论著

文章编号:1000-5404(2010)17-1812-04

颈交感神经阻滞对重度烧伤大鼠肝脏的保护机制初探

李 新[1],李 敏[2],涂 柳[3],艾国平[2],王军平[2],王峰超[2],粟永萍[2] (400038 重庆,第三军医大学:西南医院全军泌尿外科研究所[1],全军复合伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室[2];400016 重庆,重庆医科大学基础医学院生理学教研室[3])

【摘要】 目的 观察颈交感神经阻滞(cervical sympathetic block,CSB)对严重烧伤大鼠肝脏功能与结构的保护作用,并对其可能保护机制进行探讨。方法 将动物按随机数目表随机分为对照组、严重烧伤组和CSB治疗组,制作重度烧伤模型(TBSA 20% Ⅲ度),CSB治疗组伤后以0.1%罗哌卡因行颈交感神经双侧阻滞。通过检测肝功能、肝组织抗氧化能力、Bcl-2表达以及肝组织病理改变判断CSB对肝脏的保护作用。通过检测监测血压变化及检测肝脏、下丘脑血流灌注量来推断其可能机制。结果 CSB组大鼠伤后血浆白蛋白下降及谷丙转氨酶上升不明显,1、3、5、7 d时相点血浆白蛋白含量分别为(48.98±6.89)、(38.61±4.35)、(24.05±3.62)和(22.57±4.10) mmol/L,血浆ALT浓度分别为(48.15±7.37)、(58.21±5.43)、(62.07±8.16)、(56.87±5.88)IU/L,较烧伤组为好($P<0.01$);CSB组肝组织总抗氧化能力分别为(3.16±0.17)、(2.88±0.15)、(2.71±0.16)、(2.61±0.58) U/mg,较烧伤组明显增强($P<0.01$);CSB组大鼠伤后血压较为稳定,伤后1、3、5、7 d时相点分别为(90.58±5.69)、(82.69±3.81)、(70.61±9.51)、(82.05±2.36) mmHg,与烧伤组相比差异显著($P<0.01$);CSB组动物伤后脏器血流灌注较好,伤后即刻、1、3、5 d时相点肝血流量分别为(0.302±0.041)、(0.284±0.024)、(0.16±0.023)、(0.256±0.03) ml/(min·g),下丘脑血流量分别为(1.013±0.113)、(0.721±0.110)、(0.944±0.438)、(0.765±0.316) ml/(min·g),均较烧伤组有明显升高($P<0.01$);肝组织Bcl-2的表达明显增高;CSB组大鼠伤后肝组织病理改变较轻,主要表现为肝细胞浊肿,嗜酸性变,肝细胞脂肪变性。结论 颈交感神经阻滞对重度烧伤大鼠肝脏具有保护作用,这种保护作用可能是通过调节下丘脑HPA轴和交感-肾上腺轴来进行的。

【关键词】 交感神经阻滞;烧伤;肝脏;保护机制
【中图法分类号】 R322.47;R644;R363 【文献标志码】 A

Protective effect of cervical sympathetic block on severely burned rat liver and its related mechanism

Li Xin[1], Li Min[2], Tu Liu[3], Ai Guoping[2], Wang Junping[2], Wang Fengchao[2], Su Yongping[2] ([1]Department of Urology, Southwestern Hospital, [2]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Combined Injury, College of Military Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [3]Department of Physiology, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

【Abstract】 Objective To study the protective effect of cervical sympathetic block (CSB) on liver function and structure of severely burned rats and its possible mechanism. Methods A rat model of severe burn (TBSA 20% Ⅲ) was induced by blocking bilateral cervical sympathetic nerves with 0.01% Ropivacaine. The rats were divided into control group, burn group and CSB group. Protective effect of CSB on liver function, antioxidation, Bcl-2 expression and pathologic change in liver tissue was detected. Its mechanism was studied by measuring blood pressure and blood perfusion volume in liver and hypothalamus. Results The levels of plasma-albumin in CSB group were 48.98±6.89, 38.61±4.35, 24.05±3.62 and 22.57±4.10 mmol/L respectively 1, 3, 5 and 7 d after burn. The levels of ALT were higher in CSB group (48.15±7.37, 58.21±5.43, 62.07±8.16 and 56.87±5.88 IU/L respectively 1, 3, 5 and 7 d after burn) than in burn group, ($P<0.01$). The hepatic T-AOC values were higher in CSB group (3.16±0.17, 2.88±0.15, 2.71±0.16, and 2.61±0.58 respectively 1, 3, 5 and 7d after burn) than in burn group ($P<0.01$). The blood pressures were more stable in CSB group (90.58±5.69, 82.69±3.81, 70.61±9.51 and 82.05±2.36 mmHg respectively 1, 3, 5 and 7 d after burn) than in burn group ($P<0.01$). The hepatic and hypothalamic blood flow volumes

【基金项目】 国家重点基础研究发展计划(973计划,2005CB522605);国家自然科学基金(30400247)
【通信作者】 粟永萍,E-mail:suyp2003@yahoo.com.cn

were higher in CSB group [0.302 ±0.041, 0.284 ±0.024, 0.16 ±0.023, 0.256 ±0.03 ml/(min · g) and 1.013 ±0.113, 0.721 ±0.110, 0.944 ±0.438, 0.765 ±0.316 ml/(min · g) respectively burned instantly, 1, 3 and 5 d after burn] than in burn group ($P<0.01$). The pathologic changes of liver structure were milder while the expression level of Bcl-2 in liver was higher in CSB group than in burn group. **Conclusion** CSB can protect the liver of severely burned rats by regulating the hypothamus axis and sympathetic-kidney axis.

[Key words] cervical sympathetic block; burn injury; liver; protection

Supported by the National Basic Research Program (973 Program, 2005CB522605), the National Nature Science Foundation of China (30200142). Corresponding author: Su Yongping, E-mail: suyp2003@yahoo.com.cn

严重创伤后应激失调引起的多脏器功能障碍(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)是导致死亡的主要原因,病死率高达 60% ~70%,临床处理十分棘手[1]。颈交感神经阻滞(cervical sympathetic block, CSB)可以从整体上调节机体神经-内分泌-免疫网络的功能,促进内稳态的恢复[2]。我们研究表明 CSB 能显著降低伤后动物早期和整体死亡率[3-5]。肝脏作为机体的重要生命支持器官,在创伤后物质代谢、糖原贮存、解毒防御等方面起着重要作用。CSB 对于严重创伤后肝脏功能的保护作用究竟如何,尚不得而知,其具体机制也有待于深入探讨。在本研究中,我们选用 20% 体表面积Ⅲ度烧伤(TBSA 20% Ⅲ度)大鼠作为观察对象,观察 CSB 对伤后肝脏的保护作用,并对其可能保护机制进行分析。

1 材料与方法

1.1 动物模型及分组

清洁级 SD 大鼠 240 只,5 ~6 月龄,体质量 200 ~240 g,雌雄不限,由第三军医大学实验动物中心提供,16 只作为正常组,其余 224 只大鼠接受碘钨灯照射致 20% 体表面积Ⅲ度烧伤(TBSA 20% Ⅲ度),再将动物按随机数目表随机分为严重烧伤组和 CSB 治疗组(每组分别 112 只),设置即刻、1、3、5、7 d 共 5 个时相点取材,每个时相点分别设置 5 ~8 只动物。

1.2 方法

1.2.1 颈交感神经阻滞 采用颈后穿刺法[5],以 0.1% 罗哌卡因行颈交感神经双侧阻滞。

1.2.2 肝功能检测 抽取新鲜血送至本院检验科进行肝功能项目(包括血浆白蛋白、谷丙转氨酶)检测。

1.2.3 肝组织总抗氧化能力测定(total antioxidant capacity, T-AOC) 采用分光光度法,按试剂盒操作说明严格进行[5]。

1.2.4 肝组织形态学观察 动物用 40% 多聚甲醛灌注固定,取肝组织约 0.5 cm ×0.5 cm ×0.5 cm,常规方法脱水、浸蜡包埋,5 μm 组织切片,常规 HE 染色,光镜下观察肝组织结构变化。

1.2.5 肝组织 Bcl-2 表达 组织蜡块均以 5 μm 切片,备免疫组化染色用。具体染色步骤按试剂盒说明严格进行[5]。

1.2.6 肝血流量测定 采用放射性生物微球法[3,5]。

1.2.7 下丘脑血流量测定 采用放射性生物微球法[3,5]。

1.2.8 对创伤后动物血压观察 动物麻醉(1% 苯巴比妥,腹腔注射,38 mg/kg),固定,分离同侧颈总动脉和股动脉并插管,生理记录仪记录动脉血压和心率[5]。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 10.0 统计软件,计数资料组内、组间比较行 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组内、组间比较均行单因素方差分析。

2 结果

2.1 CSB 对烧伤大鼠肝脏的保护作用

2.1.1 CSB 对肝功能的影响 临床肝功能指标检测结果显示,经过 CSB 处理后,伤后各时相点动物肝功能各项指标均较烧伤组为好($P<0.01$),说明 CSB 对肝功能具有一定的保护作用。见表 1、2。

表 1 烧伤后不同时间点各组大鼠血浆白蛋白浓度测定(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	即刻	1 d	3 d	5 d	7 d
烧伤组	71	48.12 ±8.44	34.33 ±8.91	28.54 ±3.68^{b}	14.72 ±6.53^{b}	12.75 ±3.42^{b}
CSB 组	83	51.63 ±6.14	48.98 ±6.89^{a}	38.61 ±4.35^{ab}	24.05 ±3.62^{ab}	22.57 ±4.10^{ab}

正常对照组为(48.34 ±5.04) mmol/L; a: $P<0.01$, 与烧伤组比较; b: $P<0.01$, 与正常对照组比较

表 2 烧伤后不同时间点各组大鼠 ALT 浓度测定(IU/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	即刻	1 d	3 d	5 d	7 d
烧伤组	71	6.32 ±0.24	56.34 ±6.19^{b}	78.64 ±8.52^{b}	81.31 ±5.61^{b}	74.58 ±9.02^{b}
CSB 组	83	8.04 ±0.60	48.15 ±7.37^{ab}	58.21 ±5.43^{ab}	62.07 ±8.16^{ab}	56.87 ±5.88^{b}

正常对照组为(7.41 ±0.74) IU/L; a: $P<0.01$, 与烧伤组比较; b: $P<0.01$, 与正常对照组比较

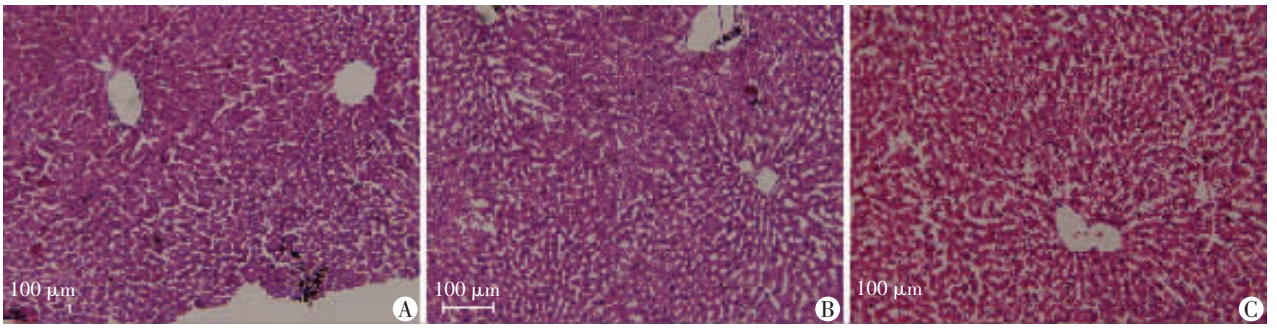
2.1.2 CSB 对大鼠肝脏结构的影响 大鼠严重烧伤早期主要表现为肝细胞浊肿,嗜酸性变,脂肪变性,可见较多小灶性肝细胞坏死;后期可见散在小片状肝细胞坏死,坏死灶中伴有大量中性白细胞等炎细胞浸润,邻近坏死灶周围肝细胞出现有核分裂像等肝细胞再生现象,肝窦内可见较多枯否细胞变性、坏死。经过 CSB 处理后,上述现象明显减轻,主要表现为肝细胞浊肿,嗜酸性变,肝细胞脂肪变性(图 1)。

2.1.3 CSB 对肝组织总抗氧化能力的影响 严重烧伤后,肝组织的总抗氧化能力即有明显降低($P<0.01$)。CSB 治疗组总抗氧化能力虽比正常对照组低,但各时相点均高于烧伤对照组($P<0.01$)。表明 CSB 治疗可能通过提高组织的抗氧化能力来减轻组织的损伤而发挥保护作用。见表 3。

表 3 烧伤后不同时间点各组大鼠肝组织总抗氧化能力测定(U/mg, $\bar{x}\pm s$)

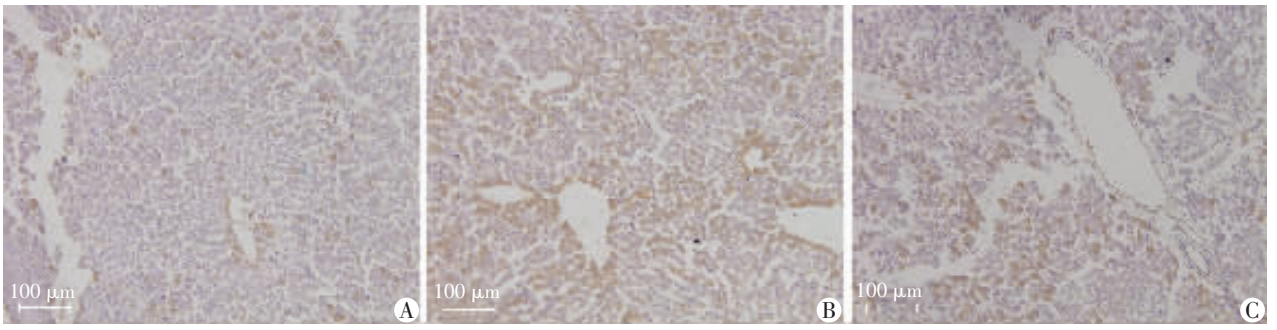
组别	n	即刻	1 d	3 d	5 d	7 d
烧伤组	71	3.42 ±0.36	2.85 ±0.41	2.52 ±0.25^{b}	2.29 ±0.11^{b}	2.31 ±0.20^{b}
CSB 组	83	3.29 ±0.47	3.16 ±0.17^{ab}	2.88 ±0.15^{ab}	2.71 ±0.16^{ab}	2.61 ±0.58^{ab}

正常对照组为(3.74 ±0.39) U/mg; a: $P<0.01$, 与烧伤组比较; b: $P<0.01$, 与正常对照组比较



A:对照组;B:CSB组;C:烧伤组

图1　烧伤后5 d各组大鼠肝脏病理改变(HE)



A:对照组;B:CSB组;C:烧伤组

图2　免疫组化观察烧伤后3 d各组大鼠肝脏Bcl-2的表达　(SABC)

2.1.4　CSB对肝组织Bcl-2表达的影响　免疫组化检测显示,CSB组肝组织中Bcl-2的表达较烧伤组明显增高,在伤后3 d最为明显。提示CSB可以通过增加Bcl-2表达来增强肝组织的抗凋亡能力(图2)。

2.2　CSB对烧伤大鼠肝脏保护作用的可能机制

2.2.1　CSB对大鼠血压的影响　与正常大鼠相比,烧伤组动物伤后血压下降明显($P<0.01$),而CSB组大鼠伤后血压有一定下降,但是下降程度不如烧伤组明显。提示CSB可以通过维持血压而发挥早期抗休克作用。见表4。

表4　烧伤后不同时间点各组大鼠动脉血压变化(mmHg, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	即刻	1 d	3 d	5 d	7 d
烧伤组	71	98.32±7.65	67.77±5.36^{b}	51.23±6.94^{b}	48.88±6.64^{b}	62.14±4.28^{b}
CSB组	83	104.47±3.36	90.58±5.69^{a}	82.69±3.81^{ab}	70.61±9.51^{ab}	82.05±2.36^{ab}

正常对照组为(102.24±3.33) mmHg;a:$P<0.01$,与烧伤组比较;b:$P<0.01$,与正常对照组比较

2.2.2　CSB对肝脏血流量的影响　伤后各组动物肝脏血流量有一定程度下降($P<0.01$),经过CSB处置后,动物肝脏血流量下降幅度减小,且集中在伤后3 d以前,说明CSB在伤后早期可有效保证伤后肝脏血流供应,从而发挥保护作用。见表5。

表5　烧伤后不同时间点各组大鼠肝脏血流量测定[ml/(min·g), $\bar{x}\pm s$]

组别	n	即刻	1 d	3 d	5 d	7 d
烧伤组	71	0.201±0.021^{b}	0.119±0.049^{b}	0.103±0.054^{b}	0.200±0.032^{b}	0.286±0.015
CSB组	83	0.302±0.041^{a}	0.284±0.024^{a}	0.16±0.023^{ab}	0.256±0.030^{ab}	0.317±0.041

正常对照组为(0.327±0.012) ml/(min·g);a:$P<0.01$,与烧伤组比较;b:$P<0.01$,与正常对照组比较

2.2.3　CSB对下丘脑血流量的影响　本实验结果显示,CSB治疗可显著提高伤后下丘脑的血供,说明对CSB可能通过增加下丘脑血流,供给能量,缓和下丘脑-垂体-肾上腺轴和下丘脑交感系统的过度紧张,从而发挥保护及改善其全身应激功能的作用。见表6。

表6　烧伤后不同时间点各组大鼠下丘脑血流量测定[ml/(min·g), $\bar{x}\pm s$]

组别	n	即刻	1 d	3 d	5 d	7 d
烧伤组	71	0.507±0.286	0.423±0.117	0.706±0.363	0.522±0.174	0.766±0.049
CSB组	83	1.013±0.113^{ab}	0.721±0.110^{ab}	0.944±0.438^{ab}	0.765±0.316^{ab}	0.799±0.327^{b}

正常对照组为(0.403±0.148) ml/(min·g);a:$P<0.01$,与烧伤组比较;b:$P<0.01$,与正常对照组比较

3　讨论

3.1　CSB对伤后动物肝脏的保护作用

肝为人体最大的腺体,它不仅分泌胆汁参与消化活动,而且有营养物质代谢、贮存糖原、解毒、吞噬防御等重要机能,肝功能的正常与否明显影响严重创伤患者的恢复。但是由于肝脏潜在的代偿能力和相应检查指标的局限性,使得在创伤早期肝功能的损伤不易被察觉。所以,对创伤后肝功能保护和对肝功能损伤的防治,是降低严重创伤患者病死率的重要环节[6]。在本研究中,大鼠严重烧伤后出现了转氨酶升高、白蛋白下降以及相应病理改变;经CSB处理后,上述病理生理改变得到明显改善。提示经CSB处理后,烧伤大鼠肝脏的功能及结构均得到了一定程度的保护。

3.2　CSB保护作用的外周机制

3.2.1　CSB能改善动物伤后血液动力学变化　创伤后,机体进入应激状态,血液进行全身重分布,通过

对血压、器官血流灌注量的调节优先保证血液对心、脑、肺等脏器的血液供应，而对于其余内脏器官以及皮肤、四肢等血供减少。这是导致肝、胃肠等脏器功能损害的重要原因。本研究结果表明，与正常大鼠相比，严重烧伤动物伤后血压及肝脏血流灌注量下降明显，经 CSB 处理后，大鼠伤后血压得到明显改善，肝脏血流量虽有一定程度下降，但下降幅度较烧伤组明显减小。说明 CSB 可以通过维持血压稳定来促进全身各脏器血流灌注，改善组织缺血缺氧状态[7,8]。

3.2.2 CSB 能增强肝组织抗氧化能力 在正常生理状态下，体内的一系列化学反应生成活性氧自由基，当氧自由基不能及时清除时，就能引发脂质过氧化作用，造成细胞损伤并导致疾病和机体损伤[9]。肝脏代谢旺盛，对氧具有高度依赖性和敏感性，所以肝脏组织也是机体极易受氧化损伤的组织。本研究表明，严重烧伤后大鼠肝组织总抗氧化能力明显降低，必然造成体内活性氧大量堆积，这可能是烧伤后肝脏功能与结构损害的原因之一。经 CSB 处置后，肝组织总抗氧化能力得到了一定提高，这可能与 CSB 保证伤后肝脏血流灌注，改善了组织缺血缺氧的状态有关。

3.2.3 CSB 能增强肝组织抗凋亡能力表达 严重创伤及休克所导致急性肝损害中，除了肝细胞坏死外，细胞凋亡也是其重要的表现形式。Bcl-2 基因家族是哺乳动物细胞中调节凋亡的最重要的调控基因，其家族成员 Bcl-2 是目前发现的抗凋亡作用最强的基因之一。在本研究中，CSB 组较烧伤组的肝组织 Bcl-2 表达水平升高，提示 CSB 可能对增强肝组织的抗凋亡能力，抑制细胞过度凋亡的发生、拮抗细胞损伤、促进修复等方面具有重要作用，这些很可能是 CSB 治疗具有较好的肝脏保护效应的机制之一[10,11]。

3.3 CSB 保护作用的中枢机制

创伤后应激主要通过下丘脑-垂体-肾上腺轴（HPA 轴）和交感-肾上腺髓质轴进行。创伤后大量糖皮质激素释放，在早期可以起到增强机体耐受力、抑制体内炎性反应的作用，但是随时间和强度的推移则可诱发机体免疫功能失调，对机体造成巨大伤害；创伤后血浆肾上腺素等物质浓度迅速升高，产生一系列代谢和功能改变，在一定范围内有利于机体的防御、代偿不足之处，但是如果机体处于持续的强烈应激状态，交感-肾上腺髓质系统持续兴奋，可引起器官缺血、外周小血管持续收缩、血液粘度升高、过多的能量消耗、脂肪过氧化物生成等，最终造成机体的损害[12,13]。

在前期研究中，我们已证实 CSB 可有效抑制创伤后糖皮质激素和儿茶酚胺类物质的过度释放[3,4]，保证了各脏器组织局部血供及良好的耐受性，这很好的解释了本研究发现的肝组织抗氧化能力、抗凋亡能力增强等现象。而在本研究我们进一步发现，经 CSB 处置后，可显著提高伤后下丘脑的血供，在创伤后全身低灌注状态的前提下重点保证了下丘脑的血供，缓和下丘脑-垂体-肾上腺轴和和下丘脑交感系统的过度紧张，从整体上调节机体神经-内分泌-免疫网络的功能，促进内稳态的恢复，这可能是 CSB 对严重烧伤动物产生保护效应的重要机制[14,15]。

参考文献：

[1] Griffiths B, Anderson I D. Sepsis, SIRS and MODS[J]. Surgery (Oxford), 2009, 27(10): 446 - 449.
[2] Serpell M. The role of the sympathetic nervous system and pain[J]. Anaesthesia & Intensive Care Medicine, 2008, 9(2): 75 - 78.
[3] 李新，涂柳，李敏，等. 颈交感神经阻滞对严重烧伤大鼠的救治作用及其机制研究[J]. 现代生物医学进展，2010，10(3)：425 - 428.
[4] 陆建华，粟永萍，程天民，等. 颈交感神经阻滞对放烧复合伤小鼠的治疗作用[J]. 第三军医大学学报，2005，27(12)：1253 - 1255.
[5] 李新，涂柳，李敏，等. 颈交感神经阻滞对严重烧伤大鼠肾脏的保护作用及其机制研究[J]. 现代生物医学进展，2010，10(2)：201 - 204.
[6] Schilsky M L, Honiden S, Arnott L, *et al*. ICU management of acute liver failure[J]. Clin Chest Med, 2009, 30(1): 71 - 87, viii.
[7] Tsukamoto T, Chanthaphavong R S, Pape H C. Current theories on the pathophysiology of multiple organ failure after trauma[J]. Injury, 2010, 41(1): 21 - 26.
[8] Holcomb J B, Spinella P C. Optimal use of blood in trauma patients[J]. Biologicals, 2010, 38(1): 72 - 77.
[9] Kovacic P, Somanathan R. Ototoxicity and noise trauma: electron transfer, reactive oxygen species, cell signaling, electrical effects, and protection by antioxidants: practical medical aspects[J]. Med Hypotheses, 2008, 70(5): 914 - 923.
[10] Maier M, Geiger E V, Henrich D, *et al*. Apoptosis differs in dendritic cell subsets early after severe trauma[J]. Hum Immunol, 2009, 70(10): 803 - 808.
[11] Reed J C. Proapoptotic multidomain Bcl-2/Bax-family proteins: mechanisms, physiological roles, and therapeutic opportunities[J]. Cell Death Differ, 2006, 13(8): 1378 - 1386.
[12] Gillespie C F, Bradley B, Mercer K, *et al*. Trauma exposure and stress-related disorders in inner city primary care patients[J]. Gen Hosp Psychiatry, 2009, 31(6): 505 - 514.
[13] Mueser K T, Lu W, Rosenberg S D, *et al*. The trauma of psychosis: posttraumatic stress disorder and recent onset psychosis[J]. Schizophr Res, 2010, 16(2/3): 217 - 227.
[14] Lipov E G, Joshi J R, Sanders S, *et al*. A unifying theory linking the prolonged efficacy of the stellate ganglion block for the treatment of chronic regional pain syndrome (CRPS), hot flashes, and posttraumatic stress disorder (PTSD)[J]. Med Hypotheses, 2009, 72(6): 657 - 661.
[15] 王军平，粟永萍. 交感神经调节在严重创伤救治中的作用与展望[J]. 第三军医大学学报，2009，31(1)：10 - 12.

（收稿：2010-02-23 修回：2010-06-28）
（编辑 王小宴）