

· 实验研究 ·

# 火药爆炸复合烧伤大鼠 BALF 中巨噬细胞 与肺 TNF- $\alpha$ 含量的变化

余又新, 王永杰, 汪昌荣

**【摘要】** 目的: 探讨烟花火药爆炸复合烧伤大鼠支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中巨噬细胞 (PAM) 计数及肺组织肿瘤坏死因子  $\alpha$  含量的变化。方法: Wistar 大鼠 96 只, 随机分为正常对照组 (n=6)、烧伤组 (n=30)、爆炸伤组 (n=30) 和复合伤组 (n=30), 分别致伤形成大鼠 20% 体表面积 III 度烧伤、火药爆炸伤及两者复合伤。动态观察大鼠伤后 1、3、6、12、24 小时肺组织肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 含量, 支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中 PAM 计数变化。结果: 复合伤组较单因素致伤组大鼠 BALF 中 PAM 分类计数增高明显, 肺组织 TNF- $\alpha$  呈类似变化。PAM 计数与 TNF- $\alpha$  有相关性。结论: 烟花火药爆炸复合烧伤对大鼠肺脏的损伤较单纯烧伤或爆炸伤更为严重, 提示后两者有协同致伤作用; 巨噬细胞的激活起启动作用, 释放大量的细胞因子、炎症介质, 可能是烟花爆炸复合烧伤肺脏继发性损伤的重要机制之一。

**【关键词】** 烟花火药; 爆炸伤; 烧伤; 复合伤; 肺冲击伤

**【中图分类号】** R644 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1001-0726 (2003) 02-0083-04

**Changes in macrophage count in the BALF and TNF- $\alpha$  content in the lung of rats with complex burn caused by gunpowder explosion** YU You-Xin, WANG Yong-Jie, WANG Chang-Rong, The 1<sup>st</sup> Affiliated Hospital, Anhui Medical University, Hefei, Anhui Province 230022, China

**【Abstract】 Objective:** To investigate changes in macrophage count in the BALF and TNF- $\alpha$  content in the lung of rats with complex burn caused by gunpowder explosion. **Method:** 96 Wistar rats were divided into 4 groups. 6 in normal control group, 30 in simple burn group, 30 in explosion injury group and 30 in complex burn group caused by gunpowder explosion. The rats were respectively injured to 20% BSA third degree burn, gunpowder explosion injury and complex burn with explosion injury and thermal injury. Dynamic observations were done at 1, 3, 6, 12, and 24 hours post injury on the changes in macrophage count in the BALF and TNF- $\alpha$  content in the lung. **Results:** The increase in the count of macrophage in BALF of rats in complex burn group was significantly more than that in the other groups and the change in the content of TNF- $\alpha$  in lung was correlated to the change in macrophage count. **Conclusion:** Fireworks and gunpowder explosion complex burn injury was more serious than simple burn injury. Macrophages were activated to promote release of large amount of cellular factors and inflammation transmitters, which may probably be one of the main causes of the secondary lung injury.

**【Key words】** Fireworks gunpowder; explosion injury; burn; complex injury, lung impact injury.

**【CLC number】** R644 **【Document code】** A **【Article ID】** 1001-0726 (2003) 02-0083-04

烟花火药爆炸复合烧伤是既有热力烧伤又有火药成分中毒、气浪冲击等所致的复合性损伤。在烟花火药的生产过程中, 屡有爆炸事故发生, 患者通常烧伤面积大, 且伤情复杂, 临床治疗难度大、病死率高<sup>[1]</sup>。肺脏是冲击伤最易受损的靶

器官之一<sup>[2]</sup>。同时又是严重烧伤早期最易受到损伤的器官<sup>[3]</sup>。因此, 本实验通过对火药爆炸伤、烧伤及火药爆炸复合烧伤进行对比研究, 初步探讨巨噬细胞和 TNF- $\alpha$  在火药爆炸复合烧伤进行对比研究, 初步探讨巨噬细胞和 TNF- $\alpha$  在火药爆炸

**【作者单位】** 安徽医科大学第一附属医院, 安徽 合肥 230022



复合烧伤致伤机制中的作用。

## 一、材料与方法

1. **实验动物与分组** 健康成年Wistar大鼠(由安徽医科大学实验动物中心提供)96只, 体重 $205 \pm 20$ g, 雌雄不拘, 随机分为以下几组: 正常对照组(n=6)、烧伤组(n=30)、烟花火药爆炸伤组(n=30, 简称爆炸伤组)和烟花火药爆炸复合烧伤组(n=30, 简称复合伤组)。其中, 烧伤组、爆炸伤组和复合伤组又分为伤后1、3、6、12、24小时五个时相点, 每个时相点均为6只动物。

2. **实验方法**: 按有关文献介绍的方法<sup>[4]</sup>, 动物称重后, 以1%戊巴比妥钠40mg/kg行腹腔内麻醉, 背部剪毛。各组动物分别按以下方法处理。烧伤组: 按公式 $S=K \cdot W^{2/3}$  ( $K=9.0$ ,  $S$ 单位 $\text{cm}^2$ ,  $W$ 单位g)计算出大鼠总体表面积(烧伤面积=总体面积 $\times 20\%$ )。用开孔石棉布覆盖大鼠背部以屏蔽未烧伤部位, 石棉布孔的面积等于烧伤面积, 参照文献<sup>[5]</sup>。选用5KW溴钨作为强光源, 预热20秒后, 以距光源98cm的距离照射麻醉状态下的大鼠15秒, 造成20%体表面积度III烧伤(病理切片证实)。伤后立即按40ml/kg腹腔注射平衡盐液复苏。爆炸伤组: 在钢板特制密闭铁屋(规格:1.2m $\times$ 1.5m $\times$ 1.5m)中心放置一10g烟花火药(成分: 氯酸钾43%, 硫磺17%, 铝银粉30%)制成的统一规格爆竹为点爆炸源, 大鼠右侧朝向爆源放置, 以距爆源25cm距离爆炸致伤, 并以相同距离安放同步传感测压探头记录主要致伤参数, 超压峰值 $128.6 \pm 21.4$ (kpa), 正压作用时间 $210 \pm 42$ (us), 压力上升时间 $12.6 \pm 3.4$ (us)。复苏方

法同烧伤组。复合伤组: 烧伤后立即爆炸致伤并复苏, 致伤及复苏方法同上。正常对照组仅进行复苏处理。各组动物分别在规定时相点参照文献方法<sup>[5]</sup>追加适量麻醉药物, 固定, 开胸探索钝性分离出全肺。取右肺尖叶约0.15g组织称重后。置含有250mmol/L蔗糖, 10mmol/L咪唑-HCL (PH7.4)的4℃介质中反复洗涤, 滤纸吸干后加入4℃生理盐水, 用眼科小剪刀尽快剪成碎组织块, 用内切式组织匀浆机加工3分钟, 制成10%组织匀浆, 3000转/分离心20分钟, 留取上清液, -70℃保存。其余肺叶用于肺泡灌洗, 从气管插入灌洗用粗针头, 用4℃生理盐水10ml按4ml、3ml、3ml量分三次灌入, 每次灌入后, 轻轻按摩肺叶约0.5分钟后抽出灌洗液, 经双层纱布过滤后收集于内壁涂硅的小玻璃烧杯, 总回收率70%~80%。TNF- $\alpha$ 采用放射免疫法测定。试剂盒由北京北方生物技术研究所提供, 严格按说明书操作。所测定TNF- $\alpha$ 含量用 $\text{fmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}$ 表示。支气管肺泡灌洗液(BALF)中PAM计数变化参照文献<sup>[6, 7]</sup>介绍的方法从白细胞总数和百分率中计算出PAM的绝对值。数据处理采用单因素方差分析法, 以 $P < 0.05$ 作为显著性检验标准。

## 二、结果

复合伤组伤后1小时BALF中PAM计数即明显高于正常, 3小时达高峰, 之后持续处于高水平。烧伤组和冲击伤组伤后3小时升高并达高峰, 之后逐渐下降, 致伤后24小时与正常差异已不明显(见表1及图1)。

表1 BALF中PAM细胞记数(单位:  $\times 10^8/\text{L}$ ,  $\bar{X} \pm s, n=6$ )

组别	伤 后 时 间 (小时)				
	1	3	6	12	24
对照组	$1.03 \pm 0.09$	$1.03 \pm 0.09$	$1.03 \pm 0.09$	$1.03 \pm 0.09$	$1.03 \pm 0.09$
烧伤组	$1.10 \pm 0.12 \Delta$	$1.56 \pm 0.33^* \Delta$	$1.54 \pm 0.19^* \Delta$	$1.24 \pm 0.37 \Delta$	$1.16 \pm 0.22 \Delta$
爆炸伤组	$1.03 \pm 0.21 \Delta$	$1.65 \pm 0.33^*$	$1.30 \pm 0.09^* \Delta$	$1.22 \pm 0.08^* \Delta$	$1.10 \pm 0.10 \Delta$
复合伤组	$1.78 \pm 0.37^*$	$1.89 \pm 0.35^*$	$1.70 \pm 0.38^*$	$1.78 \pm 0.33^*$	$1.71 \pm 0.30^*$

注: 各时间段与正常对照比较,  $*P < 0.05$ ; 同时间段与复合伤组比较,  $\Delta P < 0.05$

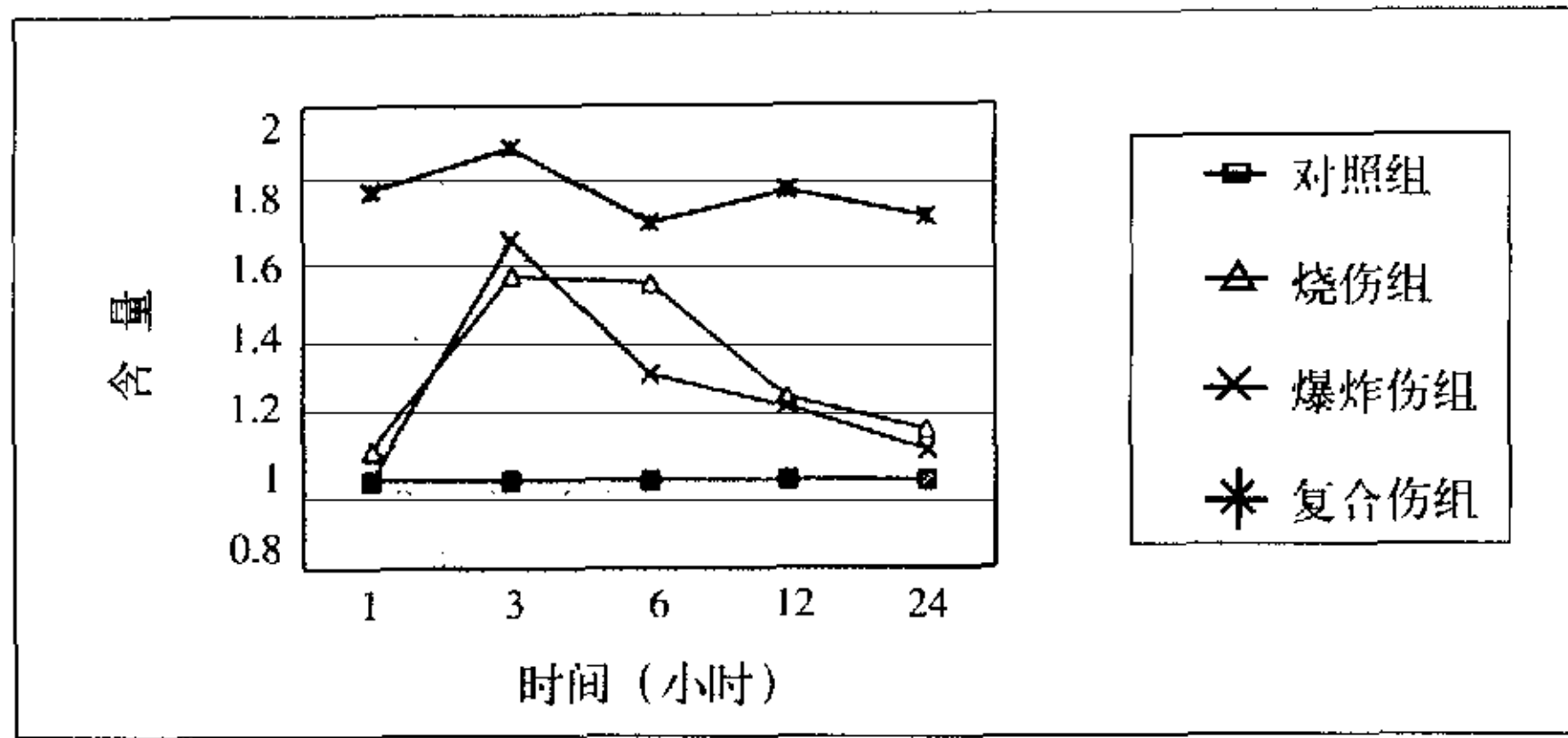


图1 BALF中RAM细胞记数

复合伤组伤后1小时TNF-α含量即明显升高,6小时达高峰,24小时仍高于正常,烧伤组和爆炸伤组伤后3小时升高,6小时达高峰,同

一时间段组间比较,部分时段,复合组较烧伤组或爆炸伤组为高,差异有显著性。见表2及图2。

表2 肺组织肿瘤坏死因子(TNF-α)含量(单位: fmol·g<sup>-1</sup>prot, X ± s, n=6)

组别	伤后时间(小时)				
	1	3	6	12	24
对照组	19.62 ± 1.84	19.62 ± 1.84	19.62 ± 1.84	19.62 ± 1.84	19.62 ± 1.84
烧伤组	18.72 ± 3.33 △	25.95 ± 3.34* △	29.94 ± 2.26* △	24.10 ± 3.52 △	23.64 ± 4.25 △
爆炸伤组	22.37 ± 3.83	25.36 ± 3.68* △	27.63 ± 2.45* △	27.53 ± 3.21*	20.59 ± 3.72
复合伤组	25.81 ± 3.07*	31.82 ± 3.70*	40.65 ± 4.90*	30.04 ± 3.08*	25.54 ± 3.51*

注:各时间段与正常对照比较, \*P<0.05; 同时间段与复合伤组比较, △P<0.05

经相关性分析, BALF中PAM含量与肺组织TNF-α含量明显相关。

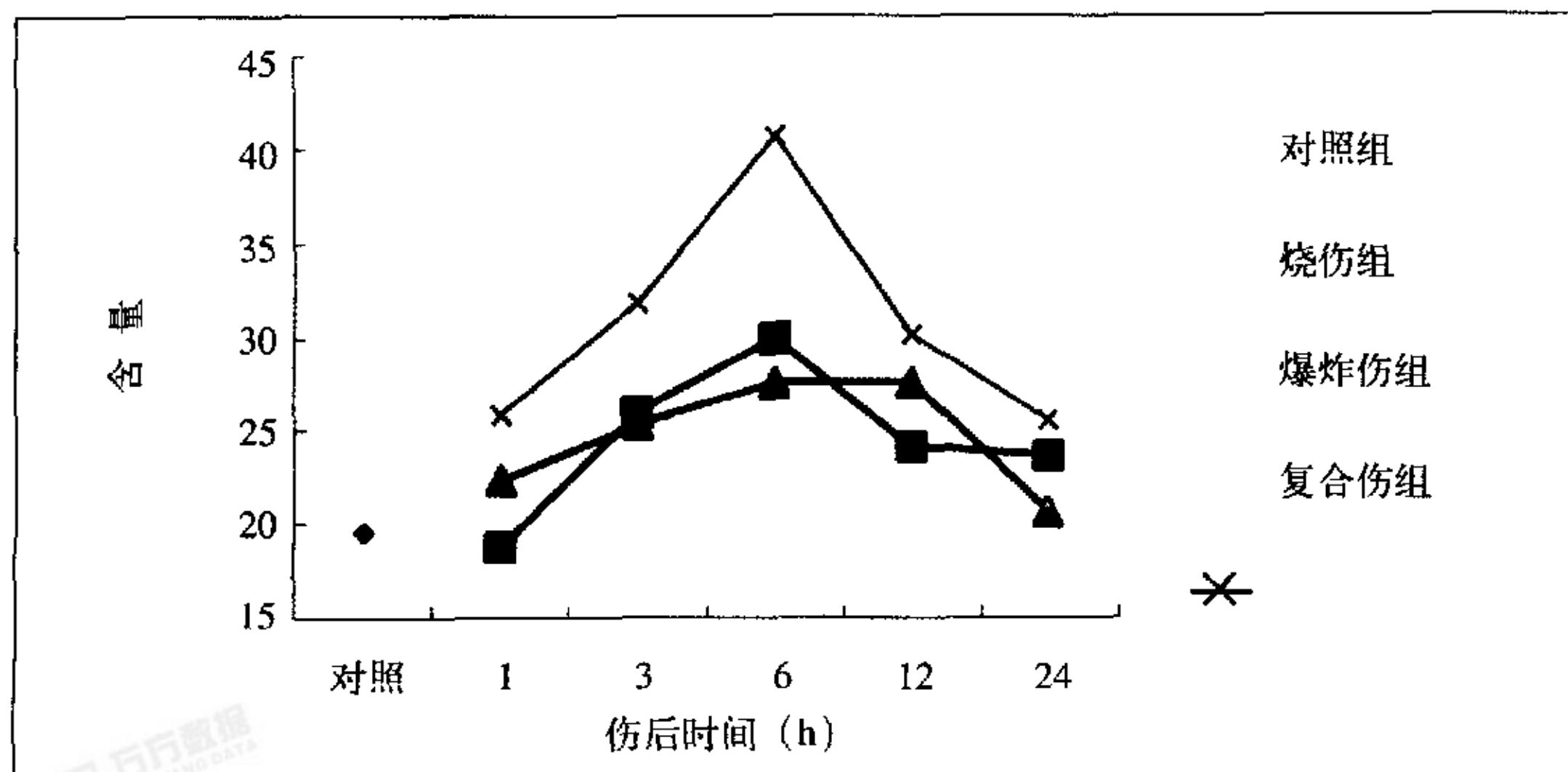


图2 肺组织肿瘤坏死因子(TNF-α)含量



### 三、讨论

烟花火药爆炸伤的特点不同于一般烧伤,它既有热力烧伤、气浪冲击,又有吸入性损伤、火药成分中毒等所致的复合性损伤。在本实验条件下,由于爆炸后即时取出动物,故吸入性损伤所占影响因素不大,爆炸冲击波和烧伤可能是对肺脏损伤的主要致伤因素。

巨噬细胞是肺部防御病原微生物的第一道防线。正常大鼠BALF中的80%、90%细胞是PAM。巨噬细胞是非特异性免疫防御屏障中的重要效应细胞,发挥非特异性吞噬作用,杀伤靶细胞,产生一些炎性介质,活化凝血系统,使局部凝血而造成局部组织缺血<sup>[8]</sup>。

TNF- $\alpha$ 参与肺部损伤的机制比较复杂,目前认为主要有以下几点<sup>[9,10]</sup>: ①以自分泌形式激活单核巨噬细胞进一步释放细胞因子和炎性介质; ②与肺组织TNF- $\alpha$ 受体结合,溶酶体受损,酶外泄引起肺损伤; ③直接作用于肺血管内皮细胞,破坏其完整性,诱生或上调血管内皮细胞膜表面粘附分子,改变内皮细胞抗凝特性,促进血栓形成; ④TNF- $\alpha$ 通过直接和间接途径动员、趋化并激活PMN,后者进一步释放细胞因子和炎性介质,形成逐级放大的瀑布样连锁反应。

本实验观察到烧冲复合伤后1小时BALF中PAM即明显升高,PAM增高的来源可能是肺间质巨噬细胞和肺血管内巨噬细胞活化后游出增加所致。TNF- $\alpha$ 主要由单核巨噬细胞系统产生,在PAM明显升高后,TNF- $\alpha$ 的含量亦明显增高,并具有相关性。烧伤组和冲击伤组PAM和TNF- $\alpha$ 的含量同复合伤组比较差异有显著性,提示PAM激活受创伤程度影响。本研究与杨军民等报道<sup>[11]</sup>的烧冲复合伤研究相一致。烧伤和冲击伤有协同作用,复合伤所致肺泡PAM及肺组织TNF- $\alpha$ 增高程度明显大于单一伤。当临床遇到爆竹火药炸伤时,即使未发现明显外伤合并,亦应加以重视,防止对伤情估计不足。

### 参考文献

[1] 汪昌荣,陈旭林.40例火药爆炸烧伤死因分析

[j].安徽医科大学学报,1999,34(5):396-397.

[2] Nabil M Elsayed.Toxicology of blast overpressure. Toxicology, 1997, 121 (1): 1-15.

[3] 方勇,陈玉林,葛绳德.严重烧伤早期肺组织内中性粒细胞粘附扣留的实验.国外医学.[j].创伤与外科基本问题分册,2000,21(2):107-109.

[4] 陈发明.烧烫伤动物模型的研制[M].见黎鳌主编.实验烧伤外科学.第一版,重庆:重庆大学出版社,1997.39-40.

[5] 朱佩芳.烧伤实验动物方法学[M].见黎鳌主编.烧伤治疗学.第二版,北京:人民卫生出版社,1999.650-657.

[6] 王燕如,罗正曜.热休克反应对大鼠油酸肺的保护作用[J].湖南医科大学学报,1992,17(4):337-339.

[7] 支气管肺泡灌洗液及灌洗液的细胞计数分类技术规范[J].中华结核和呼吸杂志,1994,17(1):10.

[8] 王建民,王正国,朱佩芳,等.爆炸冲击波对肺微血管内皮细胞损伤作用的病理学观察[J].微循环,2001,11(3):4-6.

[9] 周继红,朱佩芳,刘怀林,等.大鼠烧冲复合伤后PAM和PMN呼吸爆发功能及循环内皮细胞变化[J].第三军医大学学报,1994,16(1):61-62.

[10] Tosi MF, Stark JM, Wane C. Induction of ICAM-1 expression on human airways epithelial by inflammatory cytokines: Effects on neutrophil adhesion. Am J Respir, 1992, 7: 214.

[11] 杨军民,周继红,朱佩芳.肺泡巨噬细胞在烧冲复合伤后肺损伤中作用[J].中华创伤杂志,1993,9(4):213-215.

### 【作者简介】

余又新(1974-),男(汉族),合肥市人,安徽医科大学医疗系毕业,主治医师。

王永杰(1962-),男(汉族),合肥市人,安徽医科大学医疗系毕业,副主任,副主任医师。

汪昌荣(1947-),男(汉族),合肥市人,安徽医科大学医疗系毕业,主任,主任医师。

(收稿日期:2003-01-14)