

严重烧伤后输液对多器官功能障碍综合症的病理组织学和超微结构变化的影响

陈意生 史景泉 吴军 谯怡然

【摘要】 目的 探讨严重烧伤后输液对多器官功能障碍综合症的病理组织学和超微结构变化的影响。**方法** 犬 44 只,随机分为立即输液组(8 只)、延迟输液组(15 只)、不输液组(14 只)及正常对照组(7 只)。质量浓度为 30 g/L 的凝固汽油燃烧 30 s,致 TBSA 50% III 度烧伤。伤后 72 h 或濒死期自心、肺、肝、肾和胃肠各取小块组织作光镜和透射电镜观察。**结果** 伤后心、肺、肝、肾及胃肠组织均有不同程度的血液循环障碍及退行性变,延迟输液组器官病变较立即输液组及不输液组者重。**结论** 伤后延迟输液是严重烧伤早期并发多器官功能障碍的重要原因。

【关键词】 烧伤; 输液; 多器官功能障碍综合症; 病理组织学; 超微结构

The effects of postburn fluid resuscitation on the pathohistological and ultrastructural changes of multiple organs with dysfunction in severely burned dogs CHEN Yisheng, SHI Jingquan, WU Jun, QIAO Yiran. Institute of Pathology, Southwestern Hospital, The Third Military Medical University, Chongqing 400038, P. R. China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of postburn fluid resuscitation on the pathohistological and ultrastructural changes of multiple organs with dysfunction in severely burned dogs. **Methods** Forty-four mongrel dogs were randomly divided into four groups: (1) immediate infusion (II, n = 8), (2) delayed infusion (DI, n = 15), (3) no infusion (NI, n = 14), (4) normal control (NC, n = 7). The dogs were inflicted with 50% TBSA III degree flame burn produced by napalm in concentration of 30g/L burning for 30 seconds on the back. Small pieces of tissue samples of heart, lungs, liver, kidneys and gastrointestinal tract were taken from injured dogs at 72 postburn hours (PBHs) or moribund stage for the examination with light microscope (LM) and transmission electron microscope (TEM). **Results** Different degrees of blood circulation disturbance and degenerative changes were found in all above internal organs. These changes were more evident in DI than in II and NI groups. **Conclusion** Delayed postburn fluid resuscitation could induce multiple organ dysfunction in early postburn stage.

【Key words】 Burn; Infusion; Multiple organ dysfunction syndrome; Pathohistology; Ultrastructure

多器官功能障碍综合症(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)^[1],仍是当前烧伤的重要死亡原因和治疗烧伤的棘手问题。因此,建立烧伤动物模型,研究 MODS 情况下各脏器病理改变,具有重要的理论和临床实际意义。本研究旨在通过实验观察,比较严重烧伤后立即输液和延迟输液等情况下各脏器的组织学和超微结构变化,寻找病变特点,为进一步认识和救治烧伤后 MODS 提供病理学理论基础。

材 料 与 方 法

1. 动物模型及分组:健康杂种犬 44 只,体重(12.5 ± 2.5)kg,随机分为 4 组:(1)立即输液组:8 只,伤后即按 Parkland 公式补充乳酸林格液;(2)延迟输液组:15 只,伤后 6 ~ 7 h 开始补液,24 h 补液

量仍按公式计算,于 18 h 内均匀输入;(3)不输液组:14 只,伤后不输液;(4)正常对照组,7 只。实验前犬禁食 12 h,质量浓度为 30 g/L 的戊巴比妥钠静脉麻醉(25 ~ 30 mg/kg),用质量浓度为 30 g/L 的凝固汽油燃烧 30 s,致 50% TBSA III 度烧伤。创面暴露,观察 72 h。

2. 病理学检查:伤后 72 h 或濒死期处死犬取材。自心、肺、肝、肾、胃、肠各取小块组织(除胃、肠外,每组取 4 只犬作电镜观察,光镜则取全部犬),分别固定于 10% 的甲醛液和 2.5% 戊二醛磷酸缓冲液,常规脱水、包埋,分别制成石蜡切片(HE 染色)和超薄切片,于光镜和透射电镜(JEM-2000EX)下观察。

结 果

一、正常对照组和立即输液组犬全部存活,不输液组犬 12 h 全部死亡,延迟输液组犬死亡为 100%。

作者单位:400038 重庆,第三军医大学西南医院病理学研究所(陈意生、史景泉、谯怡然),全军烧伤研究所(吴军)

二、心脏病变

1. 光镜观察示:(1)延迟输液组犬心肌纤维广泛浊肿,可见空泡变性(多见于细胞核周围)。横纹模糊或消失,可见节段性肌浆凝固红染或心肌溶解性坏死现象。肌纤维可呈波浪状,常形成收缩带。偶见肌纤维断裂。个别犬心肌间质内可见中性粒细胞和单核细胞浸润,血管轻度扩张。心内膜下多有片状出血。(2)不输液组犬心肌亦有变性坏死改变,心肌纤维断裂和异常的收缩带更为多见。间质内血管扩张充血,伴有明显的内膜下出血。(3)立即输液组犬心肌纤维轻度肿胀,肌浆凝固和溶解现象少见。间质血管扩张充血和出血较明显,并可见有少数中性粒细胞和单核细胞浸润。

2. 电镜观察示:(1)延迟输液组犬心肌纤维常显示轻度的肌膜下水肿,线粒体广泛肿胀、空化,嵴断裂或消失以及髓鞘样结构形成。部分线粒体退变呈皱纹纸状结构,另可见一些线粒体内有大量的钙盐样致密颗粒沉积(图1)。部分肌节显著收缩,I带消失,而邻近肌节却显示I带增宽或Z线不规则增粗。肌纤维有小灶性或片状溶解。偶见心肌细胞呈核固缩、核碎裂、胞浆崩解之坏死性改变。间质毛细血管内皮细胞胞体突入或者嵌塞于管腔内,或见内皮细胞胞质突起伸至对侧管壁,胞质内吞饮小泡增多。(2)不输液组犬肌纤维多有肌膜下明显水肿,致使肌膜呈琴键状突起。肌浆网扩张,尤其是在终末池部。横管亦常有扩张,内含颗粒状物。心肌细胞线粒体轻度肿胀或基质致密。部分肌节收缩,肌原纤维排列致密。I带消失;另一部分肌节舒张,I带极度增宽呈全透明状,Z线扭曲,肌原纤维可有断裂。(3)立即输液组犬心肌原纤维排列整齐,偶见局部形成过度收缩带。肌浆网轻度扩张。线粒体多整齐地分布于肌原纤维之间,或有聚集成小堆现象;线粒体嵴清晰,亦可有小的髓鞘样结构形成。肌

膜下常有多量线粒体分布,并自肌膜下向间质毛细血管方向突出。

三、肺脏病变

1. 光镜观察示:上述3组烧伤犬均显示肺内存在不完全性肺不张和充血性肺不张改变。肺泡隔毛细血管扩张充血,管腔内常见中性粒细胞滞留,致肺泡隔呈不同程度的增宽。肺泡内水肿、出血,呈局灶性或片状分布。多数犬存在小灶性肺炎和支气管炎。肺内支气管粘膜上皮杯状细胞增多,腔内可有中性粒细胞,偶见肺血管周围水肿套和出血套。

2. 电镜观察示:(1)延迟输液组犬肺泡隔厚部间质水肿(图2),毛细血管内皮细胞肿胀,腔内常见中性粒细胞滞留(图3),偶见血小板。肺泡I型上皮线粒体肿胀,肺泡II型上皮内质网扩张,线粒体肿胀乃至空泡变性。有的标本中可见肺不张,表现为肺泡隔塌陷,诸结构紧靠,肺泡II型上皮聚集,因而相对增多。个别肺泡腔内可见纤维蛋白和中性粒细胞。(2)不输液组犬肺泡隔厚部水肿,表现为胶原纤维疏松,基质电子密度降低。毛细血管内皮细胞轻度肿胀,饮泡增多;腔内常见中性粒细胞滞留。肺泡II型上皮线粒体肿胀乃至空泡变,板层体有排空现象。(3)立即输液组犬肺泡隔厚部亦显水肿,间质细胞核周间隙和内质网扩张。毛细血管内皮和肺泡II型上皮病变同延迟输液组。有的标本中可见肺泡II型上皮增生,肺泡腔内出现大量表面活性物质,以小管性髓样结构形式出现。可见到肺不张、肺泡隔塌陷等改变。

四、肝脏病变

1. 光镜观察示:(1)延迟输液组犬肝小叶轮廓一般均保存,有些则因充血严重而离散。部分肝细胞轻度浊肿、胞质疏松或积水变性,可见灶性坏死。肝窦内含数量不等的中性粒细胞、淋巴细胞和坏死细胞。库普弗细胞增生、肿胀。汇管区血管扩张充

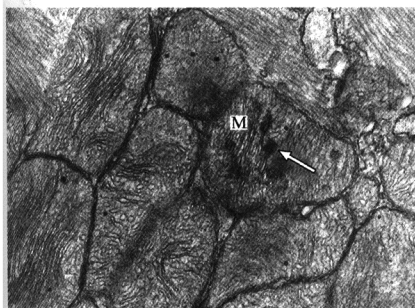


图1 延迟输液组心肌钙盐样颗粒沉积(→)
TEM × 20 000
Fig 1 Deposition of calcificoid granules in the myocardium(→). Delayed infusion group TEM × 20 000



图2 延迟输液组肺泡隔厚部水肿(E)
TEM × 10 000
Fig 2 Edema (E) of the thick portion of alveolar septa. delayed infusion group TEM × 10 000

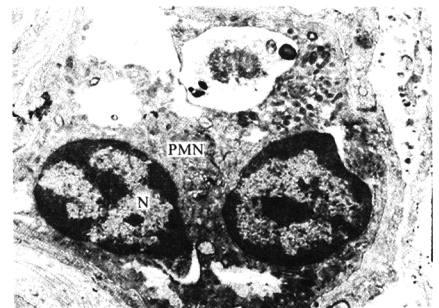


图3 延迟输液组肺毛细血管内PMN滞留
TEM × 10 000
Fig 3 Sequestration of PMN in a capillary of the lung. delayed infusion group TEM × 10 000

血,可见有管壁疏松、内皮下水肿,甚至管壁破裂,红细胞溢出。(2)不输液组犬肝细胞轻度至中度水肿,仅见 1 只犬肝实质灶性坏死。肝窦内有少数坏死细胞,库普弗细胞较易见。

2. 电镜观察示:(1)延迟输液组犬肝细胞内线粒体嵴减少、结构模糊或呈皱纹纸样改变(图 4),有些则呈空化或髓鞘样结构形成。粗面内质网丰富,滑面内质网普遍呈中度至高度扩张,甚至形成筛状结构。胞质溶解易见。个别肝细胞核有核内假包涵体形成。库普弗细胞显变性,其线粒体肿胀、空化。(2)不输液组犬主要改变为肝细胞粗面内质网增生并轻度扩张,有些线粒体显肿胀、空化或髓鞘样结构形成,肝细胞核周隙可呈扩张。(3)立即输液组犬肝细胞内粗面内质网多而易见,并呈轻度扩张。线粒体结构模糊或肿胀、空化。胞质溶解及线粒体皱纹纸样改变少见。肝细胞核周隙扩大,库普弗细胞内吞噬有红细胞。

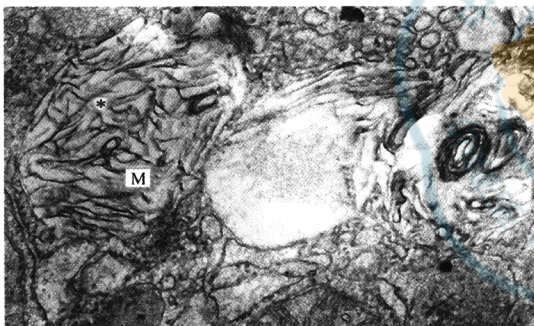


图 4 延迟输液组肝细胞内线粒体(M)呈皱纹纸样改变(*) TEM × 30 000
Fig 4 Mitochondria (M) showing wrinkle - paper like change (*) in hepatocytes. delayed infusion group TEM × 30 000

大,形状不规则,可呈双核样。系膜细胞增多,胞体变圆,细胞器丰富,胞突常插入内皮下。足细胞内线粒体和内质网常显示肿胀和扩张现象。毛细血管腔内有中性粒细胞滞留。偶见血小板堆集,在内皮表面可有血小板颗粒样致密物质和纤维蛋白样物沉积。肾小管的改变为:上皮微绒毛肿胀,胞质内容酶体增多,或可见有大泡形成。线粒体内常有多量钙盐样致密颗粒沉积。上皮细胞有坏死脱落,基底膜裸露。肾间质毛细血管内皮肿胀,腔内易见中性粒细胞滞留。(2)未输液组犬肾小球毛细血管内皮显变性,核异染色质边集、核固缩等改变,毛细血管腔内易见中性粒细胞和血小板。足细胞突起有局限融合。肾小管病变与延迟输液组犬者同,但有大量髓鞘样结构出现。(3)立即输液组犬肾小球内皮细胞胞质内粗面内质网多较丰富,高尔基复合体易见;足细胞改变同未输液组,毛细血管腔内亦有中性粒细胞滞留。肾小管改变与延迟输液组相似。

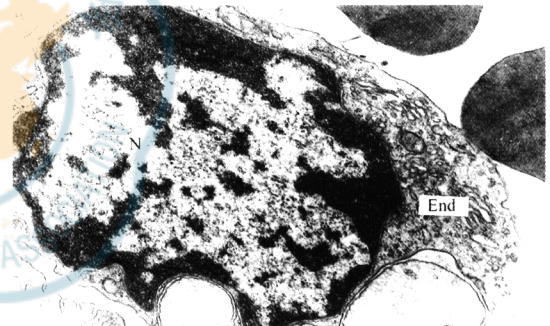


图 5 延迟输液组肾小球内皮细胞(End)肥大 TEM × 12 000
Fig 5 Hypertrophy of glomerular endothelial cell (End). delayed infusion group TEM × 12 000

五、肾脏病变

1. 光镜观察示:(1)延迟输液组犬肾小球毛细血管多呈扩张充血状,腔内常有中性粒细胞。系膜细胞轻至中度增生,系膜区扩大。肾小管上皮细胞显示广泛而显著的水肿、空泡变性,上皮细胞坏死易见,伴有间质血管扩张、充血。个别犬肾间质内见少数炎细胞浸润。(2)不输液组犬肾小球毛细血管多塌陷,毛细血管丛呈分叶状。系膜细胞有轻度增生。肾小管上皮变性、坏死脱落现象明显。肾小管腔内可见蛋白管型和细胞管型。间质血管扩张充血,伴局灶性出血。(3)立即输液组犬肾小球除系膜细胞轻度增生外,无明显改变。但肾小管变性、坏死依然存在,间质充血伴轻度水肿。

2. 电镜观察示:(1)延迟输液组犬肾小球毛细血管内皮细胞肥大(图 5),有的胞体突入或嵌塞于毛细血管腔内,胞质中见大量多聚核糖体;胞核增

六、胃肠病变

1. 光镜观察示:(1)延迟输液组犬胃粘膜上皮基本完整。壁细胞常出现核周空晕,细胞肿大;主细胞胞质多淡染空化。粘膜层毛细血管扩张充血、出血,粘膜下水肿。回肠粘膜有小灶性缺损,部分绒毛顶部有上皮空泡形成。绒毛间质内见多量细胞碎片。淋巴小结内有细胞坏死。(2)不输液组犬胃肠病变与延迟输液组基本相同,但见回肠粘膜与粘膜下毛细血管多呈贫血状态,淋巴小结内见大量坏死细胞。(2)立即输液组犬胃肠病变比前两组犬轻微,细胞轻度肿胀。回肠绒毛间质和淋巴小结内细胞坏死现象不明显。

讨 论

本实验结果表明,犬 50% TBSA III 度烧伤后,心、肺、肝、肾和胃肠组织均显示不同程度的病理改变,主要表现为细胞的退行性变和血液循环障碍。其中以立即输液组最轻,不输液组多显示为毛细

管扩张充血或塌陷,细胞内、外水肿等提示微循环障碍与细胞代谢异常的改变。而延迟输液组病变最为严重,且更为多样化,除细胞变性外,各脏器实质细胞,如心肌、肝、肾小管上皮细胞等均有不同程度的坏死。临床功能检测结果表明^[2],该组犬多于伤后早期发生了多器官功能障碍。从而本实验结果为严重烧伤后延迟复苏导致多器官功能障碍的发生提供了病理形态学依据。

目前,虽然对多器官功能障碍诊断标准的认识趋向一致,但在病理形态学诊断上并没有统一的标准。不同方法所致的多器官功能障碍,发生机制并不完全一致。本实验延迟输液组犬各脏器病变与其它一些多脏器功能障碍犬模型中观察到的病变报道基本相似^[3,4],但心肌的变化尤为显著。与立即输液组和不输液组犬不同,延迟输液组犬心肌病变以广泛而严重的线粒体变性、肌原纤维溶解、心肌纤维坏死为特征。功能检测结果提示该组犬的心衰发生率为 100%^[2]。这在其它方法所致多器官功能障碍实验研究中尚未见报道,应引起注意。对严重烧伤后延迟复苏情况下心肌病变及其发生机制值得进一步深入研究。

本实验 3 组犬内脏病变观察结果表明:(1)大面积严重烧伤后立即输液对防止内脏病变和多器官的发生是极为重要的;低血容量性休克的发生显然是导致细胞损伤的始动因素。(2)未输液组犬各脏器(除肝脏外)组织学改变与延迟输液组相似,但其超微结构均已有了明显的改变,这可能是由于犬多于伤后早期 $[10 \pm 4\text{h}]$ 死亡,病变尚未得以充分发展的缘故。这与笔者过去对人体烧伤肝脏的组织学和超微结构变化的观察结果是一致的^[5],组织学改变的严重程度往往晚于超微结构改变。另未输液组犬虽然存活时间不长,但多数犬已显示内脏功能障碍,发生心、肺、肝、肾功能障碍者分别达 100%、46%、23% 和 15%。由此表明未输液组的后果是严重的。(3)延迟输液组犬内脏实质细胞不可逆性病变的发生,除要考虑一些体液因子(如烧伤毒素等)的作用外,很可能与组织缺血后再灌流引起的损伤有关。提示这一损伤机制的根据为:①延迟输液组犬各脏器组织内丙二醛含量均显著高于正常对照组^[2]。②在该组犬心肌和肾小管上皮的线粒体内常见有大量的钙盐样颗粒沉积,提示细胞内 Ca^{2+} 含量显著增高。目前认为,细胞内 Ca^{2+} 超负荷是导致细胞不可逆性损伤的共同通路,亦是缺血后再灌流损伤的结果^[6,7]。推测严重烧伤后早期各脏器实质细胞因循

环障碍而发生缺血缺氧,ATP 生成减少,使各离子泵运转障碍,细胞内离子(包括 Ca^{2+})重新分布。胞质内 Ca^{2+} 浓度增高,可激活脂酶,后者分解膜磷脂,损伤细胞膜。当组织经缺血后再灌流时,一方面大量生成的氧自由基可引起膜系统的严重损害;另一方面,大量 Ca^{2+} 涌入胞质和线粒体内,抑制细胞呼吸功能,促使细胞由可逆性损伤进入不可逆性损伤。由此设想,在烧伤后早期复苏治疗中,使用氧自由基清除剂和 Ca^{2+} 拮抗剂,将有可能产生减轻组织细胞损伤、提高救治率的积极作用。但这一发生机制尚需进一步深入研究。

本实验中应指出的是,在延迟输液组犬脏器,尤其是肺、肝、肾的毛细血管内,常可见有中性粒细胞和血小板的滞留。中性粒细胞在毛细血管内滞留现象可见于多种原因引起的多器官功能障碍时。关于其发生机制及意义有待进一步阐明。值得注意的是,停留在毛细血管内的血小板部分显示变形,并有颗粒排空现象。在 2 只犬肾小球毛细血管内,除见有血小板聚集外,在内皮细胞表面有大量血小板颗粒样致密物附着和纤维蛋白样物沉积,提示凝血系统被激活。这与 Borzotta^[8]报道在创伤、出血、败血症引起的休克患者中,有血小板减少和弥漫性血管内凝血现象相符。微小血栓的形成,不仅可加重毛细血管阻塞,还可释放 5-HT、组织胺等生物活性物质,进一步损伤血管壁,加重组织细胞缺血缺氧,成为导致实质细胞变性坏死的又一不可忽略的因素。

参 考 文 献

- 1 Bone RC, Balk RA, Cer FB, et al. Definition for the sepsis and organ failure and guideline for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM consensus conference committee, American college of chest physicians /society of critical care medicine[J]. Crit Care Med, 1992, 10: 1644 - 1655.
- 2 陈发明,杨宗城,康绍禹,等.严重烧伤早期多脏器功能衰竭的动物实验研究.中华整形烧伤外科杂志,1992,8:16-21.
- 3 胡森,盛志勇,薛丽波,等.创伤后多系统器官衰竭(MSOF)动物模型的实验研究.中华整形烧伤外科杂志,1992,8:2-7.
- 4 陆江阳,梁延杰,芦善芬,等.酵母多糖所致大鼠多器官衰竭的病理形态学研究.中华外科杂志,1991,29:448-451.
- 5 Chen Yisheng, Liao, Shi Jingquan, et al. Histopathological and ultrastructural changes in liver tissue from burned patients. Burns, 1985, 11:408-418.
- 6 Farber, FL. Membrane injury and calcium homeostasis in the pathogenesis of coagulative necrosis. Lab Invest, 1982, 47:114.
- 7 Humes HD. Role of calcium in pathogenesis of acute renal failure. Am J Physiol, 1986, 19:579-589.
- 8 Borzotta AP, Polk HC. Multiple system organ failure. Surg Clin North Am, 1983, 63: 315-336.

(收稿日期:2000-10-17)

(本文编辑:张 宁)