

## · 论著 ·

## 氧疗对高原失血性休克家兔肠黏膜屏障的影响

董燕 郑江 王仙园 周娟

**【摘要】目的** 探讨氧疗对高原失血性休克动物肠道损伤的保护作用。**方法** 15 只家兔随机分为实验组和对照组。模拟高原环境,在低压舱内减压至海拔 4 000 m,经股动脉放血使其平均动脉压(MAP)降至 40 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa),实验组动物给予氧浓度(FiO<sub>2</sub>)为 0.80 的 O<sub>2</sub> 吸入,并回输全部失血量及 1.5 倍失血量的平衡盐溶液抗休克治疗;对照组只给予抗休克治疗。**结果** 与对照组相比,实验组动物的 MAP 于治疗后 4 h 显著高于对照组同期水平( $P<0.05$ );而治疗后 4 h 和 8 h 实验组的血浆乳酸水平显著低于对照组( $P<0.01$  和  $P<0.05$ );血浆内毒素水平在治疗后显著低于对照组( $P<0.05$  和  $P<0.01$ );实验组动物的小肠黏膜损伤程度明显轻于对照组。**结论** 高原失血性休克可以造成肠黏膜屏障损伤,氧疗对高原失血性休克家兔的肠黏膜具有明显保护作用。

**【关键词】** 休克,高原,失血性; 氧疗; 肠黏膜; 内毒素; 乳酸

**Effect of oxygen therapy for injury of intestinal mucosal barrier of rabbits in high altitude hemorrhagic shock** DONG Yan, ZHENG Jiang, WANG Xian-yuan, ZHOU Juan, Department of Nursing, The Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

**【Abstract】Objective** To investigate the protective effects of oxygen therapy on gut barrier function of rabbits after hemorrhagic shock at high altitude. **Methods** Fifteen rabbits were exposed to a simulated 4 000 m high altitude in a hypobaric chamber, and they were randomly divided into two groups of treatment and control. Then hemorrhagic shock was induced through bleeding to mean artery pressure 40 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa). After 1 hour, the rabbits were resuscitated with infusion of total volume of shed blood and balanced saline equivalent to 1.5 times of the shed blood. In addition, the animals of the treatment group were given oxygen therapy. **Results** After 4 hours treatment, the mean arterial pressure of the treatment group was increased significantly in comparison with the control group, and the concentrations of plasma lactate in the former were significantly decreased after treatment for 4 hours and 8 hours. The plasma lipopolysaccharide levels in the treatment group were significantly lower than those in the control after treatment, and the histologic evidence of damage to the intestinal mucosa of the rabbits in the treatment group was less marked than that in the control group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). **Conclusion** Hemorrhagic shock at high altitude may cause disruption of the intestinal mucosa barrier and oxygen therapy could afford protection to the intestinal mucosa barrier in such circumstance.

**【Key words】** high altitude hemorrhagic shock; oxygen therapy; intestinal mucosa; lipopolysaccharide; lactate

由于高原地区空气稀薄,氧分压低,发生失血性休克后,缺氧和失血的复合作用会使休克程度明显加重,病情进展快,存活时间短,病死率高<sup>[1]</sup>。因此,在救治过程中,除了采用抗休克治疗外,及时给予有效的氧疗尤为重要。在我们的前期课题研究中,应用不同浓度的氧疗进行实验,筛选并确定出高原失血性休克动物救治的理想氧疗浓度为氧浓度(FiO<sub>2</sub>) 0.80。研究表明,休克后由于肠道严重缺血、缺氧,屏障功能降低,肠源性内毒素(lipopolysaccharide, LPS)移位与休克后器官功能损害及其预后密切相关<sup>[2,3]</sup>。因此,保护肠黏膜屏障是阻止休克向不可逆

基金项目:全军“十五”重点课题资助项目(01Z100)

作者单位:400038 重庆,第三军医大学护理管理教研室;第三军医大学附属西南医院中心实验室;解放军总后勤部卫生部医疗局

作者简介:董燕(1974-),女(汉族),山东省济南市人,硕士研究生,主管护师。

方向发展的关键环节之一<sup>[4]</sup>。但是,国内外关于氧疗对高原失血性休克后期肠道屏障功能的影响尚无报道。为此,本研究中选用急进高原失血性休克家兔模型,探讨氧疗对高原失血性休克动物肠黏膜屏障是否具有保护作用。

## 1 材料与方法

**1.1 动物分组:**将 15 只家兔随机分为实验组与对照组,并编号,其中实验组 7 只,对照组 8 只;体重分别为(2.17±0.23)kg 和(2.20±0.24)kg,两组无统计学差异( $P>0.05$ )。

**1.2 动物模型制备:**将家兔放入模拟高原低压舱内,30~40 min 后减压至海拔 4 000 m 高度,维持此高度至实验结束,室温 25℃,适应 20 min 后,复制失血性休克模型。用质量分数为 3%的戊巴比妥钠(30 mg/kg)耳缘静脉注射麻醉,无菌条件下气管插

管,分别行股动脉插管连接立柱式血压计,股静脉插管建立补液通道;静脉注射质量分数为 0.3%的肝素钠生理盐水(5 mg/kg),达全身肝素化。插管完毕后,经股动脉放血使平均动脉压(MAP)在 10 min 内降至 40 mm Hg(1 mm Hg = 0.133 kPa),维持 1 h,然后经股静脉 40~50 min 回输全部失血及 1.5 倍失血量的平衡盐液抗休克治疗,同时实验组动物采用双重单向活瓣控制给予  $FiO_2$  为 0.80 的  $O_2$ (前期实验结果),湿化持续吸入。

**1.3 标本采集:**分别在功能休克前、休克 1 h 及治疗后 1、2、4 和 8 h 记录 MAP 变化;同时取上述各时间点动脉血 3 ml,置于辐照消毒的测试管内,3 000 r/min 离心 10 min,取上清 0.5 ml 检测血浆中乳酸浓度;另取上清约 0.5 ml 移入辐照消毒的测试管内,于 -20 °C 保存,待检测 LPS 水平。

**1.4 病理学观察:**治疗后 8 h 每组各处死 3 只动物,取上段小肠组织 2.5 cm × 1.0 cm,用体积分数为 10%的甲醛固定,常规制作石蜡切片,苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察。

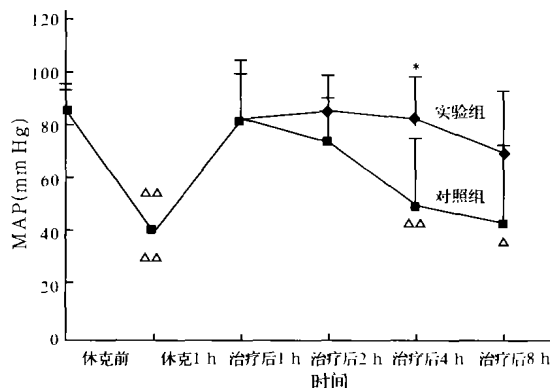
**1.5 血浆 LPS 水平测定:**采用动态浊度法鲎试剂检测 LPS 水平,所用器具经灭菌、去热源处理。先取 200  $\mu$ l 血浆样本置于 95 °C 的水浴 30 min,以灭活肝素,然后在每一个检测试管中加入 100  $\mu$ l 鲎试剂稀释液。取 LPS 标准品稀释液 20  $\mu$ l,以检查用水稀释 40 倍,振荡混匀,浓度为 0.5 EU/ml(EU 为内毒素单位)。反应体系设阴性对照和阳性对照,阴性对照为检查用水,阳性对照为 0.5 EU/ml 的标准 LPS 稀释液。最后取阴性对照、阳性对照及各样本血浆 100  $\mu$ l,分别加入有鲎试剂稀释液的各检测试管中,将检测试管置于 EDS-99 细菌 LPS 测定系统中检测,所用试剂均购自湛江安度斯生物有限公司。

**1.6 统计学处理:**数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 SPSS 10.0 统计软件进行 *t* 检验、方差分析及相关分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 氧疗对 MAP 的影响(图 1):**实验组动物失血量为  $(20.20 \pm 7.71)$  ml/kg,对照组为  $(22.47 \pm 3.06)$  ml/kg,两组间无显著性差异( $P > 0.05$ )。两组动物休克前 MAP 无显著性差异,失血期间 MAP 均降至 40 mm Hg,治疗后 MAP 立即恢复正常,治疗后 4 h 实验组 MAP 为  $(82.50 \pm 15.41)$  mm Hg,显著高于对照组  $(50.00 \pm 25.30)$  mm Hg( $P < 0.05$ );对照组 MAP 于治疗后 4 h 即显著低于休克前水平( $P < 0.01$ ),治疗后 8 h(仅存活 3 只)降至  $(43.30 \pm$

28.87) mm Hg。

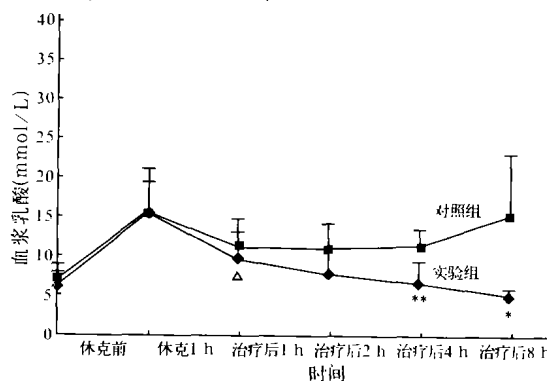


注:与对照组同时时间点比较: \*  $P < 0.05$ ;  
与自身休克前比较:  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$

图 1 两组动物 MAP 的变化

Figure 1 Changes of MAP in two groups

**2.2 氧疗对血浆乳酸水平的影响(图 2):**失血期间两组动物的血浆乳酸水平急剧升高,治疗后实验组的血浆乳酸水平随吸氧时间的延长呈进行性下降趋势,治疗后 1 h 即降至  $(9.66 \pm 3.39)$  mmol/L,显著低于治疗前(休克 1 h)水平( $P < 0.05$ );而对照组下降幅度较小,且在治疗 4 h 后又逐渐上升。治疗后 4 h 和 8 h,实验组的血浆乳酸水平分别为  $(6.60 \pm 2.76)$  mmol/L 和  $(4.99 \pm 0.97)$  mmol/L,均显著低于对照组的  $(11.25 \pm 2.09)$  mmol/L 和  $(15.36 \pm 7.77)$  mmol/L( $P < 0.01$  和  $P < 0.05$ )。



注:与对照组同时相点比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ;

与自身休克前比较:  $\Delta P < 0.05$

图 2 两组动物血浆乳酸水平的变化

Figure 2 Changes of plasma lactate in two groups

**2.3 氧疗对血浆 LPS 水平的影响(表 1):**休克后两组动物的血浆 LPS 均有所上升,治疗后仍呈同步上升趋势,8 h 达最高峰,但对照组的增幅明显高于实验组,与其自身休克时相比差异非常显著( $P$  均  $< 0.01$ ),而实验组到治疗后 8 h 才显著高于休克时水平。治疗后,实验组的血浆 LPS 水平显著低于对照组( $P < 0.05$  和  $P < 0.01$ )。

表 1 两组动物血浆 LPS 水平的变化( $\bar{x} \pm s$ )Table 1 Changes of plasma LPS in two groups( $\bar{x} \pm s$ )

EU/ml

组别	动物数(只)	休克前	休克 1 h	治疗后 1 h	治疗后 4 h	治疗后 8 h
实验组	7	0.308 2±0.056 8	0.525 2±0.140 5	0.700 0±0.268 1*	0.519 4±0.140 0**	0.955 4±0.289 9△*
对照组	8	0.313 6±0.054 6	0.512 2±0.140 8	1.237 0±0.253 4△△	1.164 4±0.362 9△△	1.592 7±0.130 2△△

注:与自身休克 1 h 比较:△ $P < 0.05$ , △△ $P < 0.01$ ;与对照组同时时间点比较:\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 

2.4 小肠组织的病理形态学变化:治疗后 8 h 对照组的小肠黏膜上皮细胞水肿、出血,有中中性粒细胞和淋巴细胞浸润,肠绒毛上皮细胞排列紊乱、部分脱落。实验组动物仅有轻度上皮细胞水肿,少量炎性细胞浸润,无上皮细胞坏死、脱落。

### 3 讨论

肠道是人体最大的细菌和 LPS 库。失血性休克导致内脏供血减少,而肠缺血常常可引起肠壁损伤,是导致肠道细菌及 LPS 移位入血的重要原因。

本实验结果显示,在高原特殊环境下,动物遭受缺血、缺氧后 1 h 即有血浆 LPS 水平的升高,治疗后随时间延长呈进行性增高趋势,与以往报道相符<sup>[5,6]</sup>;病理形态学观察发现,对照组动物的小肠黏膜上皮细胞水肿、出血,小肠绒毛上皮细胞排列紊乱、部分脱落,说明休克发生后肠黏膜的完整性遭到破坏,黏膜通透性增加,LPS 移位入血。

LPS 是革兰阴性( $G^-$ )杆菌外膜的重要组成部分。正常肠道中,细菌在复制过程中外膜碎片不断脱落,使肠内游离 LPS 处于高水平,由于健全的肠道屏障作用,这些 LPS 被限制在肠腔内,并不释放入体循环。当机体发生休克后,肠黏膜的物理完整性遭到破坏,黏膜通透性增加,使细菌、LPS 能够透过肠道屏障移位入血;同时休克的打击还可引起肠道菌群微生态环境的改变,肠腔菌群更容易通过损伤的肠黏膜移位入血;另外,发生休克后肠黏膜局部的免疫功能受损,也是促使细菌、LPS 容易透过肠道屏障移位入血的一个重要原因。有研究表明,在休克早期就可发生内毒素血症,并随 MAP 的降低及休克时间的延长而不断加剧。LPS 是  $G^-$  杆菌裂解时释放出来的,肠道内的寄生菌群多数为  $G^-$  杆菌,可不断产生大量的 LPS。据此推测休克早期血中的 LPS 可能直接来源于肠道,后期可能来源于肠道和已移位至血及组织器官中的  $G^-$  杆菌<sup>[7-9]</sup>。

本实验结果显示:治疗后 8 h 实验组动物的小肠黏膜仅有轻度黏膜上皮细胞水肿和少量炎性细胞浸润,无上皮细胞坏死、脱落;治疗后实验组的血浆 LPS 增幅也明显低于对照组。提示氧疗可以使高原失血性休克动物的肠黏膜屏障损伤程度降低,结合

其他指标分析,在高原发生失血性休克后,单纯抗休克治疗并不能长时间地维持 MAP 在正常水平;同时给予氧疗处理,就能使 MAP 持久维持在较高水平。而 MAP 又是组织能否得到良好灌注的客观指标,所以,氧疗以后高原失血性休克动物的组织灌注压增加,一方面可以使肠上皮缺血得到改善,氧供增加,毛细血管通透性降低,肠上皮细胞间隙水肿减轻,使 LPS 发生移位的机会减少;另一方面肝血流也会增加,网状内皮系统功能恢复,使肝脏对 LPS 的解毒作用增强。我们的实验结果就显示治疗后 MAP 与血浆 LPS 呈负相关。另外,血浆乳酸浓度作为细胞缺氧时葡萄糖酵解增加的终产物之一,被许多学者当作判断组织氧合状态及休克复苏的指标<sup>[10,11]</sup>。结果表明:氧疗可以降低高原失血性休克动物的血浆乳酸水平,缓解休克动物的酸中毒;进一步使肠黏膜上皮细胞因无氧代谢和酸中毒而受损的程度减轻,从而也有利于维护肠道的屏障功能,减少细菌及 LPS 移位入血。我们的实验结果也证实,治疗后血浆乳酸与 LPS 水平存在正相关关系,说明血浆中乳酸浓度越高,LPS 水平也越高,反之亦然。

肠道通透性增高是肠腔中 LPS 进入体内的直接原因,而移位的 LPS 可以直接损伤血管内皮细胞,进一步改变微循环血流动力学状态,使肠系膜血管阻力增加,加重肠缺血、缺氧,黏膜内出现酸中毒,肠黏膜通透性因而会进一步增高,使肠道内细菌、LPS 更容易发生移位,形成恶性循环。进入机体的 LPS 还可以激活单核-吞噬细胞系统,释放一系列炎症介质和细胞因子,反作用于肠黏膜<sup>[12]</sup>,引起肠黏膜血管扩张、间质水肿以及出血,同时也会进一步引发全身炎症反应综合征(SIRS),使组织、器官遭受损伤,最终可致多器官功能障碍综合征(MODS),甚至出现多器官功能衰竭(MOF)<sup>[13]</sup>。

### 4 小结

高原失血性休克发生后,动物肠黏膜屏障会遭受严重损伤;抢救时在复苏扩容基础上,及时给予有效的氧疗可降低失血性休克动物肠黏膜损伤程度,减少 LPS 移位入血,有利于减轻组织器官损伤,对提高高原失血性休克的救治存活率具有重要意义。

**参考文献:**

- 1 胡湘林,王云兵,王谦,等.高海拔地区创伤失血性休克 299 例救治分析[J].高原医学杂志,2001,11:19-22.
- 2 Hinshaw L B. Sepsis/septic shock; participation of the micro-circulation; an abbreviated review[J]. Crit Care Med, 1996, 24: 1072-1078.
- 3 Deitch E A. Multiple organ failure; pathophysiology and potential future therapy[J]. Ann Surg, 1992, 216: 117-134.
- 4 陈德昌,杨兴易,景炳文,等.大黄对多器官功能障碍综合征治疗作用的临床研究[J].中国中西医结合急救杂志,2002,9:6-8.
- 5 Jiang J X, Bahrami S, Leichtfried G, et al. Kinetics of endotoxin and tumor necrosis factor appearance in portal and systemic circulation after hemorrhagic shock in rats[J]. Ann Surg, 1995, 221: 100-106.
- 6 卞建民,杨坤兴,王书奎,等.失血增加内毒素血症危害性[J].中国急救医学,2001,21:6-7.
- 7 Kimura F, Miyazaki M, Suwa T, et al. Plasma concentration of cytokine antagonists in patients with infection following liver resection[J]. Br J Surg, 1998, 85: 1631-1635.
- 8 Grzelak I, Olszewski W L, Zaleska M, et al. Surgical trauma evokes a rise in the frequency of hematopoietic progenitor cell and cytokine levels in blood circulation[J]. Eur Surg Res, 1998, 30: 198-204.
- 9 Yao Y M, Wang L F, Dong N, et al. The tissue distribution of endotoxin in septic rats[J]. J Emerg Med, 2000, 9: 367-369.
- 10 Moomey C B, Melton S M, Croce M A, et al. Prognostic value of blood lactate, base deficit, and oxygen-derived variables in LD50 model of penetrating trauma[J]. Crit Care Med, 1999, 27: 154.
- 11 Holm C, Bismar H, Dantzker D R, et al. The relationship between oxygen transport and hemodynamic monitoring improved survival rate in patients with burn[J]. Burns, 2000, 26: 25-33.
- 12 林丽娜,王万铁,徐正价,等.地塞米松对家兔失血性休克-再灌注损伤的防治作用[J].中国危重病急救医学,2001,13:362-364.
- 13 曲爱君,吴铁军,刘桂清,等.大黄对 SIRS 和 MODS 患者肿瘤坏死因子- $\alpha$  及白介素的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2000, 7: 43-45.

(收稿日期:2004-07-26 修回日期:2004-08-16)

(本文编辑:李银平)

**• 科研新闻速递 •****前 B 细胞克隆增强因子可能作为诊断急性肺损伤的标志物**

美国科研人员最近对急性肺损伤(ALI)时前 B 细胞克隆增强因子(PBEF)基因多态性进行了研究。他们首先对 ALI 动物支气管肺泡灌洗液和血清以及富含细胞因子的肺微血管内皮进行动态聚合酶链反应(PCR)和免疫组化检测,发现有 PBEF 表达。之后他们又对白种人的严重脓毒症和脓毒症性 ALI 患者以及健康受试者标本进行基因分析,发现含有 SNPs T-1001G 和 C-1543T 两种基因型单倍体的患者比无这两种单倍体者患 ALI 的概率高 7.7 倍(95%可信限为 3.01~19.75,  $P < 0.001$ );进一步基因分析发现,含 SNP C-1543T 基因型单倍体的患者比无此单倍体者患 ALI 的概率高 1.8 倍。上述结果表明, PBEF 在 ALI 诊断中具有生物标志作用,也提示其在急性肺部疾病的基因诊断中具有潜在的应用价值。

刘庆阳,编译自《Am J Respir Crit Care Med》,2004 年 12 月 3 日电子版(MEDLINE);胡森,审校

**人白细胞 DR 抗原表达改变仅对脓毒性休克死亡的预测具有意义**

法国学者通过研究发现,人白细胞 DR 抗原(HLA-DR)仅在人脓毒性休克时表达降低,而在一般脓毒症及其他危重疾病时变化不明显。他们比较了脓毒性休克、心源性休克、出血性休克和不伴有休克的严重脓毒症患者以及健康自愿者循环血中 HLA-DR 的变化情况。结果显示,脓毒性休克患者 HLA-DR 表达明显下降( $n=30$ ;  $P < 0.001$ ),而在心源性休克( $n=16$ )、出血性休克( $n=11$ )、不伴有休克的严重脓毒症患者( $n=18$ )和健康自愿者( $n=8$ )中 HLA-DR 表达未发生明显变化。排除血管活性药物、机械通气、输氧以及成分输血等干扰因素后,可以得出 HLA-DR 降低确与脓毒性休克有关的结论。他们认为,HLA-DR 的表达虽无法预测脓毒性休克的整体死亡率,但其表达率在患病首日若降至正常值的 40% 以下,则对于预测患者的病死率具有重要意义。

刘庆阳,编译自《Shock》,2004, 22: 521-526;胡森,审校

**严重脓毒症和脓毒性休克与肿瘤坏死因子及肿瘤坏死因子受体基因多态性相关**

以往的研究表明,肿瘤坏死因子(TNF)是脓毒症时产生的重要致炎因子。最近,英国学者在对 TNF 基因多态性进行的一项临床多中心前瞻性研究中得出了新的结论。在该项研究中观察了 TNF 定位基因和两种受体基因(TNFRSF1A 和 TNFRSF1B)的多态性以及蛋白水平与严重脓毒症及脓毒性休克易感性、严重程度和预后的关系,还研究了患者个体的基因多态性及延伸基因与病情严重性的关系。研究者在英国和澳大利亚医院的 8 个 ICU 中选取 213 例患者作为受试对象,发现死亡患者血浆中 TNF ( $P=0.02$ )、可溶性 TNFRSF1A (sTNFRSF1A,  $P=0.005$ ) 和 sTNFRSF1B ( $P=0.01$ ) 的水平明显高于存活患者,并与器官衰竭程度[连续器官衰竭评分(SOFA)评分]呈正相关(sTNFRSF1A:  $r=0.51$ ,  $P < 0.001$ ; sTNFRSF1B:  $r=0.53$ ,  $P < 0.001$ ),与肾功能衰竭的相关性尤为显著。但此项研究却没能找出个体 TNF 定位基因及延伸基因与脓毒症程度相关联的证据。研究者认为,脓毒症和脓毒性休克严重性与 TNF 定位基因多态性的相关性有待进一步研究。

刘庆阳,编译自《Genes Immun》,2004, 5: 631-640;胡森,审校