

• 论著 •

支气管肺泡灌洗对肠源性感染致早期肺损伤的诊断价值

朱义用 景炳文 杨兴易 姜永华

【摘要】 目的 观察肠源性感染致肺损伤时炎症介质的变化,探讨支气管肺泡灌洗对早期肺损伤的诊断价值。**方法** 采用大鼠盲肠结扎并穿孔造成腹腔感染制备肠源性感染动物模型,并设假手术对照组。分别在术后 0、24、48、72、96 和 120 h 处死一组大鼠,取支气管肺泡灌洗液(BALF)进行细胞学分析,检测 BALF、肺组织和血浆的内毒素、磷脂酶 A₂(PLA₂)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)含量。**结果** BALF 的中性粒细胞百分率逐渐增加,时间越长越明显。BALF、肺组织和血浆的内毒素、PLA₂ 逐渐增加,三者之间两两相关(BALF 与肺: $r=0.904, P<0.05$;BALF 与血浆: $r=0.895, P<0.05$;肺与血浆: $r=0.946, P<0.01$);TNF- α 也随着时间的延长而逐渐增加,BALF 和肺组织的 TNF- α 显著相关($r=0.952, P<0.01$),两者与血浆的 TNF- α 无明显相关性($r_1=0.684, r_2=0.608, P$ 均 >0.05)。**结论** 支气管肺泡灌洗可发现早期的肠源性肺损伤。

【关键词】 支气管肺泡灌洗液; 肺损伤; 中性粒细胞; 内毒素; 磷脂酶 A₂; 肿瘤坏死因子- α
中图分类号: R563; R63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-0603(2004)05-0295-04

Diagnostic effect of bronchoalveolar lavage in early lung injury caused by enterogenic infection in rat ZHU Yi-yong*, JING Bing-wen, YANG Xing-yi, LOU Yong-hua. * Department of Emergency, 101 st Hospital of PLA, Wuxi 214044, Jiangsu, China

【Abstract】 Objective To study the diagnostic effect of bronchoalveolar lavage in early lung injury by observing changes in inflammatory mediators in early lung injury caused by enterogenic infection. **Methods** Eighty-four Sprague-Dawley rats were randomly divided into infection group and sham-operation group. Cecal ligation and perforation was utilized to produce abdominal infection in rats. Six groups were sacrificed respectively at 0, 24, 48, 72, 96, 120 hours after operation. The differential cell count in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was assessed. The concentrations of endotoxin, phospholipase A₂ (PLA₂) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in BALF, lung and plasma were assayed. **Results** The neutrophil percentage of BALF increased progressively. The concentrations of endotoxin, PLA₂ and TNF- α in BALF, lung and plasma were significantly increased. The levels of endotoxin and PLA₂ in lung tissue were respectively correlated positively with those in BALF and plasma (BALF and lung: $r=0.904, P<0.05$; BALF and plasma: $r=0.895, P<0.05$; lung and plasma: $r=0.946, P<0.01$). Significant positive correlation was also present between the TNF- α levels in BALF and lung ($r=0.952, P<0.01$), but not between the TNF- α level in plasma and that in lung or BALF ($r=0.684, r=0.608$, both $P>0.05$). **Conclusion** The examinations of bronchoalveolar lavage may help discover early lung injury caused by enterogenic infection.

【Key words】 bronchoalveolar lavage fluid; lung injury; neutrophil; endotoxin; phospholipase A₂; tumor necrosis factor- α

CLC number: R563; R63 **Document code:** A **Article ID:** 1003-0603(2004)05-0295-04

肠源性感染致肺损伤的主要原因是内毒素、激活的中性粒细胞和激发的促炎因子如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1(IL-1)、IL-8、磷脂酶 A₂(PLA₂)等,它们与机体抗炎因子之间的失衡导致宿主感染应答失调,启动脓毒症瀑布效应,最终导致远隔组织器官损伤^[1]。研究支气管肺泡灌洗液(BALF)、肺组织和血浆内炎症介质的变化规律及其相关关系,有助于肠源性肺损伤的早期诊断和

治疗。本实验中通过大鼠盲肠结扎并穿孔制成腹腔感染模型,模拟自然的肠源性感染致早期肺损伤过程,探讨支气管肺泡灌洗对早期肺损伤的诊断价值。报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组与模型制备: Sprague-Dawley 大鼠 84 只(上海西普尔-必凯实验动物中心提供),体质量 200~300 g,雌雄不限,随机分为感染组(48 只)和对照组(36 只),每组再分为 6 个亚组。大鼠禁食、不禁水过夜,感染组采用腹腔注射盐酸氯胺酮 100 mg/kg 麻醉,剖腹行盲肠结扎(不结扎盲肠动静脉)并用 18 号针头穿孔造成腹腔感染;对照组同样麻醉后,无菌条件下剖腹后立即关腹。术后 0、

作者单位:214044 江苏省无锡市,解放军第一〇一医院急诊科(朱义用);第二军医大学附属长征医院急救科(景炳文,杨兴易);第二军医大学微生物教研室(姜永华)

作者简介:朱义用(1967-),男(汉族),重庆市人,医学硕士,主治医师。

24、48、72、96 和 120 h 分别处死大鼠,用于检测各项指标并进行病理学观察。

1.2 测定指标与方法:用盐酸氯胺酮麻醉后,剪开并剥离胸前皮肤,用经过去热原处理的注射器于右心抽血处死,肝素抗凝,离心,取上清,密封待测。开胸取出整块心、肺,除去心脏,称质量,先用 20 ml 生理盐水经肺动脉进行匀速灌洗去除血液,再用无热原生理盐水按 2 ml/g 进行支气管肺泡灌洗并回收 BALF,再称质量,密封等测。取 BALF,经消毒纱布过滤,离心去上清,沉淀物进行细胞计数和细胞分类计数。BALF、肺组织和血浆的内毒素检测采用合成基质偶氮显色法定量试剂盒(上海医学化验所提供),按操作说明步骤进行检测;TNF- α 检测采用放射免疫分析法测定,按试剂盒(上海赛百胜生物工程公司提供)操作说明步骤进行;PLA₂ 活性检测参考陈思锋等^[2]方法。病理学检查:大鼠处死后开胸,立即在左右肺下叶各取一小块肺组织,用光学显微镜观察。

1.3 统计学方法:应用 SPSS10.0 for windows 软件包。数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,先行方差齐性检验,方差齐者用方差分析,方差不齐者用平方根变换数据使之成方差齐性后再行方差分析,组间差异用 *t* 检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 BALF 中中性粒细胞、肺泡巨噬细胞和淋巴细胞变化:感染组中性粒细胞于术后 24 h 就高于对照组($P<0.05$),48 h 后更加明显(P 均 <0.01);肺泡

巨噬细胞下降,48 h 后低于对照组(P 均 <0.05);淋巴细胞无明显变化。见表 1。

2.2 BALF、肺组织和血浆中内毒素变化:感染组术后内毒素逐渐增加,BALF 和肺组织中的内毒素增加稍慢,48 h 高于对照组(P 均 <0.05),72 h 后均明显高于对照组(P 均 <0.01);而血浆内毒素增加较快,24 h 高于对照组($P<0.05$),48 h 后均显著高于对照组(P 均 <0.01)。相关分析表明,三者之间两两相关(BALF 与肺组织: $r=0.904$, $P<0.05$;BALF 与血浆: $r=0.895$, $P<0.05$;肺组织与血浆: $r=0.946$, $P<0.01$)。见表 2。

2.3 BALF、肺组织和血浆的 PLA₂ 变化:感染组 BALF、肺组织和血浆的 PLA₂ 逐渐增加,术后 24 h 即高于对照组(P 均 <0.05)。相关分析表明,三者之间两两相关(BALF 与肺: $r=0.929$, $P<0.01$;BALF 与血浆: $r=0.840$, $P<0.05$;肺与血浆: $r=0.972$, $P<0.01$)。见表 3。

2.4 BALF、肺组织和血浆的 TNF- α 变化:感染组 TNF- α 逐渐增加,BALF 和肺组织的 TNF- α 开始增加缓慢,后期增加快,术后 24 h 高于对照组($P<0.05$),48 h 后更明显增高(P 均 <0.01);而血浆 TNF- α 开始增加很快,后期较慢,24 h 后显著高于对照组($P<0.01$)。相关分析表明,BALF 与肺组织的 TNF- α 显著相关($r=0.952$, $P<0.01$),两者与血浆 TNF- α 增加无明显相关(BALF 与血浆: $r=0.684$, $P>0.05$;肺与血浆: $r=0.608$, $P>0.05$)。见表 4。

表 1 两组动物 BALF 中白细胞的变化($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Changes of white blood cells in BALF in two groups($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	术后 0 h	术后 24 h	术后 48 h	术后 72 h	术后 96 h	术后 120 h
感染组	中性粒细胞(%)	8	2.60 $\pm$ 0.79	9.63 $\pm$ 4.12*	16.51 $\pm$ 14.76**	23.38 $\pm$ 18.98**	30.25 $\pm$ 18.23**
	肺泡巨噬细胞(%)	8	89.00 $\pm$ 21.32	81.72 $\pm$ 34.54	74.61 $\pm$ 34.76*	70.14 $\pm$ 40.54*	61.05 $\pm$ 21.34*
	淋巴细胞(%)	8	8.40 $\pm$ 3.21	8.75 $\pm$ 2.65	8.89 $\pm$ 3.21	6.52 $\pm$ 4.23	8.70 $\pm$ 2.76
对照组	中性粒细胞(%)	6	3.20 $\pm$ 1.21	3.62 $\pm$ 1.72	4.00 $\pm$ 2.13	2.50 $\pm$ 0.89	2.89 $\pm$ 1.42
	肺泡巨噬细胞(%)	6	87.14 $\pm$ 22.13	87.00 $\pm$ 41.34	86.21 $\pm$ 11.87	87.38 $\pm$ 47.89	88.99 $\pm$ 21.54
	淋巴细胞(%)	6	9.42 $\pm$ 3.12	9.40 $\pm$ 1.21	9.82 $\pm$ 3.23	10.12 $\pm$ 6.11	8.88 $\pm$ 3.15

注:与对照组相应指标比较:* $P<0.05$,** $P<0.01$

表 2 两组动物 BALF、肺组织和血浆中内毒素的变化($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Changes of endotoxin in BALF, lung tissue and plasma in two groups($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	术后 0 h	术后 24 h	术后 48 h	术后 72 h	术后 96 h	术后 120 h
感染组	BALF(EU/g)	8	4.82 $\pm$ 2.11	5.12 $\pm$ 2.32	7.11 $\pm$ 4.43*	9.27 $\pm$ 4.78**	21.29 $\pm$ 8.76**
	肺组织(EU/g)	8	5.65 $\pm$ 2.12	7.12 $\pm$ 3.11	14.13 $\pm$ 5.21*	20.17 $\pm$ 12.08**	24.33 $\pm$ 7.12**
	血浆(kEU/L)	8	7.75 $\pm$ 2.12	15.54 $\pm$ 8.23*	27.48 $\pm$ 4.20**	33.25 $\pm$ 16.02**	40.12 $\pm$ 25.31**
对照组	BALF(EU/g)	6	3.88 $\pm$ 2.11	3.78 $\pm$ 1.62	3.97 $\pm$ 1.91	4.01 $\pm$ 2.14	4.12 $\pm$ 2.17
	肺组织(EU/g)	6	5.82 $\pm$ 2.12	6.03 $\pm$ 2.11	5.78 $\pm$ 3.72	6.02 $\pm$ 3.11	5.87 $\pm$ 2.33
	血浆(kEU/L)	6	7.41 $\pm$ 2.01	7.78 $\pm$ 3.11	7.91 $\pm$ 3.12	7.81 $\pm$ 4.21	7.65 $\pm$ 2.92

注:与对照组相应指标比较:* $P<0.05$,** $P<0.01$

表 3 两组动物 BALF、肺组织和血浆中 PLA₂ 的变化($\bar{x} \pm s$)Table 3 Changes of PLA₂ in BALF, lung tissue and plasma in two groups($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	术后 0 h	术后 24 h	术后 48 h	术后 72 h	术后 96 h	术后 120 h
感染组							
BALF(nmol/g)	8	18.88±5.56	30.98±12.11*	44.79±17.32*	84.54±30.45**	108.34±21.43**	243.65±93.98**
肺组织(nmol/g)	8	45.23±8.76	92.43±31.54*	146.76±31.89**	183.34±42.43**	254.65±72.45**	325.76±111.98**
血浆(μmol/L)	8	36.45±10.64	72.76±11.11*	99.55±23.91**	154.87±42.05**	205.54±91.21**	210.78±81.14**
对照组							
BALF(nmol/g)	6	17.43±4.54	18.09±6.23	19.08±7.12	17.09±3.12	18.29±4.32	19.29±6.80
肺组织(nmol/g)	6	46.65±7.87	46.00±10.76	44.43±18.76	48.12±15.67	46.56±12.32	47.99±13.12
血浆(μmol/L)	6	37.88±7.88	38.00±3.23	36.67±8.43	38.34±11.45	35.21±10.19	38.96±12.98

注:与对照组相应指标比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 表 4 两组动物 BALF、肺组织和血浆中 TNF- α 的变化($\bar{x} \pm s$)Table 4 Changes of TNF- α in BALF, lung tissue and plasma in two groups($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	术后 0 h	术后 24 h	术后 48 h	术后 72 h	术后 96 h	术后 120 h
感染组							
BALF(pg/g)	8	1.42±0.52	2.34±1.67*	6.05±2.17**	18.22±5.21**	23.22±12.10**	30.12±13.13**
肺组织(pg/g)	8	2.04±1.41	4.42±2.12*	9.28±6.23**	19.71±15.00**	38.31±14.32**	65.27±21.54**
血浆(ng/L)	8	2.99±1.71	39.22±12.10**	41.78±12.78**	45.22±18.98**	49.21±20.32**	50.13±22.12**
对照组							
BALF(pg/g)	6	1.43±0.88	1.23±0.75	1.42±1.19	1.24±0.65	1.46±1.18	1.69±0.48
肺组织(pg/g)	6	2.41±1.71	2.22±1.84	2.34±2.02	3.01±1.71	2.46±0.49	2.72±1.20
血浆(ng/L)	6	2.97±1.73	2.82±1.12	2.89±0.83	3.43±2.32	3.00±1.32	3.25±2.21

注:与对照组相应指标比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.5 肺组织病理学分析:感染组肺毛细血管周围、肺间质和肺泡内逐渐出现炎性细胞浸润,肺间质轻度水肿,血管内少量血栓形成,以 96 和 120 h 较明显,但无广泛坏死灶。

3 讨论

肠源性感染可导致严重肺损伤,早期发现是治疗效果的关键点。目前临床检测肺损伤的方法较多,影像学检查如 CT、X 线片,以及肺功能检查,如呼吸频率、死腔-潮气量之比(V_D/V_T)、吸气力、有效动态顺应性、功能性残气量等,血流动力学指标如肺动脉楔压、平均肺动脉压、中心静脉压等,生化指标如 pH 值、 HCO_3^- 、动脉氧分压(PaO_2)、动脉二氧化碳分压($PaCO_2$)、氧合指数(PaO_2/FiO_2)等。对于急性肺损伤(ALI)或急性呼吸窘迫综合征(ARDS),这些检查方法有明确的定性或定量;而对于肠源性感染所致早期肺损伤,这些方法并无多大帮助,一旦检查结果有明显的改变,则表明肺组织已严重损伤、甚至是 ALI 或 ARDS。直接取肺组织标本进行检测,结果可靠,但损伤太大,患者难以接受。取血浆检测较方便、损伤小,但易受到多种因素干扰,可靠性较差,很难反映肺的早期变化。支气管肺泡直接贴近肺实质,其分泌物或渗出液主要来自肺组织,外界干扰因素较少,行支气管肺泡灌洗相对损伤小、准确性较高,检测 BALF 可以较早、较准确地反映肺实质的病理变化情况。本实验中从临床角度出发,模拟自然的肠源性感染致肺损伤过程,随着术后感染时间延长,大鼠肺内中性粒细胞积聚,内毒素、PLA₂、TNF- α 逐渐

增加,但此时肺组织病理切片显示只有少许炎性细胞浸润,并没有大片肺组织损伤,更没有 ALI 或 ARDS 的改变。提示在肠源性肺损伤的早期阶段,肺组织尚未出现明显的病理学改变之前,大量炎症介质已经介入肺脏的炎症反应,只不过这种早期的炎症反应很难用目前的临床检查方法发现。

内毒素是肠源性感染致肺损伤的始动炎症介质。肠源性内毒素移位后体内分布试验发现,脏器组织中,肺脏单位组织的内毒素含量较高,仅次于肾脏^[3]。本实验中,随着腹腔感染时间延长, BALF、血浆和肺组织的内毒素含量渐进性增加,时间越长越明显,进一步分析则表明三者之间两两相关,说明 BALF 和血浆的内毒素均可反映肺组织的内毒素变化。不过,外周血循环中内毒素含量受诸多因素影响,波动较大,在各种体液成分中,血浆内毒素含量也相对较低,而尿液单位体积的内毒素含量最高,其次是胸导管淋巴液,两者均明显高于股静脉和门静脉血中内毒素含量^[3]。用纤维支气管镜进行支气管肺泡灌洗,检测 BALF 的内毒素,则更直接、更准确地反映肺组织的内毒素变化, BALF 的细胞学分析可进一步了解炎性细胞的浸润情况,同时支气管肺泡灌洗具有给肺“换药”的作用。

PLA₂ 在生理情况下参与机体的脂质代谢,在炎症反应中活性明显增强。本实验中,感染组 PLA₂ 与内毒素的增加过程具有相似性, BALF、肺组织和血浆的 PLA₂ 增加均两两相关,通过检测 BALF 和血浆的 PLA₂,可反映肺组织的 PLA₂ 状况;其检测

方法简单、操作方便、费用不高、无需特殊仪器。

TNF 是肺损伤的重要细胞因子,在内毒素效应中起着重要的中介作用,它主要按旁分泌(细胞-细胞)和自分泌的方式释放,在局部组织、器官内产生生物作用,既是炎症反应的原因,又是炎症反应的结果,其局部组织的含量较高^[4]。相反,血浆 TNF 浓度受诸多因素影响,不能真正代表它在肺组织的浓度和生物活性,检测血浆 TNF 对于早期发现肺损伤并无帮助^[5,6]。本实验中,血浆 TNF- α 增加先快后慢,而 BALF 和肺组织的 TNF- α 增加趋势则相反,先慢后快。相关分析表明,血浆 TNF- α 分别与 BALF 和肺组织的 TNF- α 无明显相关性,而 BALF 与肺组织的 TNF- α 显著相关,说明 BALF 的 TNF- α 反映了肺组织内 TNF- α 的变化,检测 BALF 的 TNF- α 可作为早期发现肺损伤的依据。

综上所述,早期动态监测血浆内毒素和 PLA₂ 含量,如持续升高,则应进行支气管肺泡灌洗,取 BALF 检测内毒素、PLA₂ 和 TNF- α 等炎症介质,

并进行细胞学分析,这样可以较早和较准确地发现肺损伤。

参考文献:

- 1 Fong Y, Lowry S F. Tumor necrosis factor in the pathophysiology of infection and sepsis [J]. Clin Immunol Immunopathol, 1990, 55: 157-170.
- 2 陈思锋, 吴中立. 体液和组织中磷脂酶 A₂ 简便快速测定法 [J]. 第二军医大学学报, 1989, 10: 254-256.
- 3 刘竞, 崔乃强, 赵琪, 等. 肠源性内毒素移位后的体内分布 [J]. 中国急救医学, 2000, 20(3): 146-147.
- 4 Beutler B, Milsark I W, Cerami A C. Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effects of endotoxin [J]. Science, 1985, 229: 869-871.
- 5 Friedland J S, Porter J C, Daryanani S, et al. Plasma proinflammatory cytokine concentrations, acute physiology and chronic health evaluation (APACHE) II scores and survival in patients in an intensive care unit [J]. Crit Care Med, 1996, 24: 1775-1781.
- 6 朱义用, 景炳文, 姜永华. 肠源性感染致早期肺损伤模型的制备及其机制探讨 [J]. 中国危重病急救医学, 2000, 12(9): 541-545.

(收稿日期: 2004-04-19)

(本文编辑: 李银平)

• 科研新闻速递 •

血清细胞色素 C 水平可作为全身炎症反应综合征患者预后的预警指标

细胞凋亡在全身炎症反应综合征(SIRS)的发展以及多器官功能障碍综合征(MODS)的发生中起重要作用。日本熊本大学医学院儿科为定量研究 SIRS 和 MODS 患者细胞凋亡程度,采用夹层酶联免疫吸附法(ELISA)检测 SIRS 和(或)存在 MODS 风险的患者血清细胞色素 C 水平,并研究细胞色素 C 浓度对 SIRS 或 MODS 患者预后的预警价值。结果显示:SIRS 或 MODS 患者细胞色素 C 浓度增加(0.24~210 $\mu\text{g/L}$),而对照组细胞色素 C 浓度在监控浓度(0.1 $\mu\text{g/L}$)以下。死亡患者与入院当日和 5 d 的存活患者比较,细胞色素 C 浓度明显增加。细胞色素 C 浓度与两种代表性的器官功能障碍评分即急性生理学及慢性健康状况评分 II 系统(APACHE II)和多器官衰竭评分均呈明显正相关。细胞色素 C 浓度与多器官衰竭(MOF)严重程度评分呈明显的相关性,在病情早期就会增加,而在存活者恢复期间会迅速降低,但在最终死亡的患者中其水平会持续增高。结论:检测血清细胞色素 C 浓度有助于评估器官功能障碍,并可作为 SIRS 或 MODS 患者预后的预警指标。

夏 斌编译自《Clin Chim Acta》,2004,342(1-2):127-136;胡 森审校

脓毒症和脓毒性休克时血小板和血液流变学指标异常与器官衰竭评分的关系

血液流变学异常和血小板功能障碍引起的微循环血流减少,可能在脓毒症患者多器官衰竭(MOF)的发病机制中起作用。为探讨血液流变学和血小板功能的改变是否与器官功能障碍的严重程度相关,瑞士苏黎士大学医学院医学部脉管科对 34 例严重脓毒症或脓毒性休克患者血浆纤维蛋白原、红细胞集合、血浆黏滞度、血细胞比容、全血黏度和血小板聚集等指标与患者器官功能衰竭评分(SOFA)的相关性进行了研究。研究结果显示,患者与对照组比较,血浆纤维蛋白原、红细胞集合和血浆黏滞度增高(P 均 <0.01),而血细胞比容、全血黏度和 ADP 引起的血小板聚集降低(P 均 <0.01)。除其他血液流变学变量外,血小板聚集与 SOFA 分数呈负相关($P<0.01$)。仅血小板计数与预后恶化有关。研究者认为:严重脓毒症和脓毒性休克的患者血液流变学和血小板功能均发生异常,随着病情加重血小板功能障碍加剧。与血液流变学异常相比,血小板功能障碍在多器官功能障碍综合征发病机制中起更加重要的作用。

夏 斌编译自《Clin Hemorheol Microcirc》,2004,30(2):107-115;胡 森审校