



高海拔地区内毒素致绵羊多脏器功能障碍综合征的病理学改变

万东君¹, 牛廷献², 王春雨³, 付学锋¹, 杨艳丽⁴, 罗晓红³

(1. 兰州军区兰州总医院干部病房; 2. 实验动物科; 3. 内分泌科; 4. 病理科, 兰州 730050)

【摘要】 目的 研究高海拔地区内毒素致绵羊多脏器功能障碍综合征(MODS)的病理学变化特征。方法 将16只绵羊随机分为2组, 中度海拔组和高海拔组, 按相同的剂量静脉给予内毒素(6 μg/kg)制作MODS模型, 24 h后麻醉处死绵羊, 观察主要脏器的病理学变化。结果 中度海拔和高海拔MODS组绵羊肺脏、肝脏、脾脏、肠粘膜均出现明显炎性改变, 高海拔MODS组绵羊肺脏、肝脏病理学评分明显高于中度海拔MODS组。结论 高海拔地区MODS的病理损伤较中度海拔明显加重。

【关键词】 多脏器功能障碍综合征; 内毒素; 高海拔地区; 绵羊; 病理学; 肺; 肝

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)08-0040-03

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.008.009

Pathological Characteristics of a Sheep Model of Multiple Organ Dysfunction Syndrome at High Altitude Induced by Lipopolysaccharide

WAN Dong-jun¹, NIU Ting-xian², WANG Chun-yu³, FU Xue-feng¹, YANG Yan-li⁴, LUO Xiao-hong³

(1. VIP ward; 2. Department of Animal Experiment; 3. Department of Endocrinology;

4. Department of Pathology, Lanzhou General Hospital of PLA, Lanzhou 730050, China)

【Abstract】 Objective To establish a sheep model of multiple organ dysfunction syndrome (MODS) at high altitudes induced by lipopolysaccharide (LPS) and observe the pathological characteristics of organs. **Methods** Sixteen 1-year old sheep (male:female = 1:1) were randomly divided into moderate altitude group (1500 m) and high altitude group (3200 m). The MODS models were generated by intravenous infusion of LPS at a dose of 6 μg/kg. After 24 hours, the sheep were anesthetized, and samples of the lung, liver, heart, spleen, kidney and intestine tissues were taken and fixed in 10% formalin for histopathological examination. **Results** The lung, liver, spleen and intestinal tissues had significant inflammatory changes in both MODS groups, and especially, the pathology scores of the lung and liver at high altitude MODS group were significantly higher than those in the moderate altitude MODS group. **Conclusions** Pathological damages of MODS at high altitude are more aggravated than those at moderate altitude.

【Key words】 Multiple organ dysfunction syndrome; Lipopolysaccharide; High altitude; Sheep; Histopathology; Lung; Liver.

多脏器功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)常继发于严重感染、休

克、外伤等疾病,发病凶险,死亡率高,一直是临床危重病研究的重要课题。近几年我们通过临床观

[基金项目] 甘肃省自然科学基金(No. 1010RJZA052)。

[作者简介] 万东君(1972-),男,副主任医师。

[通讯作者] 罗晓红(1963-),女,主任医师,主要研究方向:高海拔地区多脏器功能障碍的综合防治研究。

察发现,随海拔高度升高,以缺氧为主的环境暴露因素逐渐参与了平原普遍认知的原发性打击因素,不同程度地改变了 MODS 的发病过程,其临床症状、诊断标准参数、治疗方略和预后与平原发生了变化或显著变化,形成了高海拔地区具有特征性的 MODS^[1-4]。本实验在两个不同的海拔梯度以内毒素建立绵羊 MODS 模型,并对主要脏器进行病理分析对比,了解高海拔地区绵羊 MODS 模型的病理特点,为进一步防治研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物和试剂

16 只 1 年龄绵羊(兰州军区兰州总医院动物实验科提供),雌雄各半,体重 2 kg 左右,全价饲料饲养。麻醉药物为速眠新 II 号(军事医学科学院军事兽医研究提供),内毒素(LPS,血清型为 O127:B8,批号为 64H4010,美国 Sigma 公司)。

1.2 实验仪器

全自动生化分析仪:Beckman 公司;全自动血球分析仪:日本 Sysmex 公司, KX-21N;全自动生物组织脱水机:湖北宏业医用仪器有限公司, TS-12N; 轮转切片机:德国徕卡, RM2135。

1.3 动物分组及模型制作

16 只绵羊分为 2 组,每组 8 只,第一组为中度海拔组,在兰州(海拔 1500 m)实施模型制作,第二组为高海拔组,在夏河(海拔 3 200 m)进行模型制作。模型制作方法:速眠新 II 号(1.5 mL/kg)肌肉注射麻醉后,每组随机抽出 3 只作为对照组,余 5 只绵羊经前肢桡静脉泵入 LPS(6 μ g/kg, 30 min 内泵完),制作 MODS 模型,对照组给予等量生理盐水静脉泵滴入。24 h 后,麻醉动物,颈静脉采血,检测血常规、肝肾功,颈动脉采血测血气。采血后处死动物,解剖观察肺、肝、脾、心、肾、胃肠等主要脏器,并取部分组织用 10% 甲醛固定,常规组织切片,HE 染色,显微镜下观察。

1.4 MODS 的判定

各组动物的血细胞计数、血气、肝肾功等化验结果,参照胡森等^[5]提出的动物 MODS 的诊断标准,在注射 LPS 后出现 2 个或 2 个以上器官或系统功能障碍判定为 MODS。

1.5 病理改变的半定量分析

所有切片均由病理学专业人员进行观察评估。肺组织病理学检查,按修正后弥漫性肺泡损伤

(DAD) 系统进行评分^[6]。根据肺泡内纤维素渗出、肺泡内出血、肺间质水肿、肺泡内中性粒细胞聚集、肺间质内中性粒细胞聚集 5 个参考因素,按正常、轻、中、重评 0、1、2、3 分,所有各项参数评分之和为 DAD 评分。肝损伤程度的组织学评分标准按照参考文献^[7],盲法累计评分。

1.6 统计学方法

实验数据采用 SPSS 13.0 统计软件分析,组间比较采用 one-way ANOVA 比较。

2 结果

2.1 各组绵羊主要脏器外观比较

模型组绵羊注射内毒素后出现呼吸急促、心率增快、腹胀、尿频,活动能力下降,进食、饮水减少。病理解剖发现,与对照组比较,MODS 模型绵羊组的肺脏肉眼标本变化显著,中度海拔组模型绵羊肺脏点片状充血、水肿。肺泡水肿、扩张明显;肠腔胀气。高海拔组 MODS 模型绵羊,肺脏呈斑片状实变,充血、水肿,大量肺泡液(伴血性分泌物)从气管、支气管断面流出;肠腔胀气更加显著,膨呈鼓状。心脏、肝脏、肾脏、脾脏等实体标本肉眼观察,两个海拔梯度组与对照组变化不明显。

2.2 各组主要脏器病理学改变

MODS 模型组绵羊,损伤最为明显的依次为肺脏、肝脏、脾脏、肠粘膜,而心脏、肾脏损伤程度轻微。中度海拔 MODS 组绵羊肺脏,光镜下可见肺泡结构基本完整,灶性肺泡腔扩张,肺泡间隔增宽,有中性粒细胞浸润;肝脏小叶结构清晰,肝细胞浊肿,点状坏死,轻度汇管区静脉扩张;脾窦充血、淤血;肠粘膜组织间中性粒细胞浸润。高海拔 MODS 组:肺泡壁结构模糊,部分肺泡壁塌陷,肺泡腔消失,病变区有大量的中性粒细胞浸润、蛋白液和红细胞渗出;肝脏小叶结构完整,汇管区静脉扩张,汇管区炎症细胞、淋巴细胞浸润;脾窦广泛充血、淤血;肠粘膜水肿,粘膜间质炎细胞浸润。对照组各脏器组织未见明显异常改变(图 1,见彩插 1)。以组织改变最为明显的肺脏、肝脏,进行半定量评分,高海拔 MODS 组肺脏、肝脏评分显著高于中度海拔 MODS 组,结果参见表 1。

3 讨论

随着海拔的增高,高原的低氧、低气压环境因素的暴露,促使 MODS 发生发展十分急骤,因而寻

表 1 两组 MODS 绵羊肺、肝病理学评分

Tab. 1 Pathological scores of the lung and liver tissues in the two MODS groups

组别 Groups	肺 DAD 评分 DADA scores of lung	肝脏评分 Scores of liver tissue
中度海拔 MODS 组 MODS group at moderate altitude	5.2 ± 1.30	9.8 ± 1.92
高海拔 MODS 组 MODS group at high altitude	8.0 ± 1.58 [#]	13.0 ± 1.57 [#]

注:与中度海拔 MODS 组比较,“#” $P < 0.05$

Note: Compared with MODS group at moderate altitude, “#” $P < 0.05$

找建立合适的动物模型,了解高海拔地区 MODS 的演变规律,病理变化特点,对高海拔地区 MODS 早期诊断、早期治疗具有特殊重要性。利用内毒素建立 MODS 模型的单因素、可控性、简便性的优点,我们曾以大鼠、兔、绵羊为实验动物制作 MODS 模型,但由于大鼠对内毒素敏感性差,而兔对内毒素过于敏感,最终选择绵羊,其病理生理变化与人相近。前期在中度海拔地区(1 500 m)以绵羊制作 MODS 模型,脏器功能障碍发生以肺功、肝功、肠道功能减退、白细胞减少最为显著^[8],本次试验在两个海拔高度下对比病理分析,亦证实肺脏、肝脏、肠粘膜的病理改变显著,尤以海拔 3 200 m 的模型最明显。静滴内毒素 24 h 后,肺脏出现充血、水肿,肺泡腔内淤血,肝脏汇管区炎性细胞浸润,肠粘膜水肿。肺脏及肝脏的病理学评分显示,在相同内毒素剂量诱导下,高海拔地区模型动物的病理损伤较中度海拔地区的损伤更为严重,提示低氧环境因素对于 MODS 的病情发展具有重要推动作用。

尽管目前对于高海拔地区 MODS 的详细发病机制仍然不清楚,推测低氧应激促进炎症反应链活跃可能是重要的发病环节之一。当海拔上升到 1 500 ~ 1 760 m, PaO_2 就比平原下降了近 20 mmHg, 接近氧解离曲线“S”陡区,容易引起氧合氧离的剧烈波动^[9];在 3 000 m 以上的海拔高度机体已明显承受到低氧的刺激,使组织细胞处于应激状态,任何轻微的打击都可迅速诱发 MODS^[10]。在低氧环境暴露下中性粒细胞功能改变与高原 MODS 发病关系研究中发现:急慢性缺氧时,中性粒细胞伪足长度都显著大于常氧对照组,尤其是急性缺氧暴露下更明显,表明急性缺氧促进了中性粒细胞趋化能力^[11]。NF- κ B 作为调控细胞因子、黏附分子和炎症反应的重要转录因子,在高原地区严重烫伤延

迟复苏大鼠肺组织中 NF- κ B 活性较中度高原显著增强^[12]。在高海拔地区,由于低氧应激因素的存在,MODS 模型表现出病理损伤较中度海拔地区严重,然而在主要的损伤器官中,肺损伤尤其明显,可能原因是在 LPS 诱导的 MODS 病理演变过程中,早期大量炎症介质释放,肺泡-毛细血管膜对过度炎症反应较为敏感。明确的发病机制仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] 罗晓红,万东君,高炜,等. 高海拔地区脑出血合并多器官功能障碍综合征的特点 [J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18 (5): 309 - 310.
- [2] 刘惠萍,张世范,刘传兰,等. 高原地区 ARDS/MODS 早期诊断治疗的经验体会 [J]. 西北国防医学杂志, 2008, 29 (5): 321 - 323.
- [3] 张世范,张德海,高炜,等. 高原地区全身炎症反应综合征与急性高原病发病机制的初步探讨 [J]. 中国现代医学杂志, 2006, 16 (2): 183 - 187.
- [4] 张世范,吴天一. 全身炎症反应综合征与急性高原反应综合征的关联性研究和思考 [J]. 西北国防医学杂志, 2007, 28 (2): 81 - 83.
- [5] 胡森,盛志勇,周宝桐,等. 双相迟发多器官功能不全综合征 (MODS) 动物模型的研究 [J]. 中华创伤杂志, 1996, 12: 102 - 106.
- [6] Quintel M, Heine M, Hirsch LRB, et al. Effects of partial liquid ventilation (PLV) on lung injury in a model of acute respiratory failure: a histologic and morphometric analysis [J]. Crit Care Med, 1998, 26: 833 - 842.
- [7] 吴海军,肖恩华,尚全良,等. 同种异体骨髓基质细胞直接穿刺肝内移植治疗急性肝损伤的病理改变 [J]. 国际医学放射学杂志, 2008, 31 (5): 321 - 325.
- [8] 王春雨,凡春玲,罗晓红,等. 内毒素致多脏器功能障碍综合征绵羊模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2011, 21 (8): 49 - 52.
- [9] 刘传兰,叶光阳,耿智隆,等. 兰州地区 (1517 m) 118 例健康人中心动脉血气分析 [J]. 西北国防医学杂志, 2001, 22 (4): 318 - 320.
- [10] 张世范,刘毅,高炜,等. 高海拔地区多脏器功能障碍评分系统诊断的标准 [J]. 中华急诊医学杂志, 2006, 15 (4): 366 - 369.
- [11] 周其全,张世范. 中性粒细胞过渡激活在急性高原病伴多脏器功能障碍中的作用及其机制 [J]. 临床军医杂志, 2009, 37 (3): 308 - 311.
- [12] 刘毅,樊军. NF- κ B 在高原地区严重烫伤延迟复苏大鼠肺组织中的表达及其意义 [J]. 西北国防医学杂志, 2010, 31 (5): 321 - 323.

[修回日期] 2012-06-12