

• 论著 •

实验性弥散性血管内凝血大鼠淋巴循环的变化

李福龙 刘艳凯 牛春雨 杜舒婷 姜华 赵自刚

【摘要】 目的 探讨实验性弥散性血管内凝血(DIC)大鼠淋巴循环的变化。方法 32 只雄性 Wistar 大鼠按随机数字表法分为 DIC 组($n=16$)和假手术组($n=16$),每组中 8 只动物用于肠系膜淋巴微循环观察,另 8 只进行淋巴动力学检测。颈静脉注射高分子右旋糖酐(dextran 500)制备 Wistar 大鼠实验性 DIC 模型,通过淋巴学方法,观察 DIC 时大鼠淋巴循环的变化。结果 DIC 时,肠系膜微淋巴管(ML)收缩性、肠淋巴流量、淋巴细胞输出量明显降低,淋巴液中有少量单核细胞,并且淋巴液黏度较高。经生理盐水治疗后,ML 收缩性、肠淋巴流量、淋巴细胞输出量均显著升高,淋巴液中有大量单核细胞出现,与假手术组比较差异均有显著性(P 均 <0.05),且淋巴液黏度明显低于 DIC 组($P<0.05$)。结论 Wistar 大鼠实验性 DIC 时,淋巴循环障碍表现为 ML 收缩性降低、淋巴循环转运功能障碍和淋巴液黏度增高。

【关键词】 高分子右旋糖酐; 淋巴循环; 淋巴流量; 淋巴液

Changes in lymph circulation in rats with experimental disseminated intravascular coagulation LI Fu-long, LIU Yan-kai, NIU Chun-yu, DU Shu-ting, JIANG Hua, ZHAO Zi-gang. The Laboratory of Microcirculation and Critical Care, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China
Corresponding author: LIU Yan-kai

【Abstract】 **Objective** To explore changes in lymph circulation in rats with experimental disseminated intravascular coagulation (DIC). **Methods** Thirty-two male Wistar rats were randomly divided into two groups: DIC group and sham-operation group, with 16 rats in each group. In each group, 8 rats were used to observe the lymphatic circulation of intestinal mesentery, and the others were used to observe lymphatic dynamics. Experimental DIC model was replicated by injecting dextran 500 via jugular vein in Wistar rats. The changes in lymph circulation were observed in these rats with lymphatology methods. **Results** During the phase of DIC, the contractility of mesenteric micro-lymphatic (ML), the intestinal lymph flux, lymphocytes output were obviously decreased, and there was a few monocytes in the lymph fluid, but the lymph fluid viscosity was increased. After treatment with normal saline (NS), the contractility of ML, the intestinal lymph flux, lymphocytes output were obviously increased, and there was a large amount of monocytes in the lymph fluid, with significant difference compared with sham-operation group (all $P<0.05$). Moreover, the lymph fluid viscosity was decreased compared with sham-operation group ($P<0.05$). **Conclusion** The disturbance in lymph circulation mainly includes depression of contractility of lymphatics, the transport function of lymph circulation, and increased lymph fluid viscosity.

【Key words】 dextran 500; lymph circulation; lymph flux; lymph

弥散性血管内凝血(DIC)是引起多器官功能衰竭的重要因素^[1,2],其发生后血液循环障碍主要表现为微血栓形成、血黏度增高和血流变慢^[3],具有明显的血流动力学障碍^[4]。以往对 DIC 的研究主要集中在血液循环方面,对循环系统的重要组成部分淋巴循环的作用则无系统报道。因此,本研究中报道了实验性 DIC 时大鼠淋巴循环的变化。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器:高分子右旋糖酐(dextran 500,瑞典 Pharmacia Biotech 公司,批号:17032000);

基金项目:河北省中医药管理局资助项目(200002)

作者单位:075000 张家口,河北北方学院微循环与危重病研究所

通讯作者:刘艳凯,医学硕士,教授

作者简介:李福龙(1965-),男(汉族),河北沧县人,医学硕士,副教授,副主任医师,主要从事危重病的救治(Email: lifulong8915833@163.com)。

戊巴比妥钠(北京化学试剂厂,批号:000919);肝素钠(北京奥博星生物技术责任有限公司,批号:001218)。WZ-50C2 型微量灌流泵(浙江大学医学仪器有限公司),微循环显微电视录像设备(徐州光学仪器厂),3-9D 型微循环、血流变、红细胞变形、血小板聚集综合仪(成都麦赛科贸公司)。

1.2 实验动物与分组:雄性 Wistar 大鼠 32 只,体重 250~300 g,由中国医学科学院实验动物繁育中心提供。大鼠按随机数字表法分为 DIC 组($n=16$)和假手术组($n=16$),每组中 8 只动物进行肠系膜淋巴微循环观察;另 8 只大鼠进行淋巴动力学检测。

1.3 DIC 模型制备:大鼠肌肉注射质量分数为 1% 的戊巴比妥钠 50 mg/kg 全身麻醉后,静脉注射肝素钠(700 U/kg)抗凝。分离颈静脉并插管,待动物稳定 30 min 后,经颈静脉以 10 ml/kg 注射质量分

数为 10% 的 dextran 500, 3 min 注完, 制备急性微循环障碍模型^[5]。制模成功 40 min 后, 用自动抽注机 0.5 ml/min 静脉注射生理盐水(50 ml/kg)。假手术组大鼠同样进行颈静脉插管, 并以等量生理盐水替代 dextran 500 进行颈静脉注射, 3 min 注完。

1.4 检测指标及方法: 分别于注射 dextran 500 前、注射后 30 min 及治疗后 20 min 检测下列指标。

1.4.1 肠系膜淋巴微循环观察: 常规方法制备大鼠活体肠系膜标本, 以(37±1)℃的 K-H 灌流液滴注维持标本环境恒定。于各时间点经微循环显微电视观察回肠下段肠系膜微淋巴管(micro-lymphatic, ML), 并录像记录^[6]。回放录像, 测量 ML 最大舒张直径、最大收缩直径、静态直径以及自主收缩频率, 每只大鼠记录 4 个收缩周期的不同时相, 计算平均值。按以下方法计算 ML 收缩指数。

收缩活性指数(Index-I) = $(b^2 - c^2) / b^2$,

总收缩活性指数(Index-II) = $(b^2 - c^2) a^2 / b^2$,

淋巴动力学指数(L.D-Index) = $(b - c) 100 a / d^2$

式中, a 为自主收缩频率, b 为最大舒张直径, c 为最大收缩直径, d 为静态直径。

1.5 淋巴循环转运功能测定: 将大鼠麻醉后, 开腹, 分离肠淋巴管, 按文献^[7]方法行肠淋巴插管引流淋巴液, 于各时间点记录 5 min 的淋巴流出量。收集引流的部分肠淋巴液, 通过计数板计数淋巴液中淋巴细胞数及分类, 计算淋巴细胞输出量(淋巴细胞输出

量 = 淋巴流量 × 每毫升淋巴液中淋巴细胞数目)。

1.6 淋巴流变学测定: 于各时间点收集引流的淋巴液测定其黏度。

2 结果

2.1 肠系膜 ML 收缩周期的变化(表 1): DIC 组静脉注射 dextran 500 后, 舒张期时间、收缩频率明显降低; 生理盐水治疗后各项指标均升高; 而假手术组变化不明显。两组收缩期时间在注射 dextran 500 后及治疗后的变化差异均无显著性。

2.2 肠系膜 ML 收缩指数的变化(表 2): DIC 组 ML 收缩指数明显降低; 生理盐水治疗后, ML 收缩指数明显升高; 假手术组各项指数均无明显变化。

2.3 肠淋巴流量及淋巴细胞输出量的影响(表 3): DIC 组淋巴流量、淋巴细胞输出量均明显降低, 生理盐水治疗后各项指标均大幅度增加。假手术组各项指标无明显变化。

2.4 淋巴液中细胞分类的变化(表 3, 彩色插页图 1 和图 2): 注射 dextran 500 前, 两组大鼠肠淋巴液中主要为淋巴细胞和少量单核分叶细胞。注射后 DIC 组淋巴液中的细胞数目明显降低, 生理盐水治疗后, 淋巴液中单核细胞明显增多。

2.5 DIC 时淋巴液黏度的变化(表 4): 在注射 dextran 500 前, 两组大鼠在淋巴液黏度差异无显著性; DIC 时淋巴液黏度明显增高。NS 治疗后, 大鼠淋巴液黏度明显降低。

表 1 实验性 DIC 大鼠肠系膜 ML 收缩周期的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Changes of contractive cycle of mesenteric ML in rats with experimental DIC($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	舒张期时间(s)			收缩期时间(s)			收缩频率(次/min)		
	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min
DIC 组	2.24±0.43	1.28±0.27*△	2.62±0.47△	1.21±0.23	1.12±0.20	1.28±0.33	4.56±0.82	1.84±0.42*△	8.25±1.52*△
假手术组	2.14±0.48	2.02±0.45	1.98±0.39	1.12±0.28	1.21±0.24	1.26±0.27	4.76±1.11	4.86±0.56	5.15±1.35

注: 与注射前比较: * $P<0.05$; 与假手术组比较: △ $P<0.05$

表 2 实验性 DIC 大鼠肠系膜 ML 收缩指数的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Changes of contractive indexes of mesenteric ML in rats with experimental DIC($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	舒张期时间(s)			收缩期时间(s)			收缩频率(次/min)		
	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min
DIC 组	0.68±0.13	0.49±0.11*△	0.71±0.14*	2.74±0.44	0.73±0.28*△	5.24±0.66*△	2.66±0.52	1.06±0.24*△	5.78±0.86*△
假手术组	0.76±0.14	0.73±0.13	0.66±0.15	2.45±0.38	2.45±0.42	2.28±0.37	2.56±0.46	2.65±0.56	2.44±0.45

注: 与注射前比较: * $P<0.05$; 与假手术组比较: △ $P<0.05$

表 3 实验性 DIC 大鼠肠淋巴流量及淋巴细胞输出量的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Changes of intestinal lymph flux and lymphocytes output in rats with experimental DIC($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	舒张期时间(s)			收缩期时间(s)			收缩频率(次/min)		
	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min
DIC 组	0.08±0.02	0.04±0.03*△	0.24±0.09*△	6.29±1.64	4.02±1.34*△	6.42±1.53	0.56±0.16	0.16±0.07*△	1.18±0.51*△
假手术组	0.07±0.02	0.07±0.03	0.06±0.02	6.21±1.72	6.14±1.38	6.02±1.27	0.49±0.14	0.47±0.12	0.44±0.12

注: 与注射前比较: * $P<0.05$; 与假手术组比较: △ $P<0.05$

表 4 实验性 DIC 大鼠淋巴液黏度的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 4 Changes of lymph fluid viscosity in rats with experimental DIC($\bar{x} \pm s, n=8$)

mPa · s

组别	1 s ⁻¹			30 s ⁻¹			60 s ⁻¹		
	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min
DIC 组	2.59±0.44	16.12±3.82*△	9.07±1.57*△	1.87±0.34	12.24±2.73*△	7.34±1.31*△	1.36±0.24	9.16±1.68*△	6.26±1.05*△
假手术组	2.64±0.52	2.48±0.39	2.69±0.49*△	1.98±0.38	1.81±0.34	1.88±0.39*△	1.29±0.27	1.32±0.23	1.33±0.22

组别	90 s ⁻¹			115 s ⁻¹			300 s ⁻¹		
	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min	注射前	注射后 30 min	治疗后 20 min
DIC 组	1.22±0.22	8.35±1.42*△	5.66±0.83*△	0.88±0.16	6.76±1.38*△	4.73±0.67*△	0.76±0.13	6.12±1.22*△	4.21±0.59*△
假手术组	1.16±0.19	1.22±0.21	1.24±0.22	0.81±0.15	0.78±0.13	0.85±0.14	0.72±0.12	0.75±0.14	0.76±0.13

注:与注射前比较:* $P<0.05$;与假手术组比较:△ $P<0.05$

3 讨论

淋巴循环是循环系统的重要组成部分,其回流组织液的同时,也完成了物质转运和排泄功能。淋巴液回流能清除组织液中不能被毛细血管重吸收的较大分子以及组织中红细胞和细菌等。淋巴回流的速度虽较缓慢,但一日中回流的淋巴液相当于全身血浆总量,故淋巴液回流在组织液生成和重吸收平衡中起重要的调节作用。我们过去的研究表明,在失血性休克时,淋巴循环可出现明显障碍,改善淋巴循环障碍有助于休克的转归^[8]。因此,探讨 DIC 时淋巴循环的变化和了解其淋巴机制具有重要意义。

研究表明,淋巴管平滑肌的节律性收缩可调控淋巴液生成,其活性受神经、体液等多种因素的调节^[9],淋巴管的自主舒缩是推动淋巴液回流入血的主要动力。本实验中,大鼠静脉注射 dextran 500 后,出现了明显的淋巴循环障碍,表现为肠系膜淋巴管收缩性降低,肠淋巴流量、淋巴细胞输出量的显著减少。推测可能是 DIC 时产生的多种有害因子,通过神经体液机制参与了对淋巴循环的调节所致。对机体而言,由于淋巴管收缩性降低,淋巴循环障碍,影响了淋巴管对淋巴液的收集和转运,使淋巴液回流减少,结果导致组织细胞产生的大分子代谢废物的排泄障碍,细胞微环境恶化,这可能在一定程度上加重了 DIC 时的细胞损伤。此外,淋巴循环还是抗原递呈细胞进入淋巴结的通路,在淋巴回流过程中,来完成其免疫监视作用。DIC 时可见淋巴液中淋巴细胞数目降低,经治疗后淋巴细胞数目增加,且单核细胞明显增多,这对机体的免疫功能有益。淋巴液中的淋巴细胞参与了血液与淋巴的再循环,由于其具有流动性和相对开放性,故在免疫监视中的作用尤为重要,因此通过了解 DIC 过程中淋巴液中淋巴细胞的变化,有助于从免疫角度了解 DIC 的淋巴机制。

淋巴液黏度是反映淋巴液流动性的物理性指

标,其黏度的高低同血液黏度一样,能反映淋巴回流阻力的大小。DIC 时淋巴液黏度明显增高,使淋巴回流阻力加大,不利于有效循环血量的恢复。淋巴液是富含蛋白的组织液,其回流减少一方面可从容量上影响循环血量的恢复,另一方面对血浆胶体渗透压的维持也不利。当治疗后,淋巴液黏度明显降低,使黏度较低的淋巴液不断注入血液循环,降低了血液流动时的阻力,有利于血液循环的恢复。我们过去曾报道淋巴液对休克具有治疗作用,可延长动物的存活时间,升高血压^[10]。因此,有效改善 DIC 时的淋巴循环障碍对 DIC 的转归具有重要意义。本研究结果表明,实验性 DIC 大鼠具有明显的淋巴循环障碍,有效改善其淋巴循环障碍有利于 DIC 的转归。

参考文献:

- 1 王静,乔万海.多器官功能障碍综合征患者血管内皮损伤与炎症相关因子的研究[J].中国危重病急救医学,2006,2:82-84.
- 2 程尉新,林洪远,盛志勇.凝血系统紊乱在多器官功能不全综合征发病中的作用[J].中国危重病急救医学,2000,12:632-635.
- 3 Slofstra S H, Spek C A, ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation[J]. Hematol J, 2003, 4: 295-302.
- 4 刘艳凯,刘圣君,赵自刚,等.夏至草生物碱对大鼠实验性弥散性血管内凝血转归时血流动力学的调节[J].中国中西医结合急救杂志,2005,12:210-213.
- 5 姜华,张学锋,侯亚利,等.高分子右旋糖酐复制大鼠 DIC 模型[J].中华医学研究杂志,2002,2:503-504.
- 6 刘艳凯,牛春雨,赵自刚,等.麻醉大鼠肠淋巴循环的研究[J].微循环学杂志,2000,10:4-6.
- 7 任成山,钱桂生.细胞凋亡和胀亡及其与多器官功能障碍综合征关系的研究进展[J].中国危重病急救医学,2005,17:247-250.
- 8 刘艳凯,姜华,张学锋.大鼠出血性休克及补液过程中肠淋巴流量及蛋白输出量的变化[J].中华医学从刊杂志,2002,2:1-2.
- 9 Hosaka K, Mizuno R, Ohhashi T. Rho-Rho kinase pathway is involved in the regulation of myogenic tone and pump activity in isolated lymph vessels[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003, 284: H2015-2025.
- 10 杨亦青,樊贵,韩敏,等.淋巴液对内毒素休克大鼠的干预作用及其机制[J].中国急救医学,2004,24:661-664.

(收稿日期:2006-03-06 修回日期:2006-07-06)

(本文编辑:李银平)

实验性弥散性血管内凝血大鼠淋巴循环的变化

(正文见488页)

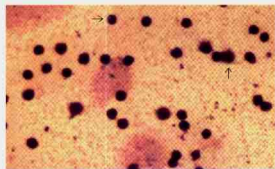


图1 DIC时淋巴液中的细胞分类 (→淋巴细胞; ↑单核细胞; ×33)
Figure 1 Type of cells in lymph fluid during DIC
(→lymphocytes; ↑monocytes; ×33)

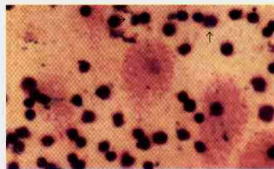


图2 NS治疗后淋巴液中的细胞分类 (→淋巴细胞; ↑单核细胞; ×33)
Figure 2 Types of cells in lymph fluid after treatment with NS
(→lymphocytes; ↑monocytes; ×33)

自体骨髓干细胞动员联合生长激素治疗大鼠急性心肌梗死

(正文见494页)

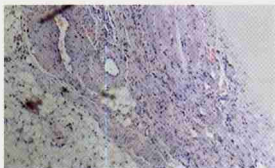


图1 MI组瘢痕组织(左侧), 内(右侧)为残存的少量正常心肌 (HE, ×400)
Figure 1 Scar (left) and less normal cardiac tissue (right) in group MI (HE, ×400)

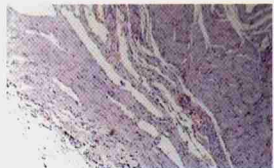


图2 GG组瘢痕组织(左侧), 内(右侧)为残存的较多正常心肌 (HE, ×400)
Figure 2 Scar (left) and more normal cardiac (right) in group GG (HE, ×400)

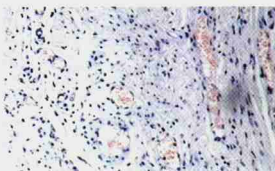


图3 GG组较多的毛细血管 (HE, ×400)
Figure 3 Capillary vessel in group GG (HE, ×400)

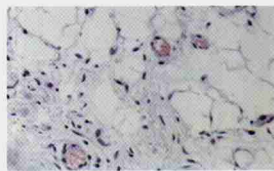


图4 MI组的毛细血管密度 (HE, ×400)
Figure 4 Density of capillary vessel in group MI (HE, ×400)



图5 G组边缘区新生毛细血管, 胞核呈BrdU (+) 蓝色, 胞浆cTnI (-) (HE, ×400)
Figure 5 Neonatal capillary vessel in group G, BrdU(+) in nuclear but cTnI (-) in cytoplasm (HE, ×400)



图6 G组边缘区新生心肌样细胞BrdU (+) 胞核及cTnI (+) 的胞浆存在 (HE, ×400)
Figure 6 Neonatal cardiac-like myocytes in group G, BrdU(+) in nuclear and cTnI(+) in cytoplasm (HE, ×400)