

· 论 著 ·

海水浸泡状态下新西兰兔肠管枪弹伤模型的建立

林双¹, 张再重¹, 肖春红¹, 鲁阳春¹, 祁亚峰¹, 王瑜¹, 王烈¹,
赖国祥², 卢敬飞³, 盛天金³, 林晓城³, 林灯述³

1. 南京军区福州总医院 (厦门大学附属东方医院) 普通外科, 福建 福州 350025;
2. 南京军区福州总医院 (厦门大学附属东方医院) 呼吸科, 福建 福州 350025;
3. 南京军区福州总医院第二附属医院, 福建 宁德 352101

摘要: **目的** 探讨濒海实地环境下建立稳定、可重复的海水浸泡状态下兔肠管枪弹伤动物模型。**方法** 濒海实地环境下, 30 只新西兰兔随机分为海水浸泡状态下预热型实验用气步枪 (专利号: ZL201420403237. X) 致肠管枪弹伤组 (气步枪组, $n = 15$)、海水浸泡状态下 54 式手枪致肠管枪弹伤组 (手枪组, $n = 15$)。将兔麻醉后以 45° 仰卧位固定于自制支架, 浸泡于海水后, 在距离 0.5 m 处分别用预热型实验用气步枪、54 式手枪射击左麦氏点, 然后在 30、60、120、240 min, 分别比较两组动物外周血白细胞计数及 C-反应蛋白 (CRP) 水平的变化; 在海水中观察 30 min 后, 行剖腹探查术, 统计两组动物 24 h 后存活率。**结果** 除第 30 min 外, 在 60、120、240 min 各时间点, 两组外周血白细胞计数及 CRP 水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。气步枪组可见肠系膜血管损伤 1 只; 手枪组可见肝脏损伤 1 只、脾脏损伤 3 只、肠系膜血管损伤 6 只, 且肠系膜血管损伤较气步枪组严重。病理检查结果显示, 气步枪组动物肠管破裂处炎症细胞浸润严重。伤后 24 h 气步枪组死亡 4 只, 手枪组死亡 10 只, 气步枪组伤后 24 h 存活率明显高于手枪组 (73.3% vs 33.3%, $P < 0.05$)。**结论** 预热型实验用气步枪致海水浸泡状态下新西兰兔肠管枪弹伤动物模型稳定、可重复, 可为海水中肠管枪弹伤的术式研究及早期救治提供研究基础。

关键词: 濒海实地; 海水浸泡; 肠管; 枪弹伤; 模型; 新西兰兔

中图分类号: R-332 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2017)01-0015-03

Establishment of New Zealand rabbits intestinal gunshot wound model under the condition of seawater immersion

LIN Shuang*, ZHANG Zai-zhong, XIAO Chun-hong, LU Yang-chun, QI Ya-feng, WANG Yu, WANG Lie, LAI Guo-xiang, LU Jing-fei, SHENG Tian-jin, LIN Xiao-cheng, LIN Deng-shu

* Department of General Surgery, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command (East Hospital Affiliated to Xiamen University), Fuzhou, Fujian 350025, China

Corresponding author: LU Jing-fei, E-mail: fzptwk@163.com

Abstract: Objective To establish stable and repeatable animal models of rabbit intestinal gunshot wound immersed in seawater. **Methods** Simulating littoral field environment, 30 New Zealand rabbits were selected to establish rabbit intestinal gunshot wound models under the condition of seawater immersion. The rabbits were divided into two groups ($n = 15$ each): air rifle group [using preheating air rifle (patent number: ZL201420403237. X) for modeling] and pistol group (using pistol for modeling). Modeling methods were as follows: after intravenous anesthesia, the rabbits were fixed to the self made bracket at supine position of 45° angle and soaked in seawater, and then the preheating air rifle (air rifle group) or the type 54 pistol (pistol group) was used to shoot the rabbit's left McBurney's point at a distance of 0.5 m to the rabbit. At 30-, 60-, 120- and 240- minute after successful modeling, leukocyte count and C-reactive protein (CRP) levels in peripheral blood in two groups were compared. After soaking in seawater for 30 minutes, exploratory laparoscopy was performed to observe organ injury situation. The 24-hour survival rates were compared between two groups. **Results** There were no significant difference of leukocyte count and CRP level in peripheral blood in two groups at 60-, 120- and 240-min (all $P > 0.05$) except 30-min. In air rifle group, the mesenteric vascular injury was found in 1 rabbit, while in pistol group,

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2017.01.004

基金项目: 全军后勤部科研项目 (CNJ15J004, CNJ16J005); 南京军区医学科技创新项目 (13ZX29, 14ZX25); 福建省科技厅军民共建 (社发) 项目 (2014Y5006)

通讯作者: 卢敬飞, E-mail: fzptwk@163.com

liver injury was found in 1 rabbit; spleen injury was found in 3 rabbits; mesenteric vascular injury was found in 6 rabbits with more severe degree than that in air rifle group. Pathological examination results demonstrated that severe inflammatory cell infiltration in the place of intestinal rupture was found in air rifle group. At 24-hour after gunshot wound, 4 rabbits died in air rifle group, while 10 rabbits died in pistol group, and the 24-hour survival rate in air rifle group was significantly higher than that in pistol group (73.3% vs 33.3%, $P < 0.05$). **Conclusions** The intestinal gunshot wound model of New Zealand rabbit under the condition of seawater immersion prepared with preheating air rifle for the experiment is stable and repeatable, and this could provide a basis for the operative method research and early treatment of intestinal gunshot wound immersed in seawater.

Key words: Littoral field; Seawater immersion; Enteric canal; Gunshot wound; Model; New Zealand rabbit

腹部枪弹伤具有内脏损伤率高、出血性休克率高、感染率高、多器官功能障碍综合征 (MODS) 发生率高、死亡率高“五高”特点, 历次战争中腹部战伤约占伤员总数的 5% ~ 8%^[1-2]。海水的特点是导热快、呈碱性和高渗, 对伤员整个机体及火器伤局部的影响都比较严重^[3-4]。关于濒海实地海水浸泡状态下肠管枪弹伤动物模型鲜有报道。本实验在濒海实地环境下, 建立海水浸泡状态下新西兰兔肠管枪弹伤动物模型, 以期为深入开展海水浸泡下肠管枪弹伤研究提供基础条件。

1 材料与方法

1.1 实验地点及条件 实验地点为福建宁德三都海域。该海域海水理化指标为: 比重为 1.05 ~ 1.06, 渗透浓度为 717.0 mmol/L, Na^+ 为 320.0 mmol/L, Cl^- 为 383.0 mmol/L, K^+ 为 8.2 mmol/L。实验时海面平均温度为 28 °C (9 月份), 海水平均温度为 25 °C, 空气湿度为 85% ~ 90%。

1.2 实验动物及分组 健康成年雄性新西兰兔 30 只, 体重 2.5 ~ 3.5 kg, 由南京军区福州总医院比较医学科提供, 实验动物许可证编号为 SCXK (沪) 2012-0011。按随机数表法将新西兰兔随机分为 2 组, 分别为海水浸泡状态下预热型实验用气步枪 (专利号: ZL201420403237. X)^[5] 致肠管枪弹伤组 (气步枪组), 海水浸泡状态下 54 式手枪致肠管枪弹伤组 (手枪组), 各 15 只。

1.3 枪械参数 军用 54 式手枪、预热型实验用气步枪参数见表 1。

1.4 动物模型的制备 实验前 12 h 禁食, 采用 3% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 静脉麻醉, 麻醉后将新西兰兔以 45° 仰卧位将四肢固定于支架上, 完全暴露腹部, 标记左下腹反麦氏点。气步枪组、手枪组: 浸泡于海水中, 浸泡平面达剑突, 在距离 0.5 m 处分别用预热型实验用气步枪、54 式手枪射击左麦氏点, 在海水中浸泡 30 min 后打捞出水。

1.5 观察指标 两组动物建模成功后 30、60、120、

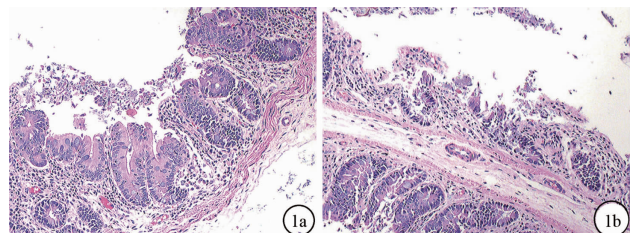
240 min, 分别于兔耳缘静脉抽取外周静脉血 1 ml, 注入血常规试管, 4 °C 保存, 60 min 内送检。应用 Cell-PYN Sapphire 全自动血细胞分析仪自动进行兔外周静脉血中白细胞计数。采用动态定时散射比浊法, 应用 BN II 特种蛋白分析仪及 C-反应蛋白 (CRP) 试剂盒自动检测兔外周静脉血中 CRP 含量。行剖腹探查术后统计脏器损伤情况、比较两组动物肠管穿孔数目及是否合并其他脏器损伤。穿孔处肠管均作病理学检查。统计两组动物 24 h 存活率、生存时间。

1.6 统计学方法 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析。定量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; 定性资料用频数和 (%) 表示, 组间比较采用确切概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组动物外周血白细胞计数和 CRP 水平比较 在 30 min 时, 外周血白细胞计数及 CRP 水平手枪组明显高于气步枪组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。在 60、120、240 min, 两组外周血白细胞计数及 CRP 水平差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05)。见表 2、3。

2.2 剖腹探查 气步枪组探查可见原发伤道区多发小肠穿孔破裂 0 ~ 5 处, 结肠 0 ~ 3 处穿孔或破裂, 表面附有粪便等肠内容物或伴有血肿, 穿孔肠壁外翻, 伴有或不伴有小肠边缘系膜破裂, 见 1 只肠系膜血管损伤, 余未见明显实质脏器损伤, 腹腔内有约 10 ~ 50 ml 淡黄色、淡红色至红色血性腹水, 进行性出血少见。手枪组可见肝脏损伤 1 只, 脾脏损伤 3 只, 肠系膜血管损伤 6 只, 可见腹腔活动性出血, 腹腔渗出



注: 1a: 气步枪组; 1b: 手枪组。

图 1 两组动物损伤肠管光镜下所见 (HE 染色, $\times 100$)

表 1 实验用枪械参数

| 枪支 | 子弹直径 | 初速度 | 弹丸重量 | 射击距离 |
|-----------|------|---------|------|------|
| | (mm) | (m/s) | (g) | (m) |
| 军用 54 式手枪 | 7.62 | 430~435 | 5.5 | 0.5 |
| 预热型实验用气步枪 | 5.80 | 130~150 | 4.5 | 0.5 |

表 2 两组动物白细胞计数比较 ($\times 10^9/L, n = 15, \bar{x} \pm s$)

| 组别 | 30 min | 60 min | 120 min | 240 min |
|------|-------------------|------------------|------------------|------------------|
| 气步枪组 | 10.75 \pm 2.20* | 14.87 \pm 3.01 | 15.97 \pm 3.41 | 17.01 \pm 4.33 |
| 手枪组 | 14.90 \pm 2.28 | 15.95 \pm 3.11 | 16.87 \pm 3.55 | 18.05 \pm 5.45 |

注:与手枪组比较, * $P < 0.05$ 。

表 3 两组动物 CRP 水平比较 (mg/L, $n = 15, \bar{x} \pm s$)

| 组别 | 30 min | 60 min | 120 min | 240 min |
|------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| 气步枪组 | 7.58 \pm 1.42* | 27.11 \pm 5.45 | 37.34 \pm 6.45 | 57.58 \pm 8.55 |
| 手枪组 | 20.18 \pm 2.45 | 30.58 \pm 6.45 | 42.38 \pm 6.95 | 62.58 \pm 10.05 |

注:与手枪组比较, * $P < 0.01$ 。

表 4 两组动物结肠、小肠的肠穿孔数比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 只数 | 小肠穿孔数 | 结肠穿孔数 |
|------|----|----------------|----------------|
| 气步枪组 | 15 | 2.7 \pm 0.30 | 1.4 \pm 0.31 |
| 手枪组 | 15 | 2.9 \pm 0.38 | 1.5 \pm 0.31 |

相对较多,颜色呈淡黄色、淡红色,腹膜炎较重。两组结肠、小肠的肠穿孔数差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。见表 4。

2.3 病理改变 气步枪组动物光镜下肠管破裂处部分肠管黏膜脱落、变性,肌层水肿伴中性粒细胞浸润(图 1a)。手枪组动物光镜下肠管破裂穿孔处黏膜糜烂,上皮脱落、变性、坏死,肌层可见部分肌纤维断裂坏死,大量中性粒细胞浸润,黏膜下层充血明显,浆膜层充血水肿明显(图 1b)。

2.4 伤后 24 h 存活率 伤后 24 h 气步枪组死亡 4 只;手枪组死亡 10 只。伤后 24 h 存活率气步枪组明显高于手枪组(73.3% vs 33.3%, $P < 0.05$)。

3 讨论

建立濒海实地海水中肠管枪弹伤新西兰兔动物模型,并探讨该模型的致伤机理及早期死亡原因,将有助于提高对海水中肠管枪弹伤的认识和早期救治水平^[5]。王鹏飞等^[6]在严重腹部贯通伤致多发肠管损伤合并“致死三联征”模型的建立研究中,将 6 只种猪麻醉后用模拟枪击腹部 1 次,结果至模型建立完成时 1 只动物死亡;5 只生存动物均表现为典型的创伤失血性休克。此建模动物为猪,优点在于体积较大,腹部结构与人的解剖有相似之处,但不足之处在于其价格昂贵,且不利于搬运,不适宜进行大样本死亡率的研究。新西兰兔具有搬运方便、价格低廉且适宜进行大样本死亡率研究的优点,故本实验采用其作为动物模型。本研究中在左麦氏点定点射击模拟伤

员正面枪弹伤,可减少实质脏器及腹主动脉等大血管的损伤,100% 发生肠管穿透。两个实验组肠管穿透数目无统计学差异,但气步枪组肠系膜血管损伤 1 只,死亡 4 只。手枪组并发肝脏损伤 1 只,脾脏损伤 3 只,肠系膜血管损伤 6 只,死亡 10 只。因此预热型实验用气步枪射击新西兰兔所致肠管枪弹伤合并海水浸泡组具有较高的可重复性和成功率,便于开展进一步的实验研究。

本实验结果表明,气步枪组动物死亡率 26.7%,这可能与海水浸泡加重了腹部致伤组织的继发性损伤和坏死有关,海水进入体腔不仅对脏器有压迫、损伤作用,并可引起高渗性脱水。海水浸泡加剧了浸泡组织的过度炎症反应,进而启动脂质过氧化反应,是造成组织继发损伤加重的重要原因^[7-10],该组所致的小肠和结肠穿孔数目与手枪组相当,且该组所致实质性脏器损伤少,因活动性出血致死动物少。因此,预热型实验用气步枪所致的肠管枪弹伤合并海水浸泡新西兰兔模型稳定、可重复,有利于探讨肠管枪弹伤合并海水浸泡伤中肠管多发穿孔的救治研究。

参考文献

- [1] 岳茂兴,李学彪.腹部严重复杂性枪弹伤 3 例[J].人民军医,1996(11):7-8.
- [2] 岳茂兴.腹部枪弹伤的救治现状与展望[J].创伤外科杂志,2000,2(2):124-125.
- [3] Koch T, Neuhof H, Kohler P, et al. Effect of hypertonic NaCl-starch-solution on oedema of different pathogenesis[J]. Acta Anaesthesiol Scand, 1994, 38(2):104-109.
- [4] Daniels NA. Vibrio parahaemolyticus infections in the United States, 1973-1998[J]. J Infect Dis, 2000, 181(5):1661-1666.
- [5] 陈少全,王烈,邹忠东.预热型实验用气步枪:中国, ZL201420403237. X[P]. 2014-07-21.
- [6] 王鹏飞,毛琦,李幼生,等.严重腹部贯通伤致多发肠管损伤合并“致死三联征”模型的建立[J].解放军医学杂志,2011,36(3):293-296.
- [7] Hu XH, Duan YY, Li M, et al. Early responses of VEGF during acute lung injury induced by seawater immersion after open chest trauma[J]. Respiration, 2010, 79(6):490-496.
- [8] Liu P, Peng XL, Liu JC, et al. Surgical treatment for rabbits' femoral arteries subjected to gunshot wounds combining with seawater immersion[J]. Chin J Traumatol, 2005, 8(5):311-316.
- [9] Lu SM, Liu JC, Shi CH, et al. Effects of seawater immersion on the functions of mitochondria of myocardium and hepatocyte in hemorrhagic shock rats[J]. Chin J Traumatol, 2006, 9(1):38-42.
- [10] Yan H, Lai XN, Ge HJ. Comparative study on effects of burn-blast combined injury and burn-firearm combined injury complicated with seawater immersion on vascular endothelial cells[J]. Chin J Traumatol, 2005, 8(3):147-150.