DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.02.008

严重烧伤病人血清 TNF 活性变化及其意义

刘旭盛 罗中华 杨宗城 黄文华 黎 鳌 (第三军医大学西南医院烧伤研究所) 630038

提 要 本文采用生物法检测了 24 例严重烧伤病人血清 TNF 活性,同时观察了心、肝血清酶、血乳酸、血糖、血清蛋白以及 WBC 等的变化。结果提示伤后 TNF 大量产生,引起血管内皮细胞损害和变性,形成血栓致组织缺血缺氧,加上 PMN 释放增加,趋化聚集于受损脏器并活化产生大量毒性物质,损伤组织器官,导致 OI 甚至 MOF 的发生发展。TNF 又通过内生性致热原和恶病质作用,使机体发热、糖元耗竭,肌肉蛋白分解及消耗增加等,降低机体防御功能,易于发生严重感染和恶病质状态,有助内脏功能损害的发生发展。

关键词 灼伤;肿瘤坏死因子;多器官衰竭

肿瘤坏死因子(TNF),又被称作恶病质素[1]。人类 TNF 是一分子量为 17KDa 的非糖基化的蛋白质,它主要由单核吞噬细胞产生,并具有广泛的生物学活性,已有学者研究发现 TNF 在许多疾病过程中起着重要作用[2~6],但有关烧伤后,尤其烧伤病人 TNF 活性变化的研究尚不多见,对其变化的意义也不甚明了。为此本文观测了 24 例严重烧伤病人伤后血清 TNF 活性的变化,并结合内脏功能损害等情况探讨其意义。

1 材料与方法

本研究选取 24 例烧伤病人(男 17 例,女 7 例),年龄 18~43 岁,平均烧伤总面积为 70%±21%TBSA,死亡 3 例。24 例病人中有 9 例发生重度休克,9 例发生全身性感染(其中败血症 11 例次,创面脓毒症 3 例次),24 例病人中有 7 例发生内脏功能损害(OI,均有肺功能衰竭),其中 3 例发生 MOF(累及心、肝、肺、肾),MOF 诊断标准根据杨宗城等的标准[7],24 例病人均于伤后 1、2、3、5、7、10、14、21 d 采取血标本,同时检测血常规、血浆乳酸和血清 TNF 活性以及血清心、肝酶的活性。

血清 TNF 活性的测定:参照 Flick[8]等的方法,无菌采血分离血清,以小鼠成纤维母细胞瘤(L_{929})细胞株为靶细胞,用 Beckman Du-7 紫外分光光度计,550nm 波长测定光密度,检测血清对 L_{929} 细胞的杀伤率,以此表示血清 TNF 活性,计算公式为:(Act-D:放线菌素 D)

$$\text{TNF 活性}=L_{929}\text{细胞杀伤率}=1-\frac{\text{标本 OD 值}}{\text{ActD 对照 OD 值}}$$

正常对照组取自 21 例健康成人献血员的标本。

统计学处理:所有结果均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,数据均行单因素方差分析和相关分析,* 表示差别显著($P<0.05$),※表示差别非常显著($P<0.01$)。

2 结果

2.1 体温(Tem)、白细胞(WBC)、中性粒细胞(PNM)和血小板(BPC)的变化(见表 1)

表 1 24 例烧伤病人体温、白细胞、中性粒细胞、血小板的动态变化

Tab 1 Dynamic Changes of Tem WBC PMN BPC in Burn Patients ($n=24$)

Indices	Normal	POSTBURN DAY							
		1PBD	2PBD	3PBD	5PBD	7PBD	10PBD	14PBD	21PBD
Tem (℃)	36.3~37.2	37.45 ±0.82	38.09 ±0.85*	38.07 ±0.88*	38.03 ±0.79*	38.19 ±0.94*	37.97 ±0.91*	37.63 ±1.03	37.92 ±0.91*
WBC (/mm³)	4~10(×10³),	20.06 ±7.6*	10.03 ±3.78	8.16 ±2.64	7.3 ±2.77	9.72 ±4.25	11.09 ±5.21	11.73 ±4.68	9.48 ±2.13
PMN (%)	50~70	89.7 ±6.35*	79.3 ±3.47*	79.4 ±7.94*	79.2 ±7.62*	79.6 ±9.03*	80.3 ±8.99*	81.4 ±7.45*	77.5 ±7.21*
BPC (/mm³)	100~300(×10³)	60 ±42.43	40.5 ±25.14*	70.4 ±40.23	103.7 ±79.15	104 ±55.96	152 ±81.5	201 ±73.94	178.5 ±82.04

* postburn *vs* normal

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

由表 1 可见，伤后体温升高，WBC 先升高后降低，PMN 比率明显升高，而 PBC 则早期降低。且这些变化均在 OI 组尤其 MOF 病人更明显。

2.2 血清心肌酶的变化（见表 2）

表 2 24 例烧伤病人心肌酶谱的动态变化

Tab 2 Dynamic Changes of Myocardial Enzymes (IU/L) in Burn Patients (n =24)

	Normal	POSTBURN DAY							
		1PBD	2PBD	3PBD	5PBD	7PBD	10PBD	14PBD	21PBD
AST	7～35	46.62 ±22.3	53.96 ±35.47	49.58 ±41.44	56.36 ±45.33*	48.33 ±38.61	41.44 ±20.43	46.53 ±41.38	35.67 ±21.49
CPK	10～120	327.33 ±176.11*	460.38 ±396.52*	329.59 ±356.97*	338.61 ±367.1*	183.68 ±193.12	137.32 ±150.36	98.97 ±127.84	64.24 ±100.02
LDH	55～135	231.17 ±83.2*	213.5 ±115.02*	176.16 ±87.96	171.32 ±81.54*	162.7 ±65.06	149.75 ±72.16	132.05 ±41.37	120.6 ±49.57
αHBDH	65～165	333.0 ±164.54	286.83 ±177.31*	214.53 ±108.33	235.91 ±143.25*	247.15 ±134.1*	194.4 ±91.22	166.83 ±66.61	150.71 ±46.97

表 2 显示四种酶均升高。且它们在 OI 组和 MOF 组分别较 non-OI 和 non-MOF 组升高更明显。

2.3 血清肝脏酶的变化（见表 3）

表 3 24 例烧伤病人的肝脏酶动态变化

Tab 3 Dynamic Changes of Hepatic Enzymes (IU/L) in Burn Patients (n =24)

	Normal	POSTBURN DAY							
		1PBD	2PBD	3PBD	5PBD	7PBD	10PBD	14PBD	21PBD
ALT	4～30	128.14 ±243.36	49.93 ±39.90	63.42 ±104.65	59.09 ±84.97	41.55 ±23.22	43.3 ±19.46	50.78 ±28.33	49.64 ±25.03
LDH	55～135	235.75 ±187.5	149.69 ±98.04	166.05 ±147.38	123.67 ±89.46	107.78 ±32.93	119.84 ±57.2	102.38 ±40.75	99.85 ±48.85
ALP	40～170	85.75 ±33.89	97.23 ±76.83	91.65 ±24.72	101.91 ±38.27	127 ±57.48	172.26 ±90.59	173.47 ±71.58	154.64 ±49.75
GGT	5～30	10.25 ±3.5	15.54 ±15.05	16.15 ±13.45	25.56 ±38.37	41.68 ±44.02	51.37 ±48.38	46.24 ±36.18	42.29 ±32.44

表 3 显示血清四种肝脏酶伤后均升高。其中 ALT、LDH 均在伤后早期 OI 组、MOF 组明显高于 non-OI 和 non-MOF 组。

2.4 血浆乳酸（LA）、胶体渗透压（COP）、血糖（Su）和血清总蛋白（TP）、白蛋白（Alb）的变化

表 4 24 例烧伤病人血浆乳酸、胶体渗透压、血清总蛋白、白蛋白和血糖的动态变化

Tab 4 Dynamic Changes of Blood Levels of LA, COP, TP, Alb, Su in Burn Patients (n =24)

Indices	Normal	POSTBURN DAY							
		1PBD	2PBD	3PBD	5PBD	7PBD	10PBD	14PBD	21PBD
LA(mmol/L)	1.97 ±0.49	5.83 ±2.3*	5.86 ±4.7*	4.65 ±1.98*	3.26 ±2.06*	2.67 ±0.82*	2.97 ±0.99*	3.33 ±1.1*	3.39 ±1.2*
COP(mmHg)	21 ±2	13.56 ±2.59*	13.8 ±2.0*	14.82 ±2.44*	14.57 ±2.71*	14.27 ±2.2*	15.31 ±2.37*	14.95 ±2.42*	16.45 ±1.28*
TP(g/L)	50～70	50.13 ±6.26*	50.26 ±4.47*	49.43 ±5.74*	50.27 ±5.91*	51.41 ±6.87*	54.83 ±7.46*	57.84 ±5.62	59.37 ±6.29
Alb(g/L)	35～55	34.29 ±2.67	34.46 ±3.13	33.52 ±3.57	33.09 ±4.14*	32.71 ±3.97*	32.95 ±4.57	31.96 ±4.94*	32.86 ±3.68
Su(mmol/L)	3.9～6.1	9.33 ±5.11	6.77 ±2.62	5.95 ±2.38	5.26 ±1.77	6.15 ±3.24	6.46 ±3.06	5.31 ±2.73	5.0 ±2.91

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 4 显示 LA 伤后明显升高，Su 先高后低，而 TP、COP、ALb 均明显降低，这些变化均在 OI 组、MOF 组更显著。

2.5 血清 TNF 的活性变化

表 5 24 例烧伤病人血清 TNF 活性的动态变化

Tab 5 Dynamic Changes of Activity of Serum Tumor Necrosis Factor in Burn Patients ($n=24$)

Control ($n=21$)	POSTBURN DAY							
	1PBD	2PBD	3PBD	5PBD	7PBD	10PBD	14PBD	21PBD
0.168 ±0.097	0.863 ±0.04*	0.846 ±0.05*	0.817 ±0.05*	0.693 ±0.05*	0.654 ±0.07*	0.560 ±0.11*	0.438 ±0.08*	0.157 ±0.135

表 6 MOF 及 non-MOF 组病人血清 TNF 活性的不同变化

Tab 6 Difference of TNF activity between MOF & non-MOF

	n	POSTBURN DAY			
		1PBD	2PBD	3PBD	5PBD
MOF	3	0.9096	0.8341±0.064	0.8102±0.018	0.7439±0.017*
non-MOF	21	0.8445±0.031	0.8475±0.046	0.8182±0.057	0.6855±0.051

表 7 OI 及 non-OI 组病人血清 TNF 活性的不同变化

Tab 7 Difference of TNF activity between OI & non-OI

	POSTBURN DAY							
	1PBD	2PBD	3PBD	5PBD	7PBD	10PBD	14PBD	21PBD
OI (7)	0.8416 ±0.059	0.8349 ±0.057	0.8180 ±0.027	0.7261 ±0.044*	0.6612 ±0.06	0.5476 ±0.112	0.4491 ±0.068	0.1684 ±0.197
non-OI (17)	0.8629 ±0.014	0.8569 ±0.041	0.8175 ±0.063	0.6791 ±0.049	0.6525 ±0.07	0.5637 ±0.112	0.4351 ±0.09	0.1460 ±0.123

2.6 相关分析

TNF 与血清酶的相关性。

表 8 MOF 组血清 TNF 与心肝酶的相关性

Tab 8 Correlation between TNF and some enzymes in MOF group

	CPK	αHBDH	H-LDH	ALT	L-LDH
R	0.6865	0.8245	0.8085	0.738	0.7365
P	<0.05	<0.01	<0.01	<0.05	<0.05

另外，OI 组 TNF 与 ALT 的相关性 $r=0.6128$，$P<0.05$，与肝酶 LDH 的相关性 $r=0.7736$，$P<0.01$

3 讨论

TNF 的氨基酸序列具有高度的进化保守性，因而其作用无种属特异性[1]。它主要由单核吞噬细胞系统产生，如血液单核细胞、组织巨噬细胞（枯否氏细胞、腹腔及肺泡巨噬细胞）[9]；能刺激 TNF 产生的因素有很多，如 LPS、细菌、病毒、寄生虫、白介素及 TNF 本身等[1]。

TNF 的生物作用是广泛的[1]，如恶病质效应，致发热、促肌肉蛋白分解，刺激 PMN 生成、释放和趋化反应，并活化产生大量毒性产物损伤组织细胞，使其和血小板粘附于受损内皮细胞形成血栓致组织缺血缺氧；TNF 又可作用于内皮细胞使其表面成为促凝性而粘附性增强，易致血栓形成；TNF 又可使内皮细胞分泌递质而使 PMN 粘附、活化[2,10]，TNF 对内皮细胞又具有直接毒性。TNF 又可激活破骨细胞促进骨吸收，作用于肝细胞抑制白蛋白的生成和促进某些急性期蛋白合

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

成[9,10]。

有学者检测了烧伤后 TNF 活性变化[5]，发现其升高与严重感染和病死率明显相关；另有学者静脉注射重组人 TNF 给大鼠[3]，结果发生了广泛的内脏器官功能损害。

由表 5 可见，本组血清 TNF 活性伤后立即明显升高，且直到伤后 21 d 才接近正常对照，提示伤后有大量 TNF 产生，其机制可能是严重烧伤后发生的体液大量丢失，甚至严重休克造成组织缺血缺氧，大量产生的坏死组织和某些递质如补体活化，以及应激反应等，激活了单核吞噬细胞系统(MPS)，从而使 TNF 大量产生。从表 6、表 7 又可见，OI 组的血清 TNF 水平较 non-OI 组升高更明显，而发生 MOF 者升高更早，且升高后持续于高水平更久，并与心、肝酶的变化趋势相同，由表 8 可见在 OI 组及 MOF 病人，TNF 与心、肝酶变化均明显正相关。这些结果显示：血清 TNF 与内脏功能损害甚至 MOF 的发生密切相关，但其具体机制尚不完全清楚。

从本组资料结合文献，TNF 损伤脏器可能与下列因素有关。首先，TNF 对组织细胞尤其血管内皮细胞有直接毒性作用，造成组织细胞结构破坏、功能障碍。TNF 又能改变内皮细胞表面的抗凝特性，使其成为促凝性[1,2,10]，同时促进内皮细胞分泌 ELAMs(内皮、白细胞粘附分子)，组织因子等，后者可与 TNF、IL-1 等共同作用于内皮细胞和白细胞，增强其粘附性，使白细胞和血小板粘附于内皮细胞形成血栓和栓塞，甚至发生 DIC。本组伤后第 2 天 WBC 和血小板有降低趋势，且以 OI 组尤其 MOF 病人更明显(表 1)，MOF 死亡病人内脏组织亦发现有血栓形成，提示 WBC 和血小板因参与血栓形成而消耗。而本组血乳酸(LA)水平伤后明显升高，且在 OI 组和 MOF 病人更明显，并与 TNF 的变化明显正相关，提示 TNF 使内皮细胞损害和通过上述机制，加重组织缺血缺氧，使糖无氧酵解增强，使 LA 产生增多，同时致内脏功能损害。再者 TNF 可促进 PMN 自骨髓释放、趋化和活化[1]，造成组织细胞损伤。本组血 WBC 先升高后回降及 PMN 比率明显升高，提示 PMN 在伤后释放增多，并趋化至炎症部位聚集，分泌众多毒性产物，参与内脏功能损害[1]。这可能是其主要的机制。TNF 又可促进骨髓细胞分化形成单核巨噬细胞[1]，并诱导其释放 TNF 和 IL-1 等，形成恶性循环，加重组织损伤。TNF 又可作为内生性致热原使机体发热，加重消耗，使分解代谢增强和机体抵抗力降低，本组体温伤后均明显升高(表 1)，其与 TNF 作用可能有关。TNF 又能调节糖代谢[1]，促进糖元分解使血糖升高，数小时后促进新合成的己糖转运子的表达和组织摄入葡萄糖增加；本组血糖即呈先高后降低的趋势，终致细胞糖元耗竭，影响机体的能量储备和营养代谢，尤其蛋白质代谢。而 TNF 又具有恶病质作用[1,9]，引起厌食、贫血、消瘦等，其与 TNF 对糖代谢和脂代谢的影响有关。TNF 又可影响蛋白质代谢，促进肌肉蛋白分解，释放氨基酸增加[11]，使机体呈负氮平衡，降低机体自身防御功能；本组血清 TP、Alb 及血浆 COP 伤后明显降低，并在 OI 组和 MOF 病人更明显，间接反映了负氮平衡及蛋白合成减少，而伤后病员厌食、消瘦和贫血等，均提示 TNF 的上述作用，这些均有助于 OI、MOF 的发生发展。

参考文献

1. Le Junming, Vilcek Jan. Tumor necrosis factor and interleukin-1: cytokines with multiple overlapping biological activities. Lab Invest, 1987; 56 (3): 234～248

2. Hyers Thomas M, Gee Marlys, Andreadis Nicholas A. Cellular interactions in the multiple organ injury syndrom. Am Rev Resp Dis, 1987; 135(4, part 1 of 2 parts): 952～953

3. Tracey KJ, Beutler Bruce, Lowry SF, et al. Shock

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

and tissue injury induced by recombinant human cachectin. Science, 1986; 234: 470～474

4. Goldblum SE, Jay M, Yoneda K, et al. Monokine induced acute lung injury in rabbits. J Appl Physiol, 1987; 63: 2093～2100
5. Marano Michael A, Fong Yuman, Moldawer Lyle L, et al. Serum cachectin/tumor necrosis factor in critically ill patients with burns correlates with infection and mortality. Surg Gyn Obst, 1990; 170: 32～38
6. Marano Michael A, Moldawer Lyle L, Fong Yuman, et al. Cachectin/TNF production in experimental burns and pseudomonas infection. Arch Surg, 1988; 123(11): 1383～1388
7. 杨宗城 赵琢道 黄跃生。烧伤后多脏器功能衰竭发病机理的临床研究。中华整形烧伤外科杂志, 1992; 8(1): 8～12
8. Flick David A, Gifford George E. Comparison of in vitro cell cytotoxic assays for tumor necrosis factor. J Immunol Methods, 1984; 68: 167～175
9. Fong Yuman, Lowry Stephen F. Tumor necrosis factor in the pathophysiology of infection and sepsis. Clin Immun Immunopath, 1990; 55: 157～170
10. Tonnesen Marcia G. Neutrophil-endothelial cell interactions: mechanisms of neutrophil adherence to vascular endothelium. J Invest Dermatol, 1989; 93(2 suppl): S53～S58
11. Evans Rhys D, Argiles Josep M, Williamson Dermot H. Metabolic effects of tumor necrosis factor-α (cachectin) and interleukin-1. Clinical Sci, 1989; 77: 357～364

(收稿: 1992-07-21; 修回: 1992-11-18)

Significance of the changes of serum tumor necrosis facror activity in patients with severe burns

Liu Xusheng, Luo Zhonghua, Yang Zongcheng, et al (Burn Institute, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The dynamica changes of the activity of serum tumor necrosis factor (TNF) was determined in 24 patients with severe burns, and the changes of cardiac and hepatic enzymes, plasma lactate and glucose, serum protein, WBC count etc were determined as well. It was found that TNF was produced in large amounts to damage and degenerate the vascular endothelium. Consequently intravascular emboli were more liable to occur to result in tissue hypoxia. TNF could also induce the release of polymorphonuclear neutrophils (PMNs) from the bone marrow. PMNs by chemotacsis accumulated in the inflammatory tissues to produce large amounts of toxic products, which could damage the cells and tissues directly to result in multiple organ failure. Furthermore, TNF, through the mediation of pyrogen and cachectin, could induce febrile reaction, exhaustion of glycogen reserve, and increment of muscular protein catabolism. Eventually the energy consumption of the host would be incresed and his defensive function weakened.

Key words burns; tumor necrosis factor; multple organ failure

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net