

# 3% 双氧水灌注实验兔股骨髓腔对其心肺功能的影响

王鸣, 朱喆辰, 姚刚

南京医科大学第一附属医院整形烧伤科, 江苏 南京 210029

**摘要:** **目的** 研究在密闭环境下灌注 3% 双氧水至实验兔股骨髓腔对肺动脉压和心、肺组织的影响。**方法** 将 50 只新西兰大白兔随机分为 10 组, 每组 5 只, 其中实验组按灌注 3% 双氧水的压力不同(20、80、140、200、260 mm Hg) 分为 5 组, 对照组按灌注无菌生理盐水的压力不同(20、80、140、200、260 mm Hg) 也相应分为 5 组。在灌注过程中持续动态监测肺动脉压的变化, 灌注 40 min 后切开心脏, 观察心脏各心房、心室内病理变化, 并切取双侧肺, 进行病理切片检查。**结果** 灌注 3% 双氧水的实验组与灌注无菌生理盐水的对照组相比, 在不同灌注压力时均出现肺动脉压的升高; 实验组肺动脉压峰值随灌注 3% 双氧水压力的升高而升高, 肺动脉压峰值出现的时间也随之前移, 随后出现的平稳肺动脉压也较灌注前低。对照组不同灌注压下的变化相对平缓, 无明显波动。当灌注 3% 双氧水压力为 260 mm Hg 时, 可听见大量肺泡破裂声, 继而实验动物由于心跳骤停而死亡。肺部病理检查发现, 与对照组相比, 实验组会出现不同程度的肺间质水肿及肺泡腔和肺静脉扩张。**结论** 在密闭环境中用一定压力灌注 3% 双氧水可引起实验动物心、肺功能的变化, 当灌注压力较高时可造成肺泡腔破裂以及心跳骤停等, 继而发生实验动物死亡。结合临床相关不良反应的报道, 提示双氧水在使用过程中具有潜在危险性。

**关键词:** 3% 双氧水; 密闭环境; 肺动脉压; 氧气气泡; 潜在危险性

**中图分类号:** R-33 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2018)10-1356-05

## Effects of 3% hydrogen peroxide irrigation in cavitas medullaris of femur on cardiorespiratory function in a rabbit model

WANG Ming, ZHU Zhe-chen, YAO Gang

Department of Plastic and Burn Surgery, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210029, China

Corresponding author: YAO Gang, E-mail: yaogang2005@hotmail.com

**Abstract: Objective** To study the variation of pulmonary arterial pressure and the pathological changes of the heart and lung tissues during infusing 3% hydrogen peroxide into femur cavitas medullaris of experimental rabbits in hermetic circumstance. **Methods** The total 50 New Zealand white rabbits were randomly assigned into ten groups ( $n=5$ , each), including five experimental groups of A1, A2, A3, A4 and A5 respectively infused with 3% hydrogen peroxide at different pressures (20-, 80-, 140-, 200-, 260- mm Hg) and five control groups of B1, B2, B3, B4 and B5 infused with sterile saline at different pressures (20-, 80-, 140-, 200-, 260- mm Hg) correspondingly. The variation of pulmonary arterial pressure was dynamically monitored during perfusion. At 40 minutes after perfusion, the pathological changes of the atria and ventricles of the heart was anatomically observed. Bilateral lungs were taken for pathological section. **Results** Compared with control groups, the pulmonary arterial pressures increased at 5 different pressures in five experimental groups. The peak value of pulmonary arterial pressure in experimental groups increased with the increase of perfusion pressure of 3% hydrogen peroxide, and the time of peak value of pulmonary arterial pressure also moved forward, and then a stable pulmonary arterial pressure was achieved and was lower than that before perfusion. The changes in control groups under different perfusion pressures were relatively mild, with no obvious fluctuation. When the perfusion pressure was 260 mm Hg, a large number of alveolar rupture occurred, and then the experimental animals died of cardiac arrest. Pulmonary pathological results revealed different degrees of pulmonary interstitial edema and dilation of alveolar space and pulmonary vein in experimental groups compared with control groups. **Conclusions** Perfusion of 3% hydrogen peroxide at a certain pressure in the hermetic circumstance can cause the changes of cardiorespiratory functions in experimental animals. A higher infusing pressure could cause cracks of pulmonary alveoli and cardiac arrest, resulting in the death of experimental animals. Referring to the reports of adverse effects in clinical, hydrogen peroxide presents potential risk in application.

**Key words:** 3% hydrogen peroxide; Hermetic circumstance; Pulmonary arterial pressure; Air bubble; Potential risk

3% 双氧水溶液在临床工作中广泛应用于外科清创、消毒、杀菌等,但近年来,在使用过程中出现一些不良反应的报道<sup>[1-3]</sup>。目前骨科运用双氧水也较普遍,包括用于清洁创面、清洗感染组织等,以及人工全髋关节置换术中使用 3% 双氧水冲洗股骨髓腔,利用双氧水的氧化作用,达到止血和预防感染的目的。但是这种操作可能会造成一些不良反应,主要灌注双氧水后可出现肺气体栓塞,其中一些严重病例还可能发生心跳骤停、脑栓塞,尤其是在灌注密闭或半密闭的空腔脏器时易发生,严重者可危及生命。

3% 双氧水引起不良反应的发生机制主要有四个<sup>[4]</sup>:第一,双氧水与周围组织接触后直接发生反应造成的腐蚀,破坏局部组织,增加组织间隙,使微小血管壁受损,同时该过程还产生大量热量,导致局部组织的损伤进一步加重,高浓度(35%)双氧水,可对局部组织、黏膜造成严重的灼伤。第二,双氧水与周围组织接触后的反应还会产生大量的氧气气泡,30 ml 35% 的双氧水可以产生大约 3 ~ 5 L 的氧气,而 1 ml 3% 的双氧水也能产生 9.8 ml 的氧气<sup>[5]</sup>,这些氧气气泡超过周围血液及组织液的最大溶解度时,就会以微小气泡的形态出现在血液循环中。这些氧气气泡若随血流进入肺循环,可能阻碍肺循环及肺部的正常气体交换,继而发生肺气体栓塞;进入心脏,可引起心脏内气体填塞,造成心脏搏出功能障碍,继而发生心跳骤停;进入脑部则可引发脑栓塞;甚至可能由于单纯的气体膨胀造成局部空腔脏器的破裂。第三,未发生反应的双氧水可以直接以液体形态进入血液循环,随血液流动继续对所经过处组织造成上述两方面的损伤。第四,双氧水本身具有细胞毒性作用,在实验室中双氧水已经多次被证实具有抑制或者杀灭巨噬细胞、肿瘤细胞、乳腺癌细胞和成骨细胞等作用<sup>[6]</sup>,有实验报道称万分之三十浓度的双氧水即可损伤人眼角膜上皮细胞<sup>[7]</sup>。本实验通过建立用不同压力灌注 3% 双氧水或无菌生理盐水至实验动物密闭的股骨髓腔,来探讨在密闭腔室内灌注双氧水或无菌生理盐水对其心、肺功能可能造成的影响。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 实验动物为新西兰大白兔 50 只,普通清洁级,由江苏省农业科学研究所提供,雌雄不限,体重 3.5 ~ 4.0 kg。将 50 只新西兰大白兔随机分成 10 组,每组 5 只。实验组灌注 3% 双氧水,按不同灌注压力分为 A1 组(20 mm Hg)、A2 组(80 mm Hg)、

A3 组(140 mm Hg)、A4 组(200 mm Hg)以及 A5 组(260 mm Hg)。对照组灌注无菌生理盐水分别为 B1 组(20 mm Hg)、B2 组(80 mm Hg)、B3 组(140 mm Hg)、B4 组(200 mm Hg)、B5 组(260 mm Hg)。

1.2 动物模型的建立及实验步骤 采用髁后外方入路,从股骨后外方的肌间隙进入,暴露股骨大转子,在股骨大转子下方锯断股骨,并用自制的髓腔锉适当扩髓,深度约为兔股骨长度的 2/3。将自制灌注压力控制装置连接到充满 3% 双氧水的注射器上,将与三通相连的软管插入股骨髓腔内,然后用骨水泥封闭髓腔开口,使实验动物的股骨髓腔成密闭空腔。将连接好的自制灌注压力控制装置与注射器连接,软管和自制的灌注压力控制装置须与实验动物的心脏保持在同一个水平面,旋转三通开关,使股骨髓腔、插入髓腔内的软管和自制的灌注压力控制装置相通,此时实验动物模型准备完毕。所有实验动物完成建模后均监测 10 min 肺动脉压至平稳,之后通过三通开关向实验动物股骨髓腔内灌注 3% 双氧水或无菌生理盐水,并维持所需灌注压。灌注后再监测 30 min,每只实验动物监测总时限为 40 min,之后分别结扎实验动物双侧肺门,随后,切开心脏并观察心脏内各心房、心室。切取的双侧肺浸泡于 4% 甲醛溶液中固定 24 h 后,以石蜡包埋,常规切片,厚度为 4  $\mu$ m,苏木精 - 伊红(Hematoxylin-Eosin, HE)染色,置光学显微镜下观察,实验结果由南京医科大学第一附属医院(江苏省人民医院)病理科检测。所有实验动物均按照此流程进行操作。

1.3 统计学分析 所有实验数据采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析。计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组内比较采用配对 *t* 检验,组间比较采用独立样本 *t* 检验;等级资料的相关性采用 Spearman 相关分析;等级资料的组间比较采用秩和检验;不同灌注压下肺动脉压变化值比较采用单因素方差分析(ANOVA)。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 肺动脉压变化 实验组肺动脉压峰值随灌注 3% 双氧水压力的升高而升高,肺动脉压峰值出现的时间也随灌注 3% 双氧水压力的升高而前移,达到峰值后,出现肺动脉压的下降。而对照组不同灌注压下的变化相对平缓,无明显波动。对实验组各灌注压造成肺动脉压增高的峰值与初始肺动脉压的差值(变化值)进行方差分析,结果显示不同灌注压组间变化

值差异有统计学意义 ( $F = 4.047, P = 0.015$ )。对照组各灌注压组肺动脉压增高的峰值与初始肺动脉压的差值(变化值),未发现统计学差异 ( $F = 2.460, P > 0.05$ )。比较两组不同灌注压亚组肺动脉压峰值与初始肺动脉压变化值间的差异,发现在 20、80、140、200 和 260 mm Hg 灌注压下,两组间均存在统计学差异 ( $P$  均  $< 0.01$ )。见表 1、图 1。当灌注 3% 双氧水的压力为 260 mm Hg 时,可听见大量肺泡破裂声,并且肉眼可见心脏各心房、心室内出现大量气泡,继而导致实验动物由于心跳骤停而死亡。见图 2。

**2.2 肺部病理改变** 本实验中,除 A5 组实验动物出现立即死亡现象,其他每组实验动物到监测 40 min 时切取双侧肺及心脏,其中肺以 4% 甲醛溶液固定 24 h 后送病理切片检查。切开心脏并观察心脏内各

心房、心室。实验组动物肺脏及对照组动物肺脏标本呈均匀粉红色,肉眼观察未见明显渗出和水肿;除 A5 组实验组动物外,其余各组实验动物的心脏标本外观无明显改变。A5 组实验动物的心脏在实验过程中肉眼观察下即可透过心脏壁发现心脏内各心房、心室有大量气泡形成,切开心脏后亦可见残留气泡(图 2);实验组动物肺部病理标本 HE 染色光镜下主要表现为肺间质水肿、肺泡腔扩张和肺静脉扩张(图 3)。两组在不同灌注压力下肺间质水肿(除 20 mm Hg)、肺泡腔扩张和肺静脉扩张程度比较,均存在统计学差异 ( $P$  均  $< 0.05$ )。见表 2。随着实验组 3% 双氧水灌注压力的增加,实验动物发生肺间质水肿、肺泡腔扩张和肺静脉扩张的程度也增加,两者之间呈正相关( $r = 0.599, 0.585, 0.569, P$  均  $< 0.05$ )。

表 1 3% 双氧水和生理盐水在不同灌注压下对肺动脉压的影响 ( $n = 5, \text{mm Hg}, \bar{x} \pm s$ )

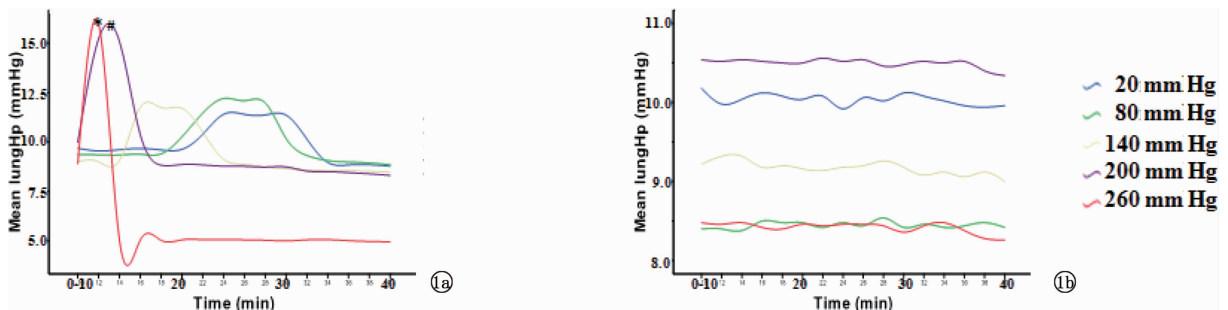
灌注压 (mm Hg)	峰值时间 (h)	实验组				对照组				$P^c$
		初始值	峰值	变化值 <sup>a</sup>	$P^b$	初始值	峰值	变化值 <sup>a</sup>	$P^b$	
20	24	9.2 ± 1.2	12.9 ± 0.8	3.7 ± 0.8	<0.01	10.2 ± 0.9	9.9 ± 0.9	-0.3 ± 0.2	>0.05	<0.01
80	24	10.3 ± 1.4	15.9 ± 1.3	5.6 ± 1.3	<0.01	8.4 ± 0.5	8.5 ± 0.4	0.1 ± 0.2	>0.05	<0.01
140	16	8.8 ± 1.1	14.3 ± 3.9	5.5 ± 3.2	<0.01	9.2 ± 2.2	9.2 ± 2.2	0.0 ± 0.1	>0.05	<0.01
200	14	9.4 ± 0.9	19.9 ± 5.6	10.2 ± 5.9	<0.01	10.5 ± 1.2	10.5 ± 1.4	0.0 ± 0.2	>0.05	<0.01
260	12	9.3 ± 1.2	23.6 ± 8.7	14.1 ± 8.1	<0.01	8.5 ± 1.0	8.5 ± 0.9	0.0 ± 0.2	>0.05	<0.01
$F$ 值				4.047				2.460		
$P$ 值				0.015				0.079		

注:<sup>a</sup>表示变化值 = 峰值 - 初始值;<sup>b</sup>表示组内峰值与初始值间比较;<sup>c</sup>表示实验组和对照组的比较。

表 2 3% 双氧水和生理盐水在不同灌注压下导致肺部病理的改变 ( $n = 5, \text{例}$ )

灌注压 (mm Hg)		肺间质水肿程度					$P$ 值	肺泡腔的扩张程度					$P$ 值	肺静脉的扩张程度					$P$ 值
		-	+/-	+	++	+++		-	+/-	+	++	+++		-	+/-	+	++	+++	
20	实验组	2	3	0	0	0	0.050	1	3	1	0	0	0.017	2	2	1	0	0	0.015
	对照组	5	0	0	0	0		5	0	0	0	0		5	0	0	0	0	
80	实验组	1	2	2	0	0	0.018	1	1	3	0	0	0.017	1	1	3	0	0	0.018
	对照组	5	0	0	0	0		5	0	0	0	0		5	0	0	0	0	
140	实验组	1	1	3	0	0	0.017	1	0	2	2	0	0.018	1	0	1	3	0	0.017
	对照组	5	0	0	0	0		5	0	0	0	0		5	0	0	0	0	
200	实验组	1	0	0	2	2	0.018	1	0	0	3	1	0.017	1	0	0	1	3	0.018
	对照组	5	0	0	0	0		5	0	0	0	0		5	0	0	0	0	
260	实验组	1	0	0	0	4	0.014	1	0	0	0	4	0.014	1	0	0	0	4	0.014
	对照组	5	0	0	0	0		5	0	0	0	0		5	0	0	0	0	

注:程度分级标准由南京医科大学第一附属医院病理科制定。



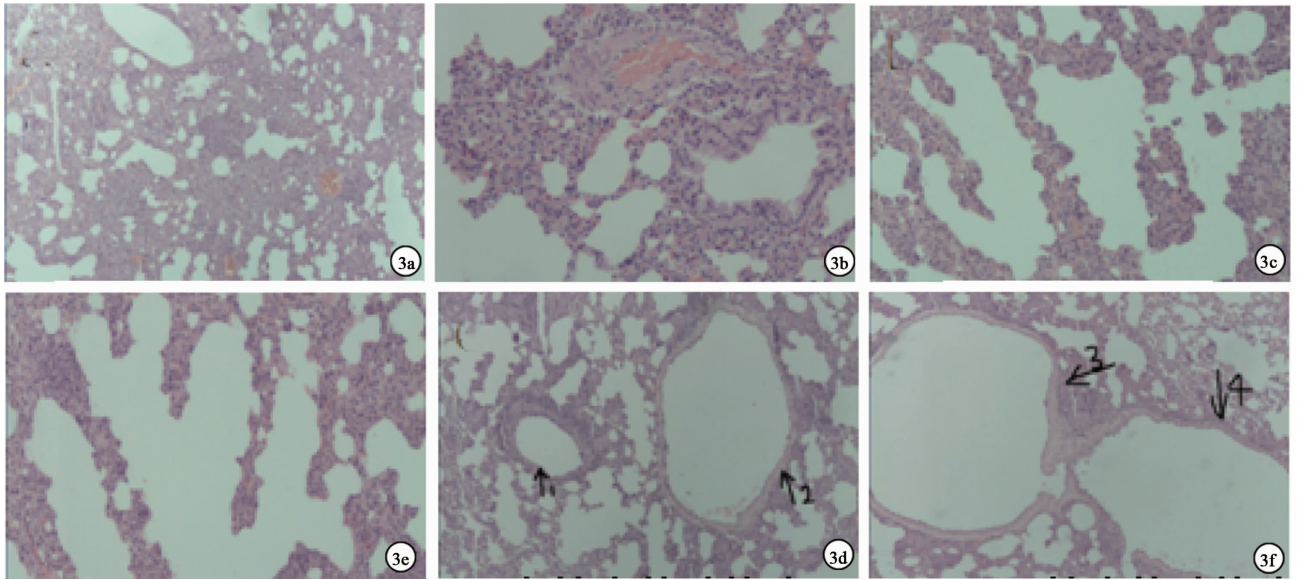
注:1a:实验组;\*表示 260 mm Hg 灌注压与 20 至 200 mm Hg 灌注压时肺动脉压的增高比较,  $P < 0.05$ ;#表示 200 mm Hg 灌注压时与 20 至 140 mm Hg 灌注压时肺动脉压的增高比较,  $P < 0.05$ ;1b:对照组。

图 1 实验组和对照组肺动脉压曲线变化



注:肉眼可见残留气泡。

图2 灌注 3% 双氧水压力为 260 mm Hg 时心脏解剖图



注:3a:正常肺间质;3b:水肿的肺间质;3c:正常的肺泡腔;3d:扩张的肺泡腔;3e和3f:箭头1表示未扩张的肺静脉,箭头2、3、4表示扩张后肺静脉。

图3 灌注 3% 双氧水导致肺部病理改变(HE 染色,  $\times 100$ )

小脂肪颗粒通过此途径进入血液循环,引起肺部气体栓塞等不良反应。肺动脉压主要反映肺循环及肺功能,是评价肺功能的一个重要指标。

在本研究中,灌注双氧水的压力越高,肺动脉压的升高出现的越早,肺动脉压的峰值越高,肺动脉压升高后维持的时间越短,肺功能代偿后肺动脉压再次恢复平稳后的数值较未灌注前也越低。当灌注压力达到 260 mm Hg 或更高时,实验过程中会听到广泛的肺泡破裂音和肉眼可见的心脏内各心房、心室大量气泡,实验动物猝死。上述现象产生的可能原因是双氧水与实验动物骨髓腔内的血液和组织中的过氧化物酶反应,产生大量的氧气气泡和热量,因此密闭的骨髓腔内的气体压力随着反应的进程而逐渐增大,同时由于双氧水的腐蚀性、毒性和反应产生的热量,使周围组织细胞间隙增大,微小动、静脉的管壁遭到破坏及通透性增加。当反应生成的气体压力足够大的时候,这些气体和多余未反应的液态双氧水就会

### 3 讨论

本研究主要通过检测肺动脉压来评价术中使用 3% 双氧水灌注对实验动物的主要危害。双氧水可在体内过氧化氢酶的作用下迅速分解生成氧气和水,而过氧化氢酶广泛存在于有机体的各种组织中。实验动物骨髓腔内的红骨髓、黄骨髓以及脂肪组织含有较多的过氧化氢酶,与双氧水发生反应可产生大量氧气,这些氧气在有限的空间中瞬时产生较高的气体压力,高压本身对周围微小血管及骨髓腔等组织即可产生机械性破坏作用,从而导致大量氧气气泡或微

被挤压通过这些被破坏的微小血管壁进入血液的体循环中<sup>[8-10]</sup>,随血流进入肺脏和心脏,出现肺动脉压升高、心脏内气泡形成、肺间质水肿、肺泡腔扩张及肺静脉扩张等现象。本研究实验组动物肺部病理标本主要表现为肺间质水肿、肺泡腔扩张和肺静脉扩张。也有学者认为气体栓塞所致肺间质的水肿主要是肺微血管内皮细胞受损,微血管滤过屏障对液体滤过的阻力系数下降所致<sup>[11]</sup>。当肺气体栓塞发生时,肺淋巴液回流量大幅增加,气体栓塞造成的肺水肿主要是通透性增加引起的,在内皮细胞受损的情况下,肺动脉压的升高将促进液体从血管向间质转移,从而加重了肺水肿的程度。有动物实验证明肺血管气体栓塞时,肺泡腔扩张可能由肺部通气量的增加和二氧化碳的滞留引起<sup>[12]</sup>。本研究实验组动物肺部病理切片显示肺静脉扩张,当灌注 3% 双氧水压力为 20 mm Hg 时即可产生上述症状。而肺静脉扩张机制可能是由于气体栓塞发生后,肺小动脉广泛痉挛、肺动脉高压、

肺静脉代偿性扩张所致。临床上亦有误食或在医疗操作过程中使用双氧水造成严重影响的病例报道<sup>[13-14]</sup>。

随着灌注双氧水压力的逐渐增高,我们还可以看到在肺动脉压升高之后回落至稳定的肺动脉压值均较未灌注时低,且在 40 min 结束后仍无法达到原来的高度,并且呈缓慢下降之势。肺功能存在部分代偿功能,当灌注的双氧水压力较低时,由于肺泡表面活性物质存在代偿功能,从而使肺有一定的代偿功能<sup>[15]</sup>,当灌注压力继续增大时,超过了肺泡的代偿能力,就会发生大量肺泡破裂,从而造成不可逆的损害,这可能是肺动脉压升高后不能回落到初始状态的主要原因。

综上所述,3% 双氧水灌注实验兔股骨髓腔,不同灌注压均可升高实验兔肺动脉压,较高灌注压会造成实验兔肺部及心功能损伤,甚至发生猝死。因此,临床工作中使用双氧水具有潜在的危险性,应引起注意。

#### 参考文献

- [1] Kleffmann J, Ferbert A, Deinsberger W, et al. Extensive ischemic brainstem lesions and pneumocephalus after application of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) during lumbar spinal surgery[J]. *Spine J*, 2015, 15(4): e5 - e7.
- [2] Zhang J, Zhang C, Yan J. Massive Cerebral Gas Embolism under Dissectomy due to Hydrogen Peroxide Irrigation[J]. *Case Rep Neurol Med*, 2015, 2015: 497340.
- [3] Melin AA, Heckman AM, Hussain S, et al. Radiographic findings following irrigation of chronic perineal drain with hydrogen peroxide[J]. *Int J Surg Case Rep*, 2015, 6C: 263 - 265.
- [4] Lu M, Hansen EN. Hydrogen Peroxide Wound Irrigation in Orthopaedic Surgery[J]. *J Bone Jt Infect*, 2017, 2(1): 3 - 9.
- [5] Mut M, Yemisci M, Gursoy-Ozdemir Y, et al. Hydrogen peroxide-in-

duced stroke: elucidation of the mechanism in vivo[J]. *J Neurosurg*, 2009, 110(1): 94 - 100.

- [6] Nicholson NC, Ramp WK, Kneisl JS, et al. Hydrogen peroxide inhibits giant cell tumor and osteoblast metabolism in vitro[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1998, 347(347): 250 - 260.
- [7] Tripathi BJ, Tripathi RC. Hydrogen peroxide damage to human corneal epithelial cells in vitro. Implications for contact lens disinfection systems[J]. *Arch Ophthalmol*, 1989, 107(10): 1516 - 1519.
- [8] Burns RA, Schmidt SM. Portal venous gas emboli after accidental ingestion of concentrated hydrogen peroxide[J]. *J Emerg Med*, 2013, 45(3): 345 - 347.
- [9] 刘家朋, 唐培佳, 谭冠先. 双氧水冲洗实质器官致疑气体栓塞 3 例临床分析[J]. *广西医科大学学报*, 2008, 25(5): 763 - 764.
- [10] Prabhakar H, Rath GP, Arora R, et al. Increased risk of venous oxygen embolism with the use of hydrogen peroxide in sitting position[J]. *J Clin Anesth*, 2007, 19(5): 406 - 407.
- [11] Sanders SP, Zweier JL, Kuppusamy P, et al. Hyperoxic sheep pulmonary microvascular endothelial cells generate free radicals via mitochondrial electron transport[J]. *J Clin Invest*, 1993, 91(1): 46 - 52.
- [12] Wolfson RK, Mapes B, Garcia JGN. Excessive mechanical stress increases HMGB1 expression in human lung microvascular endothelial cells via STAT3[J]. *Microvasc Res*, 2014, 92: 50 - 55.
- [13] Prabhakar H, Rath GP. Venous oxygen embolism with use of hydrogen peroxide during craniotomy in the supine position[J]. *J Clin Neurosci*, 2008, 15(9): 1072.
- [14] Byrne B, Sherwin R, Courage C, et al. Hyperbaric oxygen therapy for systemic gas embolism after hydrogen peroxide ingestion[J]. *J Emerg Med*, 2014, 46(2): 171 - 175.
- [15] Foda HD, Rollo EE, Drews M, et al. Ventilator-induced lung injury upregulates and activates gelatinases and EMMPRIN: attenuation by the synthetic matrix metalloproteinase inhibitor, Prinomastat (AG3340)[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2001, 25(6): 717 - 724.

收稿日期: 2018 - 03 - 16 修回日期: 2018 - 05 - 03 编辑: 王娜娜