

# 创伤性休克对大鼠肠淋巴液和血液中内毒素 肿瘤坏死因子- $\alpha$ 和白细胞介素-6 的影响

顾葆春 刘正军 石汉平 刘良明

**【摘要】目的** 探讨大鼠肠淋巴液在创伤性休克过程中发生细菌移位和炎症反应的可能。**方法** 复制创伤性休克大鼠模型并从肠淋巴干收集淋巴液,比较创伤性休克前后肠淋巴液及血液中内毒素(ET)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)的变化。**结果** 淋巴液中 ET、TNF- $\alpha$ 、IL-6 浓度在休克中明显升高( $P$  均 $<0.05$ ),复苏后除 IL-6 持续升高至 2 h 外,ET、TNF- $\alpha$  均降至正常水平。**结论** 创伤性休克大鼠休克期可从肠淋巴液观察到细菌移位现象,并可能导致 TNF、IL-6 水平升高,触发全身炎症反应。

**【关键词】** 休克,创伤性; 淋巴液; 内毒素; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 白细胞介素-6

**Influence of trauma-hemorrhagic shock on endotoxin, tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 levels in mesenteric lymph and blood of rats** GU Bao-chun\*, LIU Zheng-jun, SHI Han-ping, LIU Liang-ming. \* Department of General Surgery, Nanfang Hospital, Nanfang Medical University, Guangzhou 510015, Guangdong, China

**【Abstract】Objective** To investigate the influence of trauma-hemorrhagic shock on endotoxin (ET), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) levels in mesenteric lymph and blood of rats. **Methods** Mesenteric lymph from trauma-hemorrhagic shock rats were collected, levels of ET, TNF- $\alpha$  and IL-6 in mesenteric lymph were compared with those from blood samples. **Results** Levels of ET, TNF- $\alpha$  and IL-6 in mesenteric lymph were elevated during shock period (all  $P < 0.05$ ), and they were decreased to normal range after resuscitation, with an exception of high IL-6 level up to 2 hours following resuscitation. **Conclusion** The bacterial translocation could occur during shock period via lymphatic pathway, thereby leading to the increase in TNF- $\alpha$  and IL-6 levels, as well as systemic inflammatory response syndrome.

**【Key words】** traumatic shock; mesenteric lymph; endotoxin; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; interleukin-6

创伤性休克过程中,肠道因低灌注而出现细菌移位(bacterial translocation, BT),这是形成继发感染、炎症反应、多器官功能障碍综合征(MODS)的基础,也是危重病医学研究的热点。目前认为,肠道细菌和毒素是通过以淋巴通路为主,直接渗透入腹腔、门静脉系统途径为辅的方式进入体循环,激活全身炎症反应。本实验中连续比较创伤性休克大鼠血液和肠淋巴液中内毒素(endotoxin, ET)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)的动态变化,探讨上述物质通过淋巴途径在创伤性休克后的重要作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要实验材料和仪器: 鲎试剂盒(上海伊华临

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(032887)

作者单位: 510015 广州, 南方医科大学南方医院普外科(顾葆春(现在广州总医院 ICU 工作 510010), 刘正军, 石汉平); 400042 重庆第三军医大学野战外科研究所二室(刘良明)

作者简介: 顾葆春(1966-), 男(汉族), 江苏省南京市人, 硕士研究生, 主治医师。

床医学科技公司), 大鼠 TNF- $\alpha$  酶联免疫吸附法(ELISA)和 IL-6 ELISA 试剂盒(美国 TPI 公司), Sanyo Mdf-382E 型超低温冰箱(日本), Beckman Avanti 30 低温离心机(美国), Beckman DU-7500 紫外分光光度计(美国)等。

**1.2 动物模型的制备及分组:** SD 雄性大鼠, 体重 250~300 g, 由第三军医大学野战外科研究所医学实验动物中心提供。

**1.2.1 动物模型制备:** 用质量分数为 3% 的戊巴比妥钠 50 mg/kg 腹腔麻醉后, 行股动脉、颈静脉置管, 股动脉测压, 腹正中 5 cm 切口, 行肠淋巴干置管, 收集淋巴液<sup>[1]</sup>。休克组动物由颈静脉放血并维持血压在 35~40 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa) 90 min, 复苏时回输全部血液和等量林格液。

**1.2.2 分组:** 实验大鼠随机分休克淋巴液组和休克血液组, 以相应休克前值作为对照淋巴液组和对照血液组, 每组 5 只。休克淋巴液组按休克前 1 h、休克中、复苏后 1~4 h 不同时间段每小时分段留取淋巴液标本; 休克血液组按上述时间段留取血液标本; 对

照淋巴液组不休克,按上述时间段收集淋巴液;对照血液组不休克,按上述时间段抽取血液。血液组大鼠每次由颈静脉抽 0.5 ml 血液后,立即回输等量同实验室正常 SD 雄性大鼠血液;淋巴液组大鼠留取淋巴液标本后,按时间段回输等量林格液。

**1.3 标本处理:**所有与标本接触物品均经去热源处理(玻璃制品 200 °C 烤 4 h,其他物品经体积分数为 30% 的双氧水浸泡过夜)。淋巴液按时间段收集入试管内置于 4 °C 冰水中,再与血标本一起在 4 °C 低温离心机内离心(2 000 r/min)20 min,血液取血浆,淋巴液去除沉渣后移入小离心管(EP 管),置 -70 °C 冰箱保存。标本收集齐后常温下解冻,按试剂盒说明书检测 ET、TNF- $\alpha$  和 IL-6 浓度。

**1.4 统计学处理:**所有结果输入 SPSS 10.0 统计软件,以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,选用重复测量方案进行统计学分析, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 创伤性休克大鼠 ET 变化(表 1):**休克前后血液中 ET 浓度无明显变化( $P=0.332$ );肠淋巴液中 ET 变化有统计学意义( $P=0.004$ ),以休克时含量最高,且肠淋巴液与血液中 ET 比较差异有显著性

( $P=0.000$ ),肠淋巴液组高于血液组。

**2.2 创伤性休克大鼠 TNF- $\alpha$  变化(表 2):**TNF- $\alpha$  在血液和肠淋巴液中的变化规律较一致,其浓度在休克中最高,与其他各时间段相比差异均有显著性( $P_{血}=0.000, P_{淋}=0.005$ ),而两者间相比差异则无显著性( $P=0.209$ )。

**2.3 创伤性休克大鼠 IL-6 变化(表 3):**休克期血液和肠淋巴液中 IL-6 都逐渐升高,可持续至复苏后 2 h( $P_{血}=0.017, P_{淋}=0.004$ ),淋巴液升高的幅度明显高于血液( $P=0.006$ )。

**3 讨论**

细菌移位的概念在 1966 年被 Wolochow 等提出,目前已将肠道细菌及细菌产物穿过肠壁到达远隔部位的过程定义为细菌移位<sup>[1]</sup>。机体在创伤性休克过程中出现肠道低灌注、肠壁蠕动减弱、肠腔细菌易附着于肠黏膜、肠黏膜屏障功能受损等因素易造成细菌移位,在大鼠中观察到肠黏膜屏障功能受损高峰出现在休克后 1 h,3 h 后逐渐修复<sup>[2]</sup>。淋巴系统被认为是最主要的移位路径<sup>[3]</sup>,但是否有细菌或 ET 通过淋巴系统移位则一直存在争议。有人发现创伤性休克大鼠的淋巴液可使肺泡通透性增加,损伤内

表 1 创伤性休克大鼠肠淋巴液和血液中 ET 的变化( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

Table 1 Changes of ET in mesenteric lymph and blood of rats with trauma-hemorrhagic shock( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

组别	休克前	休克中	复苏后 1 h	复苏后 2 h	复苏后 3 h	复苏后 4 h	F 值	P 值
休克淋巴液组	67.2 $\pm$ 28.3	619.6 $\pm$ 218.3	54.4 $\pm$ 42.7	49.4 $\pm$ 42.6	44.3 $\pm$ 42.8	45.5 $\pm$ 26.1	32.92	0.004
休克血液组	14.0 $\pm$ 9.4	13.0 $\pm$ 6.3	10.5 $\pm$ 3.6	7.6 $\pm$ 1.9	9.4 $\pm$ 5.5	9.2 $\pm$ 2.8	1.27	0.332
t 值	3.99	6.21	2.29	2.19	1.80	3.09	32.48 <sup>#</sup>	
P 值	0.011	0.000	0.051	0.060	0.108	0.015		0.000 <sup>#</sup>

注:#为交互效应的 F 统计量和 P 值

表 2 创伤性休克大鼠肠淋巴液和血液中 TNF- $\alpha$  的变化( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

Table 2 Changes of TNF- $\alpha$  in mesenteric lymph and blood of rats with trauma-hemorrhagic shock( $\bar{x}\pm s, n=5$ ) ng/L

组别	休克前	休克中	复苏后 1 h	复苏后 2 h	复苏后 3 h	复苏后 4 h	F 值	P 值
休克淋巴液组	13.00 $\pm$ 2.56	182.00 $\pm$ 69.74	15.60 $\pm$ 8.07	11.96 $\pm$ 4.47	9.50 $\pm$ 4.72	9.86 $\pm$ 2.19	31.51	0.005
休克血液组	9.52 $\pm$ 2.11	133.92 $\pm$ 27.22	12.58 $\pm$ 3.35	10.04 $\pm$ 4.84	4.72 $\pm$ 2.25	5.16 $\pm$ 1.71	108.36	0.000
t 值	2.35	1.44	0.77	0.65	2.04	3.78	1.87 <sup>#</sup>	
P 值	0.048	0.207	0.473	0.533	0.089	0.006		0.209 <sup>#</sup>

注:#为交互效应的 F 统计量和 P 值

表 3 创伤性休克大鼠肠淋巴液和血液中 IL-6 的变化( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

Table 3 Changes of IL-6 in mesenteric lymph and blood of rats with trauma-hemorrhagic shock( $\bar{x}\pm s, n=5$ ) ng/L

组别	休克前	休克中	复苏后 1 h	复苏后 2 h	复苏后 3 h	复苏后 4 h	F 值	P 值
休克淋巴液组	6.76 $\pm$ 1.11	17.28 $\pm$ 5.21	17.54 $\pm$ 6.71	14.52 $\pm$ 3.42	6.02 $\pm$ 1.31	2.24 $\pm$ 0.84	14.27	0.004
休克血液组	1.44 $\pm$ 0.25	2.12 $\pm$ 0.40	6.02 $\pm$ 3.51	6.02 $\pm$ 3.26	1.92 $\pm$ 1.11	1.20 $\pm$ 0.51	7.18	0.017
t 值	10.47	6.49	3.40	7.98	7.78	6.60	7.21 <sup>#</sup>	
P 值	0.000	0.003	0.014	0.004	0.001	0.052		0.006 <sup>#</sup>

注:#为交互效应的 F 统计量和 P 值

皮细胞,激活中性粒细胞,提示淋巴液中存在能启动炎症反应的物质<sup>[4-6]</sup>。本研究中通过连续收集标本,分析创伤性休克大鼠肠淋巴液和血液中 TNF- $\alpha$ 、ET 和 IL-6 的变化,对这两方面问题进行了探讨。本研究结果表明,创伤性休克大鼠淋巴液中 ET 明显增高,且发生于休克期,复苏后浓度迅速下降;肠腔 ET 可通过损伤肠壁进入毛细淋巴管、腹腔淋巴结、肠淋巴干、胸导管而到达血液循环,可以认为在休克期肠道发生了细菌移位。有研究证明,98% 以上的 ET 可在 5 min 内被机体组织扣留,此后组织中 ET 明显高于血液循环中<sup>[7]</sup>。本实验中抽血时间在休克末期,此时肠道来源的 ET 已被血液稀释并经肝脏枯否细胞处理,可能是血液中 ET 休克前后无差异的主要原因,而 ET 在其他组织中是否与淋巴液中变化一致,则有待进一步实验研究。

TNF- $\alpha$ 、IL-6 是炎症反应的重要启动因子,创伤性休克和 ET 可诱导巨噬细胞、T 细胞、自然杀伤细胞(NK 细胞)等大量分泌这两种细胞因子。本研究结果显示,创伤性休克大鼠肠淋巴液和血液中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 浓度在休克时均明显上升,与对照值相比这种变化有统计学意义;复苏后 TNF- $\alpha$  的浓度迅速下降,而 IL-6 维持高浓度水平至复苏后 2 h;TNF- $\alpha$  在血液与肠淋巴液中的变化差异无统计学意义,IL-6 在肠淋巴液中含量明显高于血液。可以认为肠淋巴液中 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的变化与创伤性休克及 ET 关系密切,肠道细菌 ET 在创伤性休克过程中进入肠道淋巴系统,导致肠淋巴液中产生大量 TNF- $\alpha$  和 IL-6,并可能是引起血液中上

述物质增加的重要因素,由此启动炎症反应。虽然复苏后 TNF- $\alpha$ 、IL-6 可恢复正常,但如果机体免疫功能低下,外界干预不及时,炎症反应将会继续,导致感染和 MODS<sup>[8]</sup>。

(志谢:感谢南方医科大学统计教研室主任陈平雁教授对数据进行统计学处理。)

#### 参考文献:

- 1 Gregory M, Edwin A. Role of the gut in multiple organ failure; bacterial translocation and permeability changes [J]. World J Surg, 1996, 20: 411-417.
- 2 常建星,陈双,符玉茹,等. 大鼠失血性休克复苏早期肠黏膜损伤与修复的形态学观察[J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16: 477-480.
- 3 Kuebler J F, Toth B, Rue L W, et al. Differential alterations in intestinal permeability after trauma - hemorrhage [J]. J Surg Res, 2003, 112: 198-204.
- 4 Davidson M T, Deitch E A, Lu Q, et al. A study of the biologic activity of trauma - hemorrhagic shock mesenteric lymph over time and the relative role of cytokines [J]. Surgery, 2004, 136: 32-41.
- 5 Caruso J M, Feketeova E, Dayal S D, et al. Factors in intestinal lymph after shock increase neutrophil adhesion molecule expression and pulmonary leukosequestration [J]. J Trauma, 2003, 55: 727-733.
- 6 Adams C A Jr, Hauser C J, Adams J M, et al. Trauma - hemorrhage - induced neutrophil priming is prevented by mesenteric lymph duct ligation [J]. Shock, 2002, 18: 513-517.
- 7 陈惠孙,刘良明,赵克森,编著. 现代创伤休克基础与临床[M]. 北京:人民军医出版社, 1999. 152-155.
- 8 Yang R, Han X, Uchiyama T, et al. IL-6 is essential for development of gut barrier dysfunction after hemorrhagic shock and resuscitation in mice [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2003, 285: G621-629.

(收稿日期:2004-10-11 修回日期:2005-05-12)

(本文编辑:李银平)

#### • 启事 •

### 高海拔地区急性危重病与多器官功能障碍综合征诊断标准 早期防治专题研讨会征文通知

由中华高原医学会主办,《中国危重病急救医学》杂志社、《高原医学》杂志社协办,甘肃省医学会兰州军区兰州总医院承办的中国首届“高海拔地区急性危重病与多器官功能障碍综合征(MODS)诊断标准早期防治”专题研讨会定于 2005 年 9 月 12 日在甘肃兰州召开。届时将邀请国内知名危重病急救医学、高原医学、创伤外科和呼吸病学专家莅会讲学。现将参会事项及征文内容通知如下。

1 会议时间:2005 年 9 月 12 日报到,9 月 13-14 日开会,9 月 15 日撤离。

2 征文内容:①严重创伤/多发伤伤情评分、现场救护、后续处理;②急性呼吸窘迫综合征与 MODS;③高海拔地区急性与慢性危重病;④高海拔地区严重创伤、烧伤、早期复苏与延迟复苏;⑤高海拔地区围手术期防护特点;⑥心肺复苏技术与呼吸机支持技术;⑦与联合会议内容相关的其他论文。

3 征文要求:论文摘要 300~800 字,有全文者需附软盘(word97/2000 格式),凡参加会议的代表,均颁发论文证书,优秀论文颁发优秀论文证书并授予国家 I 类继续医学教育学分。征稿截止日期:2005 年 7 月 30 日。

4 收费标准:会务费(含资料费)600 元,食宿费自理。

5 来稿请寄:甘肃省兰州市小西湖兰州军区兰州总医院胸外科张德海、刘惠萍收,邮编:730050;联系电话:0931-8975748。大会联络处负责人:刘毅、李乃斌。Email: lanzhouhy@126.com。

(中华高原医学会)