

## • 基础研究 •

## 射频凝固治疗不同因素致伤合并海水浸泡肝脏的实验研究

中国人民解放军联勤保障部队第 900 医院肝胆外科 (福州 350025) 江哲龙 沈佳佳 张小进 程 远  
潘 凡 江 艺 吕立志<sup>1</sup>

**【摘 要】 目的** 研究肝脏刀刺伤、火器贯通伤合并海水浸泡后射频凝固治疗效果分析及伤情特点。**方法** 选用 20 条成年雄性比格犬作为研究对象, 根据不同的致伤因素分为火器伤组 10 只, 刀刺伤组 10 只, 且致伤后海水浸泡, 采用射频凝固技术进行肝脏止血。检测致伤前、术后第 3、7、14 天的血常规、血生化指标变化, 记录犬生存时间, 统计存活率, 体质量, 并发症的情况。结果: 两组 20 条犬均存活至术后第 14 天, 存活率为 100%。火器贯通伤组白细胞计数在术后第 7、14 天较刀刺伤明显升高 ( $P=0.004$ 、 $P=0.000$ )。火器贯通伤组血红蛋白浓度在术后第 3 天较刀刺伤组降低明显 ( $P=0.35$ )。两组血小板术前、术后无明显改变, 其余观测点指标两组均无明显改变。两组 ALT、AST、ALB 在各观测点比较无明显改变。火器伤仅 2 只切口愈合良好, 8 只存在不同程度的切口感染, 占 80%, 刀刺伤有 4 只切口感染、6 只愈合良好, 虽然两组无明显改变; 但在术后 14 天剖腹探查, 火器伤组 10 只 (100%) 均有不同程度的腹腔感染, 刀刺伤有 7 只 (70%) 腹腔感染、3 只仅有腹腔少许粘连, 经比较的差异有统计学意义 ( $P=0.025$ )。**结论** 射频消融凝固技术在肝脏的火器伤、刀刺伤救治中均取得积极有效的治疗作用; 火器伤合并海水浸泡经射频治疗后腹腔较刀刺伤更容易出现感染, 伤情更为严重、复杂。

**【关键词】** 肝; 火器伤贯通伤; 刀刺伤; 射频凝固

**【中图分类号】** R657.3 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2019)04-0115-04

**Experimental study of radiofrequency coagulation in the treatment of liver injury caused by different factors combined with seawater immersion** JIANG Zhelong, SHEN Jiajia, ZHANG Xiaojin, CHENG Yuan, PAN Fan, JIANG Yi. Department of Hepatobiliary Surgery, Chinese People's Liberation Army Joint Logistics Support Force No. 900 Hospital, Fuzhou, Fujian 350025, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of radiofrequency coagulation therapy on the liver after knife stabbing, firearm penetrating injury combined with seawater immersion. **Methods** Twenty adult male beagle dogs were selected as subjects, grouping according to different injury factors. Ten in firearm penetrating injury group and 10 in knife stab wound group were immersed in seawater. Radiofrequency coagulation for liver hemostasis after injury. Detection of changes in blood routine indicators and blood biochemical parameters before injury, the 3rd, 7th and 14th days after operation. The survival time, survival rate, body weight and complications were recorded. **Results** Twenty dogs in both groups survived to the 14th day after operation, with a survival rate of 100%. The leucocyte count in firearm wound group was significantly higher than that in knife stab wound group on the 7th and 14th day after operation, with statistical difference ( $P=0.004$ ,  $P=0.000$ ). The hemoglobin concentration in firearm wound group was significantly lower than that in knife stab wound group on the 3rd day after operation, with statistical difference ( $P=0.35$ ). There was no statistical difference in platelet index between the two groups before and after operation, and there was no statistical difference in other observation points between them. There was no significant difference in AST, ALT and ALB between the two groups. In firearm wound group, only two dogs healed well, eight dogs had different degrees of wound infection, accounting for 80%. In knife stab wound group, four dogs had wound infection and 6 dogs healed well. There was no statistical difference between the two groups. The dogs in the two groups were examined by laparotomy 14 days after operation. Ten dogs in the firearm wound group had abdominal infection in varying degrees, seven dogs in the knife stab wound group had abdominal infection and three dogs had only a little abdominal adhesion. There was statistical difference between the two groups ( $P=0.025$ ). **Conclusion** Radiofrequency ablation hemostasis technology has achieved positive and effective therapeutic effect in the treatment of firearm injury and knife stab injury of liver. After radiofrequency treatment, the abdominal cavity of firearm wound combined with seawater immersion is more susceptible to infection than that of knife stab wound, and the wound is more serious and complex.

基金项目: 全军面上课题 (CNJ15J002)

<sup>1</sup> 通信作者, Email: 913362374@qq.com

【Key word】liver; firearm penetrating injury; knife stabbing; radiofrequency coagulation

随着现代战争作战模式不断转变,逐渐转变为海战、登陆战。腹部火器伤、军刀刺伤将会呈大幅上升趋势,而且在此过程中,往往会受到海水的侵袭。海水具有低温、高渗及富含微生物等特点,海水浸泡后,局部组织发生高渗性脱水、炎症反应加重,且可致机体严重的代谢性酸中毒和血流动力学紊乱,较陆战相比的死亡率大大增加<sup>[1-3]</sup>。早年动物实验亦表明,射频消融能快速、有效控制闭合性肝外伤的肝活动性出血<sup>[4]</sup>。近年来,射频凝固止血已应用临床,取得了较为满意的效果<sup>[5]</sup>,我们前已成功建立肝脏火器伤合并海水浸泡的大型动物模型,并证实射频消融止血对此类创伤具有确切疗效<sup>[6]</sup>。在此基础上,本研究进一步探讨肝脏刀刺伤、火器贯通伤合并海水浸泡后射频凝固治疗效果分析及伤情特点。

## 1 材料与方法

**1.1 材料:** 1) 实验动物: 选用由福州总医院比较医学科实验动物中心 [SYXK (闽) 2018-0005] 提供的 20 条健康成年雄性比格 (Beagle) 犬 [SCXK (闽) 2012-0002], 体质量 (14±2) kg。本研究所涉及实验动物操作均经我院伦理委员会审核通过。2) 海水的获取与理化特点: 选取福建省长乐市南澳山海域海水, 密封保存备用。海水理化性质为: 渗透浓度 1 261 mmol/L, pH 8.3, 密度  $1.05 \times 10^3$  kg/m<sup>3</sup>, 温度 23 ℃, Na<sup>+</sup> 浓度 625 mmol/L, K<sup>+</sup> 浓度 10.8 mmol/L, Cl<sup>-</sup> 浓度 660 mmol/L。

## 1.2 方法:

**1.2.1 火器贯通伤合并海水浸泡组:** 实验前禁食 12 h, 禁饮 6 h。给予氯胺酮 (国药准字 H35020148, 福建古田药业有限公司) 20 mg/kg 联合地西洋 (国药准字 H12020957, 天津金耀药业有限公司) 0.5 mg/kg 肌肉注射麻醉。麻醉满意后, 经前肢隐静脉穿刺置管并使用肝素封管。腹部备皮后固定于自制三角形木制支架, 并置于动物手术台上。腹部常规消毒、铺巾, 取右侧肋缘下一横指处长 10 cm 的切口开腹。充分游离、暴露肝脏左叶, 并在其表面覆盖一块无菌干纱布 (折叠 4 层)。将犬搬运至室外空旷处, 射击手持 92 式训练仿真手枪 (枪弹: 51 式橡胶弹, 初速度 350—370 m/s) 距离 50 cm 正面射击犬肝左叶。致肝左叶形成一放

射状裂伤, 深度 1 cm、直径 3 cm, 伴活动性出血。射击后, 将实验动物置于海水中浸泡 5 min, 使海水平面至其剑突高度。

**1.2.2 刀刺伤合并海水浸泡组:** 同法切开进腹后, 对肝左叶用手术刀刺伤, 形成长 3 cm、深 1 cm, 伴有活动性出血, 致伤后将实验动物置于海水中浸泡 5 min, 使海水平面至其剑突高度。

**1.2.3 射频消融止血:** 两组迅速使用 1 000 mL 温热的 (40~42 ℃) 生理盐水冲洗腹腔后进行肝脏射频消融止血。本实验采用美国 RITA (型号: 1500X) 射频消融发射器, 将射频消融电极针尖插入犬肝左叶损伤出血处的边缘, 设置功率为 150 W、计时器设置为 5 min; 射频消融完成后, 改用针道消融模式, 待温度达 80 ℃时退针。重复上述操作过程, 至犬肝左叶出血被控制。犬肝脏止血完成后关腹, 独笼饲养。

**1.3 指标收集与检测:** 1) 麻醉后使用体温计测量肛温 (时间 5 min); 经前肢隐静脉取血, 检测血常规、肝肾功能、电解质。2) 在打捞出海水即刻, 使用体温计测量肛温 (时间 5 min)。3) 记录术后生存时间, 分别于术后第 3、7、14 天 (犬存活的前提下) 再次经前肢隐静脉取血, 检测血常规、血生化。于术后第 14 天处死。

**1.4 统计学方法:** 应用 SPSS 22.0 统计软件分析。应用 GraphPad Prism 7.0 软件绘制图表。服从正态分布的计量资料使用均数±标准差表示, 采用方差分析比较各组总体均数, 并采用最小显著差异 (least significant difference, LSD) *t* 检验进行组间的多重比较。计数资料使用率表示。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组血常规结果变化比较:** 火器伤组白细胞计数在术后第 7、14 天较刀刺伤明显升高, 血红蛋白浓度在术后第 3 天较刀刺伤组明显降低。两组血小板手术前、术后均无明显改变, 其余观测点指标两组均无无明显改变。具体见表 1。

**2.2 两组生化指标结果变化比较:** 两组 ALT、AST、ALB 在各观测点相比较的差异均无统计学意义。具体见表 2。

表 1 两组治疗前后不同时间点的血常规结果比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

	白细胞计数/ ( $\times 10^9/L$ )				血红蛋白/ (g/L)				血小板计数/ ( $\times 10^9/L$ )			
	致伤前	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d	致伤前	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d	致伤前	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d
火器伤	12.26 $\pm$ 3.01	18.36 $\pm$ 4.53	19.76 $\pm$ 2.72	19.06 $\pm$ 2.47	139.30 $\pm$ 22.81	110.23 $\pm$ 23.61	114.80 $\pm$ 13.30	106.50 $\pm$ 23.32	186.20 $\pm$ 66.57	113.75 $\pm$ 75.96	178.20 $\pm$ 63.02	141.50 $\pm$ 101.40
刀刺伤	14.10 $\pm$ 3.80	18.50 $\pm$ 3.69	16.40 $\pm$ 1.76	14.92 $\pm$ 2.39	145.90 $\pm$ 14.88	132.00 $\pm$ 18.04	125.20 $\pm$ 20.21	118.90 $\pm$ 31.75	187.00 $\pm$ 36.01	165.20 $\pm$ 118.99	165.80 $\pm$ 115.02	143.40 $\pm$ 94.18
<i>t</i> 值	1.204	0.081	3.326	4.593	0.766	2.245	1.359	0.995	0.033	1.156	0.299	0.043
<i>P</i> 值	0.244	0.937	0.004	0.000	0.453	0.035	0.191	0.333	0.974	0.263	0.768	0.966

表 2 两组治疗前后不同时间点的血生化指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

	ALT/ (U/L)				AST/ (U/L)				ALB/ (g/L)			
	致伤前	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d	致伤前	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d	致伤前	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d
火器伤	30.75 $\pm$ 12.6	248.36 $\pm$ 106.84	92.62 $\pm$ 36.54	45.04 $\pm$ 19.69	44.10 $\pm$ 8.91	84.82 $\pm$ 39.20	51.90 $\pm$ 15.64	45.82 $\pm$ 15.57	32.64 $\pm$ 6.13	30.88 $\pm$ 5.32	31.94 $\pm$ 4.20	30.65 $\pm$ 4.83
刀刺伤	23.53 $\pm$ 3.88	224.52 $\pm$ 79.60	74.51 $\pm$ 38.89	38.39 $\pm$ 12.25	39.37 $\pm$ 7.37	58.58 $\pm$ 35.32	60.67 $\pm$ 40.74	45.00 $\pm$ 18.01	31.13 $\pm$ 6.66	29.8 $\pm$ 6.66	32.42 $\pm$ 4.82	30.59 $\pm$ 5.10
<i>t</i> 值	1.725	0.556	1.073	0.907	1.293	1.572	0.635	0.109	0.429	0.400	0.237	0.023
<i>P</i> 值	0.102	0.579	0.297	0.377	0.212	0.133	0.533	0.914	0.628	0.694	0.815	0.928

**2.3 两组生存及并发症情况：**两组 20 条犬均存活至术后第 14 天，存活率为 100%。术后 14 天两组体质量，火器伤较刀刺伤明显减轻。在切口感染方面，火器伤仅 2 只愈合良好，8 只存在不同程度的切口感染，占 80%，刀刺伤有 4 只切口感染、6 只愈合良好，两组虽然无明显改变，但火器伤组切口感染较刀刺伤多。在术后 14 天剖腹探查，火器伤组 10 只全部有不同程度的腹腔感染，刀刺伤有 7 只腹腔感染、3 只仅有腹腔少许粘连，两组比较的差异有统计学意义（表 3）。在剖腹探查后，火器伤组中 6 只自然死亡，4 只于第 21 天予以安乐死，刀刺伤组全部于 21 天予以执行安乐死。

表 3 两组治疗前后两组体质量及并发症比较 ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

	体质量/kg			切口感染	腹腔感染
	致伤前	术后 7 d	术后 14 d		
火器伤	14.39 $\pm$ 1.51	13.55 $\pm$ 1.18	12.79 $\pm$ 1.08	8 (80%)	10 (100%)
刀刺伤	14.91 $\pm$ 1.72	13.98 $\pm$ 1.49	14.31 $\pm$ 1.28	4 (40%)	7 (70%)
<i>t</i> / $\chi^2$ 值	0.715	0.712	2.852	3.333	5.000
<i>P</i> 值	0.484	0.486	0.011	0.068	0.025

### 3 讨论

随着现代战争模式的不断转变，在滨海登陆战中，火器伤和刀刺伤是常见的创伤类型，一旦致伤，会形成腹部开放性伤口，直接受到海水的影响<sup>[7]</sup>，污染腹腔、引起腹腔脏器的多重损伤<sup>[8-9]</sup>。肝脏是极易受到损伤的器官，一旦受到损伤，伤情复杂，救治困难。随着近代损伤控制理论的发展，肝脏创伤的救治已经达到新的台阶<sup>[10-11]</sup>。本研究以大型动物（犬）作为实验对象，建立稳定肝脏火器

伤合并海水浸泡的大型动物模型，同时建立肝脏刀刺伤合并海水浸泡的动物模型，快速的射频，控制出血。

本研究通过对犬不同的致伤因素（火器伤组、刀刺伤组）致伤后进行海水浸泡，应用同等条件下射频消融技术进行救治，对不同检测点进行指标检测。结果：1) 两组不同的致伤因素情况下：①在术后第 3 天白细胞计数相比均无显著变化，到第 7、14 天两个观测点显示，火器贯通伤组的白细胞计数明显高于刀刺伤组；②血红蛋白在致伤后第 3 天火器伤组明显低于刀刺伤组，第 7、14 天均无显著变化；③两组生化指标，在第 3、7、14 天均无显著变化，结果显示两组治疗效果可靠、肝功能影响小。2) 术后犬的恢复情况：①火器伤组犬的体质量于第 14 天明显轻于刀刺伤，切口感染两组虽无显著变化，但火器伤组明显要多于刀刺伤。②在术后第 14 天剖腹探查时发现火器伤组 10 只犬均有不同程度的腹腔感染，刀刺伤组亦有 7 只存在腹腔感染，火器伤明显高于刀刺伤。考虑火器伤所致的肝损伤呈星芒状碎裂伤，更容易存留死腔，海水浸泡后进行射频消融后，极大可能存留感染腔隙，引起术后的感染难于控制。③两组均存活至术后 14 天，但在二次剖腹探查术后，火器伤组有 6 只自然死亡，其余 4 只与刀刺伤组 10 只组均在第 21 天后执行安乐死。

综上所述研究结果得出：射频消融止血技术在肝脏的火器伤、刀刺伤救治中均取得积极有效的治疗作用；火器伤合并海水浸泡经射频治疗后腹腔较刀刺伤更容易出现感染，伤情更为严重、复杂，这给濒

海战创伤救治的进一步研究提供了实验室资料。

### 参考文献

- [1] Lord J M, Midwinter M J, Chen Y F, et al. The systemic immune response to trauma; an overview of pathophysiology and treatment [J]. Lancet, 2014, 384 (9952): 1455-1465.
- [2] 谢培增, 汪先兵, 陈大军, 等. 不同海况下重度海战伤海上救护的实验研究 [J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2010, 17 (5): 257-260.
- [3] 虞积耀, 赖西南. 海战伤合并海水浸泡伤的伤情特点及救治技术研究进展 [J]. 解放军医学杂志, 2004, 29 (12): 1017-1019.
- [4] 王莎莎, 李叶阔, 朱贤胜, 等. 经皮射频凝固治疗闭合性肝外伤伴活动性出血的实验研究 [J]. 中华超声影像学杂志, 2007, 16 (5): 444-447.
- [5] 苏畅, 朴镇浩, 王伟华, 等. 腹腔镜下射频消融治疗闭合性肝破裂伤 26 例 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2017, 9 (23): 633-634.
- [6] 程远, 杨和君, 沈佳佳, 等. 射频消融对肝火器伤合并海水浸泡的治疗效果 [J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35 (11): 2066-2068.
- [7] 李欣, 吴珊珊, 孙涛, 等. 腹部开放伤后海水浸泡对实验犬肠屏障功能的影响 [J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2010, 17 (5): 261-265.
- [8] 唐玉娟, 林瑞娇, 查全萍, 等. 濒海实地海水中巴马小型猪腹部火器伤腹腔感染细菌学特点 [J]. 中华实验外科杂志, 2016, 33 (1): 174.
- [9] 林立英, 黄国良, 张再重, 等. 建立海水浸泡状态下猪腹部火器伤模型及致伤特点的研究 [J]. 中国普外基础与临床杂志, 2016, 23 (2): 182-185.
- [10] Makley A T I, Goodman M D, Belzair R M, et al. Damage control resuscitation decreases systemic inflammation after hemorrhage [J]. J Surg Res, 2012, 175 (2): e75-82.
- [11] 李正天, 姜洪池. 肝外伤处理的进展与趋势 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2012, 18 (1): 69-72.

## • 基础研究 •

# 骨膜源性细胞和骨髓间充质干细胞直接共培养的实验研究

福建医科大学附属口腔医院牙周科 (福州 350002) 伍晓红 王启松<sup>1</sup> 骆 凯 陈世炜<sup>2</sup>

**【摘要】** 目的 探讨骨膜源性细胞 (PDCs) 和骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 不同比例下直接共培养对细胞的增殖及成骨分化的影响, 优选细胞直接共培养的适宜比例。方法 取 PDCs 和 BMSCs, 在保证每组总细胞数一致的情况下, 分别以 PDCs 和 BMSCs 按 2:1、1:1、1:2、1:0、0:1 比例混合培养, 通过细胞增殖能力, 碱性磷酸酶活性 (alkaline phosphatase activity, ALP) 和矿化结节形成的测定, 来观察 PDCs 和 BMSCs 不同比例共培养下细胞增殖和成骨分化能力。结果 PDCs 和 BMSCs 直接共培养 (2:1、1:1、1:2) 的细胞增殖能力高于单独 PDCs 组 (1:0 组) 和单独 BMSCs 组 (0:1 组), 但差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 共培养组细胞 ALP 表达较对照组高 ( $P<0.05$ ), 2:1 组 ALP 表达最高 ( $P<0.05$ ), 同时共培养组矿化结节形成较多, 1:0 组和 0:1 组矿化结节形成较疏散。结论 PDCs 和 BMSCs 直接共培养有利于细胞的增殖能力和成骨能力, 以 2:1 比例直接共培养时最佳, 适宜进一步的组织工程研究。

**【关键词】** 骨膜细胞; 骨髓基质细胞; 共培养; 成骨分化; 组织工程

**【中图分类号】** R336 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2019)04-0118-04

## Experimental study on direct co-culture of periosteum-derived cells and bone marrow mesenchymal stem cells

WU Xiaohong, WANG Qisong, LUO Kai, CHEN Shiwei. Department of Periodontology, the Affiliated Stomatological Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350002, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the effects of direct co-culture ratio on the proliferation and osteogenic differentiation of PDCs and BMSCs, and to optimize the co-culture ratio. **Methods** PDCs and BMSCs were cultured at the ratio of 2:1, 1:1, 1:2, 1:0, 0:1 respectively, and the total number of cells in each group was the same. The proliferation and osteogenic differentiation of PDCs and BMSCs co-cultured were observed by cell proliferation, alkaline phosphatase activity (ALP), and mineralized nodules formation. **Results** The cell proliferation of the co-culture group were higher than that of 1:0 and 0:1 groups, but there was no statistical differences between all groups ( $P>0.05$ ). The ALP expression level of the co-

基金项目: 2015 年福建省中青年教育科研项目 (JA15199)

<sup>1</sup> 福建医科大学口腔医学重点实验室; <sup>2</sup> 通信作者