

亚高原与高原地区绵羊多脏器功能障碍综合征 血清生化指标的比较

王红义, 冯小明, 史智勇, 陆璐, 牛廷献

(兰州军区兰州总医院动物实验科, 兰州 730050)

【摘要】 目的 本文旨在通过不同的海拔高原地区的多脏器功能障碍综合征(MODS)绵羊模型的生化指标来探讨 MODS 的高原性发病特点。**方法** 将 12 只绵羊随机分为两组, 每组 6 只, 分别在高原地区夏河桑科草原(平均海拔在 3100 m)和亚高原地区兰州市(平均海拔在 1520 m), 动物全麻后, 以 $6 \mu\text{g} / \text{kg}$ 内毒素(LPS)于 30 min 内静脉泵入建立 MODS 模型。观察各组的体征表现, 测定不同时段各组血清生化指标的改变。**结果** 高原地区的 MODS 模型绵羊死亡率以及不同时段血清的 CK、CK-MB、AST、ALT、CRE 生化指标明显高出亚高原地区, 只有 ALP 指标亚高原地区与高原地区的变化基本相近。**结论** MODS 在伴随着海拔升高的高原地区危害程度更大。

【关键词】 多脏器功能障碍综合征; 内毒素; 死亡率; 生化指标

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)07-0056-04

doi: 10. 3969. j. issn. 1671. 7856. 2012. 007. 014

Comparison Biochemical Indexes in Serum in Sub-highland between Highland in Multiple Organ Dysfunction Syndrome Induced in Sheep

WANG Hong-yi, FENG Xiao-ming, SHI Zhi-yong, LU Lu, NIU Ting-xian

(Lanzhou General Hospital of PLA, Department of Animal Experiment, Lanzhou 730050, China)

【Abstract】 Objective To investigate the morbidity of MODS in different altitude and observe the change of blood biochemistry by the animal model of multiple organ dysfunction syndrome (MODS) induced by lipopolysaccharide (LPS) in sheep. **Methods** 12 sheep were randomly separated into 2 groups, 6 sheep each group: the highland region of Sangke prairie (average altitude 3100 m), sub highland region of Lanzhou group (average altitude 1520 m). After anaesthetizing, the MODS model was established by infusing $6 \mu\text{g} / \text{kg}$ LPS in 30 minutes intravenously in sheep. Then the physical sign appearance was observed and the indexes of blood biochemistry were determined in each group at different times. **Results** The sheep in Sangke group, the death rate was markedly raised. The CK、CK-MB、AST、ALT、CRE biochemical indexes was markedly higher compared with Lanzhou group, except ALP that was little change. **Conclusion** MODS has the more damage in multiple organ follow on the raising altitude at highland.

【Key words】 Multiple organ dysfunction syndrome; Lipopolysaccharide; Death rate; Biochemical indexes

多脏器功能障碍综合征(MODS)指在严重创伤、感染、休克等原发病发生 24 h 后, 同时或序贯出现 2 个或 2 个以上系统器官功能不全的综合征, 国内资料统计 MODS 的总病死率约为 39% ~

[基金项目] 甘肃省自然科学基金(1010RJZA052)。

[作者简介] 王红义(1980-), 男, 技师, 主要研究方向: 人类疾病动物模型的建立及相关研究。

[通讯作者] 牛廷献(1966-), 男, 副主任技师, 主要研究方向: MODS 的发病机制及防治研究。E-mail: niutx10000@163.com。

53.5%^[1-3],国外为 40%~80% 左右^[4,5]。它具有发病急、进展快、病死率高的特点,是 ICU 患者最重要的死亡原因^[6]。尽管近 30 年对其发病机制和防治研究进行了深入探索,但炎症应激反应链参与了 MODS 调控的全过程,在不同的地域,因其气候、海拔、环境等因素的不同是否也会成为 MODS 发病的一个潜在影响因素,尚有许多问题值得探索研究。

本研究利用内毒素(LPS)建立绵羊 MODS 模型,并对此模型在高原地区夏河桑科草原(平均海拔在 3100 m 以上)和亚高原兰州市中心(平均海拔在 1520 m)条件下,分别对绵羊静注 LPS 建立绵羊 MODS 模型,对不同海拔地域的 MODS 绵羊模型的血清生化指标进行检测,比较它们在不同的海拔高度下各项生化指标以及死亡率的变化,以此来探讨 MODS 在高原地区的发病特点。

1 材料和方法

1.1 动物与分组

12 只杜泊绵羊(兰州军区兰州总医院动物实验科提供,实验动物使用许可证号:SYXK(军)2009-022),雌雄各半,体重(20 ± 1.5)kg,随机分为 2 组,每组各 6 只。全价饲料饲养。

1.2 模型建立^[2]与实验安排

实验动物均用速眠新 II 号(1.5 mL/kg)(军事医学科学院军事兽医研究 长春,吉兽药试字(2004)005013)肌注麻醉后,LPS(血清型为:O127:B8,批号为 64H4010,美国 Sigma 公司)按 $6 \mu\text{g}/\text{kg}$ 于 30 min 内经前肢桡静脉泵入。随机取 6 只羊在兰州军区兰州总医院动物实验科(海拔 1520 m)7 月上旬进行实验,另外 6 只与 7 月下旬将绵羊激进到夏河桑科草原(海拔 3100 m)进行重复实验。

1.3 血清生化指标的测定

分别于 0 h、3 h、6 h、12 h、24 h、48 h 和 72 h 经颈静脉采血(动物死亡前),测定生化指标(CK、CK-MB、AST、ALT、ALP、CRE)。

1.4 MODS 的诊断标准

参照胡森等^[3]提出的动物发生 MODS 时各个器官功能障碍分期诊断标准和评分标准。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 数据处理与统计

数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,利用 SPSS 7.0 统计分析软件对数据进行处理,两组之间比较

采用 t 检验,组内比较采用方差分析。

2 结果与分析

2.1 体征表现及死亡率

分别在不同海拔两次给绵羊静脉泵入 LPS 大约 1 h 后,马上出现呼吸频率加快,心率快而不齐,3 h 后腹胀,尿频,不能站立,运动障碍。但是兰州实验组出同样症状要稍迟缓一点。桑科实验组:6 h 后,2 只绵羊因呼吸窘迫、心律失常、血压下降,继之心衰死亡,12 h 后又有 2 只死亡,24 h 后最后 1 只羊也相继死亡,所剩最后 1 只羊耐过恢复正常。兰州实验组:6 h 后,1 只绵羊因呼吸窘迫、心律失常、血压下降,继之心衰死亡,12 h 后又有 1 只死亡,24 h 后最后 2 只羊也相继死亡,所剩最后 2 只羊耐过恢复正常。桑科实验组和兰州实验组的死亡率分别为:17% 和 33%。结果表明在海拔高的地域 MODS 的发病更严重,死亡率更高;相对海拔低的地域 LPS 静注后的体征表现稍轻,相对于高海拔地区,死亡率明显降低。

2.2 血清生化指标的变化

在不同海拔的地区两组羊静注 LPS 的结果:① CK:在每组实验羊静注 LPS 之前,S 组的 CK 值高于 L 组($P < 0.05$),在静注 LPS 之后 3 h~12 h,S 组的 CK 值显著高于 L 组($P < 0.01$),24 h S 组的 CK 值高于 L 组($P < 0.05$),48 h 后 CK 值开始逐渐降低,最后逐渐趋于正常。② CK-MB:在每组实验羊静注 LPS 之前和之后的 3 h~12 h,S 组的 CK-MB 值高于 L 组($P < 0.05$),24 h 后 CK 值开始逐渐降低,最后逐渐趋于正常。③ AST:在每组实验羊静注 LPS 之前和之后的 3 h,S 组的 AST 值和 L 组没有明显的区别,12 h~48 h,AST 值,S 组的 AST 值高于 L 组($P < 0.05$),直到 72 h 时 AST 值逐渐降低,最后逐渐趋于正常。④ ALT:在每组实验羊静注 LPS 之前和之后的 3 h,S 组的 ALT 值和 L 组没有明显的区别,12 h~72 h,S 组的 ALT 值高于 L 组($P < 0.05$)。⑤ ALP:在每组实验羊静注 LPS 之前,L 组的 ALP 值明显高于 S 组($P < 0.01$),3 h 时 L 组的 ALP 值高于 S 组($P < 0.05$),在 12 h 之后,两组值没有明显区别。⑥ CRE:在每组实验羊静注 LPS 之前和之后的 12 h,S 组的 CRE 值和 L 组没有明显的区别,但是到 24 h 之后,S 组的 CRE 值和高于 L 组($P < 0.05$)。(表 1)

表 1 各组不同时点血清生化指标的比较

Tab. 1 Comparison biochemical indexes in serum in different time in each group

组别 Groups		0 h	3 h	12 h	24 h	48 h	72 h
CK(IU·L ⁻¹)	L group	952.5 ± 627.7	2487 ± 33.6	2893 ± 122.1	1875 ± 31.4	592.5 ± 23.5	387 ± 63.4
	S group	1597.7 ± 740.2 *	3132 ± 882.3 **	4220 ± 137.2 **	2406 ± 33.7 *	622	443
CK-MB(IU·L ⁻¹)	L group	800.2 ± 431.2	901.9 ± 231.4	825 ± 22.1	384.8 ± 31.4	292.5 ± 23.5	196.5 ± 23.5
	S group	1084.3 ± 469.6 *	1101.7 ± 218.2 *	1034 ± 37.2 *	418 ± 33.7	287	224
AST (IU·L ⁻¹)	L group	106.6 ± 21.4	187.9 ± 49.6	306.5 ± 42.1	387.8 ± 33.4	392.5 ± 23.5	321.5 ± 32.8
	S group	128.7 ± 25.6	183.3 ± 11.6	334 ± 37.2 *	420.6 ± 33.7 *	458 *	358
ALT (IU·L ⁻¹)	L group	15.3 ± 4.0	16.6 ± 7.2	30.5 ± 3.4	29.6 ± 3.7	30.6 ± 4.2	40 ± 8
	S group	19.2 ± 5.6	29 ± 8.5	44 ± 6.3	49.5 ± 4.4 *	61 *	58
ALP (IU·L ⁻¹)	L group	82.8 ± 50.0	33.9 ± 21.3	38.7 ± 7.8	183.8 ± 41.3	154.0 ± 1.7	125 ± 11.7
	S group	83.9 ± 98.8	39.7 ± 1.5	34 ± 3.8	188.1 ± 46.5	191	178
CRE (μmol·L ⁻¹)	L group	49.5 ± 10.6	49.4 ± 6.5	76.3 ± 7.2	64.2 ± 7.2	37.5 ± 8.7	33.5 ± 4.7
	S group	51 ± 6.1	48.7 ± 34.2	92.1 ± 18.4	97.5 ± 9.7 *	54 *	55

注:兰州实验组(L Group)与桑科实验组(S Group)相比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: Group S, 0 h 和 3 h, $n = 6$; 12 h, $n = 4$; 24 h, $n = 2$; 48 h, $n = 1$; 72 h, $n = 1$; Group L, 0 h 和 3 h, $n = 6$; 12 h, $n = 5$; 24 h, $n = 4$; 48 h, $n = 2$; 72 h, $n = 2$

3 讨论

严重感染、创伤、休克等诱发的 ARDS/MODS 是一个复杂的病理生理过程,最终序贯性出现多器官功能障碍。内毒素介导的 MODS 模型具有致伤因素单一、造模方法便捷等优点。大鼠、兔、绵羊和犬等动物均可用于建立 MODS 模型^[7-10],但不同动物对 LPS 的敏感性不同,兔对 LPS 敏感性较高,造模死亡率高,犬对 LPS 不敏感,大鼠等小动物动静脉采血量有限、不易动态观察^[11];因此绵羊是复制 MODS 模型较为理想的动物,在小剂量 LPS 作用下就能形成 SIRS,继而诱发 MODS^[12];绵羊为大型动物,其病理生理变化与人相近^[13],便于实验观察。在前期实验中,我们 3 μg/kg 和 6 μg/kg LPS 均能成功地建立 MODS 模型,因 3 μg/kg LPS 的致死率较低,影响结局的比较,故采用 6 μg/kg LPS 建立 MODS 模型。

本研究显示静注 LPS 后,首先出现肺损伤,表现为呼吸急促,2 h 降至最低,6 h 后个别绵羊肺损伤严重而死亡;同时心跳加速,伴有心肌梗塞,心脏功能的减退;而胃肠道、肝、肾功能的损伤出现相对较晚,实验动物的胃肠胀气显著,48 h 达到高峰,存活下来的动物 72 h 后逐渐改善。这种内毒素所致的 MODS 模型,其脏器功能出现障碍的时序性原因目前尚不明确,可能是肺脏对 LPS 损伤的敏感性高,故出现反应早、变化快。

本研究结果表明,内毒素所致的绵羊 MODS 的肺、肝、肾等脏器的损伤,在不同的海拔区域所表现出的炎症反应有很大的区别,因为不同的海拔条件

下,缺氧程度不同,在肺损伤严重程度也随之不同,所引起的动物死亡率也是有明显的差别。在高海拔地区所出现的内毒素继发的全身炎症反应明显比低海拔地区强烈,同时高原地区 MODS 死亡率也是明显高于亚高原地区。

本研究结果表明,CK、CK-MB、AST、ALT 和 CRE 两组实验指标在不同时间点高原地区明显或者显著的高于亚高原地区($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),只有 ALP 两组实验动物之间的变化没有明显区别。在注入 LPS 前,高原地区 CK、CK-MB 值就高于亚高原地区,在注入 LPS 后开始升高(3 h),并且高原地区的升高幅度明显高于亚高原地区,直到 24 h 之后逐渐降低。肌酸激酶主要存在于骨骼肌和心肌,血清肌酸激酶是由骨骼肌和心肌细胞内的肌酸激酶透过细胞膜进入血液的结果。

由此可见在高原地区,MODS 在高原缺氧的条件下,对心脏的损伤更严重,可能导致心肌梗塞和心脏功能减退的危害更大。有报道称在高海拔地区 ALI/ARDS 具有缺氧创伤双重打击因素和高原性与高渗性混合性肺水肿双重病理生理性质^[14]。AST、ALT 和 CRE 的升高比较缓慢,直到 12 h 后高原地区与亚高原地区才出现明显的区别。绵羊在注入 LPS 后 AST 明显升高且在 12 h 后高原组的升高幅度明显高于亚高原组。这表明在 MODS 的形成过程中,LPS 对肝脏的损伤在海拔高的地区更加明显。ALT 的变化尽管高原组在 12 h 后的变化明显比亚高原组稍大,但是两者的变化幅度在数理统计学上没有明显的区别。

高原环境具有低压低氧寒冷日照时间长和日夜温差大等特点,其中对动物机体的影响最大的是大气压力降低所导致的低氧,这种低氧刺激会导致机体生理生化机能产生一系列变化。导致低氧血症的拐点虽然是比较恒定的,但随着海拔上升造成低氧血症的几率则是在经常变化的,这是强调在海拔 ≥ 1500 m 变化拐点的起点划分高原-平原分界线的初衷^[15],由此在海拔 1500 m 和 3000 m 这两个跨度很大的梯度中,绵羊 MODS 肺、肝、心等器官的损伤也显现出很大的区别。

参考文献:

- [1] Watanabe T, Sato Y, Ichida T, *et al.* Comparison of urinary ulinastatin levels between donors and recipients immediately following adult living related donor liver transplantation [J]. Transplant proceedings, 2003, 35(1):76-77.
- [2] 郭凤梅,邱海波,周韶霞,等.急性呼吸窘迫综合征绵羊模型的建立[J].中国危重病急救医学,2001,13(2):95-98.
- [3] 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.
- [4] Beruand G R, Artigas A, Brigham K L, *et al.* The American-European Consensus Conference on ARDS: definitions, mechanism, relevant, outcomes, and clinical trial coordination [J]. Am J Respir Crit Care Med, 1994,149:818-824.
- [5] Pellegrini JD, Decoigen D, Pugana JC, *et al.* Relationships between lymphocyte apoptosis and anergy following trauma [J]. Surg Res, 2000,88(2):200-206.
- [6] Marshall, JC. SIRS and MODS : What is their relevance to the science and practice of intensive care [J]. Shock, 2000,14(6):586-589.
- [7] 段绍斌,李学雄,姚华,等.多器官功能障碍综合征时血管内皮细胞损伤的研究[J].新疆医科大学学报,2010,33(3):271-274.
- [8] 卢媛媛,尹文,虎晓岷.家兔失血性休克并内毒素诱发多器官功能障碍综合征模型制备[J].江苏医药,2005,31(6):448-450.
- [9] 任添华,牛 驰,任爱民,等. MODS 动物模型组织氧代谢的变化特征[J].首都医科大学学报,2008,29(3):308-310.
- [10] Nolan B, Collette H, Baker S, *et al.* Inhibition of neutrophil apoptosis after severe trauma is NF kappa beta dependent [J]. Trauma, 2000,48(4):599-605.
- [11] 王春雨,凡春玲,罗晓红,万东君,李晶等.内毒素致多脏器功能障碍综合征绵羊模型的研究[J].中国比较医学杂志,2011,31(4):45-49.
- [12] 胡森,盛志勇,周宝桐. MODS 动物模型研究进展[J].中国危重病急救医学,1999,11(8):504-507.
- [13] Mustered RA, Fisher J, Hayman S, *et al.* Cardiopulmonary response to pseudomonas septicemia in swine: an improved model of the adult respiratory distress syndrome [J]. Lab Animal Sci, 1989, 39(1):37-43.
- [14] 高伟,张世范,郭远明等.不同海拔梯度严重创伤后诱发急性肺损伤的对比观察[J].中华胸心血管外科杂志,1999,15(6):337.
- [15] 刘惠萍,张世范,刘传兰,张鲜英,罗晓红等.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.

[修回日期]2012-07-05