作用被阻滞时,肝损伤严重程度明显升高,而且与肝损伤相关的氧化应激因子也随之上升<sup>[9]</sup>。损伤组 MMP-9 随着时间推移显著升高,用药组在 12 ~ 24 h 内就开始下降,并且峰值明显低于损伤组。MMP-9 是重要的炎症修复因子,其可以产生于正常细胞(如淋巴细胞、内皮细胞等)和肿瘤细胞中,是 MMPs 家族中的重要成员之一<sup>[10]</sup>,正常生理状态下,MMP-9 参与维持细胞外基质(ECM)的动态平衡及组织重构,在组织损伤、愈合和修复过程中起重要作用,除了促进 ECM 的分解,MMP-9 还可以通过裂解血小板-内皮细胞黏附分子-1 和释放血管内皮生长因子以增加血管的渗透性以及参与血管生成<sup>[11-13]</sup>。本研究表明在爆炸后机体内损伤因子在短时间内即大量增加,对机体造成继发性损伤,同时机体内保护性因子逐步增加对机体起到保护作用,在保护因子达到一定数量后,损伤因子开始下降,这也符合一般的损伤原理。爆炸后经血必净干预,用药组 IL-6 在 12 h 内就开始下降,而 MMP-9 在 24 h 内也明显降低,用药组 ALT 在 12 h 也开始明显下

降,与损伤组相比,3 组差异均有统计学意义,说明使用血必净可减少血清 IL-6、MMP-9 和 ALT 的释放,有助于创伤性炎症的好转,对水下爆炸致免急性闭合性肝损伤早期有保护作用。

但本实验动物数量较少,仅观察了伤后 24 h 内的情况,不能完全反映水下爆炸对肝脏损伤的长时间变化规律,有待进一步研究。

#### [参 考 文 献]

- [1] 陈孝平,汪建平. 外科学[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社, 2013:388.
- [2] 万晓智,马宏昊,沈兆武,等. RDX 基铝纤维炸药与铝粉炸药水下爆炸性能比较[J]. 振动与冲击,2014,24(33):129.
- [3] 欧阳毅,夏瓌优,张一辰,等. 三种麻醉方法在兔骨缺损修复术中的比较[J]. 重庆医学,2014,43(11):1348.
- [4] 高凤江,任何菊,张玮曾,等. 血必净注射液对创伤性脓毒症患者血清炎症反应、肝酶及蛋白合成的影响[J]. 临床合理用药,2015,8(2A):93.
- [5] 田小溪,黄长形,曹义战,等. 血必净联合异甘草酸美治疗药物性肝损伤 30 例[J]. 解放军医药杂志,2014,26(1):61.
- [6] 尹岸民. 血必净治疗对急性胰腺炎患者血浆炎症反应细胞因子的影响[J]. 吉林医学,2011,32(24):5047.
- [7] 方雪红,曹钊宏,管来顺. 芒硝外敷联合血必净治疗急性胰腺炎临床疗效观察[J]. 陕西中医,2015,36(8):1039.
- [8] 杨琴,曹军皓,丁进亚,等. 血清降钙素原、白细胞介素 6 和 C 反应蛋白在脓毒症和全身炎症反应综合征鉴别诊断中的意义[J]. 临床军医杂志,2013,41(7):675.
- [9] 侯小飞,高方友. IL-6 跨信号转导作用与其相关疾病的研究进展[J]. 海南医学,2016,27(16):2667.
- [10] 作志远,姜德清,郝占伟. CD147 和基质金属蛋白酶-9 在肝细胞肝癌中的表达与微血管生成的相关性[J]. 蚌埠医学院学报,2015,40(4):450.
- [11] KATO H, KURIYAMA N, DUARTE S, et al. MMP-9 deficiency shelters endothelial PECAM-1 expression and enhances regeneration of steatotic livers after ischemia and reperfusion injury [J]. Hepatol,2014,60(5):1032.
- [12] 王北京,张丹丹,陈志伟,等. MMP-9 与 VEGF 在成人肝血管瘤中的表达及其意义[J]. 东南大学学报(医学版),2014,33(1):66.
- [13] 吴婧婧,顾康生. 小肠腺癌患者中 MMP-9、Ki-67、EGFR 和 VEGF 的表达与临床特征及预后的相关性研究[J]. 安徽医科大学学报,2013,48(6):647.

(本文编辑 刘畅)