

· 烧伤早期并发症与处理 ·

高压电烧伤合并内毒素血症家兔血液流变学变化及己酮可可碱的干预作用

张庆富 冯建科 王车江 周慧敏

减少体内内毒素和减轻其对机体的损害,是电烧伤研究的重要课题之一。高压电对微血管的损害是其损伤机体组织和器官的重要机制之一^[1-2],对血液流变学的影响也十分明显^[3],两者共同作用造成组织和器官微循环障碍。本研究制作高压电烧伤合并内毒素血症动物模型,检测其血液流变学变化,并用己酮可可碱(pentoxifylline, PTX)治疗,分析 PTX 对高压电烧伤的疗效。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

NEWLEAD BV-100 型悬丝血液流变仪、WEIDA EHK-40 型血沉仪(北京同理大众科技有限责任公司), BET-32B 型细菌内毒素检测仪(天津天大天发科技有限公司), TC-30-20KVA 型调压器和 YDJ-10KVA 型实验变压器(武汉市得福电气有限公司)。细菌内毒素(中国药品生物制品检定所)、PTX 粉剂(石家庄四药有限公司)。

1.2 模型制作与实验分组

成年家兔(河北医科大学实验动物中心)30 只,雌雄不拘,体质量 2.0~2.5 kg,按照随机数字表法分为电伤组、复合组、治疗组,每组 10 只。3 组家兔在实验前 1 d 于左前肢、右后肢外涂 80 g/L 硫化钠脱毛并禁食。致伤前 1 h 经耳动脉采血 4 mL,其中 3 mL 置于抗凝试管(含 30 U/mL 肝素)、1 mL 抗凝处理后置于内毒素专用管。按文献[1]方法麻醉家兔后,参照文献[4]方法制作高压电烧伤模型。创面面积均为 2.5 cm × 2.5 cm,深达骨骼,局部皮肤、皮下组织、深筋膜及肌肉坏死。伤后 2 min 内电伤组、复合组、治疗组家兔经耳缘静脉分别注射 4 mL 生理盐水、3 mL 生理盐水 + 1 mL 内毒素(150 EU/kg)和 1 mL 生理盐水 + 1 mL 内毒素(150 EU/kg) + 2 mL PTX 注射液(100 mg)。注射完毕后分别于伤后 5 min、4 h、8 h 经耳动脉采血,具体操作同致伤前。采血后 0.5~1.0 h 测定血清内毒素和血液流变学各项指标。

1.3 检测指标

检测家兔伤前 1 h 及伤后 5 min、4 h、8 h 血清内毒素、全血黏度(η_b)、全血还原黏度(η_r)、血浆黏度(η_p)、红细胞比容(HCT)、红细胞聚集指数(EAI)、红细胞刚性指数(TK)。本研究分别检测切变率为 180、100、50、30、10、3、1 s⁻¹ 时的 η_b 和 η_r 值,以便判断 EAI 和 TK 对 η_b 、 η_r 的影响。

1.4 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 12.0 统计软件行两两配对 t 检验。

2 结果

2.1 血清内毒素含量变化

复合组家兔血清内毒素含量伤后各时相点均高于电伤组(t 值为 19.38~23.22, P 值均小于 0.05)。治疗组血清内毒素含量伤后各时相点均低于复合组(t 值为 6.08~8.58, P 值均小于 0.05)。与伤前 1 h 比较,各组其余时相点内毒素含量呈升高趋势(t 值为 6.55~36.25, P 值均小于 0.05)。见表 1。

2.2 η_p 、HCT、EAI、TK 变化

复合组家兔伤后各时相点的 HCT、EAI、TK 均高于电伤组(t 值为 3.01~4.78, P 值均小于 0.05),治疗组较复合组降低(t 值为 2.51~4.11, P 值均小于 0.05),而各组各时相点 η_p 无明显变化(t 值为 0.54~1.41, P 值均大于 0.05)。与伤前 1 h 比较,各组其余时相点 η_p 、HCT、EAI、TK 普遍上升(t 值为 3.32~10.48, P 值均小于 0.05)。见表 1。

2.3 η_b 变化

复合组家兔伤后各时相点不同切变率下 η_b 高于电伤组(t 值为 2.24~7.27, P 值均小于 0.05),治疗组伤后各时相点不同切变率下 η_b 低于复合组(t 值为 2.23~5.71, P 值均小于 0.05)。与伤前 1 h 比较,各组其余时相点不同切变率下 η_b 变化呈升高趋势(t 值为 2.28~15.24, P 值均小于 0.05)。见表 2。

2.4 η_r 变化

复合组伤后各时相点不同切变率下 η_r 高于电伤组(t 值为 2.23~7.39, P 值均小于 0.05),治疗组伤后各时相点不同切变率下 η_r 低于复合组(t 值为 2.24~5.63, P 值均小于 0.05)。各组其余时相点不同切变率下 η_r 均较伤前 1 h 升高(t 值为 2.29~16.43, P 值均小于 0.05)。见表 3。

3 讨论

高压电烧伤后可因创伤感染及肠源性细菌移位而发生内毒素血症,导致全身组织和器官损害。内毒素导致机体损害的机制是多方面的,其中影响微血管和血液流变性而导致微循环灌注障碍是其重要机制之一。本研究制作高压电烧伤复合内毒素血症动物模型,并用 PTX 治疗,旨在为高压电烧伤合并内毒素血症的防治提供实验依据。

给予外源性内毒素后家兔血清内毒素含量明显增加,但给予 PTX 治疗后内毒素含量下降,表明 PTX 具有拮抗内毒素的作用。祝伟等^[5]研究证实,PTX 可作用于 TNF- α 、IL-1 β 和肝细胞胞间黏附分子 1 并下调其表达,减轻内毒素对肝组织造成的损伤,保护肝组织。刘德红等^[6]研究证明,PTX 可明显抑制全身炎症反应综合征大鼠的炎症反应。

复合组家兔伤后 η_b 和 η_r 均高于电伤组相同时相点水平;

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2010.03.006

基金项目:河北省自然科学基金(302551)

作者单位:050031 石家庄,河北医科大学第一医院烧伤整形外科

表 1 3 组家兔伤后各时相点血清内毒素、 η_p 、HCT、EAI、TK 的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	兔数(只)	内毒素(EU/mL)	η_p (mpa·s)	HCT (%)	EAI	TK
电伤组	10					
伤前 1 h		0.32 ± 0.13	1.01 ± 0.15	35.7 ± 2.2	3.5 ± 1.1	0.82 ± 0.17
伤后 5 min		0.86 ± 0.23 ^{ab}	1.21 ± 0.25	39.1 ± 2.4 ^{ab}	4.6 ± 1.3 ^{ab}	1.03 ± 0.12 ^{ab}
伤后 4 h		1.46 ± 0.32 ^{ab}	1.31 ± 0.33 ^b	43.3 ± 3.3 ^{ab}	6.5 ± 1.4 ^{ab}	1.19 ± 0.14 ^{ab}
伤后 8 h		1.93 ± 0.42 ^{ab}	1.36 ± 0.29 ^b	47.9 ± 4.4 ^b	8.9 ± 1.9 ^{ab}	1.22 ± 0.17 ^{ab}
复合组	10					
伤前 1 h		0.34 ± 0.13	1.00 ± 0.14	35.6 ± 2.3	3.4 ± 1.1	0.80 ± 0.15
伤后 5 min		4.66 ± 0.47 ^b	1.38 ± 0.28 ^b	43.5 ± 2.9 ^b	6.9 ± 1.8 ^b	1.21 ± 0.15 ^b
伤后 4 h		4.76 ± 0.44 ^b	1.42 ± 0.39 ^b	49.3 ± 3.4 ^b	8.7 ± 1.4 ^b	1.54 ± 0.19 ^b
伤后 8 h		5.97 ± 0.48 ^b	1.54 ± 0.43 ^b	51.5 ± 4.7 ^b	10.8 ± 2.7 ^b	1.66 ± 0.27 ^b
治疗组	10					
伤前 1 h		0.32 ± 0.12	1.02 ± 0.11	35.4 ± 2.4	3.4 ± 1.1	0.81 ± 0.13
伤后 5 min		3.08 ± 0.35 ^{ab}	1.24 ± 0.25 ^b	38.3 ± 2.8 ^{ab}	4.9 ± 1.7 ^{ab}	1.01 ± 0.12 ^{ab}
伤后 4 h		3.53 ± 0.41 ^{ab}	1.33 ± 0.34 ^b	45.5 ± 3.4 ^{ab}	7.0 ± 1.5 ^{ab}	1.23 ± 0.18 ^{ab}
伤后 8 h		4.72 ± 0.45 ^{ab}	1.38 ± 0.37 ^b	48.7 ± 4.6 ^b	9.1 ± 2.5 ^{ab}	1.37 ± 0.24 ^{ab}

注： η_p 为血浆黏度，HCT 为红细胞比容，EAI 为红细胞聚集指数，TK 为红细胞刚性指数；与复合组比较，^a $P < 0.05$ ；与组内伤前 1 h 比较，^b $P < 0.05$

表 2 3 组家兔伤后各时相点不同切变率下全血黏度的比较 (mpa·s, $\bar{x} \pm s$)

组别	兔数(只)	1 s ⁻¹	3 s ⁻¹	10 s ⁻¹	30 s ⁻¹	50 s ⁻¹	100 s ⁻¹	180 s ⁻¹
电伤组	10							
伤前 1 h		7.6 ± 2.4	6.8 ± 2.0	5.1 ± 1.9	4.2 ± 1.7	3.1 ± 1.3	2.8 ± 1.2	2.5 ± 1.1
伤后 5 min		12.7 ± 3.4 ^{ab}	9.5 ± 3.2 ^{ab}	8.5 ± 2.8 ^{ab}	6.6 ± 2.5 ^{ab}	5.8 ± 2.1 ^{ab}	4.7 ± 2.2 ^{ab}	3.8 ± 1.7 ^{ab}
伤后 4 h		13.0 ± 3.5 ^{ab}	10.3 ± 3.2 ^{ab}	9.8 ± 2.3 ^{ab}	8.7 ± 2.2 ^{ab}	6.9 ± 2.2 ^{ab}	5.6 ± 1.7 ^{ab}	4.9 ± 1.3 ^{ab}
伤后 8 h		13.5 ± 4.3 ^{ab}	11.8 ± 3.6 ^{ab}	10.8 ± 3.0 ^{ab}	9.5 ± 2.6 ^{ab}	7.4 ± 2.1 ^{ab}	6.2 ± 2.3 ^{ab}	5.9 ± 2.1 ^{ab}
复合组	10							
伤前 1 h		7.6 ± 2.4	6.8 ± 2.1	5.1 ± 1.9	4.2 ± 1.6	3.2 ± 1.2	2.8 ± 1.3	2.4 ± 1.2
伤后 5 min		16.6 ± 3.3 ^b	14.2 ± 3.4 ^b	13.8 ± 2.3 ^b	11.6 ± 2.5 ^b	10.8 ± 2.4 ^b	9.7 ± 2.5 ^b	8.9 ± 2.1 ^b
伤后 4 h		18.5 ± 4.4 ^b	15.7 ± 3.4 ^b	14.8 ± 3.3 ^b	13.5 ± 2.5 ^b	11.6 ± 3.3 ^b	10.7 ± 2.5 ^b	9.8 ± 2.1 ^b
伤后 8 h		19.9 ± 4.4 ^b	17.6 ± 4.0 ^b	16.8 ± 3.2 ^b	15.6 ± 3.0 ^b	13.9 ± 2.2 ^b	12.7 ± 2.6 ^b	11.5 ± 2.4 ^b
治疗组	10							
伤前 1 h		7.6 ± 2.4	6.8 ± 2.2	5.0 ± 1.7	4.2 ± 1.7	3.1 ± 1.1	2.7 ± 1.3	2.4 ± 1.2
伤后 5 min		13.1 ± 3.4 ^{ab}	10.7 ± 3.5 ^{ab}	9.6 ± 2.5 ^{ab}	7.5 ± 2.6 ^{ab}	6.9 ± 2.1 ^{ab}	5.7 ± 2.4 ^{ab}	4.8 ± 1.9 ^{ab}
伤后 4 h		13.6 ± 4.2 ^{ab}	11.4 ± 3.2 ^{ab}	10.6 ± 3.1 ^{ab}	9.1 ± 2.4 ^{ab}	7.7 ± 3.0 ^{ab}	6.6 ± 2.6 ^{ab}	5.4 ± 2.0 ^{ab}
伤后 8 h		14.7 ± 4.2 ^{ab}	12.5 ± 4.2 ^{ab}	11.3 ± 3.1 ^{ab}	10.4 ± 2.8 ^{ab}	8.6 ± 2.9 ^{ab}	7.8 ± 2.1 ^{ab}	6.2 ± 2.3 ^{ab}

注：与复合组比较，^a $P < 0.05$ ；与组内伤前 1 h 比较，^b $P < 0.05$

表 3 3 组家兔伤后各时相点不同切变率下全血还原黏度的比较 (mpa·s, $\bar{x} \pm s$)

组别	兔数(只)	1 s ⁻¹	3 s ⁻¹	10 s ⁻¹	30 s ⁻¹	50 s ⁻¹	100 s ⁻¹	180 s ⁻¹
电伤组	10							
伤前 1 h		8.9 ± 2.3	7.7 ± 2.6	6.5 ± 1.9	5.6 ± 1.7	4.3 ± 1.6	3.6 ± 1.5	3.6 ± 1.4
伤后 5 min		14.8 ± 3.4 ^{ab}	11.5 ± 3.5 ^{ab}	10.5 ± 3.4 ^{ab}	8.8 ± 2.7 ^{ab}	7.5 ± 1.7 ^{ab}	6.5 ± 1.8 ^{ab}	4.9 ± 2.4 ^{ab}
伤后 4 h		17.7 ± 3.6 ^{ab}	13.6 ± 3.5 ^{ab}	12.5 ± 2.5 ^{ab}	11.7 ± 2.5 ^{ab}	9.4 ± 2.3 ^{ab}	8.6 ± 2.7 ^{ab}	7.2 ± 2.2 ^{ab}
伤后 8 h		21.6 ± 6.2 ^{ab}	15.6 ± 4.4 ^{ab}	14.4 ± 3.3 ^{ab}	12.5 ± 3.5 ^{ab}	10.7 ± 2.8 ^{ab}	9.6 ± 3.4 ^{ab}	8.2 ± 3.6 ^{ab}
复合组	10							
伤前 1 h		8.8 ± 2.3	7.7 ± 2.4	6.5 ± 2.0	5.5 ± 1.6	4.3 ± 1.9	3.8 ± 1.6	3.7 ± 1.4
伤后 5 min		18.2 ± 3.6 ^b	15.8 ± 3.5 ^b	14.7 ± 3.4 ^b	12.9 ± 2.7 ^b	11.7 ± 2.0 ^b	10.6 ± 1.8 ^b	8.8 ± 2.3 ^b
伤后 4 h		22.1 ± 4.4 ^b	17.7 ± 3.4 ^b	16.9 ± 2.5 ^b	15.6 ± 2.3 ^b	13.7 ± 2.5 ^b	12.6 ± 2.3 ^b	11.6 ± 2.5 ^b
伤后 8 h		26.3 ± 6.6 ^b	21.5 ± 4.5 ^b	19.7 ± 3.4 ^b	18.4 ± 3.5 ^b	16.7 ± 3.5 ^b	15.3 ± 3.6 ^b	14.8 ± 3.4 ^b
治疗组	10							
伤前 1 h		8.7 ± 2.3	7.8 ± 2.3	6.5 ± 2.1	5.5 ± 1.9	4.4 ± 2.0	3.8 ± 1.7	3.7 ± 1.4
伤后 5 min		15.2 ± 4.2 ^{ab}	11.4 ± 3.7 ^{ab}	11.2 ± 3.7 ^{ab}	9.3 ± 3.0 ^{ab}	8.2 ± 2.4 ^{ab}	7.3 ± 2.4 ^{ab}	5.4 ± 2.8 ^{ab}
伤后 4 h		18.3 ± 4.7 ^{ab}	14.2 ± 4.0 ^{ab}	13.2 ± 2.8 ^{ab}	12.3 ± 2.8 ^{ab}	10.1 ± 2.6 ^{ab}	9.3 ± 2.5 ^{ab}	8.2 ± 2.8 ^{ab}
伤后 8 h		22.4 ± 6.1 ^{ab}	17.7 ± 4.9 ^{ab}	15.9 ± 3.7 ^{ab}	13.9 ± 3.7 ^{ab}	11.8 ± 3.7 ^{ab}	10.7 ± 3.9 ^{ab}	9.8 ± 3.9 ^{ab}

注：与复合组比较，^a $P < 0.05$ ；与组内伤前 1 h 比较，^b $P < 0.05$

而复合组伤后各时相点 η_p 与电伤组比较无明显变化,表明内毒素可使 η_b 和 η_r 升高,而对 η_p 的影响较小。作者以往的研究表明,单纯高压电烧伤可使 η_b 升高^[3];而本研究结果证明,高压电烧伤合并内毒素血症使 η_b 升高进一步加重。内毒素对 η_b 的影响是多方面的:(1)内毒素可使红细胞表面的负电荷减少,红细胞间及其与血浆蛋白之间的同种电荷排斥力减弱,血浆蛋白在红细胞表面吸附增加,红细胞容易聚集;(2)内毒素引起 TNF、凝血素、干扰素、血小板激活因子等炎症介质大量释放,促进凝血^[7];(3)内毒素使球状、棘状等异形红细胞增多;(4)内毒素使 Ca^{2+} 浓度升高,激活红细胞内 Ca^{2+} -ATP 酶依赖的转谷氨酰胺酶,促使膜蛋白广泛交联,导致红细胞变形能力下降。

η_r 描述流体的结构黏度,更能反映物质的物理特性,如果 η_b 和 η_r 都增高,说明血液黏度增加与红细胞自身流变性质变化关系密切,如 TK 和 EAI 的变化。复合组 η_r 较电伤组高,表明内毒素可使血细胞(尤其是红细胞)成分和结构发生改变,导致红细胞流变性发生变化。

复合组家兔 TK 升高,表明内毒素可使红细胞变硬或变形能力减弱,原因有:(1)内毒素刺激产生大量促炎症介质,使 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶失活,膜通透性改变, pH 值下降,红细胞内黏度上升;(2)内毒素使红细胞膜成分包括蛋白及纤维网状结构受到严重影响,膜骨架受损,使红细胞的变形能力降低;(3)内毒素作用损害红细胞形态,球状、棘状等异形红细胞增多,表面积缩小而体积扩大,TK 升高,变形能力降低。复合组 EAI 增加的原因也是多方面的,如 HCT 升高等。

治疗组家兔 η_b 、 η_r 、EAI 和 TK 均较复合组下降,表明 PTX 对高压电烧伤复合内毒素血症家兔血液流变学有改善

作用。PTX 改善血液流变性是通过增加红细胞和白细胞变形能力、阻断红细胞和血小板聚集、刺激纤溶过程、抑制粒细胞黏附及降低粒细胞高反应性等机制来实现的。PTX 为磷酸二酯酶抑制剂,可以降低血液中内毒素水平,减轻内毒素对机体的影响;PTX 可以抑制 TNF、凝血素、血小板激活因子的释放并减轻其作用,阻断内毒素激活凝血系统,降低 η_b ; PTX 可通过增加细胞膜的 ATP 含量改善血细胞的变形能力、降低 η_b 和血栓形成,具有改善微循环的作用^[8]。

参考文献

[1] 张庆富,白永强. 高压电烧伤家兔胰腺微循环的变化. 中华烧伤杂志,2009,25(5):368-371.
 [2] 张庆富. 烧伤患者休克期尿量与足甲襞微循环灌注的相关性. 中华烧伤杂志,2008,24(6):456-457.
 [3] 张庆富,周慧敏. 实验高压电烧伤血液流变学变化及己酮可可碱的治疗作用. 中国微循环,2007,11(5):309-312.
 [4] 张庆富,张海华,张景. 实验高压电烧伤胃黏膜微循环动态变化及意义. 中国微循环,2007,11(3):184-187.
 [5] 祝伟,陈华文,吕青,等. 己酮可可碱对内毒素血症大鼠肝损伤的保护作用. 中国急救医学,2007,27(7):630-632.
 [6] 刘德红,邓哲,郑晓英. 己酮可可碱对内毒素所致 SIRS 大鼠核转录因子-KB 的调控. 医药世界,2007,8(3):12-13.
 [7] van der Poll T, Levi M, Nick JA, et al. Activated protein C inhibits local coagulation after intrapulmonary delivery of endotoxin in humans. Am J Respir Crit Care Med, 2005, 171(10):1125-1128.
 [8] 叶金朝,叶菲. 己酮可可碱的应用进展. 医药导报,2007,26(3):271-272.

(收稿日期:2009-12-14)
(本文编辑:莫愚)

家兔严重烫伤早期血管内皮细胞结构和功能的变化

黄金华 周羽 徐刚 陈银兵 刘亦峰 周杰

本实验通过建立家兔严重烫伤模型,观察家兔伤后早期内皮素/NO 系统变化及血管内皮细胞(VEC)超微结构的改变,探讨严重烫伤对 VEC 损害的形成机制。

1 材料与方 法

1.1 实验分组及处理

健康家兔(扬州大学医学院实验动物中心)21 只,雌雄不拘,体质量 2.5~3.0 kg。分笼饲养 1 周后将家兔按随机数字表法分为:对照组 6 只,不作任何处理,抽取静脉血待测;烫伤组 15 只,按文献^[1]方法制作家兔背部烫伤模型。伤后单笼饲养,不限饮水和进食。于伤后即刻和 6、12、24、48 h 抽取静脉血待测。

1.2 检测指标

1.2.1 一般情况 观察烫伤组家兔伤后活跃度、心率、呼

吸情况。

1.2.2 血浆内皮素 1 和 NO 的检测 将 2 组家兔静脉血离心后,取上清液。采用 ELISA 法检测血清内皮素 1 的含量,操作按试剂盒(美国 ADL 公司)说明书进行。以硝酸还原酶法检测血清 NO 的含量,参照 NO 试剂盒(南京建成生物工程研究所)说明书操作。

1.2.3 VEC 的超微结构观察 伤后 48 h 将 2 组家兔处死,从主动脉根部至髂动脉分叉处取血管标本,用体积分数 3% 戊二醛及 10 g/L 锇酸双固定,乙醇脱水,Epon812 树脂包埋,制成 60 nm 厚切片,铅-铀双重染色,于 Tecnai 12 型透射电子显微镜(荷兰飞利浦公司)下观察 VEC 超微结构。

1.3 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 统计软件行 *t* 检验。

2 结果

2.1 一般情况

烫伤组家兔伤后精神较差,心跳、呼吸增快,伤后 48 h 心率大于 200 次/min、呼吸大于 70 次/min。伤后 24 h 死亡 2 只、

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2010.03.007

作者单位:225001 江苏扬州,苏北人民医院烧伤整形科(黄金华、徐刚、陈银兵、刘亦峰、周杰);江苏盐城卫生职业技术学院医学美容教研室(周羽)