论著

文章编号:1000-5404(2007)14-1422-03

重型颅脑损伤致急性肺损伤发病机制的实验研究

沈世琴,朱京慈 (第三军医大学护理系,重庆 400038)

提 要: 目的 从炎性因子角度探讨重型颅脑损伤单一因素致继发肺损伤的机制。**方法** 参照第三军医大学大坪医院野战外科研究所第四研究室建立的气动冲击致重型颅脑损伤模型,将22只雄性SD大鼠按随机数字表法分为正常组($n=4$)和损伤组($n=18$)。损伤组在伤后1、3、7 d各处死6只动物进行观察。用光镜、电镜观察肺组织形态学改变;放射免疫法监测支气管肺泡灌洗液(BALF)中TNF-α和IL-8水平;酶联免疫吸附实验测定BALF中可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)的水平。**结果** 光镜下损伤组大鼠各时相均可见肺毛细血管充血、炎性细胞渗出及肺泡间隔增宽等病理改变。3 d时肺组织的病理改变评分显著高于1、7 d($P<0.01$)。电镜显示,损伤组在各时相均可见血管内皮细胞肿胀,毛细血管充血、炎性细胞渗出,肺泡上皮细胞损伤等改变,以3 d时最为显著。BALF中TNF-α、IL-8、sICAM-1水平在各时相点均明显高于正常组($P<0.01$),3 d时达到峰值($P<0.01$);相关分析显示,病理改变评分与TNF-α、IL-8水平正相关($r=0.920$, 0.867, $P<0.01$),与sICAM-1水平呈中度正相关($r=0.555$, $P<0.05$)。**结论** 重型颅脑损伤大鼠在伤后1~7 d均出现显著的肺损伤,3 d时损伤最显著。肺损伤的发生与重型颅脑损伤后肺局部分泌过多的TNF-α、IL-8、sICAM-1等炎性因子有关。

关键词: 重型颅脑损伤;急性肺损伤;机制

中图法分类号: R392.3;R563.06;R651.150.2 **文献标识码**: A

Mechanism of acute lung injury secondary to isolated severe head injury in rats

SHEN Shi-qin, ZHU Jing-ci (Department of Nursing, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To study the mechanism of acute lung injury secondary to isolated severe head injury. **Methods** Twenty-two male SD rats were randomly divided into normal group (NG, $n=4$), and trauma group (TG, $n=18$) which were sacrificed respectively on day 1, 3, 7. The pathomorphological changes were observed by light and electron microscope. The levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) and interleukin-8 (IL-8) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were investigated by radioassay (RIA). The level of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) in BALF was measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Capillary congestion, inflammatory cell infiltration and thickening of alveolar septum were detected in TG from day 1 to 7 by light microscope. The histological score of lung on day 3 in TG was significantly higher than that on day 1 and 7. The ultramicroscopic structure of lung showed swelling of vascular endothelial cells, infiltration of polymorphonuclear neutrophil and monocyte, injury of pulmonary epithelial cells in TG from day 1 to 7. The levels of TNF-α, IL-8 and sICAM-1 in BALF in TG were significantly higher than that in NG and the peak values were on day 3. The histologic score in TG was positively correlated with the levels of TNF-α, IL-8 and sICAM-1 in BALF. **Conclusion** Isolated severe head injury could induce acute lung injury that reached the most severe degree on day 3. The elevation of such proinflammatory cytokines as TNF-α, IL-8 and sICAM-1 in BALF plays an important role in the development of excessive inflammatory response of lung injury secondary to isolated severe head injury.

Key words: severe head injury; acute lung injury; mechanism

急性肺损伤是重型颅脑损伤常见的严重并发症,也是重型颅脑损伤死亡的主要原因之一[1]。据报道,重型颅脑损伤合并肺损伤的发生率为20%~31%[1,2],病死率为38%~80%[1]。有关重型颅脑损伤继发性肺损伤的机制研究已较多,但既往研究多采用复合致伤模型,而对重型颅脑损伤单一因素致肺损伤的具体发病机制仍不十分清楚。为此,本研究采用重型颅脑损伤单一致伤因素诱发肺损伤,并从炎性因子的角度探讨重型颅脑损伤继发肺损伤的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

参照文献[3]复制气动冲击致重型颅脑损伤模型。22只雄性SD大鼠,体质量(217.96±15.98) g,由第三军医大学大

作者简介:沈世琴(1973-),女,重庆市荣昌县人,硕士,主管护师,主要从事创伤护理方面的研究,发表论文10余篇。电话:(023)68757812

通讯作者:朱京慈,电话:(023)68752361

收稿日期:2006-07-17;修回日期:2006-10-25

坪医院野战外科研究所实验动物中心提供。按体质量大小排序，采用随机数字表法将大鼠分为正常组（$n=4$）和损伤组（$n=18$），损伤组在伤后 1、3、7 d 各处死 6 只动物进行观察。伤后在实验终止前死亡、呼吸抑制时间超过 5 min、开颅导致硬脑膜开放及失血过多者将不作为本次实验的受试范围。

1.2　肺组织病理形态学观察及病理改变评分标准

用 TECNAI 透射电镜观察肺组织的超微结构，光学显微镜观察肺组织的病理形态改变，并参照文献[4]制定肺损伤病理改变评分标准，分值越高，损伤越重。

1.3　支气管肺泡灌洗液中炎性介质的测定

参照文献[5]，获取支气管肺泡灌洗液（BALF）达 12～15 ml。采用放射免疫法测定 BALF 中 TNF-α 和白介素-8（IL-8）含量、酶联免疫吸附实验测定 BALF 中可溶性细胞间黏附分子-1（sICAM-1）含量。

1.4　统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 统计软件进行两独立样本 t 检验及相关性分析。

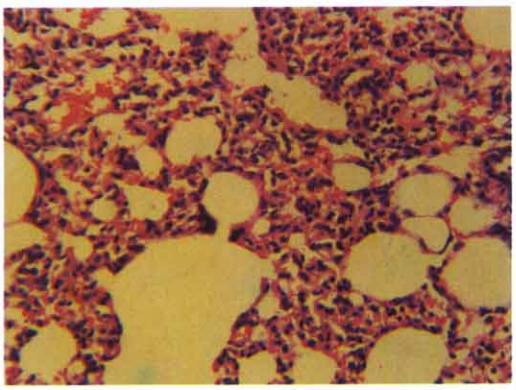
2　结果

2.1　损伤大鼠大脑解剖和病理变化

随机抽取致伤大鼠大脑观察解剖和病理变化，解剖显示，大脑不同的部位存在脑挫裂伤、出血或硬膜下血肿等；伤后 24 h HE 染色可见海马区明显出血。

2.2　重型颅脑损伤大鼠肺组织病理形态的改变

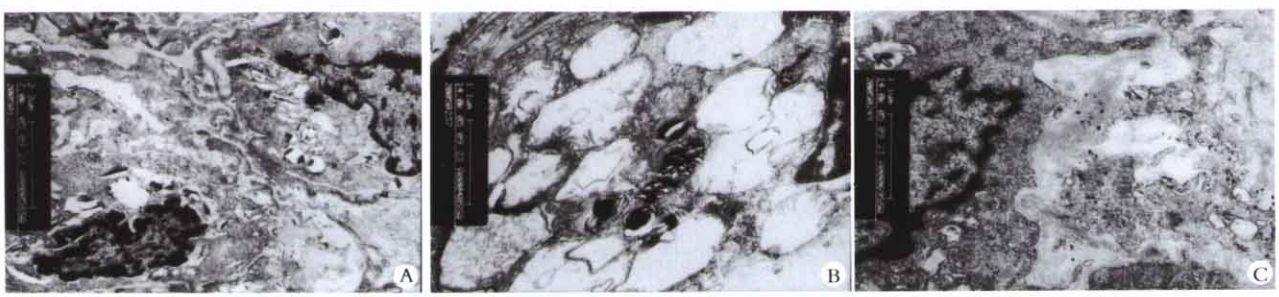
2.2.1　光镜观察　　正常组肺泡结构未见异常。损伤组伤后 1 d 便出现肺间质毛细血管充血、肺泡间隔增宽及炎性细胞渗出等病理改变；3 d 时各种改变进行性加重（图 1）；7 d 各项病理改变虽有所减轻，但仍较 1 d 明显。肺组织病理改变评分在损伤后 3 d 为（15.00 ± 0.89），较 1 d（12.17 ± 1.17）、7 d（11.50 ± 1.05）显著增高（$P<0.01$）。



肺间质大量炎性细胞浸润、肺泡间隔显著增宽、肺泡腔出血

图 1　伤后 3 d 肺组织病理形态的改变　（HE ×400）

2.2.2　电镜观察　　正常组电镜表现正常。损伤组各时相均可见不同程度的肺毛细血管内皮细胞肿胀、肺泡间隔水肿、中性粒细胞（PMN）的渗出、肺泡Ⅱ型上皮细胞损伤、板层小体排空，3 d 时各种表现最为显著（图 2AB），7 d 时虽然毛细血管充血及 PMN 浸润程度相对减轻，但胶原和成纤维细胞明显增生（图 2C）。



A：损伤组 3 d 肺泡萎陷（×6 200）；B：损伤组 3 d 板层小体排空（×8 900）；C：损伤组 7 d 胶原纤维增生（×12 500）

图 2　各损伤组肺损伤透射电镜观察

2.3　重型颅脑损伤大鼠肺局部炎性介质水平的改变

重型颅脑损伤大鼠 BALF 中细胞因子 TNF-α、IL-8、sICAM-1 水平均显著高于正常组（$P<0.01$），见表 1。

表 1　两组大鼠 BALF 中 TNF-α、IL-8、sICAM-1 水平（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	TNF-α	IL-8	sICAM-1
正常组	4	0.70 ± 0.11	1.01 ± 0.08	12.24 ± 1.93
损伤组 1 d	6	1.34 ± 0.30[a]	3.29 ± 0.55[a]	36.10 ± 2.74[a]
3 d	6	2.46 ± 0.51[ab]	4.18 ± 0.16[ab]	37.09 ± 3.37[a]
7 d	6	1.39 ± 0.12[ac]	3.16 ± 0.45[ac]	23.41 ± 2.30[abc]

a：$P<0.01$，与正常组比较；b：$P<0.01$，与同组 1 d 比较；c：$P<0.01$，与同组 3 d 比较

2.4　重型颅脑损伤大鼠 BALF 中各致炎因子水平与病理改变评分之间的相关性分析

重型颅脑损伤大鼠 BALF 中细胞因子 TNF-α 和 IL-8 水平与病理改变评分之间呈显著正相关（$r=0.920$、0.867，$P<0.01$），BALF 中 sICAM-1 水平与病理改变评分呈正相关（$r=0.691$，$P<0.01$）；BALF 中 TNF-α 与 IL-8 显著正相关（$r=0.818$，$P<0.01$），与 sICAM-1 也呈正相关（$r=0.555$，$P<0.05$）；BALF 中 IL-8 与 sICAM-1 呈正相关（$r=0.570$，$P<0.05$）。

3　讨论

3.1　大鼠重型颅脑损伤单一因素致肺损伤模型的建立

实验证明，253.3 kPa 以上压力所致的脑损伤为重度损伤[6]。本实验利用压力为 680 kPa 的气动冲击复制重型颅脑损伤模型，根据驱动压力与有效压力间的换算公式[5]，得出本实验致伤的有效压力为 257.2 kPa。本实验中动物致伤后多立即出现呼吸暂停，继之出现呼吸急促、全身抽搐及昏迷等表现，伤后 6～12 h 动物

逐渐清醒,但精神萎靡,食欲差等表现一直持续到伤后7 d,致伤后3 d内死亡率达32%,结合致伤后大脑解剖和病理改变,可以判定本研究建立的动物模型符合重型颅脑损伤的标准。

有关重型颅脑损伤继发肺损伤模型的研究,以往多采用自由落体致重型颅脑损伤复合盐酸吸入或复合内毒素脂多糖模型[7]。由于部分临床损伤患者在早期并未合并误吸或肺部感染,双重致伤因素不符合临床患者早期肺损伤的自然病理过程。本研究在成功建立重型颅脑损伤单一因素致继发肺损伤大鼠模型的基础上,连续动态观察了致伤大鼠肺组织病理形态的改变,不但较好地模拟了颅脑损伤致肺损伤的自然过程,而且全面地反应了重型颅脑损伤继发肺损伤的发生发展过程,为重型颅脑损伤继发肺损伤的研究提供了新的理论依据。

3.2 炎性介质在大鼠重型颅脑损伤继发肺损伤中的作用及机制

研究证实肺局部高浓度的TNF-α除可直接损伤肺血管内皮细胞、肺泡Ⅱ型上皮细胞外,还可诱导其它细胞因子如IL-1、IL-6、IL-8的释放[8]。而BALF中升高的IL-8可促使大量中性粒细胞募集于肺组织并被激活,除可造成组织损伤外,还可释放出大量的促炎细胞因子及趋化因子加重炎症级联反应[9]。本研究结果显示,BALF中的TNF-α和IL-8水平在早期均急剧升高,3 d达到峰值,7 d仍持续在较高水平,其变化趋势与肺损伤程度变化的趋势一致。相关分析显示,BALF中TNF-α和IL-8水平与肺组织的病理改变评分呈显著正相关,说明二者在重型颅脑损伤继发肺损伤的病理过程中发挥了重要作用。

重型颅脑损伤后肺局部TNF-α水平的升高可能与严重创伤激活核因子-κB(nuclear factor of kappa B,NF-κB)有关。机体在受到严重脑损伤后,肺泡巨噬细胞核内的NF-κB迅速被活化,并进入细胞核上调TNF-α等细胞因子的基因转录与蛋白合成。而TNF-α除能激活中性粒细胞,刺激炎性细胞因子和黏附分子的合成外,还是NF-κB的强烈激活剂,可进一步激活NF-κB[10]。而细胞因子与NF-κB以及细胞因子间复杂的相互作用,则可使炎症信号进一步放大,引起机体过度失控的炎症反应并加重急性肺损伤。本实验中IL-8水平与TNF-α水平之间的相关性,正说明重型颅脑损伤后肺组织中早期升高的TNF-α可诱导IL-8水平的释放,其机制可能与升高的TNF-α激活单核细胞、内皮细胞上的NF-κB,刺激其产生IL-8有关。

sICAM-1是血清中与ICAM-1同型的蛋白分子,由膜表面的ICAM-1脱落、分泌入血。已有研究表明纯化的sICAM-1可以剂量依赖性的方式结合于鼠肺泡巨噬细胞,诱导产生IL-8、巨噬细胞移动抑制因子-2(MIF_2)和MIP-2等炎性介质[11]。而气道内滴注sICAM-1除可促进肺产生TNF-α和MIF_2外,还与中性粒细胞募集有关。本研究结果显示,重型颅脑损伤后早期BALF中sICAM-1一直持续在较高水平,且肺组织的病理改变评分与sICAM-1之间也具有一定的相关性,说明sICAM-1也参与了肺损伤的病理过程。而sICAM-1与TNF-α和IL-8之间也呈正相关,说明重型颅脑损伤后黏附分子水平的升高可能与炎性因子的升高促进黏附分子的分泌增加有关。

综上所述,虽然有关重型颅脑损伤合并肺损伤的机制研究已较多,但其确切机制仍不十分清楚。本研究结果显示重型颅脑损伤大鼠BALF中TNF-α、IL-8、sICAM-1水平在各时相点均有不同程度的升高,且BALF中各种因子的水平均与病理改变评分之间呈正相关,说明重型颅脑损伤后肺损伤的发生与肺局部分泌过多的TNF-α、IL-8、sICAM-1等炎性因子有关。

(致谢:感谢第三军医大学大坪医院野战外科研究所第四研究室的领导和老师在实验过程中给予的支持和帮助。)

参考文献:

[1] Holland M C, Mackersie R C, Morabito D, *et al*. The development of acute lung injury is associated with worse neurologic outcome in patients with severe traumatic brain injury[J]. J Trauma, 2003, 55(1): 106-111.

[2] Bulger E M, Nathens A B, Rivara F P, *et al*. Management of severe head injury: Institutional variations in care and effect on outcome[J]. Crit Care Med, 2002, 30(8): 1870-1876.

[3] 尹志勇, 王正国, 刘海鹏, 等. 多功能小型生物撞击机的研制与应用[J]. 生物医学工程学杂志, 2000, 17(3): 309-312,323.

[4] 卢 岩, 宿英英, 冯景阳, 等. 大鼠急性脑缺血时肺脏病理改变及内皮素-1含量变化[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2002, 4(5): 337-340.

[5] 史 菲, 邱 晨. 大鼠支气管肺泡灌洗术标准化操作的探讨[J]. 中国现代医学杂志, 2002, 12(24): 67-69.

[6] Petty M A, Poulet P, Haas A, *et al*. Reduction of traumatic brain injury-induced cerebral oedema by free radical scavenger[J]. Eur J Pharmacol, 1996, 307(2): 149-155.

[7] 王文犀, 王宪荣. 颅脑损伤后肺损伤发病机理的实验研究[J]. 中国临床神经外科杂志, 2001, 6(1): 34-36.

[8] Davidson B A, Knight P R, Helinskl J D, *et al*. The role of tumor necrosis factor-alpha in the pathogenesis of aspiration pneumonitis in rats [J]. Anesthesiology, 1999, 91(2): 486-499.

[9] Aldridge A J. Role of the neutrophil in septic shock and the adult respiratory distress syndrome[J]. Eur J Surg, 2002, 168(4): 204-214.

[10] 冯英凯, 杨庆华, 徐剑铖, 等. 炎症介质与内毒素肺损伤[J]. 国外医学:呼吸系统分册, 2004, 24(5): 329-331,335.

[11] Otto V I, Gloor S M, Frentzel S, *et al*. The production of macrophage inflammatory protein-2 induced by soluble intercellular adhesion molecule-1 in mouse astrocytes is mediated by src tyrosine kinases and p42/44 mitogen-activated protein kinase[J]. J Neurochem, 2002, 80(5): 824-834.

(编辑 陈聪连)