

## · 论著 ·

## 多器官功能障碍综合征患者血管内皮损伤与炎性相关因子的研究

王静 乔万海

**【摘要】** 目的 探讨多器官功能障碍综合征(MODS)患者循环内皮细胞(CEC)数量,凝血、纤溶指标和炎性相关因子的变化及其相关性。方法 35例MODS患者为MODS组,20名健康体检者作为正常对照组。用Percoll密度梯度离心法分离血CEC,检测血浆凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(FG)、D-二聚体以及血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素-6(IL-6)水平。动态观察CEC、TNF- $\alpha$ 和IL-6的变化,并分析CEC、TNF- $\alpha$ 和IL-6与PT、APTT、FG和D-二聚体之间的相关性。结果 与正常对照组比较,MODS组CEC数量明显增加,血清TNF- $\alpha$ 、IL-6水平亦明显升高,PT、APTT延长,FG下降,血浆D-二聚体升高,差异均有显著性( $P$ 均 $<0.05$ )。CEC数量及血清TNF- $\alpha$ 、IL-6水平随时间延长逐渐增加;CEC数量与TNF- $\alpha$ 、IL-6水平呈显著正相关( $r_1=0.536, P_1=0.000; r_2=0.412, P_2=0.002$ ),与PT、APTT、FG、D-二聚体间未发现相关关系;TNF- $\alpha$ 、IL-6与PT、APTT呈显著正相关,与FG、D-二聚体无明显相关性。结论 MODS患者血中炎性相关因子水平增加,血管内皮细胞功能受损,炎性相关因子在血管内皮损伤中起关键作用,CEC数量增加与炎症引起的血管内皮损伤有关。

**【关键词】** 多器官功能障碍综合征; 循环内皮细胞; 细胞因子

**Study on vascular endothelial injuries and inflammation related cytokines in patients with multiple organ dysfunction syndrome** WANG Jing, QIAO Wan-hai. Department of Emergency, Second Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shanxi, China (WANG Jing works at Yantai Yuhuangding Hospital, Yantai 264000, Shandong, China)

**【Abstract】** **Objective** To investigate the relationship between the circulating endothelial cell (CEC), coagulation, fibrinolysis indexes and inflammation related cytokines in patients with multiple organ dysfunction syndrome (MODS). **Methods** Thirty-five patients with MODS (MODS group) and 20 healthy individuals (control group) were enrolled for study. CECs were harvested by isopycnic centrifugation method. Plasma prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), fibrinogen (FG), D-dimer, and serum tumor necrosis factor -  $\alpha$  (TNF -  $\alpha$ ), interleukin - 6 (IL - 6) were determined simultaneously. The relationship between dynamic changes in CEC, TNF -  $\alpha$ , IL - 6 and that in PT, APTT, FG, D - dimer was analyzed. **Results** Compared to the control group, CEC numbers, serum TNF -  $\alpha$ , IL - 6 levels and plasma D - dimer level significantly increased, PT and APTT were prolonged, and FG significantly decreased in MODS group (all  $P < 0.05$ ). The quantity of CEC and serum levels of TNF -  $\alpha$  and IL - 6 elevated with the lapse of time. Correlation analysis revealed a significant positive correlation between CEC and serum levels of TNF -  $\alpha$  and IL - 6 ( $r_1=0.536, P_1=0.000; r_2=0.412, P_2=0.002$ ), and the same correlation between serum TNF -  $\alpha$ , IL - 6 levels and PT, APTT. **Conclusion** Elevation of serum inflammation related cytokines and vascular endothelial cell damage occur in MODS patients. Serum inflammation related cytokines play an important role in endothelial damage, and an increase in CEC number may be attributed to vessel injury.

**【Key words】** multiple organ dysfunction syndrome; circulating endothelial cell; cytokine

从本质上说,多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)是一个失控的全身自我破坏性的强烈炎症反应过程,目前研究证实,多种炎症细胞因子在MODS的发生和发展过程中起重要作用<sup>[1]</sup>。过度生成的致炎因子可引发内皮

细胞的炎症反应,激活凝血及纤溶系统,致血管张力异常,抑制心肌泵血功能,由此引起严重的全身性炎症反应,并导致多个脏器功能受损,形成MODS<sup>[2]</sup>。循环内皮细胞(circulating endothelial cell, CEC)是可以直接反映血管内皮损伤的指示物之一<sup>[3]</sup>。近来研究显示,CEC的改变与器官功能障碍及血管损伤有关。本研究旨在探讨MODS患者血管内皮损伤与炎性相关因子的变化。

## 1 资料与方法

1.1 研究对象:MODS组为2004年10月—2005年

基金项目:陕西省科技攻关课题(2002 K10-G8)

作者单位:710004 西安交通大学第二医院急诊科(王静现在山东省烟台市毓璜顶医院工作,邮编264000)

作者简介:王静(1980-),女(汉族),山东烟台人,医师(Email: wangjinghe@sina.com)。

7 月本院重症监护室(ICU)收治的 35 例患者,其中男 19 例,女 16 例;年龄 27~58 岁,平均(47.6±10.2)岁。MODS 的诊断均符合文献[4]标准;均出现 2 个或 2 个以上器官功能不全。排除严重慢性心、脑、肺、肾器质性病变者,接受放射或化学治疗的肿瘤患者,以及原发性免疫缺陷病患者。原发病:多发伤 10 例,腹部大手术后 6 例,急性脑血管病 8 例,颅脑外伤术后 7 例,药物中毒 4 例。同时设正常对照组 20 名,均为健康体检者,其中男 12 名,女 8 名;年龄 26~60 岁,平均(42.5±8.1)岁。两组性别、年龄差异均无显著性( $P$ 均 $>0.05$ ),具有可比性。

1.2 检测方法

1.2.1 标本采集:于患者发病后 24 h 内取静脉血 6 ml,正常对照组同时取静脉血 6 ml;患者于发病后 3 d、6 d 再次各采集静脉血 2 ml。通过静脉留置针取血,并弃去开始的 1~2 ml,以减少静脉穿刺对 CEC 检测的影响。

1.2.2 CEC 的测定:用 Percoll 密度梯度离心法分离 CEC。以密度为 1.050 kg/L 的 Percoll 液将内皮细胞分为上、中、下层,取上、中层悬液少许,滴于血细胞计数池中,在 Olympus 光学显微镜下计数 9 个大方格的 CEC 数,同一标本计数 4 次,取均值,单位为细胞数(个)/0.9  $\mu$ l。以因子 VIII 相关抗原(VIII-Rg)免疫荧光法测定 CEC 数量。

1.2.3 血浆凝血酶原时间(prothrombin time,PT)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time,APTT)、纤维蛋白原(fibrinogen,FG)及 D-二聚体的检测:PT 及 APTT 测定采用凝固法;FG 测定采用克劳斯(Clouse)法;D-二聚体测定采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA),试剂盒购自上海太阳生物技术公司。

1.2.4 血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)的检测:采用 ELISA 法,试剂盒购自第四军医大学免疫教研室,严格按试剂盒说明书操作。设 2 个复孔,并设空白及阴性对照孔,终止反应后立即用自动酶标仪测定 492 nm 处的吸光度(A)值。以标准品稀释浓度的对数值为横坐标、A 值为纵

坐标绘制标准曲线,由样品的 A 值查出相应细胞因子含量。

1.3 统计学处理:计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,用 SPSS10.0 统计软件进行两组均数的  $t$  检验和直线相关分析, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组凝血和纤溶指标测定结果(表 1):MODS 组出现明显的凝血和纤溶系统紊乱,表现为 PT、APTT 延长,FG 下降,血浆 D-二聚体升高,与正常对照组比较,差异均有显著性( $P$ 均 $<0.05$ )。

表 1 两组凝血和纤溶指标测定结果( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Results of coagulation and fibrinolysis indexes in two groups( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数(例)	PT(s)	APTT(s)	FG(g/L)	D-二聚体(mg/L)
MODS 组	35	15.36±0.63*	33.32±1.96*	3.34±0.71*	0.32±0.16*
正常对照组	20	12.23±1.23	26.54±3.31	5.16±0.84	0.21±0.23

注:与正常对照组比较:\* $P<0.05$

2.2 两组炎症因子水平和 CEC 数量测定结果(表 2):MODS 组血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平均较正常对照组明显增加,差异均有显著性( $P$ 均 $<0.05$ )。MODS 组外周血 CEC 数量较正常对照组增高,差异均有显著性( $P$ 均 $<0.05$ )。

表 2 两组炎症因子水平和 CEC 数量比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 Comparison of inflammatory cytokines and CEC count levels between two groups( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数(例)	时间	TNF- $\alpha$ (ng/L)	IL-6(ng/L)	CEC(个/0.9 $\mu$ l)
MODS 组	35	<24 h	186.8±76.2*	246.7±86.4*	3.1±0.6*
	35	3 d	216.5±89.7*	281.7±92.5*	5.6±1.7*
	35	6 d	239.1±98.2*	349.3±122.1*	8.2±2.3*
正常对照组	20		109.0±9.3	22.1±1.3	1.6±0.3

注:与正常对照组比较:\* $P<0.05$

2.3 CEC 数量与血清 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平的关系:CEC 数量及血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平随时间延长均逐渐增加。CEC 数量与 TNF- $\alpha$  水平呈显著正相关( $r=0.536, P=0.000$ ),与 IL-6 水平亦呈显著正相关( $r=0.412, P=0.002$ )。

2.4 CEC 数量、血清 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平与各凝血、纤溶指标间的关系(表 3):CEC 数量与各凝血、纤溶指标间未发现明显的相关关系;血清 TNF- $\alpha$ 、

表 3 CEC 数量、血清 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平与凝血、纤溶指标间的关系

Table 3 Relationship between CEC count, TNF- $\alpha$ , IL-6 levels and coagulation, fibrinolysis indexes

指标	PT		APTT		FG		D-二聚体	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
CEC 数量	0.178	$>0.05$	0.210	$>0.05$	0.098	$>0.05$	0.153	$>0.05$
TNF- $\alpha$	0.437	$<0.05$	0.358	$<0.05$	0.169	$>0.05$	0.207	$>0.05$
IL-6	0.396	$<0.05$	0.574	$<0.05$	0.083	$>0.05$	0.192	$>0.05$

IL-6 水平与 PT、APTT 均呈显著正相关,与 FG、D-二聚体均无显著相关性。

### 3 讨论

血管内皮细胞是衬于血管内表面的一层细胞,具有分泌多种血管活性物质的功能,其结构及功能的完整性对调节血管张力、凝血、抗凝血平衡及免疫功能等具有重要意义。CEC 由受损的血管内皮细胞脱落于外周血中形成,其升高程度可反映血管内皮细胞损伤的程度<sup>[5]</sup>。CEC 是目前活体内惟一可以直接反映血管内皮损伤的指示物,且主要反映血管内皮细胞的脱落性损伤。当血管内皮细胞受到内毒素、TNF 等因素刺激后,可造成微血管损伤、微循环障碍<sup>[6]</sup>。在 MODS 发生、发展的过程中,细胞因子呈瀑布样释放,机体存在过度炎症反应。大量动物和临床研究表明,细胞因子正成为预测 MODS 的标志<sup>[7]</sup>。对 MODS 病理生理过程的进一步研究发现,炎性介质、血管内皮细胞损伤以及由此所致凝血、纤溶异常互相联系形成的网络是影响其演变的关键因素<sup>[8]</sup>。

本研究结果表明:①MODS 组患者存在明显凝血和纤溶系统异常;CEC 数量显著增加,且随着病程发展逐渐升高。故认为 CEC 数量变化可以反映血管损伤情况。②MODS 组 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平明显高于正常水平,并且与 CEC 数量呈显著正相关,说明器官功能障碍引起的炎性因子的释放可促进血管内皮细胞的代谢、凋亡,使内皮细胞损伤脱落。

综上所述,MODS 患者存在明显的血管内皮损伤及与此相关的凝血和纤溶系统紊乱,炎症介质在血管内皮损伤中起关键作用。深入开展对 CEC、凝血和纤溶指标及细胞因子的检测,对于阐明 MODS 错综复杂的病理生理过程,评价病情的严重程度及提出有效的防治措施都有重要意义。

### 参考文献:

- 1 Spittler A, Razenberger M. Relationship between interleukin-6 serum concentration in patients with sepsis, monocyte phenotype, monocyte phagocyte properties and cytokine production [J]. Clin Infect Dis, 2000, 31: 1338-1420.
- 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 Dignat-George F, Sampol J. CEC: realities and promises in vascular disorder [J]. Pathophysiol Haemost Thromb, 2003-2004, 33: 495-499.
- 4 王今达, 王宝恩. 多脏器功能失常综合征 (MODS) 病情分期诊断及严重程度评分标准 [J]. 中国危重病急救医学, 1995, 7: 346-347.
- 5 Hunting C B, Noort W A, Zwaginga J J. CEC reflect the state of endothelium; vascular injury, repair and neovascularization [J]. Vox Sang, 2005, 88: 1-9.
- 6 杨海贤, 白景文, 张宏, 等. 活血化瘀中药对内毒素性休克内皮细胞的保护作用 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2000, 7: 343-345.
- 7 Nimah M, Brill R J. Coagulation dysfunction in sepsis and multiple organ system failure [J]. Crit Care Clin, 2003, 19: 441-458.
- 8 乔万海, 李小珍, 裴红红. 危重病患者细胞因子和氧代谢指标的动态变化 [J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16: 493.

(收稿日期: 2005-11-07 修回日期: 2006-01-01)

(本文编辑: 李银平)

### · 启事 ·

## 关于召开“全国内科急危重病医学学术交流会议”征文通知 暨“全国内科急危重病医学新进展高级学习班”报名通知

为提高急危重病医学学科的发展,交流各地先进经验,中华医学会继续教育部决定于 2006 年 5 月 26 日在辽宁省大连市举办“全国内科急危重病医学学术交流会议”暨“全国内科急危重病医学新进展高级学习班”。本次活动为国家级继续教育项目(项目编号 2006-10-00-022, 12 学分)。欢迎从事内科工作的医务人员参加征文或报名参加会议。

**征文内容:** 内科急危重病的基础研究、内科各专科及重症监护室 (ICU) 的危重病临床诊断和治疗。

**征文要求:** 全文 2 500 字以内的论文打印稿 1 份,并附摘要 1 份;或只寄 600~800 字摘要 1 份。

会议期间举办高级学习班,将邀请知名专家进行专题讲座。讲座主要内容有:急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 进展;危重病与机械通气进展;心肺脑复苏中的新概念;急性心肌梗死早期救治技术;抗生素的合理应用;细菌耐药与药物选择;各型高血压治疗原则及合并症的控制标准;各类中毒的诊疗进展;危重病监测与治疗;休克、多器官功能障碍综合征 (MODS)、重症感染的诊治及营养支持;紧急心脏起搏及电复律;有创血流动力学监测及氧运输;脑卒中的预防与诊疗进展等。

**会议安排:** 报到日期: 2006 年 5 月 26 日;会议日期: 2006 年 5 月 27-31 日;会议地点: 大连心族酒店 (大连市西岗区长江路 586 号市政府后, 三星); 电话: 0411-83799999 转会务组。

**来稿请寄:** 100710 北京东四西大街 42 号中华医学会继续教育部“内科急危重病会议”梁鸿收。Email: cbcme@public3.bta.net.cn。Email 发稿时必须注明会议名称。

**截稿日期:** 2006 年 5 月 10 日。

**参会报名联系人及电话:** 杨桂芳, 梁鸿; 010-88283858, 88285962, 85158402。

(中华医学会继续教育部)