论著·军事医学

抑制线粒体分裂通过改善微循环及血管通透性保护爆炸失血性休克大鼠的多器官功能

朱 娱,李清晖,吴 跃,彭小勇,欧阳杏楠,张 杰,刘良明,李 涛 陆军军医大学大坪医院战伤休克与输血研究室,创伤与化学中毒全国重点实验室,重庆

［**摘要**］ **目的** 探究线粒体分裂抑制剂1(mitochondrial division inhibitor 1,Mdivi-1)对爆炸合并失血性休克大鼠器官功能的保护作用。**方法** 采用随机数字表法将192只12周龄SD大鼠(雌雄各半,体质量约220 g)分为6组(*n*=32):假手术(Sham)组(仅沿腹白线开口,不予其他处理),爆炸失血性休克(explosion combined with hemorrhagic shock,ESH)组(采用热辐射与冲击波致伤+股动脉失血建立ESH模型,模型成功后不进行复苏干预),乳酸林格氏液(Lactated Ringer's solution,LR)复苏(ESH+LR)组(ESH模型成功后,经股静脉输注乳酸林格氏液进行复苏),不同剂量(LR+0.1 mg/kg Mdivi-1组、LR+0.5 mg/kg Mdivi-1组、LR+1.0 mg/kg Mdivi-1组)的Mdivi-1治疗组(ESH模型成功后,在LR治疗的基础上,经股静脉分别输注0.1、0.5和1.0 mg/kg的Mdivi-1)。采用荧光蛋白示踪法,通过检测大鼠肺脏、肾脏组织中荧光蛋白的渗漏量,评估血管通透性;通过伊文思蓝染色法检测肠道通透性和肺血管通透性;采用激光多普勒血流仪监测肝脏、肾脏、肠道组织血流灌注;检测心肌损伤标志物肌钙蛋白I(troponin I,TNI)、肝功能损伤指标天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase,AST)、丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase,ALT)、肾功能损伤指标血清肌酐(serum creatinine,Scr)、血尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)评估器官功能;分别测定肺脏、脑组织的湿质量和干质量,用于计算组织含水量;监测大鼠血压、心率、呼吸频率,记录72 h存活时间及存活率。**结果** 与Sham组比较,ESH组大鼠肺脏、肾脏血管以及肠道组织的通透性明显增加(*P*<0.05),肺脏和脑的含水量显著增加(*P*<0.05);肝、肾、肠道组织血流灌注量分别降低到Sham组的57.1%、39.2%和43.2%(*P*<0.05);TNI、AST、ALT、Scr和BUN均显著升高(*P*<0.05);72 h存活时间为(3.8±1.1)h,72 h存活率为0(*P*<0.05)。采用LR复苏,尽管ESH大鼠的通透性降低,器官功能损伤减轻,但与ESH比较,无显著性差异;与ESH+LR组比较,Mdivi-1治疗可明显降低ESH大鼠肺脏、肾脏血管以及肠道组织的通透性和肺脏、脑的含水量(*P*<0.05),其中LR+0.5 mg/kg Mdivi-1治疗效果最好;同时Mdivi-1治疗组可显著增加ESH大鼠的器官灌注,改善器官功能,延长动物的存活时间,提高存活率,其中LR+0.5 mg/kg Mdivi-1治疗组的72 h平均存活时间为55.64 h,72 h存活率为62.5%。**结论** Mdivi-1可降低ESH大鼠肺脏、肾脏和肠道通透性,改善组织灌注,保护心脏、肝脏、肾脏等器官功能,延长存活时间并提高存活率。

［**关键词**］ Mdivi-1;爆炸失血性休克;血管通透性;多器官功能

［**中图法分类号**］ R605.971;R642;R977 ［**文献标志码**］ A

［**基金项目**］ 国家自然科学基金面上项目(82172195);重庆市教委科学技术研究项目(KJZD-K202512803)

［**通信作者**］ 李 涛,E-mail:lt200132@tmmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2025, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议 (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

引用格式:朱娱,李清晖,吴跃,等. 抑制线粒体分裂通过改善微循环及血管通透性保护爆炸失血性休克大鼠的多器官功能[J]. 陆军军医大学学报,2025,47(21):2581-2590. DOI:10.16016/j.2097-0927.202507018.

Citation:ZHU Y,LI Q H,WU Y,*et al*. Inhibiting mitochondrial fission protects multiple organ functions in rats with concomitant explosive blast injury and hemorrhagic shock by improving microcirculation and vascular permeability[J]. J Army Med Univ,2025,47(21):2581-2590. DOI:10.16016/j.2097-0927.202507018.

Inhibiting mitochondrial fission protects multiple organ functions in rats with concomitant explosive blast injury and hemorrhagic shock by improving microcirculation and vascular permeability

ZHU Yu, LI Qinghui, WU Yue, PENG Xiaoyong, OUYANG Xingnan, ZHANG Jie, LIU Liangming, LI Tao State Key Laboratory of Trauma and Chemical Poisoning, Department of Shock and Transfusion, Daping Hospital, Army Medical University, Chongqing, China

[**Abstract**] Objective To investigate the protective effect of mitochondrial fission inhibitor 1 (Mdivi-1), on organ function in rats with explosive blast injury combined with hemorrhagic shock. Methods A total of 192 SD rats (half male and half female, 12 weeks old, weighing about 220 g) were randomly divided into 6 groups: Sham group (only surgical incision along the midline of the abdomen), model group (ESH group, thermal radiation and shock wave injury followed by femoral artery hemorrhage), lactated Ringer's solution resuscitation group (ESH+LR group, LR solution infusion in the femoral vein for resuscitation), and low-, middle- and high-dose Mdivi-1 groups (0.1, 0.5 and 1.0 mg/kg Mdivi-1 intervention after infusion of LR solution). Fluorescent protein tracing was used to determine the leakage amount of fluorescent protein in the lung and kidney tissues to evaluate the vascular permeability. Evans blue dye staining was employed to observe the intestinal permeability and pulmonary vascular permeability. Laser Doppler flowmetry was applied to monitor the tissue blood perfusion in the liver, kidneys, and intestine. Serum levels of cardiac injury marker troponin I (TNI), liver function markers aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT), and renal function markers serum creatinine (Scr) and blood urea nitrogen (BUN) were detected to evaluate the functions of corresponding organs. The water contents of the lungs and brain were calculated by measuring wet weight and dry weight of the lung and brain tissues. Blood pressure, heart rate, and respiratory rate were monitored. The survival time and 72-hour survival rate were recorded and calculated. Results Compared with the Sham group, the ESH group exhibited significantly increased vascular permeability in the lungs and kidneys as well as intestinal tissue ($P<0.05$), along with obviously elevated water contents in the lungs and brain ($P<0.05$), and decreased blood perfusion in the liver, kidneys, and intestine by 57.1%, 39.2%, and 43.2% of the Sham group, respectively ($P<0.05$), elevated levels of TNI, AST, ALT, Scr and BUN ($P<0.05$), mean survival time of 3.8±1.1 h, and a 72-hour survival rate of 0 ($P<0.05$). Although LR solution resuscitation reduced vascular permeability and alleviated organ injury in rats with explosive injury combined with hemorrhagic shock, there were no significant differences compared to the ESH group ($P>0.05$). Mdivi-1 treatment notably decreased vascular permeability in the lungs and kidneys and intestine, and water contents in the lungs and brain when compared with the LR group ($P<0.05$), with the dose of 0.5 mg/kg demonstrating the most significant effect. Additionally, Mdivi-1 treatment also significantly enhanced organ perfusion, improved organ functions, prolonged survival time, and increased survival rate. The 0.5 mg/kg treatment resulted in a 72-hour average survival time 55.64 h and a survival rate of 62.5%. Conclusion Mitochondrial fission inhibitor Mdivi-1 can reduce the permeabilities in the lungs, kidneys and intestine, improve tissue blood perfusion, protect the organ functions of the heart, liver and kidneys, and finally prolong survival time and increase survival rate in rats with concomitant explosive blast injury and hemorrhagic shock.

[**Key words**] Mdivi-1; explosive hemorrhagic shock; vascular permeability; multiple organ function

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (82172195) and the Project of Science and Technology Research of Chongqing Education Commission (KJZD-K202512803). Corresponding author: LI Tao, E-mail: lt200132@tmmu.edu.cn

公共安全事件、生产安全事故(如易燃易爆物品事故、煤矿瓦斯爆炸)及各类涉及爆炸的日常意外场景的不断出现[1-2],导致爆炸合并失血性休克成为创伤救治领域的突出难题。此类创伤不同于普通创伤,爆炸产生的冲击波、弹片等多种致伤因素相互作用,常引发多部位、多器官的复杂损伤,而大量出血导致的微循环灌注不足、组织缺氧坏死等病理生理改变,进一步加剧病情进展,显著增加患者伤残率[3]。

液体复苏作为失血性休克的重要干预手段,其核心目标是快速恢复循环血容量、改善组织氧供,为后续

治疗争取时间[4]。但爆炸合并失血性休克导致的血管内皮屏障损伤会增加毛细血管通透性[5],单纯液体复苏会诱发组织水肿并加重器官损伤,且难以逆转休克继发的内皮屏障破坏、线粒体功能障碍等关键病理环节,亟需探索更有效的协同保护策略以优化救治效果。

线粒体作为细胞能量代谢的重要细胞器,其功能稳态对维持器官功能至关重要,而线粒体过度分裂所致的线粒体碎片化是引发线粒体功能障碍的关键机制。研究已证实,线粒体功能障碍的严重程度与器官功能损伤程度密切相关,直接影响患者临床结局[6]。ZHANG等[7]研究发现抑制线粒体分裂可减轻脓毒症诱导的肝损伤;同时也有研究发现线粒体分裂抑制剂1(mitochondrial division inhibitor 1,Mdivi-1)可缓解脓毒症相关急性肺损伤[8-9]。然而,针对爆炸合并失血性休克这一特殊创伤类型,抑制线粒体分裂是否能减轻器官功能损伤及改善微循环,目前尚未明确。因此,本研究以爆炸合并失血性休克大鼠为研究对象,探讨Mdivi-1对爆炸合并失血性休克大鼠器官功能和微循环的保护作用。该研究不仅可为阐明线粒体分裂在爆炸合并失血性休克病理生理过程中的作用机制提供实验依据,更能为优化此类严重创伤的救治方案提供潜在药物干预策略,具有重要的理论价值。

1 材料和方法

1.1 主要试剂

Mdivi-1购自美国Tocris公司;异硫氰酸荧光素标记的牛血清白蛋白(albumin-fluorescein isothiocyanate conjugate,FITC-BSA)、伊文思蓝染料(Evans Blue,EB)购自美国Sigma公司;甲酰胺购自生工生物工程(上海)股份有限公司;肝素钠购自中国千红生化制药有限公司;PBS缓冲液购自中国博士德生物有限公司;乳酸林格氏液购自四川科伦药业有限公司;戊巴比妥钠购自美国Merck公司。

1.2 实验动物

192只12周龄SPF级SD大鼠(雌雄各半,体质量约220 g)由陆军特色医学中心实验动物中心提供,所有大鼠饲养期间自由饮水摄食;动物饲养环境采用12 h光照/12 h黑暗的昼夜循环模式,湿度40%~70%,温度22~24 ℃。本研究已获第三军医大学实验动物福利伦理审查委员会批准(AMUWEC2020034),动物使用许可证号为SYXK(渝)2022-0003。

1.3 爆炸合并失血性休克模型制备

利用热辐射与冲击波复合装置建立大鼠爆炸伤模型,裁剪厚为1.0 mm、50 mm×50 mm的聚酰亚胺膜作为夹持片置于两段致伤管道中间并用螺丝拧紧,将大鼠放入笼中置于致伤舱内后关闭舱门并拧紧螺丝,开启真空泵抽罐体内空气至70 kPa保压2 min确认压力不上升,再继续抽至15 kPa,打开甲烷和压缩空气钢瓶阀门按9.5∶90.5体积比通过配气管路充入罐体至1个标准大气压,静置5 min,待气体混合均匀后启动数据采集仪,点燃高压点火器使混合气体爆炸并记录数据(平均压力约为220 kPa)[5]。爆炸伤后取出大鼠,以1.5%戊巴比妥钠腹腔麻醉大鼠,行股动、静脉插管,插管完成后稳定10 min,从股动脉缓慢抽血,控制失血量为总血容量的40%,放血结束后放置1 h视为爆炸失血性休克(explosion combined with hemorrhagic shock,ESH)模型构建成功。

1.4 实验方案及指标观察

将大鼠采用随机数字表法分为(n=32):假手术(Sham)组、ESH组、乳酸林格氏液(Lactated Ringer's solution,LR)复苏(ESH+LR)组、Mdivi-1治疗组(LR+0.1 mg/kg Mdivi-1组、LR+0.5 mg/kg Mdivi-1组、LR+1.0 mg/kg Mdivi-1组)。Sham组仅沿腹白线开口,不予其他处理;ESH组采用热辐射与冲击波致伤+股动脉失血建立ESH模型,模型成功后不进行复苏干预;ESH+LR组:ESH模型成功后,经股静脉输注LR进行复苏;Mdivi-1治疗组(LR+0.1 mg/kg Mdivi-1组、LR+0.5 mg/kg Mdivi-1组、LR+1.0 mg/kg Mdivi-1组):ESH模型成功后,在LR治疗的基础上,经股静脉分别输注0.1、0.5和1.0 mg/kg的Mdivi-1。

根据前述方法建立ESH模型。模型成功后进行液体复苏,实验组大鼠分别接受不同干预措施。ESH+LR组仅输注2倍失血量的LR;Mdivi-1治疗组使用不同剂量的Mdivi-1(0.1、0.5、1.0 mg/kg)输注,先用1倍失血量的LR进行初步复苏,当LR输注完毕,给予Mdivi-1进行输注(1倍失血量的LR中加入Mdivi-1),使总复苏量达到2倍失血量;所有液体以20 mL/h的速度匀速输注,观察复苏效果。

在观察阶段,测定多项生理指标:重点检测肺脏、肾脏、肠道的血管通透性,以及肺脏、脑组织的含水量;检测大鼠动脉血气,以及反映心脏、肝脏、肾脏等重要器官功能的血液标志物,以评估器官功能损伤程度;通过超声多普勒技术监测肝脏、肾脏、肠道的血流灌注量变化;通过记录大鼠的平均动脉压(mean arterial pressure,MAP)、呼吸频率(respiratory rate,RR)、心率(heart rate,HR),并统计大鼠72 h存活时间与存活率,以综合评估干预措施对大鼠生命体征稳定及存活预后的影响。

1.4.1 肺脏和肾脏的通透性检测 根据先前报道[10],从大鼠颈静脉注射FITC-BSA(9 mg/kg),循环2 h后,注射20 mL肝素钠(5 U/kg)冲洗肺脏和肾脏。注射过量的戊巴比妥钠安乐处死大鼠,分离左上肺叶和左肾,称量并切成小块。组织匀浆后于4 ℃以8 000×*g*离心10 min,取上清液用荧光分光光度计测定吸光度(激发波长500 nm和发射波长530 nm),以组织上清液荧光强度/组织质量表示肺脏和肾脏的通透性。

1.4.2 肠道通透性检测 采用EB染色法检测大鼠肠道通透性。大鼠注射过量的戊巴比妥钠后,迅速在距胃幽门6~7 cm处截取约6 cm长的小肠段,用PBS轻柔冲洗肠腔内容物,将肠管两端结扎制成肠囊。向肠囊内注入200 μL浓度为1.5%的伊文思蓝溶液,置于37 ℃恒温水浴中孵育2 h。孵育结束后打开肠囊,用生理盐水反复冲洗肠腔至流出液澄清,将肠段置于50 ℃烤箱中干燥24 h,称量肠管干质量。加入2 mL甲酰胺溶液,于37 ℃条件下萃取24 h,使用分光光度计在655 nm波长处测定吸光度[*OD*(655)]值。

1.4.3 通过EB检测肺血管通透性 大鼠通过股静脉途径注射浓度为20 mg/mL的EB,注射剂量为60 mg/kg。待EB在体内循环0.5 h后,同步结扎大鼠上下腔静脉,随后剪开腹主动脉,并通过颈静脉持续灌注PBS溶液,直至肺组织外观完全变白(提示血管内残留EB已被充分冲洗)。取大鼠右肺上叶组织,用吸水纸吸除表面残留水分后,按肺组织质量与PBS体积7∶100的比例(即质量体积比0.07 g/mL)加入PBS溶液,在冰浴条件下制备组织匀浆。将匀浆液在4 ℃下以8 000×*g*离心10 min,取上清液后在4 ℃下以16 000×*g*离心10 min;采用分光光度计测定最终上清液中EB的吸光度[*OD*(620)]值,检测波长设定为620 nm。

1.4.4 肺脏和脑组织含水量测定 过量注射戊巴比妥钠处死大鼠,快速取出脑组织和肺脏测定含水量:分离组织并称量后,于105 ℃干燥72 h,再次称量获取干质量,含水量百分比计算公式为:[(湿质量-干质量)/湿质量]×100%[11]。

1.4.5 血流量检测 通过多普勒成像仪(Perimed AB,瑞典)测量肝脏、肾脏和肠道的血流,将器官暴露于14 cm距离的激光下,使用PIM soft软件分析肝脏、肾脏和肠道的血流情况。

1.4.6 血气及器官功能检测 实验过程中设置3个股动脉采血时间点:在各组大鼠ESH模型建立前采集基线血样;待ESH模型建立完成后(ESH末)采集第2个时间点血样;启动液体复苏(LR或Mdivi-1),并在复苏开始后2 h采集第3个时间点血样。每个时相点从股动脉抽取0.5 mL全血,用血氧分析仪(Radiometer,丹麦)测定动脉血气指标,包括pH值、氧分压、血氧饱和度、二氧化碳分压、碱剩余和血乳酸;另从腹主动脉抽取2 mL全血,通过生化分析仪(Beckman,美国)测定天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase,AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase,ALT)、血尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)、血清肌酐(serum creatinine,Scr)及肌钙蛋白I(troponin I,TNI)。

1.5 统计学分析

采用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料以$\bar{x}\pm s$表示。两组组间比较采用独立样本*t*检验。存活率和存活时间采用Kaplan-Meier生存分析。$P<0.05$表示差异具有统计学意义。

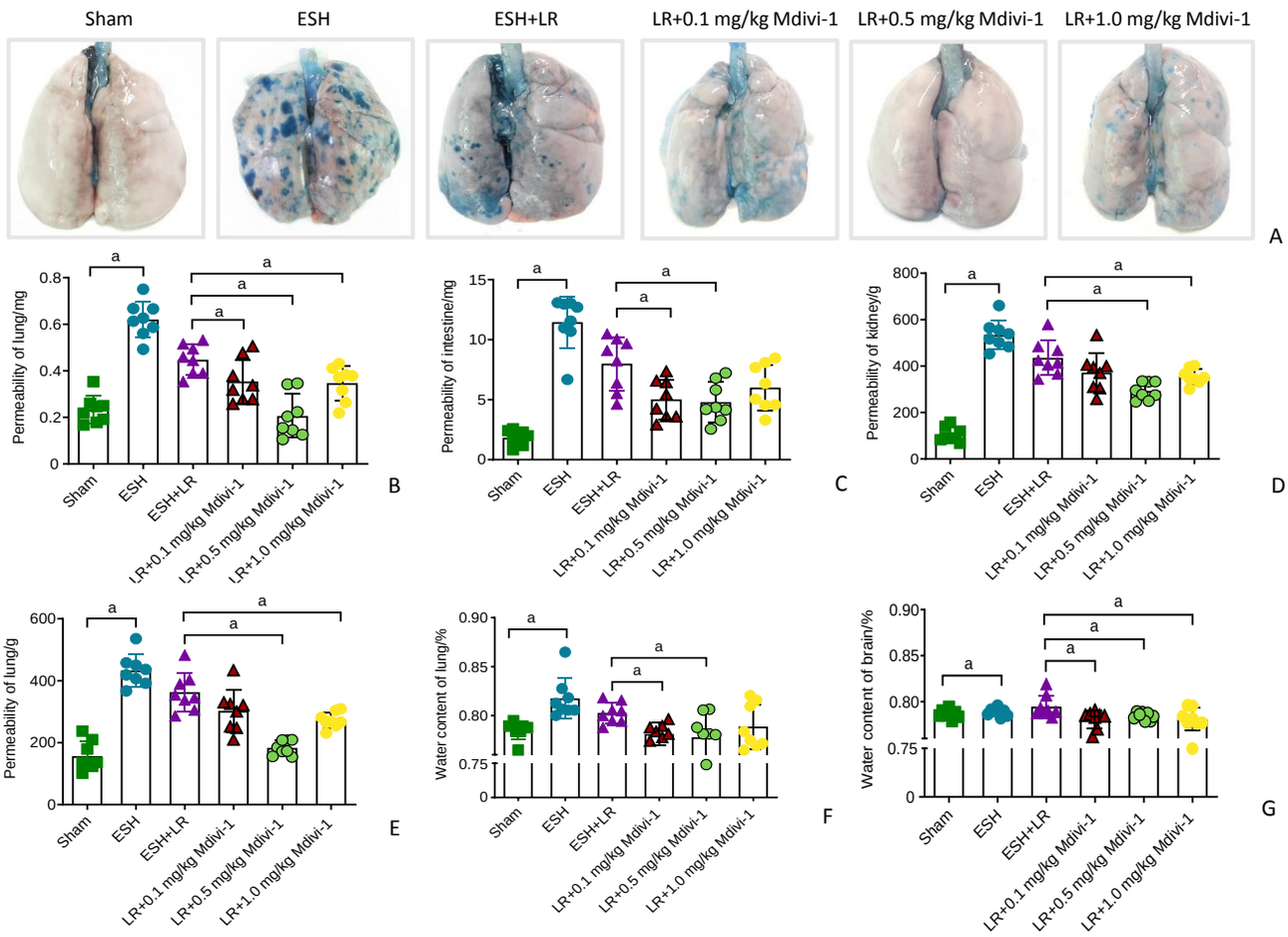
2 结果

2.1 不同浓度Mdivi-1对爆炸合并失血性休克大鼠组织通透性的影响

本研究观察了不同浓度的Mdivi-1对ESH大鼠组织通透性的影响。结果表明,ESH后,肺脏和肠道的通透性显著增加,表现为EB在肺脏和肠道的含量显著增多($P<0.05$);ESH+LR组对降低肺脏和肠道的通透性有一定的作用;不同浓度的Mdivi-1可显著降低肺脏和肠道的通透性,与ESH+LR组比较,LR+0.5 mg/kg Mdivi-1的肺脏和肠道通透性分别降低了11.0%和40.1%($P<0.05$,图1A~C)。用FITC-BSA方法测定的通透性结果表明,ESH组肾脏和肺脏的通透性显著增加($P<0.05$),ESH+LR组可轻微降低组织的通透性,但无显著性差异;不同浓度的Mdivi-1可显著降低肾脏和肺脏的通透性,其中LR+0.5 mg/kg Mdivi-1组的肾脏和肺脏的通透性较ESH+LR组分别降低了32.8%和49.6%($P<0.05$,图1D、E)。肺脏和脑含水量在ESH组显著增加($P<0.05$),ESH+LR组并不能降低肺脏、脑含水量;Mdivi-1复苏后,肺脏、脑组织含水量均呈现下降趋势,LR+0.5 mg/kg Mdivi-1组的肺脏、脑组织含水量较ESH+LR组分别降低了3.1%和1.3%($P<0.05$,图1F、G)。上述结果说明,Mdivi-1可降低ESH大鼠的组织通透性。

2.2 不同浓度Mdivi-1改善爆炸合并失血性休克大鼠的血气

ESH后,血气指标发生显著变化:pH、二氧化碳



A and B: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on lung permeability using Evans Blue; C: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on intestinal permeability using Evans Blue; D and E: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on kidney and lung permeability using FITC-BSA; F: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on lung water content; G: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on brain water content. a: $P<0.05$

图1 不同浓度Mdivi-1对爆炸合并失血性休克大鼠组织通透性的影响

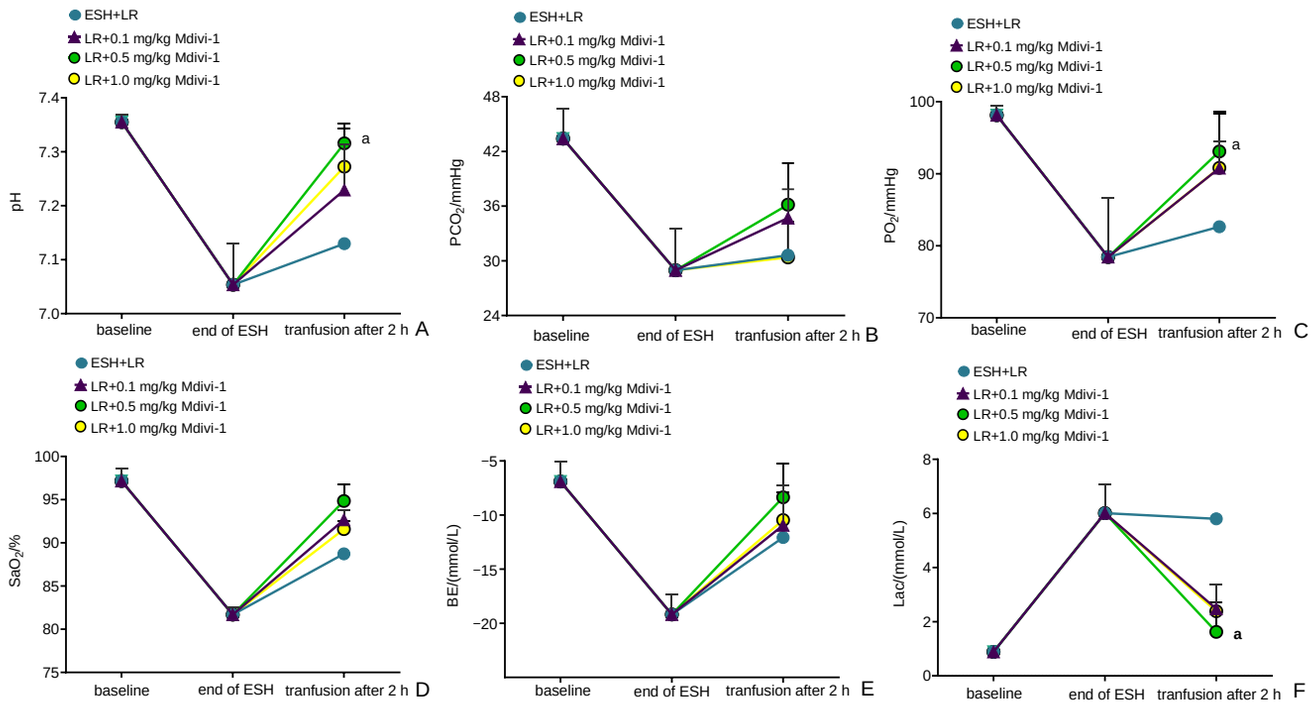
Figure 1 Effects of different concentrations of Mdivi-1 on tissue permeability in rats with explosion combined with hemorrhagic shock

分压(partial pressure of carbon dioxide,PCO_2)、氧分压(partial pressure of oxygen,PO_2)、氧饱和度(oxygen saturation,SaO_2)和碱剩余(base excess,BE)均显著降低,每个组间差异无统计学意义;ESH+LR组pH、PCO_2、PO_2、SaO_2和BE呈现不同程度的增加,不同浓度Mdivi-1作用后,上述指标也显著增加,与ESH+LR组比较,升高得更明显。在复苏2 h时,LR+Mdivi-1组的PO_2显著高于ESH+LR组,LR+0.5 mg/kg Mdivi-1组比ESH+LR组增加了12.7%($P<0.05$,图2A~E)。

本研究还检测了血气中的乳酸,结果发现,ESH组乳酸显著增加,ESH+LR组可轻微降低乳酸水平,不同浓度的Mdivi-1可不同程度地降低乳酸水平,LR+0.5 mg/kg Mdivi-1组乳酸水平下降得更多,在液体复苏后2 h时相点,与ESH+LR组比较,下降了84.0%($P<0.05$,图2F)。上述结果说明不同浓度Mdivi-1可改善ESH大鼠的血气。

2.3 不同浓度Mdivi-1对爆炸合并失血性休克大鼠器官血流量的影响

ESH大鼠的肝脏、肾脏、肠道血流灌注量分别降低到假手术组的57.1%、39.2%和43.2%($P<0.05$);ESH+LR组器官血流量有所增加;不同浓度Mdivi-1均可显著增加ESH大鼠的肝脏、肾脏和肠道血流量,其中LR+0.5 mg/kg Mdivi-1更显著增加,与ESH+LR比较,分别增加了47.3%、68.6%和59.7%($P<0.05$,图3)。结果说明Mdivi-1可恢复ESH大鼠肝脏、肾脏和肠道的血流量。



A: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on pH; B: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on PCO_2; C: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on PO_2; D: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on SaO_2; E: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on BE; F: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on Lac. a: $P<0.05$, compared with the ESH+LR

图2 不同浓度Mdivi-1对爆炸合并失血性休克大鼠血气的影响

Figure 2 Effects of different concentrations of Mdivi-1 on blood gas in rats with explosion combined with hemorrhagic shock

2.4 不同浓度Mdivi-1对爆炸合并失血性休克大鼠重要器官功能的影响

与Sham组比较,爆炸伤合并失血性休克后,心脏功能受损,表现为心脏损伤标志物TNI显著升高。ESH+LR组可轻微降低TNI,但无显著性差异。Mdivi-1不同程度降低ESH大鼠的TNI,其中LR+0.5 mg/kg Mdivi-1更显著降低ESH大鼠的TNI,与ESH+LR组相比,降低了36.0%($P<0.05$,图4A)。

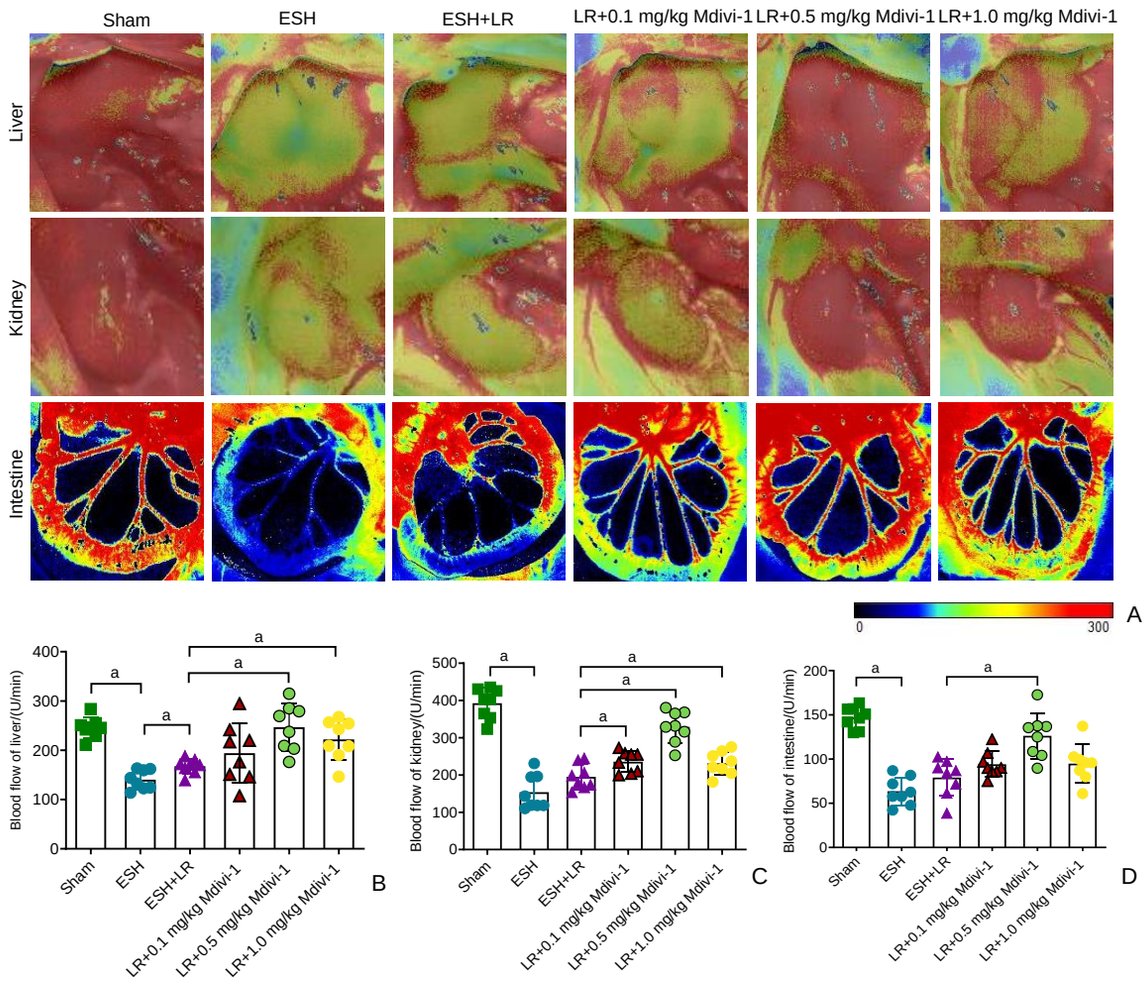
ESH后,肝、肾功能指标(AST、ALT、Scr和BUN)均明显升高,ESH+LR组肝、肾功能指标无明显改善。LR+0.5 mg/kg Mdivi-1使AST、ALT、Scr和BUN显著降低,且明显低于ESH+LR组($P<0.05$,图4B~E)。结果说明Mdivi-1可减轻ESH大鼠的肝脏、肾脏和心脏功能损伤。

2.5 不同浓度Mdivi-1对爆炸合并失血性休克大鼠血压、呼吸、心率及存活时间的影响

复制ESH大鼠模型,使用不同浓度Mdivi-1(0.1、0.5、1.0 mg/kg)复苏后,观察MAP、RR、HR、存活时间以及存活率的变化。结果发现,ESH后,MAP显著性降低;ESH+LR组MAP增加到60.0 mmHg。不同浓度Mdivi-1治疗后,ESH大鼠的MAP均显著提高,LR+0.5 mg/kg Mdivi-1的MAP增加到87.1 mmHg,与ESH+LR组比较,增加了45.2%($P<0.05$,图5A)。

HR的结果与MAP相似,ESH后,HR显著降低,ESH+LR复苏可增加HR;不同浓度Mdivi-1可在一定程度上增加HR,LR+0.5 mg/kg Mdivi-1进一步增加HR,与ESH+LR比较有显著性差异($P<0.05$,图5B)。不同浓度Mdivi-1对RR无显著影响(图5C)。

存活的结果发现大鼠经历了ESH后,平均存活时间显著降低,72 h存活时间为(3.8±1.1) h,72 h存活率为0($P<0.05$),没有1只大鼠的存活时间超过8 h。ESH+LR组大鼠的平均存活时间延长到(29.16±24.38) h,仅2只大鼠存活超过72 h,存活率为12.5%。Mdivi-1显著延长ESH大鼠的存活时间和72 h存活率,LR+0.1 mg/kg Mdivi-1的平均存活时间为(47.98±28.62) h,9只大鼠存活超过72 h。LR+0.5 mg/kg Mdivi-1的平均存活时间为(55.64±23.46) h,10只大鼠存活超过72 h(图5D、E)。上述结果说明线粒体分裂抑制剂显著延长ESH大鼠的存活时间,提高存活率。



A: Representative images of blood flow in the liver, kidney and intestine; B: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on liver blood flow; C: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on kidney blood flow; D: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on intestinal blood flow. a: $P<0.05$

图3 不同Mdivi-1复苏对爆炸合并失血性休克大鼠组织灌注的影响

Figure 3 Effects of resuscitation with different concentrations of Mdivi-1 on tissue perfusion in rats with explosion combined with hemorrhagic shock

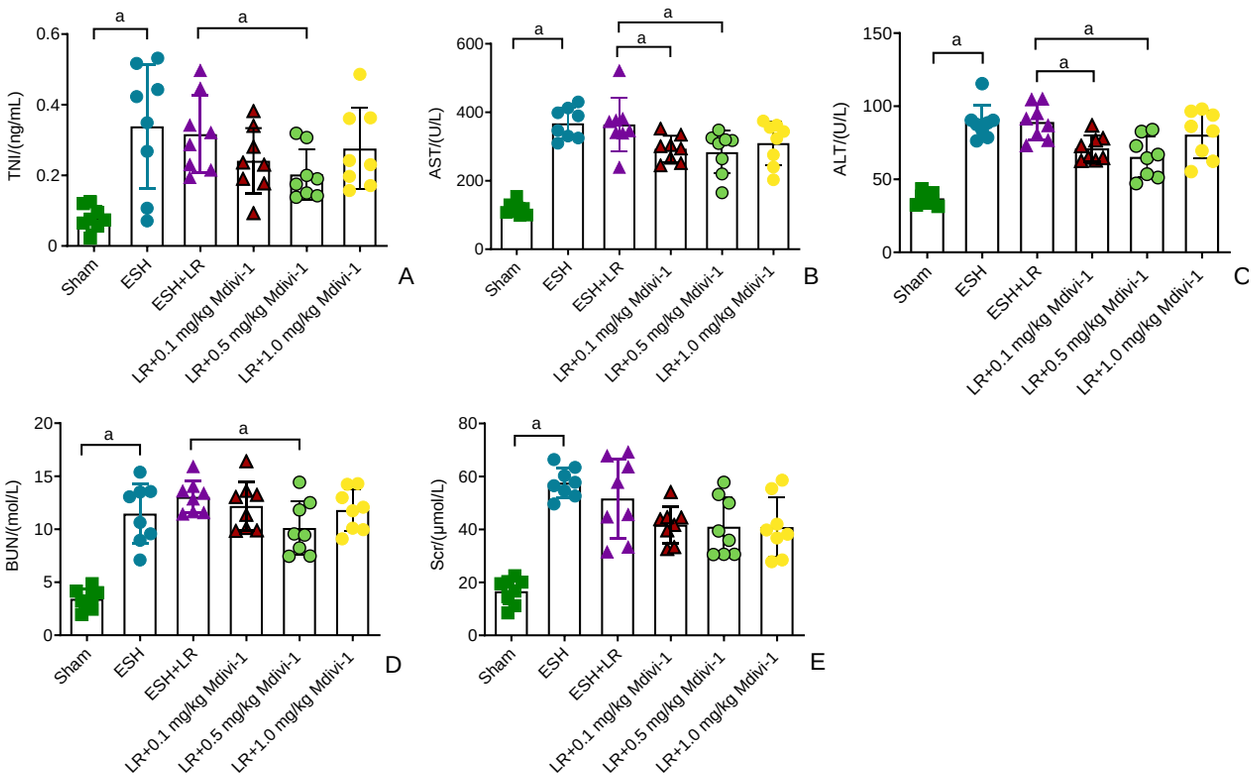
3 讨论

3.1 Mdivi-1对爆炸合并失血性休克组织通透性的调控作用

在爆炸伤的病理过程中,巨大的爆炸冲击波对机体造成广泛的组织损伤。当伴有失血性休克时损伤更严重,其会加重机体重要脏器的功能损伤,给生命安全带来巨大威胁。本研究证实Mdivi-1可通过降低爆炸合并失血性休克大鼠肺脏、肾脏和肠道的通透性,改善大鼠的血气、增加重要器官灌注,改善器官功能,同时稳定血流动力学指标,最终实现大鼠的存活时间延长和存活率提升。研究为爆炸合并失血性休克的救治提供了全新的措施。

3.2 Mdivi-1调控线粒体功能、能量代谢及组织通透性的机制分析

缺氧是休克主要的病理生理特征,线粒体是机体中对缺氧高度敏感的细胞器,针对线粒体寻找爆炸合并失血性休克的防治措施对提升临床救治水平具有重要意义。Mdivi-1作为线粒体特异性抑制剂,可通过抑制线粒体分裂蛋白动力相关蛋白1(dynamin-related protein 1,Drp1)的活性,有效抑制线粒体的异常分裂,进而维持线粒体的正常形态与生理功能。以往研究发现Mdivi-1可减轻盲肠结扎和穿刺(cecal ligation and puncture,CLP)诱导的肝损伤,改善肝脏病理和功能[7];CUI等[12]发现Mdivi-1抑制Drp1磷酸化,缓解线粒体裂变和功能障碍,减少细胞凋亡。正常状态下,



A: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on the cardiac injury marker TNI; B and C: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on liver function injury markers AST and ALT; D and E: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on renal function injury markers BUN and Scr. a: $P<0.05$

图4 不同浓度Mdivi-1对爆炸合并失血性休克大鼠重要器官功能的影响

Figure 4 Effects of different concentrations of Mdivi-1 on vital organ function in rats with explosion combined with hemorrhagic shock

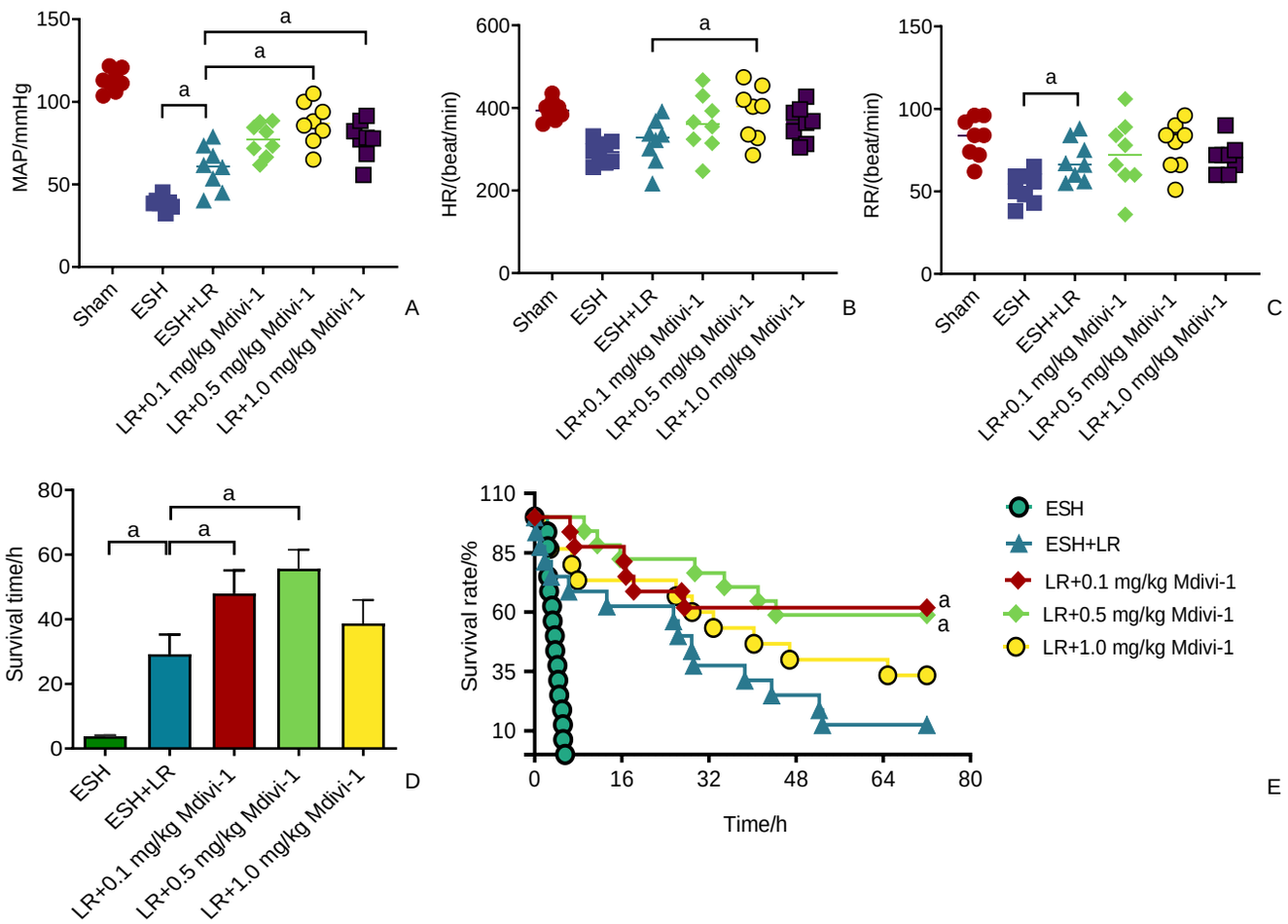
线粒体能够保障细胞能量代谢的稳定运行,显著降低活性氧(reactive oxygen species,ROS)的生成量,但在疾病状态下线粒体形态紊乱,体内ROS水平产生过高[13-15]。过多的ROS会降低脑血管紧密连接蛋白ZO-1表达[16]和Claudins、Occludin的表达[17],进而加剧组织通透性[18];而Mdivi-1可以降低ROS水平,恢复线粒体功能[19]。在本研究中发现Mdivi-1可降低组织的通透性,推测可能是Mdivi-1增加连接蛋白的表达水平来改善组织的通透性,但具体机制还需进一步研究。

在脓毒症大鼠研究中,给予Mdivi-1干预后,肠系膜上动脉Drp1蛋白Ser616位点磷酸化程度显著降低,线粒体向特定部位的转位过程也明显减少。同时,ROS水平呈现大幅下降。血管环张力实验数据表明,接受Mdivi-1处理的实验组大鼠,其血管收缩功能相较于未处理组有显著增强;肝脏与肾脏的血流灌注量也得到有效恢复[20]。正常线粒体功能保障了三磷酸腺苷(adenosine triphosphate,ATP)的稳定供应,为血管平滑肌维持收缩功能提供充足能量。Mdivi-1处理导致*db/db*小鼠海马体中的线粒体含量和ATP水平显著增加[21];经Mdivi-1处理可提升失血性休克大鼠的平均动脉压[22]。

3.3 临床转化意义与研究局限性

从临床应用角度看,Mdivi-1的优势在于兼具线粒体靶向性与多器官功能保护的广谱性:一方面,对于爆炸合并失血性休克的早期救治,Mdivi-1有望与液体复苏联合使用,减少"过度复苏"导致的组织水肿;另一方面,其对线粒体功能的保护可能降低后续脓毒症、多器官功能障碍综合征的发生率,这对提升重症患者远期预后具有重要意义。

本研究仍存在一定局限性:①现有数据仅能证实Mdivi-1的器官保护作用与组织通透性降低之间存在相关性,无法完全排除其他机制的参与,例如,Mdivi-1可能通过改善线粒体动力平衡、减少ROS生成或抑制凋亡通路,需进一步通过特异性阻断实验验证核心通路。②本研究未深入探讨Mdivi-1调控组织通透性的具体信号通路,导致机制阐释的深度不足。



A: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on blood pressure; B: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on heart rate; C: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on respiration rate; D: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on survival time; E: Effects of different concentrations of Mdivi-1 on survival rate. a: $P<0.05$

图5 不同浓度Mdivi-1对爆炸合并失血性休克大鼠血压、呼吸、心率及存活的影响

Figure 5 Effects of resuscitation with different concentrations of Mdivi-1 on blood pressure, respiration rate, heart rate, survival time and rate in rats with explosion combined with hemorrhagic shock

综上所述,本研究通过爆炸合并失血性休克模型,发现Mdivi-1可通过降低爆炸合并失血性休克大鼠肺脏、肾脏、肠道组织通透性,改善组织血流灌注,进而保护心脏、肝脏、肾脏等重要器官功能,延长大鼠存活时间并提高存活率,为爆炸合并失血性休克这类高致死性复合伤的靶向救治提供新候选策略,填补线粒体调控在该类伤情器官保护中的应用空白。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] WOLF S J, BEBARTA V S, BONNETT C J, *et al*. Blast injuries [J]. Lancet, 2009, 374 (9687): 405-415. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60257-9.

[2] 周继红, 吴鹏飞, 袁丹凤, 等. 爆炸伤损伤机制与救治原则[J/OL]. 伤害医学(电子版), 2024, 13(4): 63-67. DOI: 10.3868/j.issn.2095-1566.2024.04.009.
ZHOU J H, WU P F, YUAN D F, *et al*. Mechanism and treatment principles of blast injuries[J/OL]. Inj Med Electron Ed, 2024, 13(4): 63-67. DOI: 10.3868/j.issn.2095-1566.2024.04.009.

[3] KAZMIRCHUK A, YARMOLIUK Y, LURIN I, *et al*. Ukraine's experience with management of combat casualties using NATO's four-tier "changing as needed" healthcare system[J]. World J Surg, 2022, 46(12): 2858-2862. DOI: 10.1007/s00268-022-06718-3.

[4] GORDON D, SPIEGEL R. Fluid resuscitation: history, physiology, and modern fluid resuscitation strategies [J]. Emerg Med Clin North Am, 2020, 38(4): 783-793. DOI: 10.1016/j.emc.2020.06.004.

[5] 彭小勇,朱娱,张双博,等.液体复苏抑制血管组织铁死亡对爆炸损伤并发失血性休克大鼠血管细胞结构损伤的减轻作用[J].吉林大学学报(医学版),2024,50(5):1227-1234. DOI:10.13481/j.1671-587X.20240505.
PENG X Y, ZHU Y, ZHANG S B, *et al*. Alleviative effect of fluid resuscitation on damage of structure injury of vascular cells after blast injury complicated with hemorrhagic shock in rats by inhibiting ferroptosis of vascular tissue[J]. J Jilin Univ Med Ed, 2024, 50(5): 1227-1234. DOI: 10.13481/j.1671-587X.20240505.

[6] MADREITER-SOKOLOWSKI C T, HIDEN U, KRSTIC J, *et al*. Targeting organ-specific mitochondrial dysfunction to improve biological aging[J]. Pharmacol Ther, 2024, 262: 108710. DOI:10.1016/j.pharmthera.2024.108710.

[7] ZHANG Q, LIU Z H, HUANG X X, *et al*. Mdivi-1 alleviates sepsis-induced liver injury by inhibiting sting signaling activation[J]. Shock, 2024, 62(1): 95-102. DOI: 10.1097/shk.0000000000002349.

[8] ZHANG X Y, FAN H, SU L, *et al*. Mdivi-1 attenuates sepsis-associated acute lung injury by inhibiting M1 alveolar macrophage polarization and pyroptosis [J]. Mediators Inflamm, 2025, 2025: 3675276. DOI:10.1155/mi/3675276.

[9] LIU Q, WENG J L, LI C F, *et al*. Attenuation of $PM_{2.5}$-induced alveolar epithelial cells and lung injury through regulation of mitochondrial fission and fusion[J]. Part Fibre Toxicol, 2023, 20(1): 28. DOI: 10.1186/s12989-023-00534-w.

[10] ZHENG D Y, ZHANG J, ZHANG Z S, *et al*. Endothelial microvesicles induce pulmonary vascular leakage and lung injury during sepsis[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 643. DOI:10.3389/fcell.2020.00643.

[11] ZHU Y, DENG H Y, SHE H, *et al*. Protective effect of moderate hypotonic fluid on organ dysfunction *via* alleviating lethal triad following seawater immersion with hemorrhagic shock in rats[J]. Front Physiol, 2022, 13: 827838. DOI: 10.3389/fphys.2022.827838.

[12] CUI L H, CHEN M Q, JIN Y H, *et al*. Mdivi-1 alleviates nicotine-induced human periodontal ligament cells injury by inhibiting mitochondrial fission and dysfunction through the JNK/Drp1 pathway[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2024, 288: 117338. DOI:10.1016/j.ecoenv.2024.117338.

[13] SHARP W W, FANG Y H, HAN M, *et al*. Dynamin-related protein 1 (Drp1) -mediated diastolic dysfunction in myocardial ischemia-reperfusion injury: therapeutic benefits of Drp1 inhibition to reduce mitochondrial fission [J]. FASEB J, 2014, 28(1): 316-326. DOI: 10.1096/fj.12-226225.

[14] MARX N, RITTER N, DISSE P, *et al*. Detailed analysis of Mdivi-1 effects on complex I and respiratory super complex assembly[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 19673. DOI:10.1038/s41598-024-69748-y.

[15] SUN Z H, JI Z H, MENG H W, *et al*. Lactate facilitated mitochondrial fission-derived ROS to promote pulmonary fibrosis *via* ERK/DRP-1 signaling[J]. J Transl Med, 2024, 22(1): 479. DOI:10.1186/s12967-024-05289-2.

[16] WANG K K, QU H Y, HU R N, *et al*. Polymerase delta-interacting protein 2 mediates brain vascular permeability by regulating ROS-mediated ZO-1 phosphorylation and localization at the interendothelial border[J]. Cell Commun Signal, 2025, 23(1): 9. DOI: 10.1186/s12964-024-01982-3.

[17] NAGAR E, SINGH N, SAINI N, *et al*. Glutathione attenuates diesel exhaust-induced lung epithelial injury *via* NF-κB/Nrf2/GPX4-mediated ferroptosis [J]. Toxicology, 2025, 515: 154154. DOI:10.1016/j.tox.2025.154154.

[18] SUN K, FAN J Y, HAN J Y. Ameliorating effects of traditional Chinese medicine preparation, Chinese materia medica and active compounds on ischemia/reperfusion-induced cerebral microcirculatory disturbances and neuron damage[J]. Acta Pharm Sin B, 2015, 5(1): 8-24. DOI: 10.1016/j.apsb.2014.11.002.

[19] SU Z D Z, LI C Q, WANG H W, *et al*. Inhibition of DRP1-dependent mitochondrial fission by Mdivi-1 alleviates atherosclerosis through the modulation of M1 polarization [J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 427. DOI: 10.1186/s12967-023-04270-9.

[20] DUAN C Y, WANG L, ZHANG J, *et al*. Mdivi-1 attenuates oxidative stress and exerts vascular protection in ischemic/hypoxic injury by a mechanism independent of Drp1 GTPase activity[J]. Redox Biol, 2020, 37: 101706. DOI:10.1016/j.redox.2020.101706.

[21] HUANG S B, WANG Y F, GAN X Q, *et al*. Drp1-mediated mitochondrial abnormalities link to synaptic injury in diabetes model[J]. Diabetes, 2015, 64(5): 1728-1742. DOI:10.2337/db14-0758.

[22] WU Y, LI Q H, ZHU Y, *et al*. Effects of mdivi-1 on extending the golden treatment time following hemorrhagic shock in hot environment in rats[J]. Adv Biol, 2023, 7(7): e2300024. DOI:10.1002/adbi.202300024.

(收稿:2025-07-04;修回:2025-10-20)
(编辑 刘秋池)