

## • 研究报告 •

## 多器官功能障碍综合征患者血清基质金属蛋白酶和炎症介质的变化及与预后的关系

何志捷 丘嘉民 黄子通 蒋龙元 周明根

【关键词】 基质金属蛋白酶-9; 细胞因子; C-反应蛋白; 多器官功能障碍综合征

多器官功能障碍综合征(MODS)是严重创伤、感染和病理产科等原发病发生 24 h 后,同时或序贯发生 2 个或 2 个以上器官功能失常以至衰竭的一种临床综合征,其病情进展迅速,病死率高<sup>[1]</sup>。因此,寻找一种既灵敏、又准确,并可推广的诊断检测方法对防治 MODS 至关重要。研究证实,血清基质金属蛋白酶类(MMPs)和多种炎症介质在 MODS 的发生发展过程中起重要作用<sup>[2,3]</sup>。本研究通过检测 MODS 患者血清 MMP-9 和炎症介质的变化,评价其对预后的影响。

## 1 资料与方法

1.1 病例:选择 2004 年 10 月—2005 年 12 月住本院重症加强治疗病房(ICU)的 MODS 患者 28 例,男 19 例,女 9 例;年龄 32~79 岁,平均 61.2 岁。MODS 诊断均符合文献<sup>[4]</sup>标准:出现 2 个或 2 个以上器官功能不全;并排除严重慢性心、脑、肺、肾器质性病变者,接受放射或化学治疗的肿瘤患者及原发性免疫缺陷病患者。原发病:严重外伤 10 例,大手术后 9 例,严重感染 6 例,病理产科 3 例。

## 1.2 检测指标及方法

1.2.1 标本收集:收集 MODS 患者确诊后 1、3 和 5 d 的外周静脉血 5 ml,注入含质量分数为 2%的乙二胺四乙酸二

钠(EDTA-Na<sub>2</sub>)试管中,3 000 r/min (离心半径 16 cm)离心 5 min 分离血清,置于-20℃冰箱保存待测。正常对照组为本院 25 例健康体检者,男 14 例,女 11 例;年龄 31~60 岁,平均 55.8 岁;取血制备标本方法同 MODS 组。

1.2.2 检测方法:血清 MMP-9、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-6(IL-6)、IL-10 检测均采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA);MMP-9 试剂盒由美国 R&D 公司提供,TNF-α、IL-6、IL-10 试剂盒由深圳晶美股份有限公司提供。均设 2 个复孔,并设空白及阴性对照孔,终止反应后即自动酶标仪测定波长 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 A 值查出相应的细胞因子含量。C-反应蛋白(CRP)检测采用免疫浊度法,在全自动分析仪上完成。

1.3 统计学处理:采用 SPSS11.0 统计软件进行数据分析。计数资料采用百分率(%)表示,计量资料采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 血清 MMP-9、TNF-α、IL-6、

IL-10 和 CRP 水平的变化(表 1):MODS 组 1、3 和 5 d 血清 MMP-9、TNF-α、IL-6 和 CRP 水平均明显高于正常对照组,差异均有显著性( $P$  均  $< 0.01$ );1 d IL-10 水平与正常对照组比较差异无显著性( $P > 0.05$ );随病情进展,3 d 和 5 d IL-10 水平明显高于正常对照组( $P$  均  $< 0.05$ );5 d 血清 TNF-α、IL-6、IL-10 和 CRP 水平较 1 d 显著下降,差异均有显著性( $P$  均  $< 0.05$ )。

2.2 发病早期血清 MMP-9、TNF-α、IL-6、IL-10 和 CRP 水平与预后的关系(表 2):28 例 MODS 患者中治愈 20 例,死亡 8 例。临床观察和辅助检查判断所有 MODS 患者器官受累的数量,在 2、3、4 和 5 个以上器官功能障碍者中治愈率分别为 95.8%、38.5%、32.3% 和 20.2%。其中发生呼吸衰竭 21 例,心功能衰竭 16 例,肾功能衰竭 19 例,胃肠功能衰竭 11 例,肝功能衰竭 8 例,中枢神经系统衰竭 7 例,血液系统衰竭 5 例。死亡组和治愈组在发病后 1、3 和 5 d 血清 MMP-9、IL-6 和 CRP 水平较正常对照组差异均有显著性( $P$  均  $< 0.01$ );并且治愈组与死亡组比较差异也均有显著性( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),而 TNF-α 和 IL-10 差异无显著性。

表 1 MODS 和正常对照组血清 MMP-9、TNF-α、IL-6、IL-10 和 CRP 水平的变化( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	例数(例)	MMP-9(μg/L)	TNF-α(μg/L)	IL-6(μg/L)	IL-10(μg/L)	CRP(mg/L)
MODS 组	1 d	28	32.12±0.68**	0.93±0.48**#	1.12±0.41**#	0.83±0.37#	62.29±25.38**#
	3 d	28	30.27±0.72**	1.12±0.43**	1.51±0.37**	1.13±0.38*	79.25±29.63**
	5 d	28	29.37±0.27**	1.35±0.35**	1.81±0.32**	1.23±0.41*	87.25±30.63**
正常对照组		25	21.36±0.71	0.31±0.09	0.35±0.11	0.74±0.34	7.40±3.50

注:与正常对照组比较:\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与本组 5 d 比较:# $P < 0.05$ 表 2 MODS 治愈和死亡患者发病 1 d 时血清 MMP-9、TNF-α、IL-6、IL-10 和 CRP 的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数(例)	MMP-9(μg/L)	TNF-α(μg/L)	IL-6(μg/L)	IL-10(μg/L)	CRP(mg/L)
治愈组	20	29.43±0.25△△	0.90±0.21	0.82±0.42△△	0.74±0.17	54.12±28.83△
死亡组	8	36.26±0.82	1.06±0.28	1.38±0.31	0.87±0.21	78.39±27.93

注:与死亡组比较:△ $P < 0.05$ ,△△ $P < 0.01$ 

基金项目:广东省科技计划资助项目(2005B33001018)

作者单位:510120 广东广州,中山大学附属第二医院 ICU

作者简介:何志捷(1967-),男(汉族),江西省人,副主任医师。

### 3 讨论

MODS 的发生机制涉及过度的炎症反应,是多种内源性细胞因子共同对机体作用的结果。研究证实,SIRS 过程中具有重要作用的促炎细胞因子主要有 TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6 和 IL-8 等,此外还有下调炎症反应的抗炎细胞因子如 IL-10。这些细胞因子的作用影响着全身炎症反应综合征(SIRS)和 MODS 的发展方向,促炎细胞因子血浓度过高时,SIRS 可能出现失控,最终导致相应器官组织或功能衰竭;而当体内抗炎细胞因子血浓度过高时,则可能出现严重的免疫抑制,导致感染、器官组织或功能受损。促炎和抗炎两类细胞因子的相互影响和平衡对维持机体内环境的稳定起着重要作用。所以监测两类细胞因子的血浓度对 SIRS 发展趋势和 MODS 发展方向的判断具有重要意义。

研究证实:TNF- $\alpha$  参与早期器官功能损害过程及失血、凝血、免疫防御和炎症等过程,它可以通过激活细胞因子网络系统而诱发 SIRS,导致全身代谢亢进、微循环损伤和 MODS<sup>[5]</sup>;全身性感染患者血清 IL-6 水平与疾病严重程度有关,IL-6 可以用于评价 SIRS 和 MODS 的程度,可作为其监测指标<sup>[3]</sup>。本研究结果显示,MODS 组 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平明显高于正常对照组,表明 MODS 组患者在疾病发生发展过程中出现细胞因子过度释放,机体存在过度的炎症反应。

IL-10 是由 I 类辅助性 T 淋巴细胞产生的细胞因子,其对免疫效应分子的产生起抑制作用,为主要的抗炎细胞因子。IL-10 可抑制 B 细胞分化,同时可通过抑制单核/巨噬细胞抗原呈递作用,以及 II 型组织相容性抗原的表达和细胞内氧自由基的产生而抑制其功能。本结果显示,MODS 组患者发病 1 d 时 IL-10 水平与正常对照组比较差异无

显著性,3 d 才开始升高,5 d 升高更加明显,提示 MODS 患者抗炎细胞因子 IL-10 释放的峰值时相迟于 TNF- $\alpha$  和 IL-6。可以表明,在 MODS 患者促炎机制和抗炎反应存在明显的失衡,是导致 MODS 发生的主要原因之一。

研究证明,感染、脓毒症时机体各种炎症介质的“瀑布样”释放可介导白细胞与内皮细胞的黏附,全面启动炎症反应,导致血管内皮细胞及其细胞外基质(ECM)的损伤和 MODS<sup>[6]</sup>。MMPs 是一组 Zn<sup>2+</sup> 依赖的金属蛋白内切酶家族,可以降解绝大部分 ECM 成分,迄今为止已发现有 26 个家族成员,其中大多数是以无活性的酶原形式由细胞分泌,在生理条件下,MMPs 参与胚胎发生、正常组织重塑、创伤愈合和血管发生<sup>[7]</sup>。在病理条件下,如在细菌、毒素、细胞因子等外源性和内源性因素刺激下,MMP-9 自中性粒细胞等炎性细胞大量释放,从而破坏血管基底膜及组织结构,导致组织损伤;同时内皮细胞失去了生存和活动的依托而发生凋亡,使内皮细胞产生不可逆的损伤。研究表明,MMP-9 水平的变化可用于预测 ECM 损伤、破坏程度和脓毒症严重程度以及有助于心肺复苏后不良预后的判断<sup>[8]</sup>。本研究结果显示,MODS 组 MMP-9 水平明显高于正常对照组,表明 ECM 的损害可能在 MODS 发生发展过程中起重要作用。

CRP 是人体抵抗各种外界损伤时参与急性期反应的一种糖蛋白,为 SIRS 和 MODS 急性反应蛋白中的重要组成成分,目前被广泛用于作为评价创伤和炎症反应程度的一个敏感指标。CRP 的产生在疾病早期对机体有利,但长时间持续存在将引起过度炎症反应,加重患者的病情,最终导致 MODS 的发生<sup>[9]</sup>。本组结果显示,MODS 组血清 CRP 水平明显高于正常对照组也证明了这一点。

本组结果还显示,在 MODS 早期,细胞因子水平紊乱,IL-6 和 MMP-9 水平明显升高,且均与患者预后有关,提示血清 IL-6 和 MMP-9 水平升高可作为 MODS 患者预后不良的预警指标。

#### 参考文献:

- 1 Brun-Buisson C. The epidemiology of the systemic inflammatory response [J]. Intensive Care Med, 2000, 26 (Suppl 1): S64-74.
- 2 Reinhart K, Bayer O, Brunkhorst F, et al. Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis [J]. Crit Care Med, 2002, 30 (5Suppl): S302-312.
- 3 Dougnac A, Riquelme A, Calvo M, et al. Study of cytokines kinetics in severe sepsis and its relationship with mortality and score of organic dysfunction [J]. Rev Med Chil, 2001, 129 (4): 347-358.
- 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 (6): 346-347.
- 5 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 (8): 493.
- 6 王静, 乔万海. 多器官功能障碍综合征患者血管内皮损伤与炎症相关因子的研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18 (2): 82-84.
- 7 Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry [J]. Circ Res, 2003, 92 (8): 827-839.
- 8 李培杰, 杨小华, 张立平, 等. 心肺复苏后血浆可溶性选择素及基质金属蛋白酶-9 测定的临床意义 [J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16 (3): 137-141.
- 9 De Maio A, Mooney M L, Matesic L E, et al. Genetic component in the inflammatory response induced by bacterial lipopoly saccharide [J]. Shock, 1998, 10 (5): 319-323.

(收稿日期: 2006-11-28)

修回日期: 2007-02-26)

(本文编辑: 李银平)

## • 科研新闻速递 •

### 慢性脓毒症对大鼠离体肌纤维电压门控钠离子通道的作用

最近法国科研人员在神经细胞未受损的大鼠模型中研究了慢性脓毒症对特定钠离子通道亚型的电生理学作用。实验对 Wistar 大鼠行盲肠结扎穿孔制成慢性脓毒症模型。术后 10 d 处死大鼠。截取趾短屈肌快纤维, 在含有胶原蛋白酶 (3.0 g/L) 的酸性缓冲盐中进行分离。室温下 (22±2) °C 用全细胞膜片钳技术记录快速的钠电流。结果显示, 钠 Nernst 电位无改变, 最大钠电流和电导下降, 以及电压失活曲线朝向负电位转变解释了观察到的肌纤维兴奋性下降现象。研究人员还观察到 NaV1.5 型钠通道蛋白的上调。研究者认为, 慢性炎症和脓毒症可以诱发钠通道性质或类型的改变, 引起肌纤维兴奋性下降, 这种兴奋性的下降可能由 NaV1.5 型钠通道蛋白的上调引起。

杜颖, 周国勇, 编译自《Crit Care Med》, 2007-01-03 (电子版); 胡森, 审校