论著

文章编号:1000-5404(2009)05-0446-04

多发伤患者细胞免疫功能的变化及加鱼油肠外营养对其的影响

张 军[1],孙士锦[1],张宏光[1],姚元章[1],蒋东波[1],周 健[1],梁华平[2],张连阳[1] (第三军医大学大坪医院野战外科研究所:[1]创伤外科,全军战创伤中心,[2]第一研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆,400042)

摘 要:目的 探讨多发伤后细胞免疫功能的变化及加鱼油肠外营养对多发伤患者的影响。**方法** 2007年8月至2008年3月本中心收治的26例多发伤患者随机分为鱼油组和常规组,入院后即按等氮等热量的肠外营养方式给药:常规组脂肪采用大豆油1.2 g·kg^{-1}·d^{-1},鱼油组脂肪采用大豆油1.0 g·kg^{-1}·d^{-1}加鱼油0.2 g·kg^{-1}·d^{-1},均连续使用5 d。于入院后及治疗后第3、6天采集患者外周静脉血,ELISA法检测CRP、MIF、IFN-γ及IL-4浓度。**结果** 多发伤患者外周血中CRP、MIF、IL-4水平均较对照组升高非常显著($P<0.01$),IFN-γ水平较对照组降低非常显著($P<0.01$);治疗后第3天,鱼油组CRP、IL-4水平较常规组显著降低($P<0.05$),MIF水平较常规组降低非常显著($P<0.01$),IFN-γ水平较常规组显著升高($P<0.05$);治疗后第6天,鱼油组CRP、IL-4水平均较常规组降低非常显著($P<0.01$),IFN-γ水平较常规组升高非常显著($P<0.01$)。**结论** 常规治疗的同时,补充ω-3 PUFAs可以显著改善多发伤患者机体免疫防御,有效抑制了Th1/Th2应答模式的偏移,降低了多发伤后过度的炎症反应程度,对提高多发伤患者的救治具有重要意义。

关键词: ω-3多聚不饱和脂肪酸;肠外营养;多发伤;C-反应蛋白;移动抑制因子;干扰素-γ;白介素-4

中图法分类号: R392.12;R459.3;R605.979 **文献标识码:** A

Changes of cellular immune function in multiple trauma patients and effect of fish oil parenteral nutrition

ZHANG Jun[1], SUN Shi-jin[1], ZHANG Hong-guang[1], YAO Yuan-zhang[1], JIANG Dong-bo[1], ZHOU Jian[1], LIANG Hua-ping[2], ZHANG Lian-yang[1] ([1]Trauma Centre, [2]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 1, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To observe the changes of cellular immune function on multiple trauma patients and the effects of fish oil parenteral nutrition on these changes. Methods Totally 26 patients of multiple trauma were randomly and equally divided into fish oil group (mainly containing ω-3 polyunsaturated fatty acids) and conventional group. Another 20 health individuals served as control. Besides regular management, conventional group was given parenteral nutrition with soybean oil 1.2 g·kg^{-1}·d^{-1}, fish oil group with soybean oil 1.0 g·kg^{-1}·d^{-1} and fish oil 0.2 g·kg^{-1}·d^{-1} for 5 d. Collection of peripheral blood before treatment and 3 and 6 d after treatment respectively. Serum concentration of C-reactive protein (CRP), macrophage migration inhibitory factor (MIF), IFN-γ and IL-4 were measured with ELISA. Results Serum concentration of CRP, MIF and IL-4 levels were significantly higher in multiple trauma patients than the control group ($P<0.01$), IFN-γ level was significantly lower ($P<0.01$). From t the 3rd day after treatment, the fish oil group had significantly lower levels of CRP and IL-4 ($P<0.05$), and very significantly lower MIF than the conventional group ($P<0.01$), while that of IFN-γ level was significantly higher in the former than the later group ($P<0.05$); at the 6th day after treatment, the CRP, MIF, IL-4 levels of fish oil group was very significant lower than the conventional group ($P<0.01$), and IFN-γ level very significant higher ($P<0.01$). Conclusion ω-3 polyunsaturated fatty acids can be regarded a helpful supplementation for regular management for multiple trauma, which significantly improves immune defense by effectively suppressing the Th1/Th2 response patterns shift and reducing secondary injuries after excessive inflammatory response.

Key words: ω-3 polyunsaturated fatty acids; parenteral nutrition; multiple trauma; C-reactive protein; macrophage migration inhibitory factor; interferon-γ; interleukin-4

作者简介: 张 军,男,江西省波阳县人,硕士研究生,医师,主要从事普通外科、创伤救治方面的研究。E-mail:zhjtmmu@yahoo.com.cn

通信作者: 张连阳,电话:(023)68757991,E-mail:hpzhangly@163.com

收稿日期: 2008-08-25;**修回日期:** 2008-10-07

近年来,随着创伤救治体系和损害控制策略的日益完善,抗生素和支持疗法得到了广泛的应用,但多发伤死亡率和伤后并发症发生率并没有明显降低,原因之一在于多发伤后全身炎症反应的发生。鱼油富含 ω-3 多聚不饱和脂肪酸(ω-3 poly- unsaturated fatty acids, ω-3 PUFAs),是一种有效的免疫调理营养素[1]。肠内营养和经口摄入 ω-3 PUFAs 在炎症反应中的益处已得到大量临床和基础实验证实[2]。本研究通过动态观察多发伤患者外周血中 C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、巨噬细胞移动抑制因子(migration inhibition factor, MIF)、干扰素-γ(Interferon-γ, IFN-γ)及白细胞介素-4 (Interleukin-4, IL-4)浓度变化,探讨多发伤后细胞免疫功能的变化以及加鱼油肠外营养(parenteral nutrition, PN)对多发伤患者机体免疫功能的影响,并探讨 ω-3 PUFAs 对多发伤患者的治疗作用。

1　资料与方法

1.1　研究对象及分组

为我院所全军战创伤中心 2007 年 7 月至 2008 年 3 月收治的 26 例多发伤患者,研究期间均未能进食,需肠外营养。其中男性 22 例,女性 4 例,年龄 16 ~ 64(38.04 ± 8.98)岁。患者伤后就诊时间为 1 ~ 21(6.81 ± 5.92)h。致伤原因为交通事故伤(11 例)、高处坠落伤(6 例)、重物砸伤(2 例)、刀刺伤(2 例)、挤压伤(3 例)、机器绞伤(2 例)。按照损伤严重程度评分(injury severity score, ISS)评定[3],患者 ISS 为 16 ~ 45(24.88 ± 8.03)分。入院后紧急评估实施紧急手术 20 例,非手术治疗 6 例,其中颅脑创伤 8 人次,胸部创伤 3 人次,腹部创伤 7 人次,四肢及骨盆骨折 10 人次。26 例多发伤患者完全随机分为 2 个治疗组:鱼油组 13 例[男性 12 例、女性 1 例,年龄(38.69 ± 11.03)岁,ISS:(25.38 ± 8.75)分]和常规组 13 例[男性 10 例、女性 3 例,年龄(37.38 ± 6.73)岁,ISS:(24.38 ± 7.55)分]。设对照组 20 例,均为同期体检健康者,其中男性 11 例,女性 9 例,年龄为20 ~ 55(36.50 ± 15.42)岁。

1.2　治疗方案

积极处理控制原发伤,给予早期心肺复苏,保护脏器功能,纠正酸碱失衡和水、电解质的紊乱及营养支持。入院后即按等氮等热量给予肠外营养方式给药,常规组患者脂肪采用大豆油 1.2 g·kg^{-1}·d^{-1},连续使用 5 d;鱼油组患者脂肪采用大豆油 1.0 g·kg^{-1}·d^{-1}加鱼油 0.2 g·kg^{-1}·d^{-1}(尤文注射液,含ω-3 PUFAs,EPA: 1.25 ~ 2.82 g/100 ml, DHA: 1.44 ~ 3.09 g/100 ml),连续使用 5 d。治疗用尤文注射液由江苏华瑞制药有限公司生产。

1.3　标本采集及检测

患者伤后及用药后第 3、6 天晨 7:00 抽取空腹外周静脉血(肘静脉)标本 10 ml,采用 2% 乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,室温下静置 2 h,离心(3 000 r/min) 15 min 后,分离血清、血浆,置于 -70 ℃低温冰箱冻存,待成批后测定。酶联免疫吸附测定法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测外周血中 CRP、MIF、IFN-γ 及 IL-4 浓度。检测试剂盒均购自深圳晶美生物工程公司,按照说明书操作。在酶标仪上波长为 450 nm、参考波长 620 nm 处测定光密度。根据标准曲线,读出细胞因子的浓度。

1.4　统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计学软件进行 t 检验。

2　结果

2.1　一般情况

26 例多发伤患者中无死亡病例,24 例治愈出院,2 例好转出院;住院时间为 7 ~ 143(51.35 ± 38.22) d;肺部感染 2 例,局部切口感染 5 例。

2.2　外周血中 CRP、MIF 水平的变化

多发伤组血清 CRP、MIF 水平较对照组升高非常显著($P < 0.01$, 表 1)。

表 1　多发伤组与对照组 CRP、MIF 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CRP(mg/L)	MIF(ng/ml)
多发伤组	26	64.51 ± 4.41[a]	37.24 ± 3.53[a]
对照组	20	5.49 ± 0.67	14.65 ± 2.80

a: $P < 0.01$,与对照组比较

2.3　外周血中 IFN-γ、IL-4 水平及 IFN-γ/IL-4 值的变化

多发伤组血浆 IFN-γ 水平及 IFN-γ/IL-4 值较对照组显著下降($P < 0.01$),IL-4 水平较对照组明显升高($P < 0.01$, 表 2)。

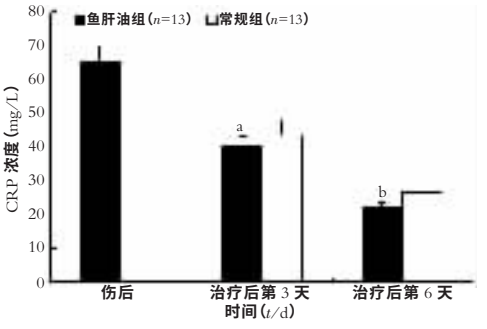
表 2　多发伤组与对照组 IFN-γ 和 IL-4 水平及 IFN-γ/IL-4 值的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IFN-γ(ng/L)	IL-4(ng/L)	IFN-γ/IL-4
多发伤组	26	866.9 ± 48.38[a]	39.84 ± 2.08[a]	21.8 ± 1.76[a]
对照组	20	982.02 ± 37.80	19.32 ± 1.71	51.22 ± 4.96

a: $P < 0.01$,与对照组比较

2.4　鱼油组与常规组外周血中 CRP 水平的变化

鱼油组和常规组在多发伤后血清 CRP 水平无差异($P > 0.05$);经治疗,2 组血清 CRP 水平相比治疗前均明显降低:治疗后第 3 天,鱼油组 CRP 水平较常规组明显降低($P < 0.05$);用药后第 6 天,两治疗组差异非常显著($P < 0.01$, 图 1)。



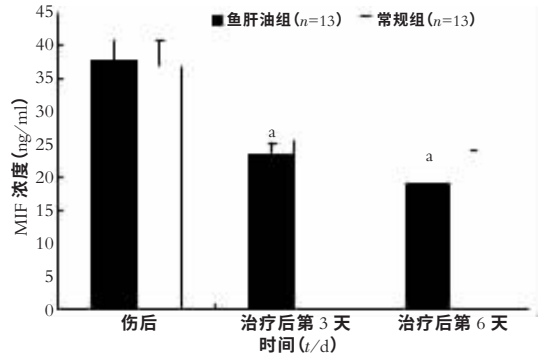
a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与常规组比较

图 1　鱼油组与常规组 CRP 水平比较

2.5　鱼油组与常规组外周血中 MIF 水平的变化

鱼油组和常规组在多发伤后血清 MIF 水平无差异($P >$

0.05)；经治疗，2组血清MIF水平相比治疗前均明显降低：从用药后第3天开始，鱼油组较常规组MIF水平差异显著（$P<0.01$，图2）。

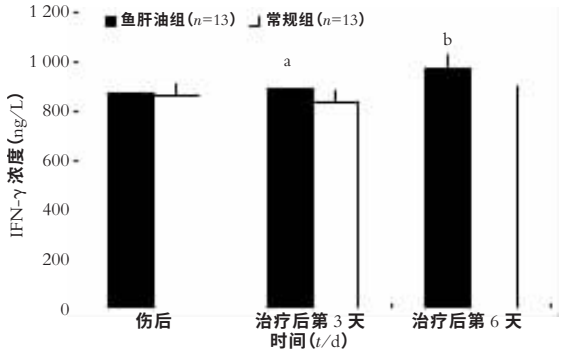


a：$P<0.01$，与常规组比较

图2 鱼油组与常规组MIF水平比较

2.6 鱼油组与常规组外周血中IFN-γ水平的变化

鱼油组和常规组在多发伤后血浆IFN-γ水平无差异（$P>0.05$）；经治疗，2组血浆IFN-γ水平相比治疗前均明显升高：用药后第3天，鱼油组IFN-γ水平较常规组明显升高（$P<0.05$）；用药后第6天，两治疗组差异显著（$P<0.01$，图3）。

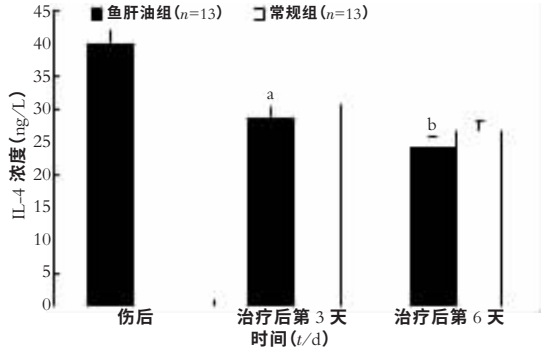


a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与常规组比较

图3 鱼油组与常规组IFN-γ水平比较

2.7 鱼油组与常规组外周血中IL-4水平的变化

鱼油组和常规组在多发伤后血浆IL-4水平无差异（$P>0.05$）；经治疗，2组血浆IL-4水平相比治疗前均明显降低：用药后第3天，鱼油组IL-4水平较常规组明显降低（$P<0.05$）；用药后第6天，两治疗组差异显著（$P<0.01$，图4）。

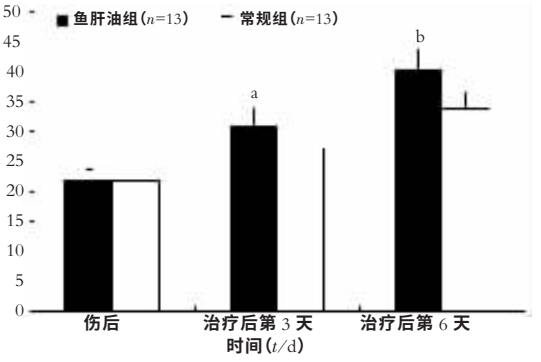


a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与常规组比较

图4 鱼油组与常规组IL-4水平比较

2.8 鱼油组与常规组外周血中IFN-γ/IL-4值的变化

鱼油组和常规组在多发伤后血浆IFN-γ/IL-4值无差异（$P>0.05$）；经治疗，2组血浆IFN-γ/IL-4值相比治疗前均明显升高：用药后第3天，鱼油组IFN-γ/IL-4值较常规组明显升高（$P<0.05$）；用药后第6天，两治疗组差异显著（$P<0.01$，图5）。



a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与常规组比较

图5 鱼油组与常规组IFN-γ/IL-4值比较

3 讨论

CRP是最主要的急性期蛋白（acute phase protein，APP）之一，被称为炎症标志物[4,5]，通过结合、激活补体系统和免疫调节等特性发挥和识别效应器的功能[6]。当机体受到创伤、烧伤、大手术、感染等应激刺激后，CRP水平显著上升，其上升程度与损伤程度呈正比，可以用来评估多发伤危重程度和预后[7]。MIF为巨噬细胞分泌，当创伤应激和感染时，单核巨噬细胞大量表达MIF，诱导巨噬细胞和活化的T细胞分泌大量细胞因子（如TNF-α、IL-1β、IL-2、IL-6、NO），促进炎症和免疫反应。Chuang等[8]提示严重创伤后血清巨噬细胞迁移抑制因子水平增高并反映创伤严重度，对创伤预后判定有价值。本研究也观察到，多发伤患者外周血中CRP、MIF水平较对照组升高非常显著（$P<0.01$），因此多发伤患者外周血中CRP、MIF水平可以反映多发伤后机体免疫功能的变化，表明了多发伤后机体的免疫功能受到了抑制。

T辅助淋巴细胞（T helper cell，Th）根据所分泌淋巴因子及其功能的不同，分为Th1和Th2型细胞。Th1型细胞主要分泌IFN-γ、IL-2和TNF-β等，介导与细胞毒和局部炎症有关的免疫应答，参与细胞免疫和迟发型超敏反应的形成；Th2型细胞主要分泌IL-4、IL-5、IL-6和IL-10等，主要功能为刺激B细胞增生并产生抗体，与体液免疫有关[9]。正常状态下，Th1和Th2型细胞在数量上或功能上保持动态平衡，维持了机体内环境的稳态；但在遭受细菌感染或创伤等刺激时，这种稳态就被打破[10]。机体内Th1和Th2型细胞

在疾病发展的不同阶段常以其中的某一型在分化或功能上占优势:持续的 Th1 型细胞强烈应答可能造成过度的炎症反应,造成组织损伤;而过度的 Th2 型细胞应答则可能削弱机体对感染因素的防御机制,可以导致脓毒症(sepsis),并最终导致患者预后不良[11]。因此,Th1/Th2 应答模式的偏移,可能是影响疾病发展的重要因素之一[12],而以 IFN-γ/IL-4 值来间接反映 Th1/Th2 应答模式的偏移程度,对于评估多发伤后机体免疫功能、判断伤情严重程度及预后具有指导意义[13]。本研究观察到,多发伤患者外周血中 IL-4 水平较对照组升高非常显著($P<0.01$),而 IFN-γ 水平及 IFN-γ/IL-4 值则较对照组则降低非常显著($P<0.01$),表明多发伤后机体 Th2 型细胞分化增多并伴随 Th1 型细胞分化减少及功能抑制,出现了 Th1 免疫应答向 Th2 免疫应答的切换,致使机体细胞免疫功能出现抑制。

随着院前急救体系和损伤控制策略的日臻完善,多发伤患者在渡过早期大出血、严重休克危险后,仍然面临后续的脓毒症、内脏并发症、多器官功能不全综合征等威胁[14]。而多发伤后机体的能量供应则主要依赖于氧化、分解体内的脂肪和蛋白质,此时脂肪酸利用增加、蛋白质分解加速、热能供应不足和负氮平衡就成为多发伤患者代谢的主要特点;而多发伤患者长期的高分解代谢和负氮平衡势必造成患者体重下降和机体免疫功能减退,从而影响患者预后[15]。因此,进行及时有效的肠外营养、增强机体的免疫功能便成为多发伤救治的重要途径之一。

鱼油,特别是深海鱼油,富含 ω-3 PUFAs,其主要成分是二十碳五烯酸(EPA)、二十二碳六烯酸(DHA)可以增加细胞膜磷脂的 ω-3 成分,在减少炎性二十烷类产生的同时增加非炎性二十烷,以竞争花生四烯酸至二十烷类合成的途径,从而调节机体内一系列细胞因子的水平并增强免疫功能[2]。在本研究中,在应用 ω-3 PUFAs 治疗后的第 3 天,鱼油组外周血中 CRP、IL-4水平较常规组显著降低($P<0.05$),MIF 水平则较常规组降低非常显著($P<0.01$),IFN-γ 水平及 IFN-γ/IL-4值较常规组显著升高($P<0.05$);在应用 ω-3 PUFAs 治疗后的第6 天,鱼油组外周血中 CRP、IL-4 水平较常规组降低非常显著($P<0.01$),IFN-γ 水平及 IFN-γ/IL-4 值则较常规组升高非常显著($P<0.01$)。可见,ω-3 PUFAs 能够明显降低多发伤患者外周血 CRP、MIF 及 IL-4 水平,明显升高 IFN-γ 水平及 IFN-γ/IL-4 值,有效的抑制了 Th1/Th2 免疫应答向 Th2 方向的偏移,更好的支持了机体的组织和结构功能,明显的改善了多发伤后机体的免疫功能。

本研究表明,多发伤后,常规治疗的同时,及时补充 ω-3 PUFAs 可以显著改善多发伤患者机体免疫防御,有效的抑制了 Th1/Th2 应答模式的偏移,对于维持机体内环境的稳态,降低多发伤后过度的炎性反应,提高多发伤患者的救治具有重要意义。

参考文献:

[1] Mayer K, Schaefer M B, Seeger W. Fish oil in the critically ill: from experimental to clinical data[J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2006, 9(2): 140 - 148.

[2] Calder P C. N-3 polyunsaturated fatty acids and inflammation: from molecular biology to the clinic[J]. Lipids, 2003, 38(4): 343 - 352.

[3] 美国机动车医学促进会(AAAM), 重庆市急救医疗中心编译. 简明损伤定级标准 2005[M]. 第 2 版. 重庆: 重庆出版社, 2005: 1 - 35.

[4] Verboon-Maciolek M A, Thijsen S F, Hemels M A, *et al*. Inflammatory mediators for the diagnosis and treatment of sepsis in early infancy [J]. Pediatr Res, 2006, 59 (3): 457 - 461.

[5] Reinhart K, Meisner M, Brunkhorst F M. Markers for sepsis diagnosis: what is useful? [J]. Crit Care Clin, 2006, 22 (3): 503 - 519, ix - x.

[6] Seller-Perez G, Herrera-Gutierrez M E, Lebron-Gallardo M, *et al*. Serum C-reactive protein as a marker of outcome and infection in critical care patients[J]. Med Clin (Barc), 2005, 125 (20):761 - 765.

[7] 郑玉权, 黄显凯, 梁华平, 等. 严重创伤合并 ARDS 患者血清 C 反应蛋白水平的动态观察及意义[J]. 创伤外科杂志, 2005, 7 (4): 274 - 276.

[8] Chuang C C, Hung C J, Tsai M C, *et al*. High concentrations of circulating macrophage migration inhibitory factor in patients with severe blunt trauma: Is serum macrophage migration inhibitory factor concentration a valuable prognostic factor? [J]. Crit Care Med, 2004, 32 (3): 734 - 739.

[9] Iwasaka H, Noguchi T. Th1/Th2 balance in systemic inflammatory response syndrome (SIRS)[J]. Nippon Rinsho, 2004, 62 (12): 2237 - 2243.

[10] Kanazawa M, Yoshihara k, Abe H, *et al*. Effects of PSK on T and dendritic cells differentiation in gastric or colorectal cancer patients [J]. Anticancer Res, 2005, 25(1B): 443 - 449.

[11] Marcus M, Sebastian W, Petar T, *et al*. Altered genes expression pattern in dendritic cells after severe trauma[J]. Shock, 2006, 26 (4 Suppl 1): 11.

[12] Russ M A, Reith H B. The severity of infection induces a shift in the Type 1/Type 2 T-helper cell balance in patients with or without peritonitis[J]. Surg Infect (Larchmt), 2003, 4 (3): 247 - 254.

[13] 李　斌, 文　亮, 刘明华, 等. 创伤患者血浆干扰素-γ、白介素-4 动态变化及其意义[J]. 创伤外科杂志, 2004, 6 (4): 266 - 268.

[14] 张连阳. 努力提高多发伤救治速度[J]. 中华创伤杂志, 2007, 23 (4): 241 - 243.

[15] Genton L, Muhlebach S, Dupertuis Y M, *et al*. Ergonomic and economic aspects of total parenteral nutrition[J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2006, 9 (2): 149 - 154.

(编辑　吴培红)