DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.01.001

论 著

肠源性感染的实验研究

马 利 黎 鳌 肖光夏 Edwin A Deitch* (西南医院 烧伤研究所)

提 要 感染仍然是外科危重病人的主要死因之一。30% 以上死于感染和多脏器功能衰竭病人的感染病灶，即使在尸检时也从未明确。多数感染都是由G⁻杆菌、肠球菌以及白色念株菌这一类肠道常驻菌群所致。设想肠道可以是全身感染的感染源。细菌经由肠道通过肠粘膜侵入肠系膜淋巴结及体内其他脏器中的过程，国外称之谓“细菌的移居”，我们长期以来称之为“肠源性感染”。

在外科临床上，休克、营养不良、内毒素血症及以肠道内容物郁滞为特征的肠麻痹等因素常常合并存在，这些因素对于临床的感染率和病死率有促进作用。为澄清它们与肠源性感染之间的关系，本实验选用950只无特殊致病动物及无菌动物，以细菌学研究为主，病理学观察为辅，结合生化和药理学方法，利用烧伤、出血性休克、内毒素血症、蛋白质营养不良及小肠梗阻等不同动物模型，从多个方面，不同层次，对创伤后早期阶段肠源性感染的发生、发展等方面进行了系统的研究。结果发现：烧伤后早期肠道内细菌可以侵入体内；一定时限的低血容量性休克能够造成肠源性感染；循环中的内毒素可以促进肠道中细菌的侵入，蛋白质营养不良对内毒素上述的致病作用具有协同作用以及单纯小肠梗阻后肠道内细菌可进行性地侵入体内；最终导致致死性的肠源性感染。实验证明，创伤后早期阶段，肠源性细菌感染途径是明确存在的，且可以是致死性的。

关键词 肠源性感染；烧伤；出血性休克；内毒素血症；蛋白质营养不良；肠梗阻

AN EXPERIMENTAL STUDY OF THE BACTERIAL TRANSLOCATION FROM GUT

Ma Li, et al (Burn Research Institute, Southwest Hospital, Third Military Medical College)

Infection continues to be one of the leading causes of death in critically ill surgical patients. However, in more than 30% of bacteremic patients dying of sepsis and multiple organ failure no septic focus could be identified either clinically or at autopsy. The majority of these infections are due to gram-negative bacilli, enterococci, and C. albicans, microbes that are normally found primarily in the gastrointestinal (GI) tract. Recently, however, it has been recognized that the GI tract may serve as a reservoir for systemic infection in these patients.

Because surgical patients are frequently suffered from shock, malnutrition, endotoxemia and ileus with its attednant stasis of intestinal contents, and many

*美国路易斯安娜州Shreveport医学院外科

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

of these predisposing factors are often found together. The capability of the gut to maintain its mucosal barries against the escape of microbes may be severely comporomised, systemic escape of gut microbes and toxins may have important consequences in such critically ill patients. The passage of viable indigenous bacteria from the GI tract through the intact epithclial mucosa to the mesenteric lymph nodes (MLN) and other organs has been termed bacterial transloction or gut origin septic states.

The goal of the current study was to determine whether 1. a nonlethal thermal injury would promote the bacterial translocation from the GI tract to the MLN, spleen, liver in mice receiving 25% total body area burns, and in mice that has been antibiotic decontaminated and monoassociated with Escherichia coli before receiving the 25% burns; 2. limited period of hypotension could induce bacterial translocation from the gut in a model of hemorrhagic shock; 3. endotoxin challenge could promote bacteria normally colonizing the gut spread systemically; 4. endotoxin could act synergistically with protein-malnutrition to promote bacterial translocation; 5.after simple intestinal obstruction, bacteria could translocate across the viable intestinal wall to cause systemic infection.

No viable bacteria were cultured from the MLN or other organs from control animals. However, 74% of the Balb-c mice receiving 25%burns exhibited viable bacteria in their MLN 24 hours after the thermal injury;in antibiotic-decontaminated mice, E. coli at a higher incidence and greater numbers translocated to the MLN, spleen, liver and blood of the burned mice. 80%of the mice received 2mg of endotoxin exhibited viable bateria in their MLN. Bacteria translocated to the MLN and other systemic organs in all of the animals subjected to hemorrhagic shock, whereas bacterial transloction did not occur in the control, instrumented rats subjected to sham shock. However, the combination of malnurition plus endotoxin was associated with a higher incidence of bacterial translocation to the systemic organs and higher numbers of bacteria per organ than was seen in normally nourished mice receiving endotoxin only. within 6 hr of simple intestinal obstruction, bacteria had translocated to the MLN and within 24 hr after intestinal obstruction, bacteria had spread to the liver, spleen and blood stream.

All of these results support the concept that indigenous gastrointestinal flora or exogenous organisms colonizing the GI tract may be a potential reservoir for systemic bacterial infection following thermal injury, endotoxemia, endotoxemia plus malnutrition and intestinal tract obstruction.

Key words: bacterial translocation; thermal injury; hemorrhagic shock; endotoxemia; malnutrtion; intestinal obstruction

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

前　言

人们在改造客观世界的同时也在改造主观世界，而主观世界的转变对于客观世界的进步具有推动作用。医学科学就是在主观和客观对立统一的运动中向前发展的。

肠源性感染是论述肠道细菌通过肠粘膜侵入体内感染的过程。这是80年代，尤其是近几年来在外科领域中渐被重视的一个新的研究课题。因为多年来临床学家在预防和控制感染方面虽费尽心机，但是感染的发病率和病死率仍顽固地滞留在一个不易再下降的水平。严酷的现实，迫使人们去思考：诸如，目前所用的各种防治感染的方法是否都尽合理？感染的细菌究竟从何处而来？真正的感染源到底隐藏在什么地方？等等。当这些严肃的问题被相继提出后，再经过人们的周密思考，探索的目光从“外源”转向“内源”，肠道是首先被怀疑的感染源。

虽然在多数情况下，感染的原发病灶能够被发现，但仍有部分病例的原发病灶即使是在尸检时也从未能得到明确。临床观察和动物实验提示，肠道往往是这种原因不明感染的原发病灶。肠道内细菌从肠道通过肠粘膜侵入到肠道以外的部位，例如肠系膜淋巴结、肝脏、脾脏、血液以至全身的感染过程被称之为细菌的移居（Bacterial Translocation），临床上则习惯把这种情况称之为“肠源性感染”（Gut Origin septic states）。目前的观点是，细菌经由肠道侵入形成的肠源性感染是外科临床上感染发生率难以降低的主要原因（4—4）。

我所早在1962年就提出肠源性感染的问题。1984年我们又在烧伤动物实验中得以证实，早至烧伤后3h，肠道中的细菌已开始侵入体内。肠源性细菌感染的发生率以及肠道细菌侵入体内的菌量之高都曾给我们留下深刻的印象。我们还发现，严重烧伤后肠粘膜机械性屏障的损伤以及肝脏网状内皮系统功能下降都与肠源性感染的发生密切相关。并根据肺脏中检出菌量较高且同时合并有肺水肿存在的事实，进一步提出肠源性感染在创伤后多脏器功能损伤的发病机制中起重要作用的概念。这是最早系统研究肠源性感染的文献之一。

严重烧伤后造成机体防御功能改变的因素很多。肠粘膜的应激性损伤固然是重要原因之一，但诸如内毒素血症，急、慢性蛋白质营养不良，肠麻痹等因素往往也合并存在。仅烧伤后肠粘膜损伤的发生机制也是复杂的。我们想一一澄清这些因素与肠源性感染的关系。

肠道菌群失调是临床常见并发症之一。这一因素对促进肠源性感染的发生尤为重要，在我们以前工作中尚未加以证明。出血性休克是最常见的创伤反应形式，与烧伤后休克相比较两者有许多共同之处。由于出血性休克没有创面因素的干扰，因此便予观察肠源性感染的发生和发展。这些问题本次研究均予以列入。

基于上述概念我们计划进行烧伤、细菌内毒素，肠道菌群紊乱、蛋白质营养不良，肠道梗阻以及出血性休克等多种外科临床常见情况与肠源性感染发生之间关系的研究，并将肠粘膜机械性屏障损伤的因素作为探讨肠源性感染发生机制的重点内容，希望对临床的诊疗与防治提供一些实验研究依据。

材　料　和　方　法

一、实验动物及动物准备

无特殊致病菌小鼠(Specific Pathogen—free, SPF), Crl: CD-1 (ICR) (BR Swiss), (Harlan Sprague Dawley Breeding Lab, Indianapolis, IN)，共950只。鼠龄8周，雄雌各半，随机分组。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

动物是在配有温度，温度和光线自动调控装置的半无菌隔离环境下饲养的。用标准SPF动物饲料（Diet 5001 Ralston Purina Co, St. Louis Mo）和酸化水（0.001N盐酸）。饲养动物的粮食中含有17%蛋白质，11%脂肪以及各种微量元素、维生素和矿物质。

无菌小鼠（Germfree, GF），（Swiss Crl, outrbred ICR）购自Charles River实验动物饲养中心（Wilmington, Mass）。在维尼龙无菌隔离罩中饲养（Germfree Supply Division, Standard Equipment Co. Palatine ILL）。动物饲养隔离罩带有空气层流自动装置。并用含有0.1%Bio—Soft—N—300去垢剂（TEA Linear alkylate Sulfonate, 60% active, Stepan Chem. Co, Northfield ILL）的2%过乙酸溶液（FML Corp,Dufflo NY）进行消毒。用标准无菌动物饲料（Lab Chow 5010 Ralston Purina Co, Inc, st Louis, MO）饲养动物。动物饲料、饮用水以及隔离罩中使用的所有物品均置入真空无菌消毒室（bulk sterilizer chamber）（Hoeltge, Inc, Cincinnati, OH）中经过消毒处理后送入动物饲养隔离罩内。动物饲养条件符合全美实验动物管理委员会标准。本实验均经过美国路易斯安娜州立大学Shreveport医学院实验动物管理委员会验证和批准。

Tungstate饲料（ICN Biochemicals, Cleveland Ohio）这种特殊动物饲料中不含有钼（Molysdennm），但含有正常量的营养物质，包括维生素、矿物质以及其他微量元素，这种饲料能够灭活动物消化道粘膜中的黄嘌呤氧化酶。动物在接受Tungstate饲料饲养的3周期间均饮用三重去离子水，以防止动物食入任何钼元素。

Allopurinol（Sigma. St, Louis, MO）别嘌呤醇，为黄嘌呤氧化酶。抑制剂。将其溶解于生理盐水中，经胃管给动物口服，1次／日，连续2天，剂量为50mg／kg／日。

二、抗生素“清洁”动物肠道和肠道接种单株大肠杆菌C_{25}的方法

在动物饮用水中加入青霉素0.9mg/ml，链霉素4mg/ml和杆菌肽4mg/ml。连续饮用4天后，经胃管给动物肠道接种单株大肠杆菌C_{25}菌液，菌量为3×10^8/ml，0.2ml/只。在整个实验阶段动物仍持续饮用该抗生素液体，大肠杆菌C_{25}是一种对链霉素耐药的菌株，培养基选用供G^-杆菌生长的选择性培养基T—7（Tergitoc—7）琼脂平板或MacConkey's琼脂平板，内加链霉素1mg/ml，使这两种平板成为大肠杆菌C_{25}专性生长的选择性培养基。

三、细菌培养方法

1. 动物行断颈活杀，按需要抽取心血0.5ml注入盛有50ml心脑浸液（BHI）的培养瓶中，37℃孵育3天。血培养如有细菌生长，则再次转种到普通血平板上做纯细菌培养，然后进行细菌鉴定。如专门培养大肠杆菌C_{25}，则将血培养阳性的细菌转种到含有链霉素的T—7或MacConkey琼脂平板上，观察大肠杆菌C_{25}的生长情况。

2. 内脏细菌培养是在无菌操作下打开动物腹腔，首先用无菌棉拭子涂抹暴露的内脏表面，置入10ml心脑浸液中（37℃孵育24h，以鉴测有无细菌污染）。然后在升结肠的肠系膜部位剪取引流空肠、回肠和盲肠的肠系膜淋巴结以及动物的肝脏、脾脏，称重后分别注入盛有0.5ml和5ml心脑浸液的匀浆管中进行匀浆。取匀浆液0.2ml，分别接种到血平板和MacConkey琼脂平板上，37℃孵育24～48h，对培养阳性的平板进行菌落计数，观察动物内脏细菌生长的阳性率和菌量情况。

3. 动物肠道中细菌定量培养的方法：取完动物内脏后，剪取完整的动物盲肠，称重后放入盛有9ml心脑浸液的匀浆管中，匀浆后用生理盐水按10^3、10^5、10^7……不同倍数进行梯度稀释，取0.1ml不同稀释倍数的匀浆液，分别接种到血琼脂平板和MacConkey琼脂平板上，37℃孵育24h，进行菌落计数，定量监测肠道内兼性需氧性细菌和G^-细菌的菌量变化情况。

如系培养大肠杆菌C_{25}，所用的MacConkey或T—7琼脂平板均加入1mg/ml链霉素。

4. 细菌学鉴定方法：所获动物内脏培养的G^-杆菌用API20—E系统进行鉴定，G^+细菌按Finegold的标准方法鉴定。

四、形态学研究方法

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

1．光镜观察：动物内脏的形态学研究是采用半薄塑料切片在光学显微镜下进行观察的。动物活杀后取回肠段和盲肠标本，置入磷酸福尔马林缓冲液中（Fish，Co）固定6h，然后组织经过梯度酒精系列脱水，包埋在乙二醇异丁稀酸中（glycol methacrylate，JB-4，Polyscience，Inc）。切片厚度为2/μm，用1％甲苯胺蓝染色，Olympus显微镜观察并照相。

2．电镜观察：动物经断颈活杀后即刻打开腹腔，取末端回肠组织固定在Karnovasky电镜组织固定液中，室温下（22℃）1 h。在组织显微镜下将小肠组织切成组织条再固定3h，然后继续将小肠组织条切成细小组织块，置入0.1mol二甲砷酸盐冲液中，4 ℃下过夜。次日用1％亚铁氰锇酸水溶液4 ℃下将组织再固定1h，换入1％醋酸铀溶液中浸染2h，然后组织经梯度酒精和丙烯连续脱水至室温下。最后用Epon—812包埋组织。在LKB超薄切片机上进行连续超薄切片，醋酸铀和柠檬酸铅电子染色，在PhilipEM—300电子显微镜下观察并照相。

3．应用冰冻蚀刻技术观察动物肠粘膜上皮细胞之间紧密连接的方法：动物小肠组织经Karnovasky电镜固定液固定30～45min后切成组织条，置入20％甘油-0.1mol二甲砷酸盐缓冲液中，室温下1～2 h，用组织切割机（Tissue Chopper）将小肠组织切成125μm大小，平展在冰冻蚀刻的金属台上（Gold disks），用氟里昂22（virginia Chemical's，Inc，Portsmoth，Va）迅速冰冻，然后将组织储存在液氮中备用。小肠标本在Balzers冰冻蚀刻机中（Model BA. 360，Balzer AG，Balzer Liechtenstein）-115℃条件下进行断裂，-100℃蚀刻，然后用铂枪和碳枪分别进行喷镀复型，组织复型膜分别用二氢叶酸（Chlorine）、漂白剂（bleach）和双蒸水清洗，用300一目铜网捞取，Philip EM-300电子显微镜观察并照相。

4．肠粘膜通透性改变的研究方法：实验中采用组织化学的方法观察在不同病理条件下，小肠粘膜对肠腔中分子量为4万的大分子物质辣根过氧化物酶（Horserdish Peroxidase，HRP）通透性的改变情况。实验前动物禁食过夜，饮水不限。经腹腔麻醉（Katamine 2mg/只）打开腹腔，结扎一段长约4cm的末端回肠。将HRP2000单位（Type VI，Sig ma Co，St Louis，Mo）溶解在无菌生理盐水1 ml中，缓缓注入已结扎的肠段中。然后将暴露的小肠放回腹腔内，用金属钮扣将动物腹腔关闭。分别在术后5、10、15和30min重心打开动物腹腔，将新鲜配制好的Karnovasky电镜组织固定液[5]缓缓注入结扎的肠段中，1 min后行断颈处死动物，沿动物小肠系膜缘纵行剪开结扎的肠段，在距离两端结扎约1 cm处取下结扎中端小肠组织，粘膜面向上将小肠平展在组织容器中，用Karnovasky电镜组织固定液固定1 h（22℃），再将小肠均匀切成1 mm宽的组织条重新固定3 h，接着用0.1mol二甲砷酸缓冲液洗涤小肠组织2次，每次10 min（4 ℃），用7％液态琼脂包埋小肠组织条，在Smith-Farguhar组织切割机（Chopper）的平台上，将小肠组织连续切成100μm厚的细小组织块，4 ℃条件下用二甲砷酸盐缓冲液洗涤2次，每次10min，之后再置入上述缓冲液中4 ℃下过夜。次日将小肠组织置入第一道组织化学孵育液中（0.5mol Tris-Hcl缓冲液，pH7.6 10ml，加3'3'二氨基联苯胺5mg），室温下轻荡30min，再将组织置入第二道组织化学孵育液中（上液中加1％过氧化氢液0.1ml）．室温下轻荡30min。小肠组织经用1％亚铁氰锇酸（Ferro-cyanide-reduced Osmium）水溶液4 ℃下固定1 h后，经梯度酒精和氧化丙烯（Propylene Oxide）连续脱水至室温下，最后用Epon-812环氧树脂包埋。在超切机上进行半薄和超薄切片，半薄切片在Olympus光学显微镜下观察并照相，超薄切片不经电子染色，直接在PhilipEM-300电子显微镜下观察并照相。

五、小肠粘膜中黄嘌呤氧化酶活性测定方法

本实验采用Waud和Rajagopolan的方法测定动物小肠粘膜中黄嘌呤氧化酶的活性[6]。动物经断颈活杀后，取一段重约0.2—0.25g的末端回肠，立即置入4 ℃生理盐水中洗净，保存在-70℃液氮中待测。测定时将小肠组织放入4 ℃，pH7.8磷酸缓冲液进行超声匀浆。该磷酸缓冲液中含有0.1mol乙二胺四乙酸（EDTA），0.5mmol二硫苏糖醇（DTT）以及0.2mmol苯甲基磺酰氟化物（PMSF）。组织匀浆液在4 ℃条件下，12,000r／min超速离心30min。离心后的组织上清液先用葡聚糖（SephadexG-25）层析过滤，然后在分光光度计上，用295nm波长测定烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NAD）存在的条件下，尿酸（aric acid）形成情况。在25℃条件下，每分钟将1 μm黄嘌呤转变成尿酸所需黄嘌呤氧化酶的量，为1单位黄嘌呤氧化

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

酶的活性。

六、统计学方法

实验所得计数和计量资料分别用卡方（X^2），T-测验以及直线回归相关的方法进行统计学处理。

分 题 实 验

一、烧伤与肠源性感染

1 实验目的

在医学科学领域中，临床和动物研究始终是处于互补的位置，动物研究的结果不能完全应用于临床的原因之一，就是在生物学上人类和动物是属于不同的种。在生物圈内，外界的各种变化在不同种的生物体内所引起的生物学效应是不同的。即使是属于同一个种，不同个体同一种外界应激所表现的反应也有差异，这种差异是由基因控制的。

一般来说，临床病人由于基因背景不同所表现的较大的个体差异，在动物研究中较不明显。如应用近系繁殖（Inbred）动物进行研究，从总体所得到的实验结果，集中分布的倾向性较大，因个体差异造成总体误差的机率相对较小，所以动物研究的这种优点常被用来达到某一种特殊的实验目的。

烧伤病人的感染问题一直比较突出。我们曾证实大鼠单纯烧伤能够造成肠道中绿脓杆菌侵入体内，形成烧伤后肠源性绿脓杆菌的全身性感染[7]。Deltch等也观察到，单纯烧伤可以造成大鼠，但不能造成CD-1小鼠肠道细菌移居[8]。后者是否由于动物的基因背景不同所致？因此：

1.1 本研究目的之一是选出几种基因背景不同的小鼠，观察基因因素是否在烧伤后早期肠源性感染的发生中起作用？

1.2 许多胃肠道疾病都合并有肠粘膜通透性增高。例如克隆氏病、多发性纤维增生症、肠胃炎、营养不良、处于化疗期的肿瘤患者；甚至酗酒的病人，也常并发肠源性细菌的移居和肠源性内毒素血症[9-11]。这提示：肠粘膜通透性增高与肠源性感染的发生两者间的关系是密切的。所以本实验目的之二是观察在烧伤后早期阶段，肠源性感染的发生是否与肠粘膜通透性的改变有关？

1.3 肠道中稳定的常驻菌群能够阻止非常驻性细菌（non-indigenous flora）在肠道中定植（colonization）和优势繁殖（overgrowth），因而被称之为正常菌群的“抗定植作用”。（Colonization Resistance, CR）。抗生素可以造成肠道菌群失调，降低肠道常驻菌群“抗定植”的功能，促进条件致病菌在肠道中定植。这是肠源性感染发生的重要因素之一[12-14]。鉴于抗生素的使用在烧伤临床实践中如此频繁，所以本实验的目的之三是想进一步了解在肠道菌群失调及合并有烧伤应激的条件下，定植在肠道中的G^-杆菌是否能够突破肠系膜淋巴结的局部防御屏障，进一步扩大细菌移居的范围，形成烧伤后早期肠源性感染？

2 动物分组和实验方法

本实验分别选用CD-1（outbred）远系繁殖、Balb-c（inbred，近系繁殖）和C57-bl(inbred，近系繁殖）3种遗传基因背景不同的SPF小鼠，共322只，进行烧伤后早期阶段肠源性感染的实验观察。

2.1 单纯烧伤组共用127只小鼠，其中10只Balb-c小鼠为对照，37只Balb-c小鼠，10只C57-bl小鼠和14只CD-1小鼠进行单纯烧伤。另有38只Balb-c小鼠设为别嘌呤醇组（Allopurinol），18只Balb-c小鼠为Tungstate饲料组。

2.2 选用Balb-c小鼠和CD-1小鼠各5只，用辣根过氧化物酶（HRP）通过组织化学的方法，对比观察烧伤后动物小肠粘膜通透性改变的情况。

2.3 观察肠道菌群失调加上烧伤应激是否能够造成全身性肠源性感染，选用上述3种动物共185只，其中包括单独观察烧伤后死亡率的55只和对比观察烧伤后肠源性细菌感染情况的130只动物。动物烧伤前首先

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

进行抗生素“清洁”肠道和单株大肠杆菌C_{25}肠道接种（monoassociated）。

2.4 动物烧伤是按照Walker[15]的实验方法。动物经腹腔麻醉(Thiopental Sodium，0.5mg/10g体重)，背部剃毛后，仰卧在一个有2.5×3.5cm²开口的塑料模具内，置入沸水中5 s，造成平均25%体表面积的Ⅱ度烧伤。烧伤后经动物腹腔注射无菌生理盐水1 ml，预防休克。

各实验组分别取4只动物的回肠和盲肠标本，在光镜下进行形态学观察。

细菌培养、形态学方法及统计学处理见“材料与方法”。

3 结果和分析

3.1 单纯烧伤后24h，Balb-c小鼠肠道细菌移居到肠系膜淋巴结的发生率为74%（$P<0.001$），CD-1和C_{57}-bl小鼠肠道细菌移居到肠系膜淋巴结的发生率分别为7%和20%（表1-1）。烧伤后4 h，Balb-c小鼠肠道细菌移居到肠系膜淋巴结的阳性率已达62.5%（表1-2）；而在烧伤后4 h和24h，别嘌呤醇和Tungstate饲料组，Balb-c小鼠肠道细菌移居的发生率均显著降低（$P<0.05$）（表1-1，表1-2）。

表1-1 烧伤后24h肠道细菌移居到肠系膜淋巴结

实验分组	动物数	阳性率%	菌量（CE/MLN）[a]		盲肠菌量[d]
			阳性培养MLN	所有MLN平均值	
对照	10	0	0	0	$3.3\pm5.9\times10^4$
CD-1烧伤	14	7	32	3.5 ± 10	$5.8\pm63\times10^7$
C57-b1烧伤	10	20	4 ± 2	1 ± 1.6	ND
Balb-C烧伤	19	74[d]	90 ± 96	72 ± 111	$9.4\pm14.6\times10^8$
Balb-C烧伤+T*	10	30[e]	39 ± 28	12 ± 23	$8.9\pm11.9\times10^8$
Balb-C烧伤+A*	20	35[f]	27 ± 26	15 ± 27	$10.3\pm7.9\times10^8$

备注：a、肠道细菌移居的菌量以每个肠系膜淋巴结（MLN）中含有多少个菌落（CFU）的平均值±标准误表示。因为并非每只动物MLN细菌培养都是阳性，所以细菌移居的菌量分别以每实验组细菌培养阳性的MLN中CFU的平均值和每实验组中所有培养的MLN中CFU的平均值±标准误表示

b。盲肠菌量以每克盲肠中含有多少个G^-杆菌菌落（CFU）的平均值±标准误来表示。

c。与其他各实验组的动物盲肠菌量相比较均差异显著（$P<0.05$）。

d。肠道细菌移居的阳性率显著高于对照、CD-1和C57-b1。

e。肠道细菌移居的阳性率显著低于Balb-C烧伤组。

f。肠道细菌移居的阳性率显著低于Balb-c烧伤组。

*T：Tungstate饲料 A：Allopurinol

表1-2 烧伤后4 h肠道细菌移居到肠系膜淋巴结

实验分组	动物数	阳性率%	菌量（CFU/MLN）[a]	盲肠菌量[b]
			细菌培养阳性的MLN	
Balb-c烧伤	8	62.5[c]	88 ± 45	$2.1\pm1.8\times10^5$
Balb-c烧伤加Tungstate饲料	8	12.5	3	$34\pm31\times10^5$
Balb-c烧伤加Allopurinol	8	12.5	33	$9.9\pm13\times10^5$

备注：a.肠道细菌移居的菌量以每实验组中细菌培养阳性的肠系膜淋巴结（MLN）中含有多少个菌落（CFU）的平均值±标准误表示。

b。盲肠菌量以每克盲肠中含有多少个G^-杆菌菌落的平均值±标准误表示。

c。肠道细菌移居阳性率显著高于另外两组动物。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

形态学观察则发现，烧伤后 Balb-c 小鼠肠粘膜损伤的程度最严重表现为烧伤后 4 h，肠粘膜绒毛的间质已出现水肿，肠粘膜上皮细胞的基底部出现空泡性变（图 2）(图 1 为正常对照)。到烧伤后24h，Balb-c 小鼠肠粘膜的损伤最为明显，除表现广泛性水肿外，且出现急性应激性坏死，表现为粘膜上皮细胞的灶性坏死，脱落，间质裸露形成溃疡面（图 3 、 4 ）。

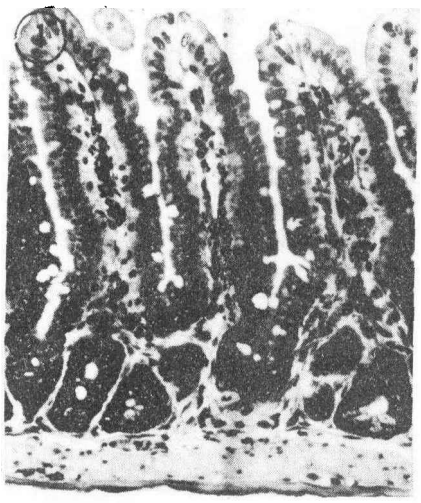


图 1　对照组Balb-c小鼠的正常回肠粘膜，绒毛排列整齐，上皮细胞层完整，间质不疏松。×200



图 2　烧伤后4hBalb-c小鼠的回肠粘膜。肠绒毛排列略不规则，间质排列疏松呈水肿表现，肠上皮细胞层尚完整，但肠上皮细胞的胞浆下方出现空泡性变，以绒毛顶部略为明显。×200



图 3　烧伤后24hBalb-c小鼠的回肠粘膜。肠粘膜严重水肿，绒毛排列极不规则，并两两相互融合成片，肠上皮细胞严重变性萎缩。×200

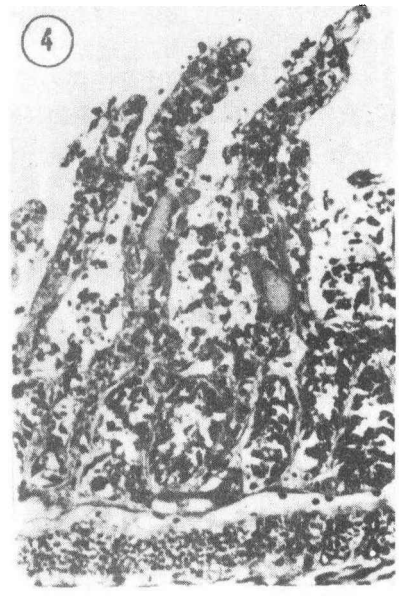


图 4　烧伤后24hBalb-c小鼠的回肠粘膜。与图 3 所示相同，肠粘膜表现为严重应激性坏死。肠上皮细胞层完全坏死脱落，间质裸露，肠粘膜充血水肿的间质中有大量炎性细胞浸润。×200

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

此外，尚可观察到单一的呈急性坏死的肠绒毛夹在相邻的两个呈水肿变性的肠绒毛之间（图5）。而CD-1和C57-bl两组动物的肠粘膜在烧伤后24h均未发生严重损伤（图6、7），别

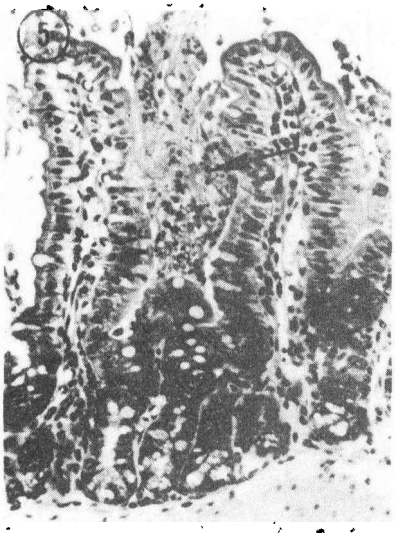


图5　烧伤后24hBalb-c小鼠的回肠粘膜。有充血水肿的绒毛之间，出现单一的呈急性应激性坏死的肠绒毛（箭头）。×200

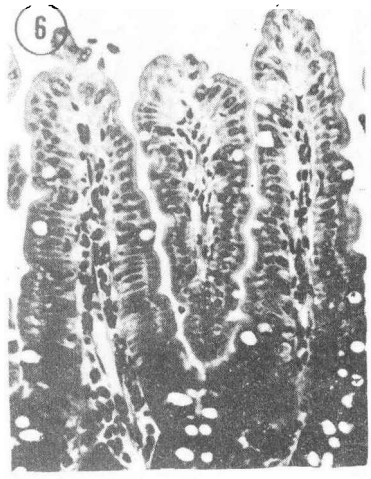


图6　烧伤后24hCD-1小鼠的回肠粘膜。肠绒毛排列整齐，上皮细胞层完整，间质表现有轻度疏松。×200

嘌呤醇和Tungstate饲料明显减轻了烧伤后Balb-c小鼠肠粘膜损伤的程度，仅表现为间质充血、水肿（图8、9）。

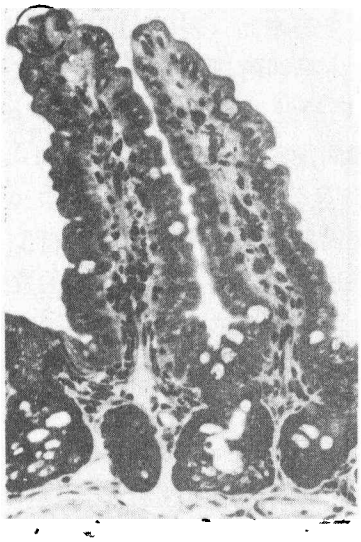


图7　烧伤后24hC_{57}-bl小鼠的回肠粘膜，肠粘膜表现基本正常。×200

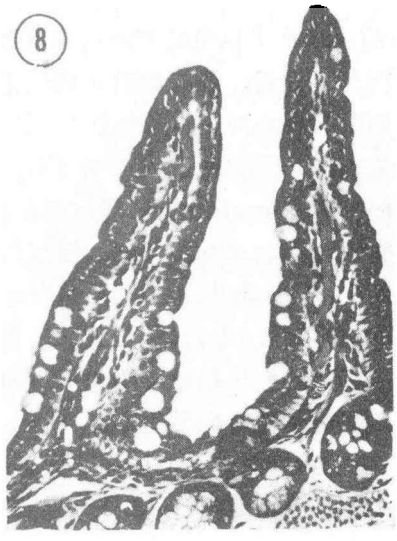


图8　Balb-c小鼠给Allopurinol烧伤后24h的回肠粘膜。肠绒毛排列略不规则，肠上皮细胞有萎缩变性，间质呈充血、水肿，但上皮细胞尚完整。×200

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

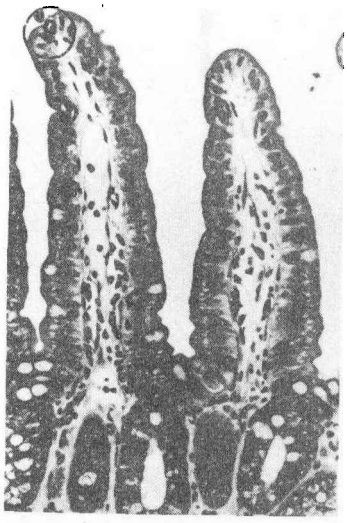


图 9　Balb-c 小鼠加上 Tungstate 饲料，烧伤后24h 的回肠肠粘膜的机械性屏障完整，但肠绒毛的间质仍呈水肿表现，绒毛顶部的肠上皮细胞有轻度空泡变性。×200

上述结果表明，不同种的小鼠对烧伤的应激反应及对肠源性感染的易感性不同。Balb-c 小鼠易感性最高，肠源性感染的发生率也最高；而 CD-1 和 C57-bl 小鼠的易感性比较低，肠道细菌移居的发生率也相应较低，说明遗传基因因素在烧伤后机体的反应性及肠源性感染的发生中起一定作用。Rapaport 也发现，不同种的大鼠烧伤后存活率存在着显著差异，并认为，遗传因素在机体对烧伤应激反应中起作用[16]。此外，遗传因素在机体对抗某些特殊感染因子致病的防御过程中以及对机体免疫应答能力的产生都具有一定的调控作用[17-19]。

本研究形态学观察的结果也提示，烧伤后早期肠源性感染的发生率与肠粘膜损伤的程度密切相关。易感性较高的 Balb-c 小鼠，烧伤后肠道细菌移居的发生率随着肠粘膜损伤程度的加重而增高。易感性较低的 CD-1 和 C57-bl 小鼠烧伤后肠道细菌移居的发生率较低，与两种动物肠粘膜损伤程度较轻是一致的。别嘌呤醇和 Tungstate 饲料明显减轻了烧伤后 Balb-c 小鼠肠粘膜的损程度伤，使得Balb-c小鼠烧伤后肠源性感染的发生率显著下降。

肠道中G^-杆菌优势繁殖的因素往往在创伤后肠源性感染的发生中起一定作用。所以本实验也观察了各组动物肠道中G^-杆菌的菌量变化情况。虽然到烧伤后24h，Balb-c 小鼠肠道中G^-杆菌的菌量水平也是随着肠道细菌移居阳性率的上升而显著增高（表 1 - 1）。但从实验结果的总体分析来看，肠道菌群失调似乎并不是促进单纯烧伤早期阶段动物肠道细菌发生移居的主要原因，理由如下：①烧伤后CD-1 小鼠肠道细菌移居的发生率显著低于 Balb-c小鼠，但其肠道中G^-杆菌的菌量水平并不低于Balb—c小鼠，两者间没有显著差异（表 1 - 1）。②尽管别嘌呤醇和Tungstate饲料通过保护肠粘膜的机械性屏障显著降低了烧伤后 Balb-c小鼠肠源性感染的发生率（$P<0.05$），但这两组动物肠道中G^-杆菌的菌量水平也很高（表 1 - 1）。③烧伤后 4 h，在 Balb-c 小鼠肠道内G^-杆菌还未发生显著增殖时，肠道细菌移居的发生率已高达62.5%（表 1 - 2）。以上说明，在单纯烧伤后早期阶段肠源性感染的发病机制中，肠粘膜机械性屏障的损伤起着主要作用。如能有效地保护肠粘膜屏障的完整性，则能够在一定程度上降低肠源性感染的发生率。

3.2 本实验尚有一问题需要回答。就是早在烧伤后 4 h，Balb-c小鼠既没有发生肠粘膜的严重损伤，动物肠道中G^-杆菌的菌量也没有显著增高，而肠道细菌移居的发生率已高达62.5%。

是什么原因造成这种结果呢？本研究发现，烧伤后 4 h，CD-1小鼠小肠粘膜的通透性没有发生明显改变。而 Balb-c 小鼠的小肠粘膜通透性却已显著增高，肠腔内的大分子辣根过氧化物酶能通过肠粘膜上皮细胞之间的紧密连接（Tight junction）和途径上皮细胞之间的

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

通道，直接进入到肠粘膜下层中（图10～14）。提示烧伤后4 h，Balb-c 小鼠肠道细菌移居



图10 烧伤后4hCD-1小鼠的回肠粘膜。辣根过氧化物酶（HRP）褐色反应产物呈粗线状排列在绒毛的表面，在肠粘膜的上皮细胞之间以及在肠绒毛的间质中均未有HRP的反应产物出现。×640



图11 烧伤后4hBalb-c 小鼠的回肠粘膜。辣根过氧化物酶（HRP）不但呈褐色粗线状排列在绒毛的表面，并且从绒毛顶部肠上皮细胞之间的“通道”直接进入到绒毛的间质中。HRP的反应产物呈不规则的线条状，沿肠绒毛上皮细胞层和间质的交界面排列。×640

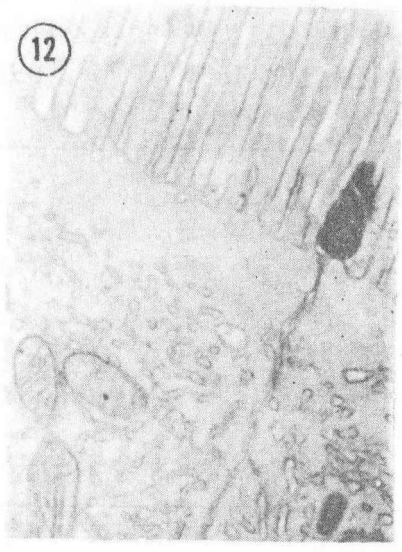


图12 烧伤后4hCD-1小鼠的回肠粘膜。电镜下肠上皮细胞之间的紧密连接排列完整，呈褐色沉淀物的大分子HRP不能够进入到细胞连接之间的间隙中。×10520

率的增高与小肠粘膜通透性的增高是一致的。因此，烧伤后早期阶段肠粘膜通透性的增高，可能是烧伤后Balb-c 小鼠很快发生肠源性感染的原因。Ziejler等（1988）也发现，烧伤病人发生感染的同时合并有肠粘膜通透性的增加，感染的严重程度与肠粘膜通透性增加的程度是一致的[20]。肠粘膜通透性增高是烧伤后肠粘膜屏障功能损伤的另一表现形式，对肠源性感染的发生有促进作用。

3.3 在单纯烧伤后24h内，Balb-C，C_{57}-bl 和CD-1三组小鼠均未发生死亡，说明25％单纯体表烧伤对这些小鼠是非致死性的。在烧伤后72h内，经过抗生素“清洁”肠道，又有单株大肠杆菌C_{52}定植在肠道中的15只Balb-c小鼠死亡14只，病死率93％；20只C_{57}-bl小鼠中烧伤后72h内死亡5只，病死率25％，20只CD-1小鼠在烧伤后72h内无死亡发生。说明肠道菌群失调，C^-杆菌的

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n





图13、14 烧伤后4h Balb-c 小鼠回肠粘膜的通透性改变。电镜下肠上皮细胞的微绒毛呈肿胀变性。HRP 的沉淀物从肠上皮细胞顶端的紧密连接处一直延伸到肠粘膜的间质中。说明在烧伤后4h，Balb-c小鼠肠粘膜上皮细胞的紧密连接受到损伤而处于“开放”状态，使肠腔中大分子的HRP得以通过上皮细胞之间的“直接通路”（Paracellular pathway）进入到肠粘膜的间质中，这是烧伤后4hBalb-c小鼠肠粘膜通透性增高的表现。×15960

优势繁殖的确可以影响烧伤后动物的存活率。综合文献还有其它三个方面的资料，可资说明我们这一观点：①烧伤后无菌动物的存活率明显高于普通有菌动物[21]。②无菌动物经肠道内大肠杆菌定植后，烧伤后的存活率显著下降[22]。③给动物口服抗生素，选择性地抑制肠道中的 G^- 杆菌后，显著改善了烧伤后动物的生存率[23]。下一个问题是动物的死亡是否与大肠杆菌 C_{25} 的移居有关？在三种未烧伤的小鼠组中，定植在动物肠道中大肠杆菌C_{25}移居的范围仅限于肠系膜淋巴结（表 1 - 3），似乎不再能越过肠系膜淋巴结的局部防御屏障。在肠道菌

表 1 - 3 烧伤后大肠杆菌C_{25}移居的阳性率[a]

实验分组	烧伤后24h					烧伤后48h				
	肠系膜淋巴结	肝脏	脾脏	血液	LSB[b]	肠系膜淋巴结	肝脏	脾脏	血液	LSB[b]
CD-1加大肠杆菌C_{25}	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0
CD-1加大肠杆菌C_{25}加烧伤	100	30	30	20	27[c]	100	30	30	20	27[c]
C57-b1加大肠杆菌C_{25}	100	10	0	0	3	90	0	0	0	0
C57-b1加大肠杆菌C_{25}加烧	100	70	60	40	57[d]	100	40	30	20	30[e]
伤Balb-c加大肠杆菌c_{25}	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0
Balb-c加大肠杆菌C_{25}加烧伤	100	90	90	60	80[e]	100	40	30	20	30[e]

备注：a. 每实验组10只动物。细菌移居的阳性率以大肠杆菌C_{25}培养阳性器官的百分率(%)表示。

b. LSB（肝脏、脾脏、血液）为每实验组中有大肠杆菌C_{25}阳性生长脏器的总和。

c. 大肠杆菌C_{25}移居的阳性率显著高于各自的未烧伤组（$P<0.01$）。

d. 大肠杆菌C_{25}移居的阳性率显著高于CD-1的烧伤组（$P<0.02$）。

e. Balb-C烧伤组大肠杆菌C_{25}移居的阳性率显著高于CD-1烧伤组（$P<0.001$）和C57-b1烧伤组（$P=0.049$）。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

群失调的基础上再予烧伤，伤后 24h 动物肠道中的大肠杆菌 C_{25} 不仅移居到肠系膜淋巴结，而且进一步侵入肝、脾和血循环（表1-3）。肠源性 G^- 杆菌败血症的发生率，Balb-c 组为80%，C_{57}-bl 组为 57%，CD-1 组级为27%，Balb-C 组显著高于 C_{57}-bl 组（$P=0.049$）和CD-1组（$P<0.001$）；C_{57}-bl组也显著高于CD-1组（$P<0.02$）。所有三种烧伤小鼠肠系膜淋巴结中移居的大肠杆菌C_{25}菌量均高于各自未烧伤的动物（表1-4）。烧伤后Balb-C 组肠系膜淋巴结中大肠杆菌 C_{25} 的菌量又高于另外两个烧伤组（表1-5）。说明在抗生素造成肠道菌群失调，肠道常驻菌群非特异性的抗感染屏障功能被破坏后，体表烧伤能够促使定植在肠道中的大肠杆菌侵入并全身播散，形成肠源性G^-杆菌败血症。以易感性最高的 Balb-c 小鼠为例；烧伤后肠源性大肠杆菌C_{25}全身播散的阳性率为80%，每克动物肝、脾内脏中菌量高达1万个以上，且烧伤后的病死率也高达93%。这些结果充分表明，烧伤后肠源性G^-杆菌感染（gut origin septicemia）是存在的，而且可以是致死性的。

表1-4 大肠杆菌 C_{25} 在3种小鼠肠系膜淋巴结和肠道中的菌量

实验分组	肠系膜淋巴结菌量[a]		盲肠中菌量[a]	
	烧伤后		烧伤后	
	24h	48h	24h	48h
Balb-c	902±489	937±526	$8.0\pm3.4\times10^9$	$8.5\pm4.0\times10^9$
Balb-c加烧伤	9738±7016[bc]	3258±3006[d]	$3.7\pm2.8\times10^{10}$	$1.4\pm0.9\times10^{10}$
C57-bl	484±490	588±422	$2.9\pm1.5\times10^{10}$	$9.9\pm7.0\times10^9$
C57-bl加烧伤	4350±3049[b]	1457±1378	$1.9\pm2.0\times10^{10}$	$1.4\pm1.7\times10^{10}$
CD-1	231±162	235±177	$2.3\pm1.6\times10^{10}$	$2.7\pm1.0\times10^{10}$
CD-1加烧伤	1194±743[b]	638±388	$2.0\pm0.9\times10^{10}$	$2.9\pm1.2\times10^{10}$

备注：a. 大肠杆菌C_{25}的菌量以每克肠系膜淋巴结和盲肠中含有多少个菌落(CFU)的平均数±标准误表示。

b. 大肠杆菌C_{25}的菌量值均显著高于各自未烧伤的对照组（$P<0.01$）。

c. Balb-c烧伤组大肠杆菌C_{25}的菌量显著高于其他所有实验组（$P<0.01$）。

d. Balb-C烧伤组大肠杆菌C_{25}的菌量仍显著高于其他所有实验组（$P<0.05$）

表1-5 大肠杆菌C_{25}在3组动物肝脾中的菌量[a]

实验分组	动物数	烧伤后24h		烧伤后48h	
		肝脏	脾脏	肝脏	脾脏
Balb-c	10	26034±37793	15059±22595	12020±29190	6462±20217
C57-bl	10	6491±7853	2944±4599	2420±4459	410±679
CD-1	10	482±945[b]	657±1815[b]	2530±5203	645±1510

备注：a. 大肠杆菌C_{25}在动物内脏中的菌量以每克组织中含有多少个菌落（CFU）的平均数±标准误表示。

b. 烧伤后24h CD-1小鼠肝脾中的菌量均显著低于Balb-c组（$P<0.05$）。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

3.4 形态学的观察结果证明，烧伤后肠粘膜机械性屏障的破坏是造成肠源性G^-杆菌全身感染的主要因素。理由有二：①虽然肠道中细菌优势繁殖菌量的高低对肠道细菌移居的发生具有一定的促进作用，但本实验中三种小鼠烧伤后肠道中大肠杆菌C_{25}的菌量是基本相等的（表1-4）。②3种小鼠烧伤后肠粘膜损伤的严重程度与肠道细菌移居率的高低是一致的。烧伤后24h，Balb-c小鼠的肠粘膜损伤最严重，其肠源性感染发生率也最高；C_{57}-bl小鼠的肠粘膜仅表现为水肿，而CD-1小鼠肠粘膜损伤的程度又明显轻于C_{57}-bl小鼠，后两种小鼠烧伤后肠源性感染的发生率和存活率均分别低于和高于Balb-c小鼠。烧鼠，伤后48h，随着Balb-c小鼠损伤肠粘膜的修复，肠源性大肠杆菌C_{25}全身感染的发生率也从伤后24h的80%下降至30%（$P<0.001$）（表1-3）；同时C_{57}-bl和CD-1小鼠肠粘膜的形态学表现则已基本正常。

3.5 近系繁殖动物，如Balb-c小鼠，常被用来进行有关宿主抗感染的防御功能是否是由基因控制问题的研究[19]。本实验再次观察到，遗传的基因因素在烧伤后小鼠肠源性感染的发生中起重要作用。因为在肠道中有大肠杆菌C_{25}定植的同样条件下，三种基因背景不同的小鼠，烧伤后肠源性感染的发生率和动物的存活率均不相同。易感性最高的Balb-c小鼠，烧伤后肠源性感染的发生率最高，存活率最低。易感性最低的CD-1小鼠发生率最低，存活率最高；而C_{57}-bl小鼠则介于两者之间。说明宿主抗感染的防御功能在一定程度上是由基因控制的。

其它实验也证明，宿主抗感染防御功能在一定程度上是受着基因的控制。如果易感群体对某感染因素的易感性能够表现出显著差异，机体对这样一类感染的防御功能是由单基因或是由少数基因控制的，这种基因表现型的差异称之为“间断型差异”；如果群体对某一感染因素的易感性表现不出显著差异，这种差异称之为“连续性差异”，机体对这种感染的防御功能则是由多基因控制的。人类的表现一般属于后一类[24][25]。

近年来在外科领域中，肠道作为一个完整器官，在严重创伤后机体内发生的一系列代谢改变过程中，是否起着重要作用的问题再次受到极大的关注。肠道不再被单纯看作是一个吸收和消化的器官，同时还具有重要的代谢、内分泌和免疫功能；而且还是机体非特异性抗感染防御系统中的重要组份，尤其在防止由肠道细菌和内毒素的侵入而形成的肠源性感染中起关键作用。其中肠粘膜屏障功能的健全与否是诸多肠道功能得以维持正常的根本所在。严重创伤常造成肠粘膜发生损伤，在这种情况下发生的肠道细菌的移居已被视为一种十分重要的病理现象。在严重创伤情况下，肠道不单纯是易受损的靶器官之一，也不仅常是原因不明全身感染的感染源，在严重创伤后多脏器功能衰竭的发生中，肠道扮演着一个十分活跃的角色。所以Wilwore将肠道称之为是“外科应激条件下的中心器官”是比较恰当的[26]。

肠源性感染是一个渐进性的，典型的细菌感染演变过程。就象是任何一种细菌感染的发生一样，肠源性感染的形成也是致病微生物与机体抗感染防御功能彼此消长，相互作用的微生态平衡关系受到破坏的结果。

通过实验我们证实：①小鼠25%体表面积的单纯烧伤，可以造成肠道细菌侵入到肠系膜淋巴结。②肠道内生菌群失调，G^-杆菌定植，能够改变机体内环境的稳定状态，降低机体抗感染的防御功能；在此基础上，体表烧伤能够促进定植在动物肠道中的G^-杆菌大量侵入体内，形成肠源性细菌全身感染，并且可以是致死性的。③肠粘膜抗感染屏障功能的衰竭，表现为肠粘膜通透性的增高及严重的物理性损伤，是造成烧伤后早期肠源性感染发生

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

的主要因素，使用黄嘌呤氧化酶的抑制剂或灭活剂，能够达到保护肠粘膜屏障，降低肠源性感染的目的。④遗传基因因素对烧伤后早期肠源性感染的发生，发展和转归具有某种调控作用。表现为遗传背景不同的小鼠对烧伤后肠源性感染发生的易感性存在着显著差异。这一实验结果也支持“宿主对感染的抵抗力是受到基因控制的”概念。

二、出血性休克与肠源性感染

1 实验目的

长期以来，出血性休克和感染性休克一直被认为是两种独立的问题。虽然早在50年代初Fine等就曾提出，在出血性休克条件下，肠道内毒素的侵入加上肝脏网状内皮系统功能下降，能够促使休克向不可逆的方向发展[27][28]。但人们在进行抗出血性休克治疗的时候，并没有真正把感染的因素考虑在内。原因是当时尚缺乏足够的科学依据。

80年代以来，在严重创伤情况下，肠源性感染存在的问题受到重视，这是因为：（1）出血性休克虽然是比较常见的临床问题，但因单纯低血容量问题导致的死亡已不常见，如果病人的生存时间超过48h以上，感染经常成为主要死因[29][30]。（2）在死于感染的创伤患者中间，有30%的菌血症找不到明确感染灶[31][32]。（3）单纯G^+细菌感染可以是外源性的。实际上许多感染源不明的创伤感染都是由G^+和G^-细菌引起的混合性感染，而这些细菌都是正常肠道中的常驻菌。这意味着在出血性休克条件下，感染可以起源于肠道。

实验旨在：

① 利用大鼠出血性休克的动物模型，观察一定时限的低血压是否能够导致肠源性感染的发生。

② 肠粘膜屏障的机械性损伤和出血性休克导致肠源性感染的关系。

2 动物分组和实验方法

2.1 大鼠随机分为3组。正常对照组（N=5）、单纯手术对照组（N=16）和出血性休克（一）组（N=21）（单称休克（一）组，以下同）。对比观察一定时限的出血性休克能否引起肠源性感染的发生。

2.2 为了观察氧自由基对肠粘膜损害的关系，大鼠随机分为6组。单纯手术对照组（N=14），出血性休克30分种组（单称休克(二)组，以下同）（N=23），单纯别嘌呤醇组（N=6），别嘌呤醇加出血性休克30min组（N=14），单纯Tungstate饲料组（N=6），Tungstate饲料加出血性休克30min组（N=10）。对比观察在出血性休克条件下，黄嘌呤氧化酶是否参与肠粘膜损伤的发生，而肠粘膜损伤是否为导致肠源性感染的重要原因。为了验证Tungstate饲料是否能够灭活动物肠粘膜中黄嘌呤氧化酶的活性，分别测定了对照组和单纯Tungstate饲料组动物肠粘膜中黄嘌呤氧化酶的活性。

2.3 另加一组14只动物，用抗生素“清洁”肠道后，单纯接种大肠杆菌C_{25}，其中5只大鼠为单纯接种大肠杆菌C_{25}对照组，余9只为别嘌呤醇加大肠杆菌组。对比观察肠道中大肠杆菌C_{25}移居的情况。

2.4 休克模型的制备：动物模型的制作方法是按照Nakayama(1985)的方法[33]。动物禁食过夜后，腹腔麻醉（苯巴比妥钠，50mg/kg）。股动脉插管（Polyethylene tube），并用10u/ml肝素生理盐水抗凝。股动脉插管外接三通管，分别连接到Hewlett Packard (NO.78205B)生理记录仪上观察动脉血压和一个含有100μ 肝素的注射器上，以备抽血造成动物低血压。低血压维持在4.00kPa (30mmHg)，分别为30min、60min和90min。在实验阶段，动物直肠温度维持在36～37℃。在3个不同时相的观察结束后，将抽入到注射器内的动脉血液全部输回动物体内。取出动脉插管，皮肤切口缝合后用火棉胶封闭。动物在麻醉清醒后即恢复进食、进水。24h后活杀动物进行细菌培养。

单纯手术对照（Sham-Shock）动物仅做股动脉插管，不抽血液。仅从插管动脉中输入100u肝素。

实验动物内脏的细菌培养、肠粘膜黄嘌呤氧化酶测定、形态学观察及统计学处理方法见“材料与方法”。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

3．结果分析

3.1 在正常和单纯手术对照动物体内，没有发现肠道细菌移居现象（表2-1）。在休克（一）组内，30、60和90min 3组动物，肠道细菌均移居到肠系膜淋巴结、肝脏和脾脏中；90min组，不但肠道细菌全身播散的发生率显著高于30和60min组（$P<0.05$），而且肠系膜淋巴结中的菌量也显著高于另外2组（表2-2）。正常和单纯手术对照动物血培养均为阴性，而3组休克动物21次血培养中7次阳性（33%）。

表2-1 出血性休克与肠道细菌移居

动物分组	动物数量	肠系膜淋巴结	肝脏	脾脏	脏器总和[a]	盲肠菌量[b]
正常对照	5	0/5	0/5	0/5	0/15	$4.5\pm5.5\times10^8$
单纯手术对照	10	0/10	0/10	0/10	0/30	$25\pm30\times10^8$
休克30min组	8	6/8[c]	2/8	1/8	9/24[c]	$26\pm30\times10^8$
休克60min组	8	4/8[c]	1/8	1/8	6/24[c]	$34\pm40\times10^8$
休克90min组	5	5/5[c]	3/5[c]	3/5[c]	11/15[d]	$258\pm527\times10^8$[e]

备注：a.为各组动物行细菌培养内脏的总和。

b.为动物盲肠中需氧菌的菌量。

c.与正常和单纯手术对照两组动物肠道菌细移居阳性率相比较有显著差异（$P<0.05$）。

d.与其余各组动物肠道细菌移居阳性率相比较有显著差异（$P<0.05$）。

e.与正常和单纯手术对照两组动物肠道菌量相比较$P=0.13$。

表2-2 不同程度的出血性休克与内脏中菌量之间的关系。

动物分组	动物数量	肠系膜淋巴结	肝　脏	脾　脏
单纯手术对照	10	0	0	0
休克30min	8	457 ± 312[b]	$30\pm10\times10^2$	390×10^2
休克60min	8	352 ± 126[b]	50×10^2	80×10^2
休克90min	5	1552 ± 691[c]	$1900\pm2200\times10^2$[b]	$1100\pm900\times10^2$[b]

a.动物内脏中菌量以每克组织中含有多少个菌落的标准误表示。

b.与对照动物内脏中菌量比较有显著差异（$P<0.05$）。

c.与其余各组动物内脏中菌量相比较有显著差异（$P<0.05$）。

出血性休克后24h，动物病死率的高低与休克时间呈直接相关（$R^2=0.97$，$P=0.02$）。休克时间越长，动物病死率越高。此外，休克动物“失血量”（抽入到注射器中动脉血的量）与休克时间的长短也呈直接相关（$R^2=0.69$，$P=0.0001$）。出血性休克30min动物平均失血量为6.1 ± 1ml，60min为8.3 ± 1.3ml，90min为11.1 ± 2ml。

形态学的观察发现，动物肠粘膜损伤的程度与出血性休克的时间长短密切相关。出血性休克时间越长，动物肠粘膜损伤的程度越重。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

出血性休克后30min，动物小肠粘膜出现上皮细胞下水肿间隙，水肿区域局限于绒毛顶部（图16）；图15为正常对照，60min，动物小肠粘膜的上皮细胞下水肿间隙从绒毛顶部向

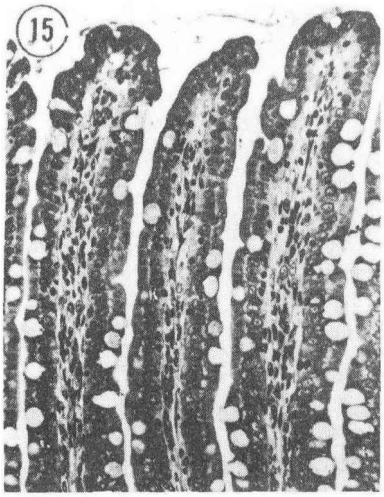


图 15 单纯手术对照动物小肠粘膜表现基本正常。×200

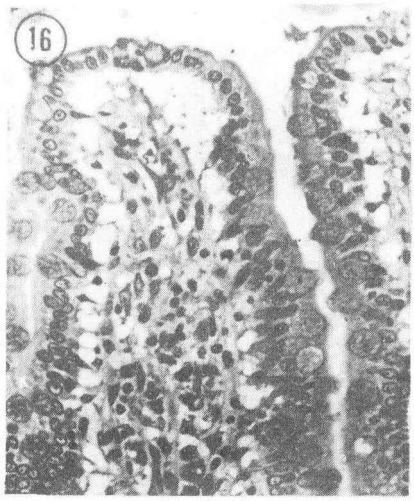


图 16 出血性休克 30min，动物小肠粘膜表现为充血，水肿，绒毛顶部出现上皮细胞下水肿间隙。×200

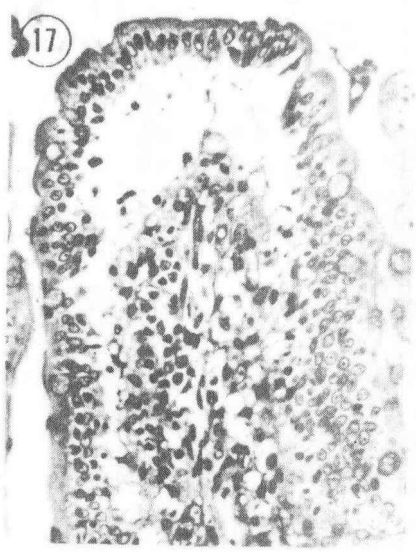


图 17 出血性休克 60min 动物肠粘膜水肿程度加重。表现为绒毛顶部上皮细胞下水肿间隙加大。×200

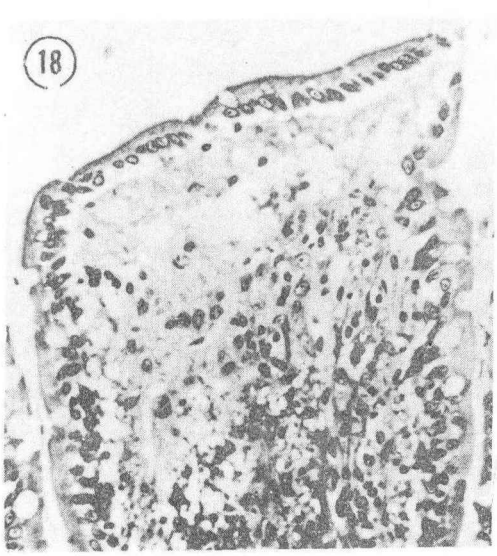
本实验结果表明，一定时限的出血性休克能够引起肠源性感染，而且感染的程度与休克时间呈直线关系。

3.2 别嘌呤醇和Tungstate饲料分别将出血性休克30分钟肠道细菌移居的发生率从61%降至14%和10%（表2-3）（$P<0.05$）。

休克（二）组动物形态学改变与休克（一）组30min所见相同。主要为肠粘膜水肿，绒毛顶部出现上皮细胞下间隙；盲肠间质水肿，并见细菌穿过盲肠粘膜上皮细胞层侵入到粘膜间质中。别嘌呤醇和Tungstate饲料则明显改善了出血性休克动物肠粘膜损伤的程度。别嘌呤醇加休克及Tungstate饲料加休克动物的小肠粘膜仅表现肠绒毛略不规则，绒毛间质疏松、水肿。（图23、24）。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

下延伸，部分绒毛顶部尚出现上皮细胞的灶性坏死（图17）；90min，肠粘膜不仅发生充血、水肿，还发生明显的应激急性坏死（图18、19）。同时尚可观察到动物盲肠内的细菌从多个部位穿过肠粘膜上皮细胞层侵入到粘膜下层（图20～22）。



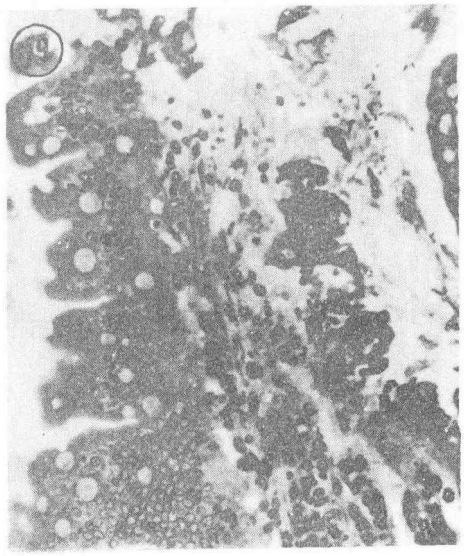


图 18、19 出血性休克90min动物肠粘膜损伤程度进一步加重。肠绒毛水肿间隙增宽，上皮细胞变缩，上皮细胞层出现灶性坏死。图一 6 示肠绒毛的急性应激性坏死。







图 20～22 出血性休克动物盲肠中细菌从损伤的粘膜部位侵入到肠粘膜间质中。×640

各实验组动物肠道中 G^- 杆菌菌量均无明显改变（表 2 - 4）。从所有动物内脏中培养到的细菌依序为大肠杆菌、变形杆菌、肠球菌、绿脓杆菌和葡萄球菌属。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

表2-3　灭活黄嘌呤氧化酶活性抑制出血性休克后肠道细菌的移居

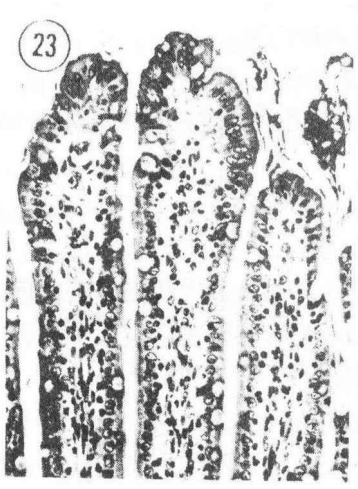
动物分组	动物数量	肠系膜淋巴结(%)	脾脏和肝脏(%)	肠系膜淋巴结中菌量[a]	黄嘌呤氧化酶活性[d]
对照组	14	7	0	3±10	180±43
30min休克组	23	61[b]	13	337±224	—
单纯Allopurinol组	6	0	0	0	—
Allopurinol加休克组	14	14[c]	7	200±149	—
单纯Tungstate组	6	16	0	8±8	0±0
Tungste加休克组	10	10[c]	0	84±80	—

a.菌量以每克组织中含有菌落数量的平均值±标准差表示。

b.与对照组相比细菌移居阳性率显著增高$P<0.01$。

c.与休克组相比细菌移居阳性率显著降低$P<0.05$。

d.黄嘌呤氧化酶活性以每克动物小肠中含有多少个mμ/g表示。



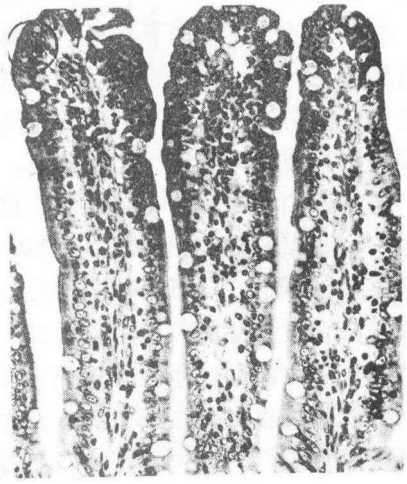


图 23、24　别嘌呤醇和Tungstate饲料出血性休克30min动物小肠粘膜损伤的程度明显减轻。×200

表2-4　出血性休克、Allopurinol和Tungstate饲料对动物肠道菌量的影响

动物分组	需氧菌菌量[a]	G⁻肠道中杆菌菌量[b]
对照组	$31\pm9.8\times10^{7}$[c]	$6\pm3.8\times10^{7}$[c]
出血性休克组	$43\pm9.9\times10^{7}$	$18\pm5.4\times10^{7}$
Allopurinol组	$11\pm2.2\times10^{7}$	$0.5\pm0.2\times10^{7}$
Allopurinol加休克组	$93\pm33.2\times10^{7}$	$51\pm24.5\times10^{7}$
Tungstate饲料组	$130\pm76.3\times10^{7}$	$35\pm29.2\times10^{7}$
Tungstate饲料组加休克组	$217\pm92.3\times10^{7}$[d]	$68\pm36.6\times10^{7}$

a.在血平板上生长的所有肠道需氧菌。

b.在MaeConkey's平板上生长的肠道G^-杆菌。

c.肠道中菌量以每克动物盲肠中所含有多少个菌落的均数±标准误表示。

d.比对照、出血性休克和Allopurionl 3组动物肠道中菌量显著增高（$P<0.05$）。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

3.3 在单纯大肠杆菌C_{25}优势繁殖的动物模型中，别嘌呤醇并没有能够阻止大肠杆菌C_{25}的移居过程。单纯大肠杆菌C_{25}和大肠杆菌C_{25}加别嘌呤醇两组动物，大肠杆菌C_{25}移居的发生率均为100%（表2-5）。

表2-5 Allopuriuol不能够阻止动物肠道中大肠杆菌C-25移居

动物分组	动物数量	肠系膜淋巴结（%）[a]	动物盲肠中大肠杆菌C_{25}菌量[b]
单纯大肠杆菌C_{25}组	5	100	$4.8\pm1.8\times10^{10}$
大肠杆菌C_{25}加Allopurinol组	9	100	$2.8\pm1.2\times10^{10}$

a.大肠杆菌C_{25}移居到动物肠系膜淋巴结中的阳性率。

b.菌量以每克动物盲肠中含有多少个大肠杆菌C_{25}的均数±标准误表示。

本实验结果表明，黄嘌呤氧化酶参与在出血性休克条件下动物肠粘膜损伤的发生。别嘌呤醇和Tungstate饲料能通过抑制黄嘌呤氧化酶的活性，明显改善肠粘膜损伤的程度，从而显著降低出血性休克后肠道细菌移居的发生率。

在出血性休克条件下，关于肠源性细菌感染是否存在的问题，几十年来一直未能得到明确答案[34-38]。本实验结果清楚地证实，在一定时限出血性休克后的早期阶段，肠道中的细菌，主要是G^-杆菌能够侵入体内形成肠源性感染。而且肠源性感染的程度和动物的病死率与休克时间的长短呈平行关系。

本实验结果提示，在出血性休克后早期阶段，造成肠源性感染的重要原因是肠粘膜屏障的损伤。根据是：①出血性休克30min，在肠道内菌群还未发生明显失调的情况下，随着肠粘膜屏障的损伤，肠道内细菌已经侵入体内。②出血性休克90min，动物肠粘膜损伤的程度最重，肠源性感染的发生率也最高。③别嘌呤醇和Tungstate饲料明显减轻了休克动物肠粘膜损伤的程度，同时也显著降低了肠源性感染的发生率。

本实验并没有观察出血性休克动物全身免疫功能改变情况，但在出血性休克条件下，机体免疫功能受抑的事实是客观存在的。例如：出血性休克后机体网状内皮系统功能受抑；机体腹腔的炎性反应能力下降；T-淋巴细胞功能障碍等[39][40]。这些因素对肠源性感染有促进作用。本实验出血性休克7天后，仍有38%动物的肠系膜淋巴结细菌培养阳性（表2-6），

表2-6 出血性休克后不同时期肠道细菌移居的情况

动物分组	动物数量	肠系膜淋巴结（%）	多内脏(%)[b]	肠系膜淋巴结中的菌量[c]	盲肠中菌量[d]
单纯手术对照组	7	0	0	0	2.4×10^9
休克1天	7	71	39	419	3.0×10^9
休克2天	8	50	21	142	2.1×10^9
休克7天	8	38	14	295	1.9×10^9

a.所有休克动物均为30min出血性休克。

b.为动物肝脏、脾脏和血液的总和。

c.为完整动物肠系膜淋巴结中细菌菌落的平均数。

d.为每动物盲肠中含有多少个菌落的均数±标准误表示。

休克7天后，受抑的机体免疫功能仍然不能够完全清除已侵入体内的肠道细菌。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

近年来，肠源性细菌感染作为一种重要的病理现象已得到较为广泛的关注。虽然对其确切的发病机制目前还没有完全了解，但人们对这一客观存在事实的认识还是有了极大的进步。多年来人们一直认为创伤的感染和多脏器功能衰竭是继发于免疫功能下降之后。但Rush等最近报导，早在出血性休克后2h，以G^-杆菌为主的多种肠道细菌已侵入血循环。出血性休克后8h，血培养阳性动物的病死率是100%；而血培养阴性动物的生存率竟高达83%。他们认为，出血性休克后，肠源性细菌感染是先于机体免疫功能紊乱的发生，这种早发的感染对创伤后机体免疫功能下降具有一定的促进作用[41][42][43]。Marshall等也在不同动物实验中证实，肠道中增殖的大肠杆菌，绿脓杆菌和白色念珠菌均能够显著抑制机体的迟发型变态反应，导致机体细胞免疫功能下降[45][44]。所以创伤后早期发生的肠源性感染并不一定总是继发于免疫功能降低之后，并对创伤后机体免疫功能的抑制有促进作用。

本实验证明，一定时限的出血性休克能够引起肠源性感染，感染的程度及动物的病死率与休克的时间呈直接相关。肠粘膜屏障的物理性损伤，是出血性休克后早期阶段发生肠源性感染的重要原因。用药物或特殊饲料抑制肠粘膜中黄嘌呤氧化酶的活性，在一定程度上有保护肠粘膜屏障的完整性和降低肠源性感染的作用。这一结果支持黄嘌呤氧化酶的激活及氧自由基的过多产生，在低血流再灌注性肠粘膜损伤的发病机制中起重要作用的概念。

三、内毒素与肠源性感染

1 实验目的

内毒素的作用与细菌感染之间的关系比较密切，在感染情况下两者同时起作用[46][47]。正常情况下，肠道中的内毒素主要来自G^-杆菌的解体[48]。不少研究已证明，在严重创伤之后，常有内毒素血症的存在，在多脏器功能衰竭的发生中内毒素也起着重要作用。在多种合并有肠粘膜屏障功能受损的情况下，肠道中的内毒素均能侵入体内形成肠源性内毒素血症（Enteroendotoxemia）。肠道中的内毒素本身也具有破坏肠粘膜的作用。有学者认为，创伤后首先是内毒素由损伤的肠粘膜屏障侵入体内，其次才是细菌的侵入[49-56]。为了进一步澄清内毒素的作用与肠源性感染之间的关系，因而设计了本实验，旨在观察：①细菌内毒素是否能促进肠源性感染的发生；②内毒素如能促进肠源性感染，是否也与肠粘膜的损伤有关；③观察别嘌呤醇和Tungstate饲料是否在内毒素的作用下也具有保护肠粘膜、抑制肠源性感染发生的作用；④观察数种内毒素的拮抗剂，是否能通过不同环节对内毒素产生拮抗作用，进而抑制肠源性感染的发生；⑤观察在内毒素作用下，肠粘膜通透性的改变情况。

2 动物分组和实验方法

2.1 实验共用CD-1小鼠363只。30只小鼠腹腔注射大肠杆菌内毒素026：B6(Sigma Chemical Co, St, Louis, Mo) 2 mg/只，24h后观察肠道细菌移居的情况。63只动物腹腔注射大肠杆菌内毒素0111：B4 (List Biological Lab, Campbell, CA)，剂量为0.05、0.25、0.1和0.5mg/只，分别观察动物的病死率和肠道细菌移居的情况。另一组10只小鼠，用抗生素"清洁"肠道后，肠道接种大肠杆菌C25和腹腔注射大肠杆菌内毒素0111：B4 0.1mg/只，24h后观察在肠道菌群紊乱情况下，内毒素是否可以促进肠源性细菌全身播散。10只小鼠腹腔注射无菌生理盐水0.5ml/只，作为对照。

2.2 别嘌呤醇或Tungstate饲料加内毒素（0：26：B6 2 mg/只)两组动物分别为32只和28只。观察抑制黄嘌呤氧化酶的活性是否具有保护肠粘膜，抑制肠源性感染的作用。为了验证动物小肠粘膜中黄嘌呤氧化酶活性的变化情况，还分别测定了对照组、内毒素组、单纯Tungstate饲料组和Tungstate饲料加内毒素4组动物（每组10只）小肠粘膜中黄嘌呤氧化酶的活性。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

2.3 为了验证血小板激活因子 (Platelet Activating Factor, PAF)是否参与内毒素促进肠道细菌移居的作用，在注射上述两种大肠杆菌内毒素之前30min，给16只小鼠经腹腔注射一种特异性血小板激活因子的拮抗剂（SRI63-441）20mg/kg，然后观察肠道细菌移居的情况。8只动物腹腔单纯注射SRI63-441作为对照。

2.4 多粘菌素B具有拮抗内毒素的作用，庆大霉素具有和多粘菌素B类同的抗菌谱。给40只小鼠分别注射上述两种大肠杆菌内毒素和多粘菌素B，观察多粘菌素B是否可以通过其对内毒素的拮抗作用而抑制内毒素引起肠道细菌移居的作用。多粘菌素B（Burroughs Wellcome CO, Research Park, NJ）0.03mg/只，与大肠杆菌内毒素0111：B4 0.1mg/只或大肠杆菌内毒素026：B6 2.0mg/只，混合后置于20℃条件下振荡3h，经腹腔注入动物体内，24h后活杀，观察肠道细菌移居的情况。给另外16只动物腹腔注射庆大霉素（Schering Corp, Kenilworth, NJ）0.03mg/只与大肠杆菌内毒素0111：B4 0.1mg/只的混合液，24h后活杀。对比观察庆大霉素是否也具有拮抗内毒素的作用。48只小鼠经腹腔注射大肠杆菌内毒素0111：B4 0.1mg/只或大肠杆菌内毒素026：B6 2.0mg/只，作为对照。

实验中所用的细菌培养、光镜形态学的观察，动物肠粘膜黄嘌呤氧化酶活性的测定以及统计学处理等均见“材料与方法”。

3 结果和分析

3.1 所有对照动物肠系膜淋巴结的细菌培养均为阴性，大肠杆菌内毒素026：B6 2mg/只造成80%（24/30）动物发生肠道细菌移居（表3-1）。腹腔注射大肠杆菌0111：B4

表3-1 大肠杆菌内毒素造成肠道细菌移居的情况以及黄嘌呤氧化酶灭活剂和抑制剂的作用

动物分组	动物数量	肠系膜淋巴结		回肠黄嘌呤氧化酶活性[3] mu/g
		阳性率	CFU/g	
对照	10	0	0	92±8
大杆菌内毒素026，B6(2.0mg)	30	80	1607±658	156±25
大肠杆菌内毒素0111，B4(0.05mg)	10	50	1660±464	ND
大肠杆菌内毒素0111，B4(0.1mg)	13	69	704±160	ND
Allopurinol	16	0	0	ND
Allopurinol加大肠杆菌内毒素026，B6	16	31[#]	220±113[*]	ND
Tungstate饲料	10	0	0	0
Tungstate饲料加大肠杆菌内毒素026，B6	18	17[#]	144±94[*]	0

1.细菌移居的阳性率以肠系膜淋巴结中细菌培养阳性动物的百分率来表示。
2.菌量以每g肠系膜淋巴结中含有多少个菌落(CFU)的均数±标准误来表示。
3. 与对照动物相比较，大肠杆菌内毒素显著提高了动物肠粘膜中黄嘌呤氧化酶活性（$P<0.05$）。
4.ND：未做。
5.“#”和“*”分别表示与两组单纯内毒素组相比较，其检出率和检出菌量均显著降低（$P<0.01$和$P<0.05$）。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

0.5mg/只和0.25mg/只的两组共20只小鼠，48h内全部死亡，死亡率为100%；注射0.1mg/只的10只小鼠，7天内死亡1只，死亡率仅为10%；注射0.05mg/只的10只小鼠未发生死亡。本实验选用0.1mg和0.05mg两种剂量，观察大肠杆菌内毒素0111：B4引起小鼠肠道细菌移居到肠系膜淋巴结的情况。结果表明，0.05mg/只和0.1mg/只内毒素造成肠道细菌移居的发生率分别为50%（5/10）和69%（9/13）（表3-1）。在大肠杆菌C_{25}增殖的动物模型中，大肠杆菌内毒素0111：B4 0.1mg/只造成大肠杆菌不但移居到肠系膜淋巴结，而且还进一步播散到肝、脾以及血循环中（表3-3）。

表3-3 肠道内大肠杆菌-C_{25}的移居情况

动物分组	动物数量	肠系膜淋巴结		肝脏		脾脏		血液	盲肠菌量
		阳性率%	菌量CFU/g	阳性率%	菌量CFU/g	阳性率%	菌量CFU/g	阳性率%	CFU/g
单纯大肠杆菌	8	100	$2.7\pm2.1\times10^3$	—		—		—	$3.6\pm0.8\times10^{10}$
大肠杆菌加大肠杆菌内毒素0111:B4	10	100	$3.3\pm1.0\times10^3$	60	$9.9\pm5.2\times10^3$	50	$1.0\pm0.9\times10^8$	50	$6.4\pm9.6\times10^{10}$
大肠杆菌加Allopurinol	8	100	$2.6\pm2.5\times10^3$	—		—		—	$2.1\pm0.5\times10^{10}$

①细菌移居的阳性率以内脏中培养到大肠杆菌C25动物的百分率来表示。
②菌量以每克内脏组织中含有多少个菌落(CFU)的均数±标准误来表示。
③"—"表示培养阴性。

本研究结果表明，亚致死量的大肠杆菌内毒素能够引起肠源性感染，肠道细菌主要移居到肠系膜淋巴结；在合并有肠道菌群紊乱的条件下，亚致死量的大肠杆菌内毒素就能够促进肠道细菌全身播散。

3.2 别嘌呤醇和Tungstate饲料能否抑制大肠杆菌内毒素诱导肠道细菌移居的研究结果证明，两者均能够显著降低肠道细菌移居的发生率和细菌移居的菌量（表3-1）（$P<0.05$-0.1）。但细菌学的资料提示，别嘌呤醇和Tungstate饲料抑制大肠杆菌内毒素造成肠道细菌移居的作用并不是通过降低动物肠道内细菌的菌量所致，因为各内毒素实验组动物的肠道菌量水平均高于对照动物（表3-2）。

表3-2 大肠杆菌内毒素和黄嘌呤氧化酶的抑制剂及灭活剂对肠道菌量的影响

动物分组	动物数量	盲肠菌量	
		革兰氏阴性菌	革兰氏阳性菌
对照	10	$1.0\pm0.8\times10^6$	$9.0\pm3.2\times10^7$
大肠杆菌内毒素026:B6	30	$6.6\pm2.8\times10^7$	$1.5\pm4.2\times10^9$
Allopurinol	16	$2.0\pm0.7\times10^6$	$4.5\pm1.1\times10^8$
Allopurinol加大肠杆菌内毒素026:B6	16	$5.1\pm3.8\times10^7$	$2.2\pm4.4\times10^9$
Tungstate饲料	10	$2.9\pm1.2\times10^5$	$2.5\pm0.7\times10^7$
Tungstate饲料加大肠杆菌内毒素026,B6	18	$1.4\pm8.4\times10^8$	$6.4\pm5.2\times10^8$

1. 动物肠道内菌量以每克盲肠中含有多少个菌落(CFU)的均数±标准误来表示
2. 各大肠杆菌内毒素实验组动物肠道中的菌量均显著高于对照动物肠道中的菌量（$P<0.05$）。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

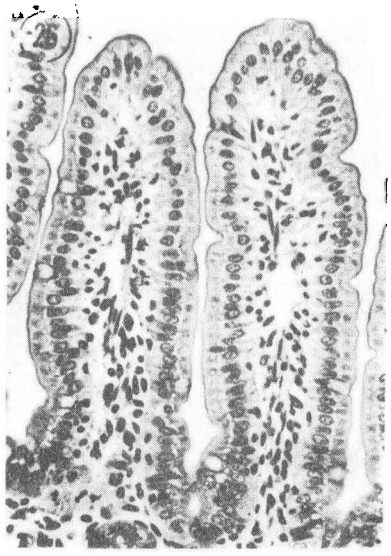
形态学的观察发现，大肠杆菌内毒素明显损害了动物小肠粘膜屏障的完整性。肠绒毛出现上皮细胞下水肿间隙，多处肠粘膜的上皮细胞呈灶性坏死、脱落（图25）。而别嘌呤醇和Tungstate饲料则明显改善了动物肠粘膜损伤的程度（图26、27）。



图25　大肠杆菌内毒素（026:B4 2mg/只）引起动物小肠粘膜发生急性应激性损伤。绒毛广泛水肿，绒毛顶部上皮细胞层与间质之间出现上皮细胞下水肿间隙。在绒毛的上皮细胞层中多处出现灶性坏死病灶，上皮细胞脱落后在肠绒毛示面形成多处"空缺"（Gross-gaps）（箭头示）。×200

生化测定也提示，大肠杆菌内毒素明显提高了动物肠粘膜中黄嘌呤氧化酶的活性，而 Tungstate 饲料则灭活膜了这种酶在肠粘膜中的活性。

上述结果表明，大肠杆菌内毒素主要是通过破坏肠粘膜屏障的完整性，从而造成肠源细菌感染。黄嘌呤氧化酶的激活参与了在内毒素作用下肠粘膜损伤的发生，而别嘌呤醇和 Tungstate 饲料则是通过灭活黄嘌呤氧化酶的活性，抑制了内毒素对肠粘膜的损伤作用，保护了肠粘膜对肠道细菌的屏障功能，从而降低了大肠杆菌内毒素导致的肠源性感染。另外，在单纯大肠杆菌C_{25}优势繁殖的条件下，由于没有黄嘌呤氧化酶激活的因素存在，所以别嘌呤醇并不能够阻止肠道中大肠杆菌C_{25}的移居（表 3 - 3）。



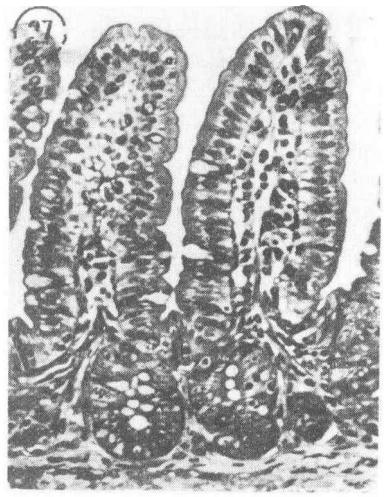


图26、27　接受Tungstate 饲料加大肠杆菌内毒素或 Allopurinol 加大肠杆菌内毒素（026:B4 2 mg/只）的动物，小肠粘膜并没有表现出明显的应激性损伤。与对照动物的肠粘膜相比较，仅少数肠绒毛的间质略为疏松，肠粘膜的形态学表现基本正常。×200

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

在形态学方面我们还观察到，在大肠杆菌内毒素的作用下，动物肠腔中的细菌不仅侵入到小肠粘膜的上皮细胞内（图28、29），而且还从小肠粘膜和盲肠粘膜的损伤部位侵入到肠粘膜下层（图30、32）。



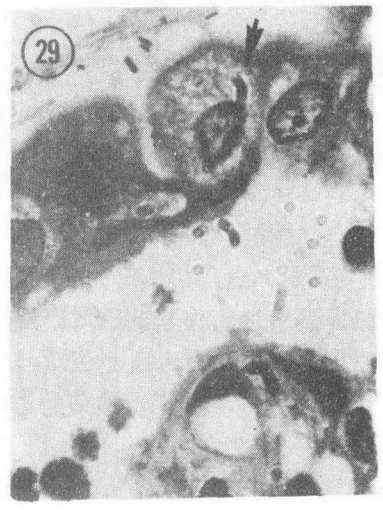
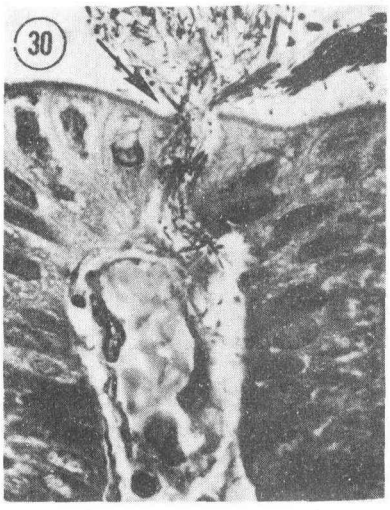


图28、29　高倍镜下见大肠杆菌内毒素造成小肠粘膜的上皮细胞明显损伤。上皮细胞排列不整齐，细胞胞浆有空化表现，细胞核排列也失去极性。空肠内的细菌正穿越(Penetrating)受伤的肠上皮细胞(箭头示)以及已经进入到上皮细胞胞浆内（箭头示）。×640



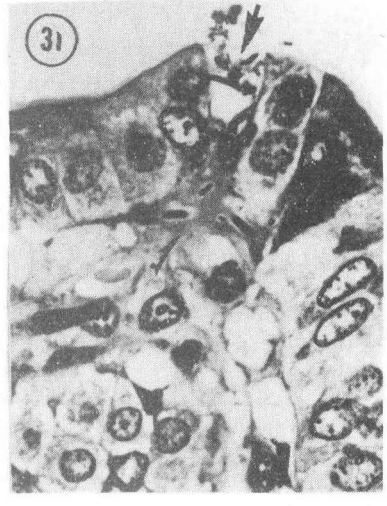
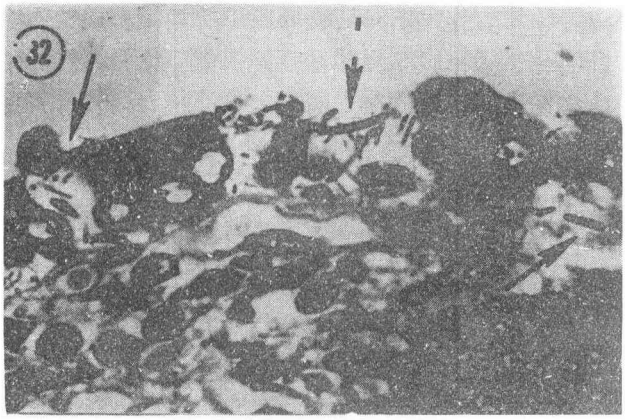


图30、32　大肠杆菌内毒素(026:B4 2mg/只)也常造成动物盲肠（cecum）的粘膜发生灶性损伤。粘膜的上皮细胞呈灶性或单个坏死脱落，肠腔内的细菌则从这些粘膜的损伤部位直接侵入到粘膜下层中(箭头示)。×640

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n



3.3 我们在两种大肠杆菌内毒素组中，分别使用了一种血小板激活因子的选择性抑制剂（SRI63-441），试图观察是否可以通过对血小板激活因子拮抗的途径，来抑制大肠杆菌内毒素造成肠源性感染的作用。结果是：大肠杆菌内毒素（026：B6 2mg/只）造成肠道细菌移居到肠系膜淋巴结的阳性率为63%（5/8），大肠杆菌内毒素（026：B6 2mg/只）加血小板激活因子拮抗剂，仍有75%（6/8）的动物发生肠道细菌移居。单纯大肠杆菌内毒素（0111：B4 0.1mg/只）和内毒素（0111：B4 0.1mg/只）加血小板激活因子拮抗剂的两组36只小鼠，肠道细菌移居到肠系膜淋巴结的阳性率分别为78%（14/18）和56%（10/18）。结果说明，在小鼠体内，血小板激活因子的选择性竞争拮抗剂（SRI63-441），并不具有抑制大肠杆菌内毒素造成肠源性感染的作用。

3.4 在大肠杆菌内毒素的作用下，多粘菌素B是否具有抑制肠源性感染发生作用的。研究结果证明，多粘菌素B使大肠杆菌内毒素（0111：B4 0.1mg/只）所致肠道细菌移居到肠系膜淋巴结的阳性率从75%降低至13%（表3-4），移居的菌量也从2499菌落/g下降至

表3-4 多粘菌素-B和庆大霉素对大肠杆菌内毒素引起肠道细菌移居作用的影响

动物分组	动物数量	肠系膜淋巴结		盲肠菌量	
		阳性率 %	菌量 CFU/g	革兰氏阴性菌	革兰氏阳性菌
大肠杆菌内毒素0111，B4	16	75	2499±319	$7.2\pm1.7\times10^{8}$	$1.2\pm2.3\times10^{9}$
多粘菌素-B加大肠杆菌内毒素0111，B4	16	13	349±258	$8.9\pm1.7\times10^{8}$	$1.4\pm2.2\times10^{9}$
庆大霉素加大肠杆菌内毒素0111：B4	10	69	1784±247	$1.1\pm1.9\times10^{8}$	$1.8\pm3.4\times10^{8}$
大肠杆菌内毒素026，B6	24	71	2012±510	ND	ND
多粘菌素-B加大肠杆菌内毒素0126：B6	24	29	238±176	ND	ND

1.菌量以每克动物内脏中有含多少个菌落（CFU）的均数±标准误来表示。

2.阳性率以肠系膜淋巴结中培养到细菌的阳性动物百分率来表示。

3.ND：未做。

4.多粘菌素-B显著降低内毒素引起的肠道细菌移居的发生率和细菌移居的菌量（$P<0.01$）。

349菌落/g。同时，多粘菌素B使内毒素026：B6 2 mg/只，造成肠道细菌移居到肠系膜淋巴结的阳性率和移居的菌量也分别从71%和2012菌落/g显著降低至29%和238菌落/g。然而

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

大肠杆菌内毒素0111：B4 0.1mg/只加庆大霉素组小鼠肠道细菌移居的发生率仍为69%，与单纯内毒素组动物肠道细菌移居的阳性率相比较没有显著差异，因而说明，多粘菌素B具有拮抗大肠杆菌内毒素诱导肠源性感染发生的作用。虽然庆大霉素具有和多粘菌素B类同的抗菌谱，但它并不能抑制大肠杆菌内毒素引起肠源性感染的作用。这也提示，多粘霉素B抑制大肠杆菌内毒素引起肠源性感染的作用，主要是通过其对内毒素的拮抗作用，而同抗菌作用没有关系。

从所有实验动物内脏中培养到的细菌均为肠道菌属。大肠杆菌的检出率最高，以后依序为变形模仿菌、粪链球菌、绿脓杆菌和葡萄球菌。

近年来的研究证实，在肠粘膜屏障功能受损的情况下，可以发生肠源性细菌感染和肠源性内毒素血症[57][59]。Fry和Garrison[61][62]提出“肠道可以是外科临床病人全身感染的起源”。Stone[60]等也证实“肠道是全身性念珠菌感染的原发病灶”。Marshall[63]等发现16名危重病人中的15名，其全身感染的致病菌与他们上消化道中的细菌类型完全相同，明确了肠源性细菌感染的途径。他们认为肠道不单纯是多脏器功能衰竭发生时受损的靶器官之一，其在多脏器功能衰竭的发生中起着“始动器”的作用。这种观点为许多在临床上常发生的不明原因的感染找到了答案。

针对肠源性内毒素血症对机体的危害性，关于防治其发生的研究也渐增多。其中使用多粘菌素B以拮抗内毒素作用的研究较为广泛。多粘菌素B是一种阳离子性的多肽类抗生素，可以非特异性地与G^-细菌脂多糖分子结构中的类指A部分相结合而使G^-细菌脂多糖不能表现出内毒素的作用[64]。动物研究已证实，使用多粘菌素B能够提高受到四氯化碳或内毒素损伤的动物存活率[66][65]。本实验也利用了多粘菌素B对内毒素的拮抗作用，显著降低了在内毒素作用下肠源性感染的发生率。提示，临床上如不考虑采用直接拮抗内毒素作用的措施，而单纯使用抗生素抑制细菌，则不能有效地防治肠源性感染的发生和发展。

不少研究已证实，细菌脂多糖能够激活体内多种细胞成分合成和释放一系列炎性前介质（Proinflammatory mediators），脂多糖又是凭借机体释放的这些内源性生物活性因子表现出内毒素的种种作用。近来发现，血小板激活因子（PAF）参与了感染和内毒素性休克的发生和发展，并与在这些情况下发生的消化道粘膜损伤也有关联[67-69]。血小板激活因子是一种低分子量的磷脂类（Phospholipid）物质，在体内是在激活的磷脂酶A_2作用下，再经一系列的酶促反应而最后生成的[70]。体内，诸如肝脏枯否氏细胞、中性白细胞、血小板以及血管内皮细胞均能够生成血小板激活因子。血小板激活因子具有增加血管通透性，引起低血压性休克以及导致死亡等多种类似内毒素的生物学作用[71][72]。在内毒素诱导的低血压阶段，动物血中血小板激活因子的浓度会有暂时性的升高，使用血小板激活因子的拮抗剂也能够抑制内毒素的作用[73]。最近Sun等发现，血小板激活因子参与了内毒素引起的肠坏死。因此有理由认为在内毒素引起肠源性感染的发病机制中也有血小板激活因子的参与[73]。SRI63-441为一种血小板激活因子的受体拮抗剂。在大鼠、豚鼠以及灵长类等多种动物体内均能够抑制血小板激活因子的主要生物学效应[75]。但在本实验的小鼠模型中SRI 63-441却未能抑制内毒素促进肠源性感染发生的作用。原因可能有这样三个方面：①血小板激活因子可能根本就没有参与内毒素对机体的损伤作用。或许在一定程度上参与了，但它不是主要的损伤因素；②内毒素主要是通过破坏肠粘膜的机械性屏障而导致肠源性感染发生的，血小板激活因子也许并没有参与内毒素的这一致病过程；③SRI63-441对血小板激活因子的拮抗作用具有

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

生物种系的选择性，它在小鼠体内不能起作用。对此尚需进一步探讨其确切机制。

研究证实，由于黄嘌呤氧化酶的激活产生过量氧自由基参与低血流状态下肠粘膜再灌注性损伤的发生。我们发现，内毒素使动物肠粘膜中黄嘌呤氧化酶的活性显著增高，而别嘌呤醇和Tungstate饲料则通过抑制黄嘌呤氧化酶的活性，阻止了肠粘膜中氧自由基的过多产生，从而达到保护肠粘膜屏障，降低肠源性感染的作用。

肠源性感染是一个比较复杂的疾病发展过程。在不同的临床情况下，就是在同一疾病发展的不同阶段，所涉及到的病因与发病机制也是不同的和多方面的。肠源性感染本身就是一个多因素相互作用的动态演变过程，其中还存在有很多的未知数有待进一步证实。至少本实验结果证实：① 亚致死量的大肠杆菌内毒素能够引起肠道内细菌侵入肠系膜淋巴结；在合并有肠道菌群增殖的条件下则能引起肠源性细菌全身播散。② 大肠杆菌内毒素主要是通过损伤肠粘膜屏障的完整性引起肠源性感染；黄嘌呤氧化酶的激活参与了内毒素的上述作用；使用灭活黄嘌呤氧化酶的活性，有保护肠粘膜；降低肠源性感染的作用。③ 多粘菌素B具有拮抗内毒素，降低肠源性感染的作用。④ 血小板激活因子的受体拮抗剂（SRI63-441）对大肠杆菌内毒素所致肠源性感染未能表现出拮抗作用。⑤ 在动物体内，本研究首次证实了大肠杆菌内毒素能够导致肠粘膜通透性增高，并为解释这一病理现象提供了客观依据。

四、细菌内毒素与肠粘膜通透性

1 实验目的

正常肠道中所含细菌和内毒素的量足以将宿主致死数遍有余。在机体的内外表面，肠粘膜不但面积最大，而且肠道中所含细菌的量也最高，大于10^{14}。各种细菌多达400种以上，目前的观点是这些细菌多为致病菌[76][77][78]。因此肠粘膜必须是机体的一道十分重要的防御屏障，能够有效地阻止肠道内细菌和内毒素侵入体内。

肠粘膜是一个较复杂的组织结构，由多种生理功能不同的细胞和细胞产物所共同构成，肠粘膜上皮细胞本身则是这道屏障的主要结构基础。肠上皮细胞之间的一种特殊的膜性结构—紧密连接（tight junction），是维持肠粘膜通透性的重要组织成分，生理情况下只能允许2mμ大小的离子或小分子物质通过，以沟通机体内、外环境，便于新陈代谢的需要[79][80][81]。同时肠粘膜屏障的完整与否还与各种非免疫性的和免疫性的屏障成分密切相关。任何原因使肠粘膜的屏障成分发生改变，或直接损伤了肠粘膜，都会造成肠粘膜的屏障功能衰竭，使肠粘膜对肠内容物的通透性升高，细菌，内毒素得以非正常的侵入体内，从而激起一系列病理生理改变，发生肠源性感染。因此肠粘膜屏障功能的健全与否，对维持机体内环境的相对稳定是十分重要的。

肠道中的内毒素主要来自内源性G^-杆菌的解体。而肠粘膜对机体内环境改变的反应十分敏感，在一些尚属于“生理范畴”的情况下，肠粘膜的屏障功能就已经发生了改变。例如马拉松长跑及接受大强度训练的运动员，由于体内暂时性的缺氧和体温升高就能够造成肠粘膜通透性增高，使肠腔中的细菌内毒素“漏入”体内，形成肠源性内毒素血症[82][83][84]。现已表明，在创伤，应激及多种内、外科临床情况下，由于肠粘膜屏障功能的减弱，肠粘膜通透性增高，肠道中的细菌和内毒素都能侵入体内，形成肠源性菌血症和肠源性内毒素血症，在肠源性感染的发病过程中两者同时起作用[51][52][50]。

我们虽然已经证实，循环中的内毒素主要是通过破坏肠粘膜屏障的完整性，得以造成肠道细菌侵入体内。但我们并不简单地满足于这一结果，我们设法能在肠粘膜中找到一条使得肠腔内容物直接穿过肠粘膜屏障的直观的“通道”（Paracellular Pathway），以证实细菌内毒素造成肠粘膜对肠腔内容物通透性增高的确切机制。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

2 动物分组和实验方法

采用电镜组化的方法观察在大肠杆菌内毒素的作用下，动物小肠粘膜对肠腔中分子量 4 万的大分子物质—辣根过氧化物酶（HRP）通透性的改变情况。内毒素组动物腹腔注射大肠杆菌内毒素 026：B6 2.0m/g 只，对照组动物腹腔注射无菌生理盐水0.5ml/只，动物分组见表 4 - 1 。

表 4 - 1 观察肠粘膜通透性改变的动物分组

HRP在肠腔中的时间 (min)	内毒素组 (N)	对照组 (N)
5	3	2
10	3	2
15	3	2
30	3	2
总计	12	8

动物注射内毒素24h后进行肠粘膜通透性变化的观察和利用冰冻蚀刻技术对肠粘膜上皮细胞之间紧密连接的组织结构进行观察，方法见“材料和方法”。

3 结果和分析

3.1 本研究有关小肠粘膜通透性的观察结果证明，大肠杆菌内毒素显著提高了肠粘膜对肠腔内大分子物质的通透性。主要依据是：

3.1.1 光镜下可见：辣根过氧化物酶（HRP）的褐色沉淀物呈粗线状整齐地排列在对照动物肠粘膜上皮细胞的表面（图33）。在肠粘膜上皮细胞之间的连接部位没有HRP的沉淀物。在肠粘膜间质中，内源性HRP的反应产物均限于毛细血管内。提示，正常的肠粘膜屏障对肠腔中的HRP不具有通透性。

内毒素组小鼠HRP的褐色沉淀物则均匀地出现在肠粘膜的上皮细胞层内（图34、35）。

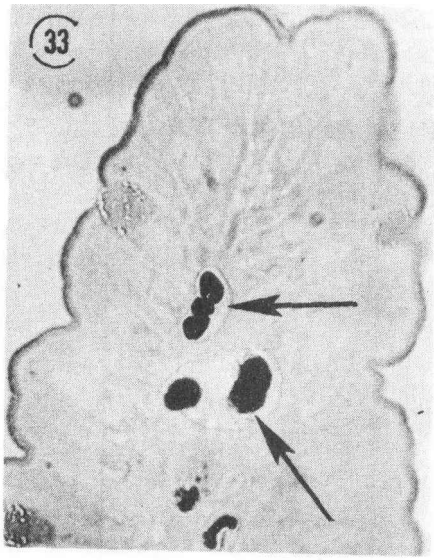


图33 辣根过氧化物酶（HRP）的沉淀物沿对照动物肠粘膜的表面排列。在肠粘膜的间质中HRP的阳性沉淀物仅限于微血管内（箭头示）。×640

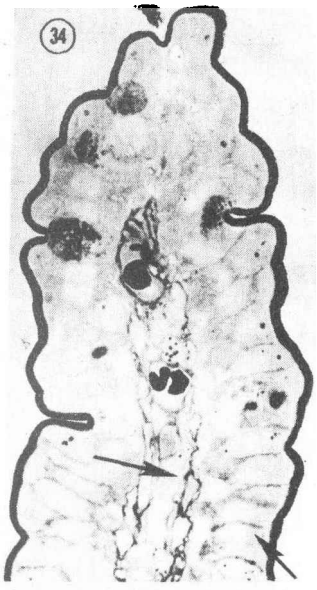


图34 大肠杆菌内毒素提高了动物肠粘膜对肠腔内大分子物质(HRP)的通透性。HRP的沉淀物呈线状出现在肠粘膜上皮细胞之间(上部箭头示)。在肠粘膜上皮细胞层和间质之间的交界处HRP的沉淀物也呈线状排列（下部箭头示）。这说明肠腔中的HRP从开放的肠上皮细胞之间的通道进入到肠粘膜的间质中。但是肠粘膜通透性增高的部位主要是靠近绒毛的中、下部。×640

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

HRP 的沉淀物呈线状平行地排列在肠上皮细胞之间，从上皮细胞顶部贯通性地伸展到肠上皮细胞的基底部。在肠粘膜上皮细胞层与间质的交界面，HRP的沉淀物呈不规则线状分布。在肠绒毛顶部上皮细胞损伤的部位，HRP的沉淀物则呈弥散性分布（图36）。HRP 的沉淀物大多都排列在肠绒毛中、下部位的上皮细胞之间（图34），少数情况下排列在上皮细胞之间的HRP 沉淀物可见于肠绒毛的各个部位（图35）。说明在大肠杆菌内毒素的作用下，肠粘膜通透性的增高，大都是从肠绒毛的中、下部位开始，严重者可累及整个绒毛。

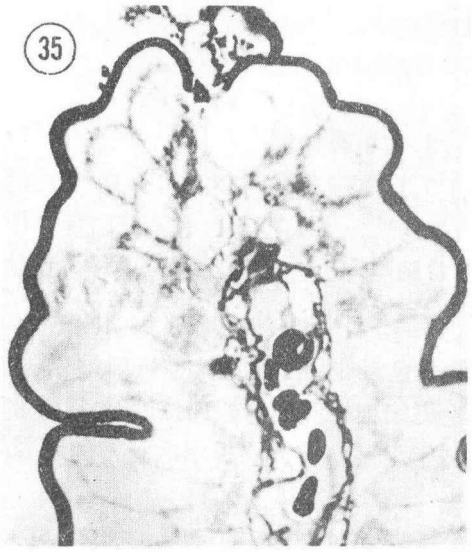


图35 大肠杆菌内毒素也显著提高了绒毛顶部肠粘膜的通透性。HRP 从整个绒毛的各个部位进入到肠粘膜的间质中。×640

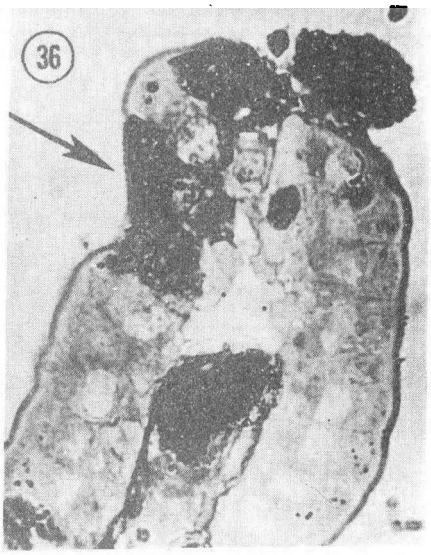


图36 大肠杆菌内毒素造成肠绒毛顶部个别上皮细胞发生变性、坏死。因而在肠粘膜中间形成一些大的“缺口”，肠腔中HRP从这些“缺口”处弥散性地进入到肠粘膜中。×640

3.1.2 电镜观察则发现对照动物肠粘膜上皮细胞之间的细胞连接部位以及上皮细胞基底膜与间质的交界处，没有出现HRP的沉淀物（图37、38）。说明正常的肠粘膜屏障对肠腔内

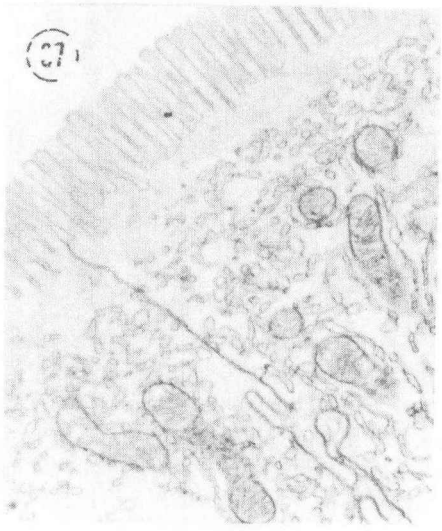


图37 电镜下在对照动物肠粘膜的上皮细胞之间没有HRP的沉淀物存在。×8094

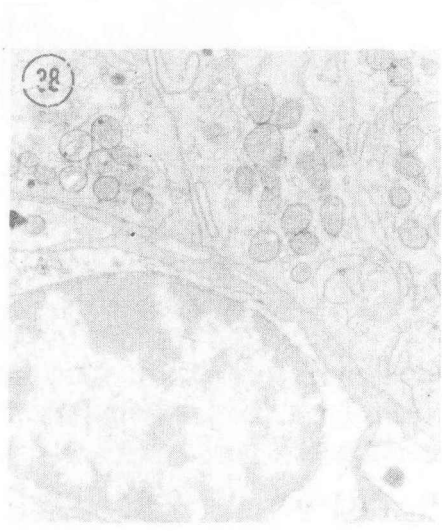


图38 电镜下在对照动物肠粘膜的间质中没有HRP的沉淀物存在。×6840

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

的大分子物质HRP不具有通透性，而大肠杆菌内毒素则可造成动物小肠粘膜通透性明显增高。表现为HRP沉淀物出现在肠粘膜上皮细胞之间的间隙中，上至细胞紧密连接处，下至上皮细胞基底膜的间质中，HRP从肠腔中贯通性地横穿上皮细胞之间的通道（Paracellular Pathway），直接进入到肠粘膜间质中（图39、40）。HRP沉淀物也常聚集在上皮细胞连接

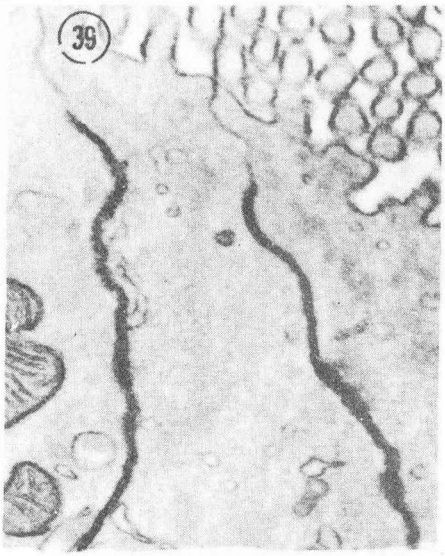


图39 大肠杆菌内毒素引起肠粘膜的通透性增高，使肠腔中的HRP通过上皮细胞之间的紧密连接进入到上皮细胞之间的间隙中，并沿着细胞之间的通道直接进入到肠粘膜的间质中。×10260，20520

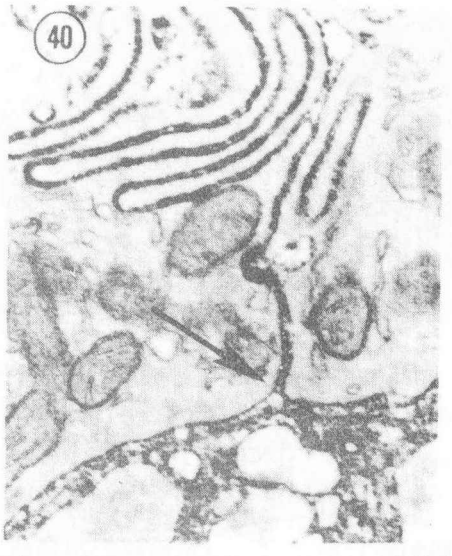


图40 在大肠杆菌内毒素的作用下，肠腔中的HRP顺着细胞之间“开放”的直捷通路弥散性地进入到肠粘膜的间质中。图中箭头示位于细胞之间间隙中的HRP最后进入到肠粘膜间质中。×20520

处扩张的间隙中（图41）以及基底膜上方局部扩张的细胞间隙中。肠粘膜上皮细胞层的基底膜对HRP的弥散不构成屏障作用。在肠粘膜间质中，毛细血管内皮细胞之间的间隙中，以及血管和淋巴管管腔内都充满着HRP的沉淀物（图42、43）。

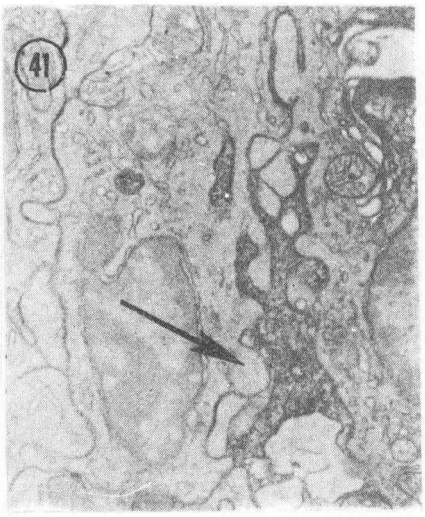


图41 HRP的沉淀物堵积在大肠杆菌内毒素动物肠粘膜上皮细胞之间扩张的间隙中。×6840

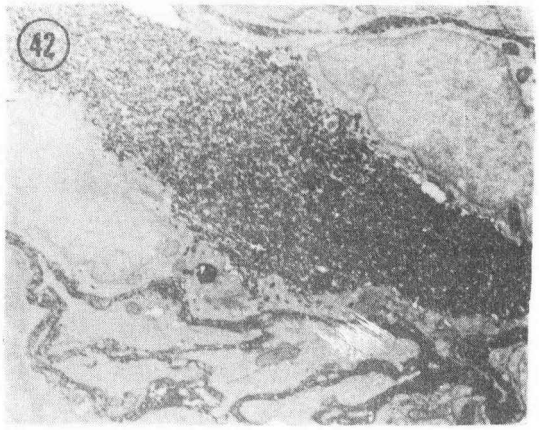


图42 HRP的沉淀物呈弥散性地分布在内毒素动物肠粘膜的间质中。×4560

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

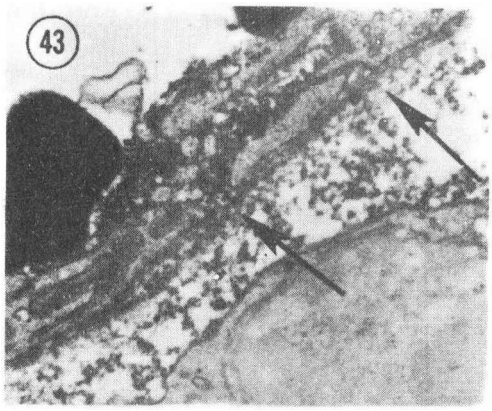


图43 在内毒素动物肠粘膜的间质中，HRP的沉淀物从毛细血管内皮细胞之间开放的间隙中进入到毛细血管内。×12540

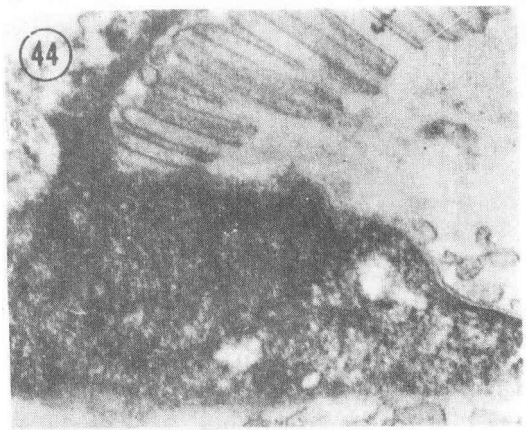
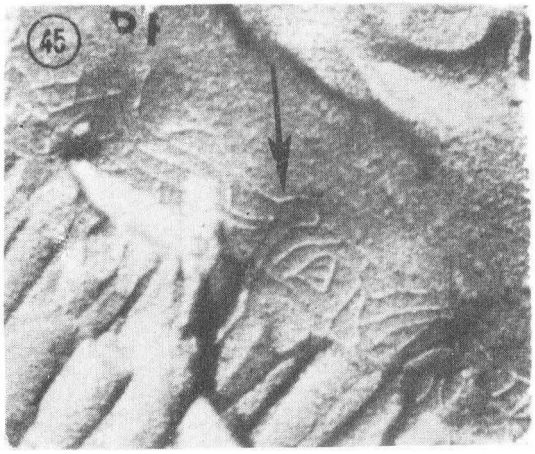


图44 HRP的沉淀物从大肠杆菌内毒素动物肠粘膜上皮细胞之间显著开放的紧密连接处进入到肠粘膜中。×20520

这些观察结果说明，大肠杆菌内毒素破坏了肠粘膜上皮细胞之间的紧密连接，从而提高了肠粘膜对肠腔内大分子物质的通透性。在本实验中表现为，动物肠腔中的HRP通过上皮细胞之间的紧密连接（图44），途经上皮细胞之间的通道进入到肠粘膜间质中，最后经过毛细血管以及淋巴管播散到全身。

3.1.3 冰冻蚀刻形态学的观察结果发现，对照动物小肠粘膜上皮细胞之间的紧密连接表现为3－5行连续走行而又大致平行，并与细胞纵轴呈垂直的条索状结构。在PF(Protoplasmic membrane fracture face, PF) 面上呈嵴状隆起，而在与此相对应的EF(Exoplasmic membrane fracture face,EF) 面上则呈相应的浅沟状（图45、46）。这些嵴有分支并彼此



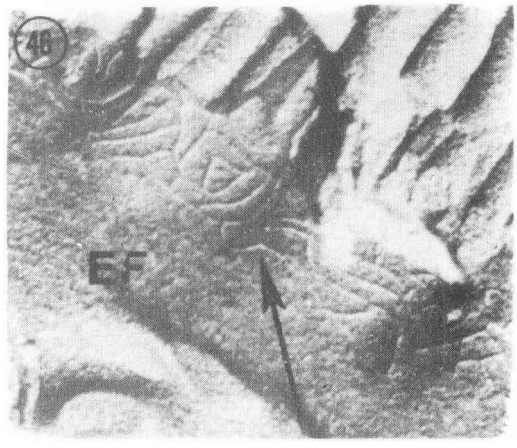


图45、46 对照动物肠粘膜冰冻蚀刻的照片显示上皮细胞之间的紧密连接在PF面上呈3—5行条索状平行排列，连续走向的嵴状物（箭头示）。而在对应的EF面上，紧密连接则表现为相应的浅沟（箭头示）。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

相连成网状。大肠杆菌内毒素造成动物粘膜上皮细胞之间紧密连接的组织结构发生明显改变。在PF面上，索条状的紧密连接相互间有融合现象，粗细不匀，排列很不规则。同时，连续走行的嵴状结构变成为间断走行的颗粒状结构，有些部位连续走行的紧密连接有完全脱节的表现，或完全消失（图47、48、49、50、51）。

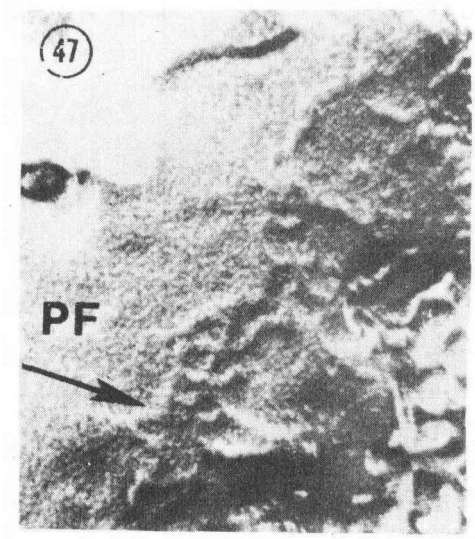
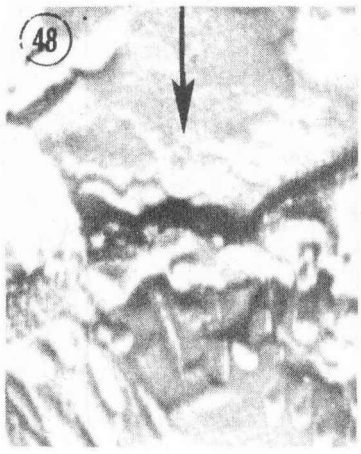


图47 大肠杆菌内毒素造成动物肠粘膜上皮细胞的紧密连接组织结构发生明显改变。嵴状排列的紧密连接呈明显扭曲状态，相互间有融合现象，粗细不均，排列很不规则（箭头示）。×25080

冰冻蚀刻技术主要是显示细胞内的膜性结构。所以利用冰冻蚀刻的方法能为我们提供对肠粘膜上皮细胞之间的紧密连接进行直观的机会。结果表明，大肠杆菌内毒素能够破坏使肠粘膜机械性屏障完整性得以维持的关键性组织结构—上皮细胞之间的紧密连接，造成肠粘膜上皮细胞之间通道的异常“开放”；从而使肠粘膜对肠腔内的细菌和内毒素等内容物的通透性明显升高。

3.2 小肠粘膜超微结构的形态学观察发现，大肠杆菌内毒素造成动物肠粘膜上皮细胞的超微结构发生一系列改变：①上皮细胞胞浆内的膜性结构，包括高尔基氏器、内质网以及核周隙均呈程度不等的扩张状态（图52），在扩张的高尔基氏器的囊泡中常存在着电子密度不等的颗粒状物质。②肠粘膜上皮细胞呈程度不等的空泡性变。主要表现为上皮细胞胞浆中的细胞基质明显减少，



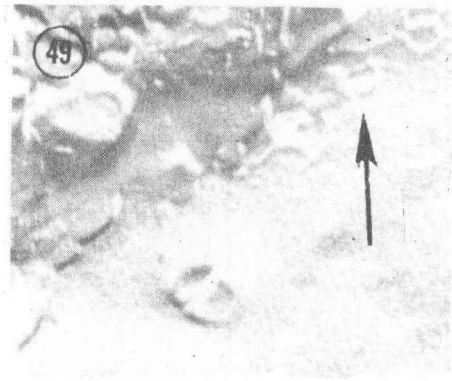


图48、49 显示大肠杆菌内毒素破坏了动物肠粘膜上皮细胞之间的紧密连接。在PF面上条索状的嵴数量减少，排列紊乱，走向不规则，相互间有明显的融合现象。×25080、20520

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

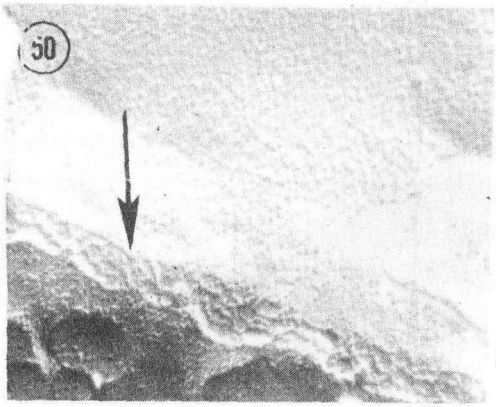


图50 在大肠杆菌内毒素的作用下，动物肠粘膜上皮细胞之间的紧密连接呈间断走行的细颗粒状结构（箭头示，PF面）。×20520

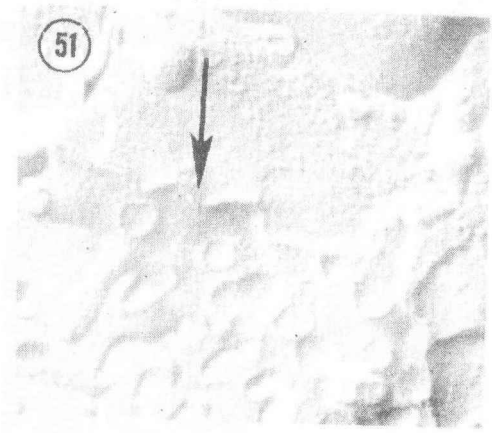


图51 在大肠杆菌内毒素造成动物肠粘膜上皮细胞之间紧密连接在PF面上呈单行间断性排列（箭头示）。×20520

细胞胞浆呈絮网状结构；同时线粒体明显肿胀、变性、嵴断裂、消失。严重者细胞核也呈空泡性变，核基质明显减少（图53～55），细胞呈融解性坏死。③上皮细胞表面微绒毛发生肿变胀性。表现为数量减少，参差不齐，排列很不规则。与微绒毛相连的细胞终末网也表现为变性、消失。④肠粘膜上皮细胞胞浆内出现“灶性变性病灶”。这些病灶多无完整的膜性结构包裹，内容物多为变性细胞器（图56、57）。这是细胞在损伤后发生的一种退行性变。⑤



图52 大肠杆菌内毒素造成动物肠粘膜上皮细胞中的高尔基体呈囊状扩张。×5586

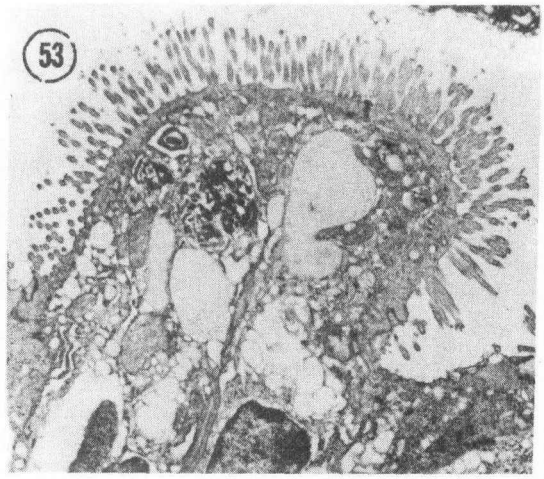


图53 大肠杆菌内毒素造成动物肠粘膜上皮细胞发生明显变性损伤，细胞浆内的膜性结构显著扩张。细胞表面微绒毛肿胀、变性、坏死、脱落。×4560

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

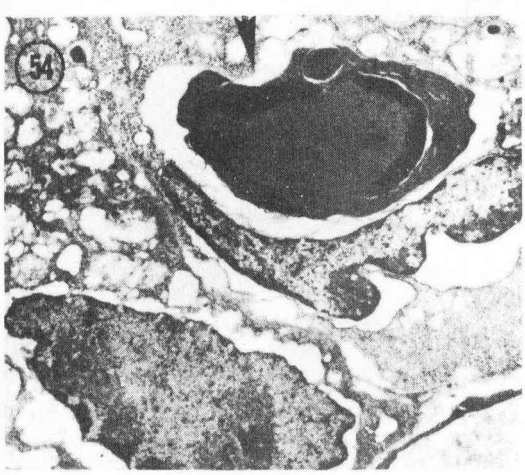


图54　大肠杆菌内毒素造成动物肠粘膜肠腺部位的粘膜细胞发生严重损伤。上皮细胞线粒体呈明显空化、嵴断裂、消失，细胞核染色质边集，核基质减少以及胞浆内出现体积巨大的髓样物（箭头示）。×11560

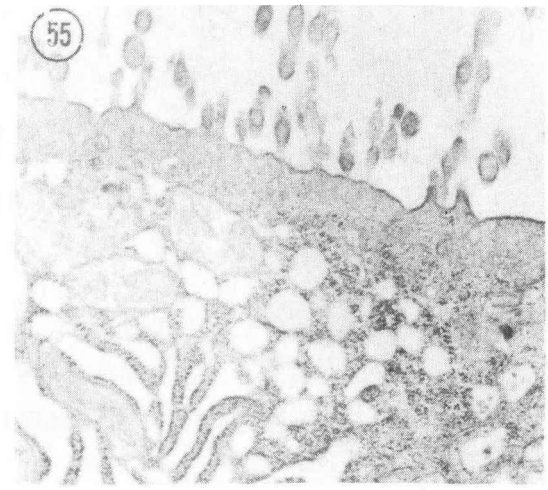
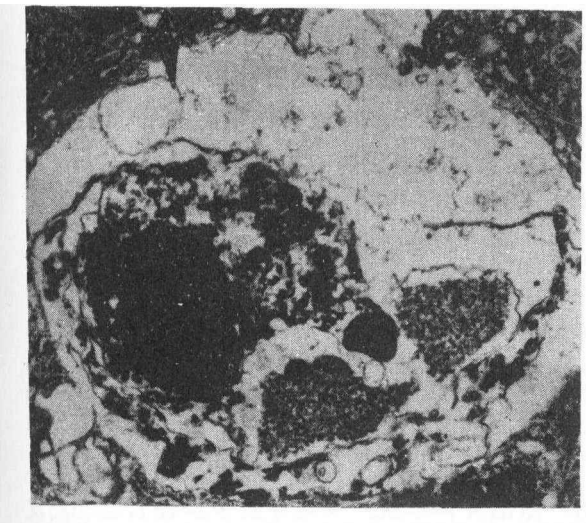


图55　大肠杆菌内毒素造成动物肠粘膜上皮细胞微绒毛发生明显变性损伤，微绒毛肿胀，僵直，排列不规则以及数量显著减少。×20520



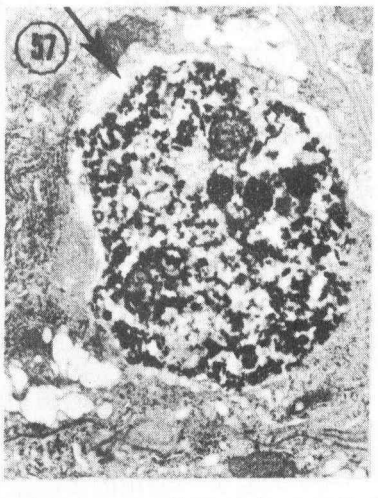
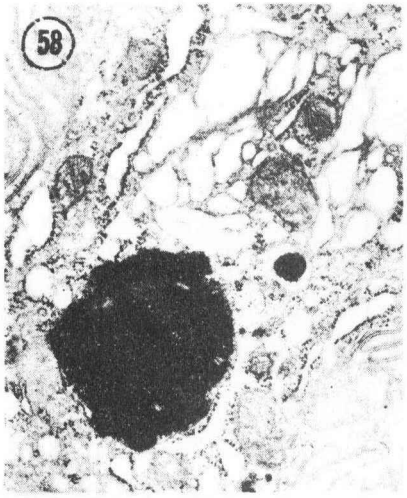


图56、57　在大肠杆菌内毒素的作用下，动物肠粘膜上皮细胞胞浆内出现不整形灶性"变性病灶"，病灶无完整的膜包裹，病灶内为电子密度不等的变性细胞器。×6840、12540

肠粘膜上皮细胞内的髓样小体数量增多，髓样小体大小不一，形态不等，电子密度也各不相同，有些呈多泡体（图58、59）。⑥肠粘膜上皮细胞的细胞核依细胞损伤的情况不同表现为核染色质边集、核基质减少，深染以及细胞核的空化、固缩等形态各异的损伤性改变。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n



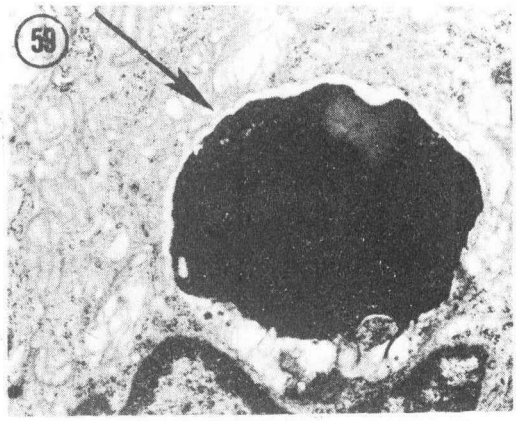


图58、59 大肠杆菌内毒素造成动物肠粘膜上皮细胞胞浆内的髓样小体数量增多。髓样小体结构不等，有些呈典型的多泡体。×10260、25860

对照动物肠粘膜上皮细胞均未发生上述改变。

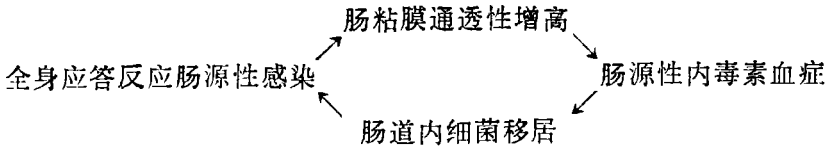
内毒素是G^-杆菌细胞外膜中的脂多糖成份，由多糖链、核心成份以及类脂A 3个亚结构组成。其中类脂A具有恒定的分子结构，被认为是内毒素起作用的结构基础。正常情况下，生长在宿主消化道内的G^-菌群通过不断生长繁殖的新陈代谢过程将自身菌群维持在一个相对恒定的水平；在这一过程中，要持续裂解大量的细胞外膜碎片，因此，正常宿主的肠道内存在有大量的内毒素[85][86]。但这些内毒素对机体并没有明显的致病作用，即使是口服150mg量的大肠杆菌内毒素也不引起明显的全身反应[87]。说明完整的肠粘膜屏障可有效地阻止肠腔中的细菌内毒素进入体内产生致病作用。但在各种情况下发生的急性或亚急性肠粘膜损伤，均可导致肠源性内毒素血症的发生，并对疾病的发展和转归起重要作用[88]。研究发现，肠粘膜损伤后，内毒素比细菌更容易通过肠粘膜侵入体内[89]。在放射性损伤条件下，肠源性内毒素也可以侵入体内[90]。临床上，内毒素血症也常发生在烧伤和机械性创伤之后，并与在这一类创伤条件下发生的多脏器功能衰竭有一定关系[91][92]。我们的研究证明，亚致死量的内毒素，本身就可以通过损害肠粘膜屏障的完整性而导致肠道内细菌侵入体内。在肠道细菌优势繁殖的条件下，内毒素还可以导致肠源性细菌全身播散。Border等强调，在创伤情况下，感染的致死性作用主要是因为内毒素侵入体内损伤了多脏器功能的结果[67]。在肠源性感染的发病机制中，内毒素的作用是十分值得重视的。

严重创伤后，通过损伤的肠粘膜侵入体内的肠道细菌，可以在多脏器中形成继发性感染（Secondary infection），并在内毒素的协同作用下，通过激活体内多脏器中的吞噬细胞，释放一系列具有损伤作用的多种生物活性介质、激活补体系统，引起全身多脏器代谢功能发生改变，导致神经内分泌功能紊乱。这在创伤后感染因素作用下，多脏器功能衰竭的发生和发展中，起着十分重要的作用[93]。

创伤导致肠粘膜屏障功能减弱，使肠粘膜对肠腔内容物的通透性增高，肠道中内毒素得以渗入体内形成肠源性内毒素血症。循环中的内毒素又能够进一步促使肠道中的细菌和内毒素继续侵入体内，从而在体内形成了一个能自身维持（Self-Sustanding）的正反馈调节机

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

制[54][55]，两者共同参与肠源性感染的发生和发展（图3～37）。目前，对于这一因果关系互补的不良循环在严重创伤后机体免疫功能下降、感染发病率增高以及在多脏器功能衰竭发生中的作用是肯定的[94-96]。



尽管Cuevas等已证实循环中的内毒素能够反馈性地促使肠道中的内毒素继续侵入体内[54][55]，Marshall等也认为，在创伤情况下，肠道内毒素侵入体内与肠粘膜的通透性增高有关。而本实验研究的重要发现是清楚地证实了循环中的内毒素尚可促进肠道中的细菌侵入体内，并为肠粘膜通透性的增高找到了客观依据。

正常机体的小肠中，近回肠末端中的菌量最高，为10^{8-9}，而十二指肠段中的菌量仅为10^{3-4}。相应的组织结构变化是，回肠段肠粘膜上皮细胞紧密连接的组织结构，要比近段肠粘膜上皮细胞的紧密连接更为牢固[97]。而且在回肠段，位于肠绒毛上部细胞之间的紧密连接也要比肠绒毛基底部和陷窝部上皮细胞的紧密连接更为牢固，因此肠绒毛的顶部对肠道中的内容物具有更强的抗渗透作用。相反，肠绒毛的基底部则是肠粘膜中可渗透的“薄弱地带”（Leak area），实验证明，横跨肠粘膜上皮细胞层的内、外物质传递过程（Paracellular conductance），73%是发生在肠绒毛的底部[98]。本实验发现，大肠杆菌内毒素主要也是提高了肠绒毛中、下部位肠粘膜的通透性；严重者肠粘膜通透性的增高可波及到绒毛的顶部。同时，大肠杆菌内毒素还造成肠粘膜中单个上皮细胞的坏死脱落，在肠粘膜屏障中形成一些大的缺口，这对于提高肠粘膜通透性也具有一定作用。

无论在功能上还是在结构方面，肠粘膜上皮细胞之间的紧密连接都不是固定不变的。近来研究表明，紧密连接能够通过改变其自身的组织结构来调节肠粘膜的通透性，以适应机体内环境的需要。但对其调节机制一直不清楚。最近，Madara等用去污提取技术（Detergent Extraction）研究发现，肠粘膜上皮细胞可以通过运动细胞自身的支架系统（Cytoskeleton）来调节细胞的紧密连接[99]。

肠上皮细胞微绒毛和细胞终末网中的肌动蛋白纤维微丝是和紧密连接部位的一种斑块状致密结构（Plague-like densities）相连接。这种斑块状致密结构又正是相邻两个上皮细胞紧密连接体中封闭细胞间隙的相交点（Kiss sites），这种结构关系被称之为“支架-紧密连接斑块相关系统”（Cytoskeletal plaque-tight junction association）。这一结构上的相关清楚地表明，肠粘膜上皮细胞可以通过运动其细胞内的支架系统来改变肠上皮细胞紧密连接的组织结构，以达到调节肠粘膜通透性，满足途经上皮细胞之间物质交换的需要[100-104]，本实验观察到，大肠杆菌内毒素造成肠粘膜上皮细胞的超微结构发生了一系列病理性改变。线粒体的损伤使细胞能量代谢发生障碍；微绒毛和细胞终末网的损伤提示细胞支架系统受到损伤。这些都说明大肠杆菌内毒素可以通过破坏肠粘膜上皮细胞内的运动系统而影响到细胞支架-紧密连接斑块相关系统在功能上的关联性，从而提高肠粘膜的通透性，降低肠粘膜防御性的屏障功能。当然对此问题尚有待更深入的研究。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

由于肠粘膜通透性增加，造成肠道内细菌和内毒素侵入体内，能够降低机体的抗病能力，提高创伤后动物的病率。Walker等发现在放射性损伤后，动物对内毒素致死作用易感性的显著增高与肠粘膜通透性增高，肠道中菌群增殖及肠道中细菌和内毒素的侵入直接相关[103]。

出血性休克引起肠粘膜通透性增高[104]，休克后仅30min，33%的动物已经发生肠源性内毒素血症，到休克后2h，肠源性内毒素血症的发病率已高达85%，同时动物还伴有肠源性菌血症的发生[178]。肠道中的细菌和内毒素侵入体内的时间发生的如此之早，从某种意义上讲，在创伤后机体防御功能下降⟹感染发生这一对因果循环关系中，肠源性感染在先，而机体防御功能降低的发生则在后。本实验结果的主要贡献在于，在动物体内首次证实到循环中的内毒素能够通过提高肠粘膜的通透性导致肠源性感染，并为解释这一病理现象提供了客观依据。

4 讨论

通过上述的系列研究，综合讨论如下：

4.1 在肠源性感染的发生过程中，肠粘膜损伤的发病机制和意义

4.1.1 肠粘膜机械性屏障的破坏是促进创伤早期肠源性感染的重要发病因素。

我们在动物实验中分别证实：烧伤、出血性休克、内毒素血症、蛋白质营养不良以及小肠梗阻所导致的肠源性感染、共同存在着肠粘膜机械性屏障的损伤，其损伤程度又经常与肠源性感染的发生率呈正相关。

4.1.2 肠粘膜通透性增高，是创伤后肠粘膜屏障功能损害的另一表现形式。

人们已经认识到在多种病理情况下，消化道可因应激性溃疡而导致出血；肠蠕动障碍发生肠麻痹；肠道菌群紊乱而引起腹泻等并发症[105]，但因肠粘膜通透性增高而导致的肠粘膜抗感染屏障功能衰竭以及由此而发生的一系列并发症更值得重视[106-107]。后一概念被认为是80年代创伤医学进展的标志之一。因为肠道中的细菌和内毒素可以因此侵入体内，这对于改变机体内环境的稳定，抑制机制免疫功能，降低机体抗病能力，促进感染的发生和死亡有着十分重要的意义。

O'Dwyer等给几个健康成人一次性注射大肠杆菌内毒素4mg/kg，12h后发现肠粘膜通透性显著增高[108]，这是细菌内毒素能够引起肠粘膜通透性增高在人体内得到证实的首次报导。而本实验除证实循环中的内毒素能够提高肠粘膜通透性之外，还进一步在肠粘膜中找到了一条客观存在的“通道”。Ziegler等观察到一组烧伤病人，在发生感染的同时且合并有肠粘膜通透性的增加；感染的严重程度与肠粘膜通透性增高的程度是一致的[20]。但究竟是肠粘膜通透性增高引起感染，还是感染引起了肠粘膜通透性增加，尚未澄清。根据我们的观察，早在肠粘膜形态学发生明显改变之前，肠粘膜通透性增高已经发生。Rush等也发现，出血性休克后仅30min，肠道中内毒素已侵入体内形成肠源性内毒素血症[46]。因此我们提出，是创伤应激引起肠粘膜通透性增高在先，肠道内细菌和内毒素侵入体内形成感染在后；循环中的细菌和内毒素可再反馈性地作用于肠粘膜，又造成肠道细菌和内毒素的继续侵入，在体内形成一个恶性的因果循环。

4.1.3 黄嘌呤氧化酶的激活，氧自由基产生过多，是创伤后导致肠粘膜机械性屏障损伤的一个共同的致病因素。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

我们分别在烧伤、出血性休克以及内毒素血症的实验中观察到，灭活或抑制黄嘌呤氧化酶的活性，在一定程度上能够减轻肠粘膜机械性屏障的损伤程度，降低创伤早期肠源性感染的发生率。

4.1.4 肠源性感染是肠粘膜屏障功能衰竭的表现。肠源性感染的内涵应包括肠道细菌和内毒素的协同作用。

目前的观点是，肠道不仅是消化吸收的器官，肠粘膜本身也是机体一道十分重要的抗感染防御屏障。正常情况下，肠粘膜能够有效地阻止肠道中的细菌和内毒素侵入体内。在各种原因造成肠粘膜屏障功能破坏的情况下，由肠道细菌和内毒素侵入体内，协同作用形成的肠源性感染，应该被认为是肠粘膜抗感染屏障功能衰竭的综合性表现形式。肠源性感染的内涵应包括肠道细菌和内毒素的协同作用。

4.2 肠源性感染的发病过程

细菌经由肠道侵入体内形成肠源性感染是一个渐进性的发展过程，临床可能有不同的表现：

4.2.1 肠道细菌侵入肠系膜淋巴结形成“亚临床型感染”。

正常情况下，肠道中的细菌偶尔也可以通过肠粘膜移居到肠系膜淋巴结。但在细菌从肠腔通往肠系膜淋巴结移居的道路上或在肠系膜淋巴结内能被机体的防御机制所杀死，所以肠系膜淋巴结细菌培养是阴性的。在以肠粘膜机械性屏障损伤为主的条件下，例如单纯烧伤、出血性休克、内毒素血症的早期或单纯肠道菌群紊乱，肠道细菌主要是移居到肠系膜淋巴结中。如果原发病因继续存在，肠道细菌则持续侵入到肠系膜淋巴结中；或肠道细菌虽已停止侵入，但侵入到肠系膜淋巴结中的细菌和机体防御功能之间处于一种相持的状态，在这种情况下，可以表现为一种“亚临床型的感染”状态。我们实验证明，口服抗生素4天后，动物出现懒动、倦缩、大便稀溏以及盲肠体积增大等，这显然是一种病理表现。肠系膜淋巴结中的细菌也能够刺激局部网状内皮系统中的吞噬细胞、释放诸如白细胞介素Ⅰ、肿瘤坏死因子等多种生物活性因子，引起机体出现发热、代谢紊乱等病态反应。临床上许多内、外科患者，例如血液病病人，常出现原因不明的发热，全身不适等感染症状，但血培养阴性，且又找不到明确感染灶，此时肠道细菌侵入肠系膜淋巴结中所造成的“亚临床感染”可能是一个原因，值得进一步研究。

4.2.2 肠道细菌突破肠系膜淋巴结的局部防御屏障，侵入肝、脾等网状内皮系统的内脏中，可以形成所谓“无菌性感染”。

在肠粘膜损伤，肠道菌群失调，G^-杆菌增殖以及机体免疫功能低下3个导致肠源性感染发生的基本条件下，任何一个条件的单独存在，一般仅能造成肠道细菌侵入到肠系膜淋巴结。在烧伤、内毒素血症等导致肠粘膜损伤合并有肠道G^-杆菌增殖的条件下；在内毒素血症合并蛋白质量营养不良，肠粘膜损伤加上机体免疫功能低下时；以及在出血性休克和肠梗阻条件下，随着休克和梗阻时间的延长，肠粘膜损伤的程度和肠道菌群失调进行性加剧；肠道中的细菌均能够进行性地侵入到肝、脾等内脏中。如果机体的防御机制尚可与之对峙，细菌则被限制在肝、脾等内脏的网状内皮系统中，临床病人可以表现出全身感染的多种症状和体征，但血培养细菌生长的阳性率仍比较低。临床所谓“无菌性感染”(Sterile Sepsis)可能与之相关。

4.2.3 在肠粘膜和网状内皮系统抗感染防御屏障功能衰竭时，肠道细菌进行性侵入血循

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

环，可形成致死性肠源性感染。

肠道细菌持续出现在血循环中，表明机体肠粘膜和网状内皮系统抗感染的屏障功能已经处于衰竭状态，不能再行之有效地将细菌限制在肠腔和网状内皮系统的诸脏器中。临床上可因血培养阳性而得出败血症的诊断。但这已是肠源性感染的晚期阶段。肠源性细菌感染的结果可以是致死性的。

4.2.4 肠源性感染在创伤后多脏器功能的衰竭中可以起重要作用。

近年来在外科领域中，对肠道在严重创伤后所发生的一系列病理生理改变中，是否起着重要作用的问题已引起极大的关注。肠道不单纯是一消化、吸收的器官，并且还具有重要的代谢、内分泌和免疫功能，在机体非特异性抗感染防御系统中，尤其是在防止肠源性感染的发生中起关键作用。本研究说明，创伤后肠道不单是容易受损的靶器之一，而且也是体内一个重要的感染源。将肠道称之为是“外科应激状态下的中心器官”和创伤后多脏器功能衰竭的“始动器”是有道理的[26][45]。

参 考 文 献

1. Marshall JC, et al. The microbiology of multiple organ failure. The proximal gastrointestinal tract as an occult reservoir of pathogens. Arch Surg 123:309～315
2. Berg RD.et al. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. Infect Immun 1979; 23:403～411
3. Deitch EA, et al. Effect of oral antibiotics and bacterial overgrowth on the translocation of the GI tract microflora in burned rats. J Trauma 1985; 25:385～392
4. Deitch AE, et al. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. Arch Surg 1987; 122:185～190
5. Karnofvsky, MJ. The ultrastructure basis of capillary permeability studied with peroxidase as a tracer. J Cell Biol 1967; 35:213～236
. Waud WR. Purifiation and properties of the NAD dependent (Type D) and O_2-dependen CType 0 from rat liver xanthine dehydrogenase. Arch Bichem Biphys 1976; 172: 354～364. prophylactic trimethoprim/sulfamethoxazolein hospitalized granulocytopenic patients. Am J Med 66:248～256
7. Ma Li, et al. Endogenous microbial dissemination following severe burns in rats. Burns 1986; 12:325～329
8. Deitch EA, et al. Effect of oral antibiotics and bacterial overgrowth on the translocation of the GI-tract mictoflora in burned rats. J Trauma 1985;25:3
9. Moore WEC, et al. Discussion of current bacteriological investigatlons of the relatlonships between intestinal flora, diet, and colon cancer. Cancer Res 1975; 35:3418～3420
10 Dekker A, et al. Prevention of infection by trimethoprim-sulfamethoxazole plus amphotericin B in patients with acute non-lymphocytic leukemia. Ann Intern Med 1981;95:555～559
11. Wade JC, et al. Selective antimicrobial modulation as prophlaxis against infection during granulocytopenia; trimethoprim-sulfamithoxazole vs. Naladixic acid. J Infect Dis 1983;147: 634
12 Hentges DJ, et al. Role of the intestinal microfora in host defenses against infection, P In: DJ Hentges(ed.).Human intestinal microflora in health and disease.Academic press.New York
13. Van der Waaij D, et al. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

antibiotic-treated mice. J HYg 1971; 70:335～342
14. Van der Waaij D, et al. Colonization resistance of the digestive tract and the spread of bacteria to the lymphatic organs in mice. J Hyg 1972; 70:335～342
15. Walker HL, et al. Surface infections with pseudomonas aeruginosa. Ann Surg 1964; 296～297
16. Rapaport FT, et al. Genetics of natural resistance to thermal injury. Ann Surg 1982; 195: 294～304
17. MCDevitt HO, et al. Genetic control of specific immune responses. In:Dixon EJ, Kunkel HG, eds. Advances in Immunology. New York:Academic press, 1969:31
18. Biozzi G, et al. A major role of the macrophage in quantitative genetic regulation of immunoresponsiveness and antiinfectious immunity. Adv Immunol 1984; 36:198～243
19. Skamene N. Genetic regulation of host resistance to bacterial infection. Rev Infect Dis 1983; 5 :s823～832
20. Ziegler TR, et al. Increased intestinal permeability associated with infection in burn patients. Arch Surg 1988; 123:1313～1319
21. Markley K, et al. Mortality of germfree and conventinal mice after thermal trauma. Am J Physiol 1965; 209:365～370
22. Carrico CJ, et al. Multiple organ failure syndrome. Arch Surg 1986; 121:196～208
23. Rosoff CB, et al. Effect of the intestinal bacteria on recovery from burn injury. Surg Forum 1964; 15:39～41
24. Rosenstreich DL, et al. Genetic control of resistance to infection in mice. Crit Rev Immunol 1982; 3 :263～330
25. Soresen TJ, et al. Genetic and environmenral influences on premature death in adult adoptees. New Neg J Med. 1988; 318:727～723
26. Wilmore DW, et al. The gut:A central organ after surgical stress. Surgery 1988;104: 917～923
27. Fine J. Current status of the problem of traumatic shock. Surg Gyecol Obstet 1965;120: 537～544
28. Fine J, et al. The bacterial factor in traumatic shock. Ann N. Y. Acad Sci 1952;55: 429～437
29. Wilson, RF. Special problems in the diagnosis and treatment of surgical sepsis. Surg Clin North Amer 1985; 65:965～989
30. Walker WE, et al. Patterns of infection and mortality in thoracic trauma. Ann Surg. 1985; 201:752～756
31. Machiedo GW, et al. Patterns of mortality in a surgical intensive care unit. Surg Gynecol Obstet 1981; 152:757～759
32. Groris RJ, et al. Multiple organ failure:Generalized autodestructive inflammation. Arch Surg 1985; 120:1109～1115
33. Nakayama SE, et al. Infusion of very hypertonic saline to bled rats:Membrane potential and fluid shifts. J Surg Res 1985; 38:180～186
34. Wiznitzer RT, et al. On the relation of the size of the intraintestinal pool of endotoxin to the development of irreversibility in hemorrhagic shock.J Exp Med 1960; 112:1167～1171
35. Ravin HA, et al. On the absorption of bacterial endotoxin from the gastrointestinal tract of the normal and shocked animal. J Exp Med 1960; 112:783
36. Donohoe MJ, et al. Role of antibiotics in late survival from hemorrhagic shock. Surg Forum. 1986; 37:62～64
37 Ravin HA, et al. On the absorption of bacterial endotoxin from the gastrointestinal tract of the normal and shocked animal. J Exp Med 1960; 112:783～792

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

38. Schweinburg EB, et al. Transmural migration of intestinal bacteria during peritoneal irrigation in uremic dogs Proc Soc Exp Biol Med 1949:71:150～153
39. Ravin HA, et al. Biological implications of intestinal endotoxin. Fed Proc 1962: 21: 65～68
40. Fink MP, et al. Sublethal hemorrhage impairs the acute peritoneal inflammatoty response in the rat. J Trauma 1985: 25:234～237
41. Sort AJ, et al. The gut as source of sepsis after hemorrhagic shock. Am J Surg 1988: 155:187～192
42. Koziol JM, et al. Occurrence of bacteremia during and after hemorrhagic shock. J Trauma 1988: 28:10～16
43. Rish BF, et al. Endotoxemia and bacteremia during hemorrhagic shock. The link between trauma and sepsis? Ann Surg. 1988: 207:549～554
44. Marshall JC, et al. Immunomokulation by altered gastrointestinal tract flora. The effects of orally administered, killed staphylococcus epidermidis, Candida, and Pseudomonas on systemic immune responses. Arch Surg 1988: 123:1465～1469
45. Marshall JC, et al. Small bowel bacteral overgrowth and systemic immunosuppression in experimental periptonitis. Surgery 1988: 104:404～411
46. Rush BF, et al. Endotoxemia and bacteremia during hemorrhagic shock. The link between trauma and sepsis? Ann Surg. 1988: 207:549～554
47. Cybulsky MI, et al. Biology of disease. Laboratory. Investigation. 1988: 58:365～378
48. Laker MF, et al. Evaluation of mannitol for use as a probe marker of gastrointestinal permeability in man. Eur J Clin Invest 1982: 12:485～491
49. Caridis DT, et al. Endotoxemia in man. Lancet. 1972: 2:1381～1386
50. Mochizuki H, et al. Mechanism of prevention of post burn hypercatabolism and cataolism by early enteral feeding. Ann Surh 1983: 200:297～310
51. Ukabam SO, et al. Small intestinal permeability as an indicator of jejunal mucasal recovery in patients with celiac sprue on a gluten-free diet. J Clin Gastroenterol. 1985: 7:232～236
52. Ukabam SO, et al. Abnormal intestinal permeability to sugars in patients with Crohn's disease of the ileum and colin. Clin Sci. 1982:62:21～22
53. Wellma‗n W, et al. Whole gut irrigation as antiendotoxinaemic therapy in inflammatory bowel disease. Hepatogastroenterology 1984: 31:91～93
54. Cuevas P, et al. Production of fatal endotoxic shock by vasoactive subatances. Gastroenterology 1973: 64:285～291
55. Cuevas P, et al. Role of endotoxemia of intestinal origin in early death from large bu‗ns. Surg Gyneco Obstetri. 1974:138:725～730
56. Border. JR. Hyothesis, Sepsis, Multiple systems organ, Failure, and the Macrophage. Arch Surg. 1988:123:285～286
57. Border JR, et al. Gut origin septic states in blunt multiple trauma(ISS=40) in the ICU. Ann Surg. 1987: 206:427～446
58. Carrico DJ, et al. Multiple organ failure syndrome. Arch Surg 1986: 121:196～308
59. Woodruff PW, et al .Role of the intestinal flora in major trauma. J Inf Dis 1973: 128: s290～s294
60. Stone HH, et al. Candida sepsis: Pathogenesis and principles of treatment. Ann Surg 1974:179:697～711
61. Fry DE et al. Atypical clostridial bacteremia. Surg Gynecol Obstet 1981: 153:28～30
62. Garris n RN et al Enterococcal bacteremia: Clinical implications and determinants of

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

death Ann Surg 1982; 196:43～47
63. Marshall JC, et al. The microbiology of multiple organ failure. The proximal gastrointestinal tract as an occult reservoir of pathogens. Arch Surg 1988:123:309～315
64. Jacobs DM, et al Inhibition of the mitogenic response to LPS in mouse spleen cells by polymyxin-B. J Immunol 1977;118:21～27
65. Nolanm JP, et al. Endotoxin and the liver:III. Modification of acute carbon tetrachloride injury by polymyxin-B antiendotoxin. Gastroenterology 1978; 75:445～449
66. Rifkin, D. Prevention by polymyxin-B of endotoxin lethality in mice. J Bacteriol 1967; 92:1463～1464
67. Morrison DC, et al. Endotoxins and disease mechanisms. Ann Rev Med 1987; 38:417～432
68. Wallace JI, et al. Evidence for platelet-activating factor as a mediator of endotoxin-induced gastrointestinal damage in the rat. Gastroenterology 1987;93:765～773
69. Wallace JL, et al. Gastrointestinal damage induced by plateled-activating factor. Digestive Disease and Science. 1988; 33:225～232
70. Doebber TW. Platelet-activating factor involvement in endotoxin-induced hypertension in rats: studies with PAF-receptor antagonist kadsurenone. Biochem Biophys Res Commun 1985:127:799～808
71. Braquet P, et al. Perspectives in platelet-activating factor research. Pharmacol Rev 1987; 39:97～145
72. Chang SW, et al. Platelet-activating factor mediates hemodynamic changes and lung injury in endotoxin-treated rats. J Clin Inv 1987; 79:1498～1509
73. Sun XM, et al. Bowel necrosis induced by tumor necrosis factor in rats is mediated by platelet-activating factor. J Clin Invest 1988;81:1328～1331
75. Handley DA, et al. Inhibition of PAF-induced systemic responses in rat, guinea pig, dog, and primate by the receptor, an antagonist SRI 63-441. Thromb Haemostas 1986;56:40～44
76. Border JR, et al. The gut mucosa as a barrier. Advances in Surgery 1988:271～272
77. Gebber JO, et al. Functional morphology of the mucosal barrier. Microecology and Therapy 1984; 14:137～168
78. Moore WEC, et al. Discussion of current bacteriologic investigations of the relationships between intestinal flora, diet, and colno cancer. Cancer Res 1975; 35:3418～3420
79. Hertzberg EL, et al. Gap junctional communication.Ann Rev Physiol 1981; 43:479～491
80. Loewenstein, WR. Junctional intercellular communication: the cell-to-cell membrane channel. Physiol Rev 1981; 61:829～913
81. Pitts JD, et al. The gap junction. J Cell Sci 1986; (suppl 4) :239～266
82. Walker WA.Host defense mechanisms in the gastrointestinal tract. Pediatrics. 1976; 57:901～916
83. Bosenberg AT, et al.Strenuous exercise cause systemic endotoxemia.J Appl Physiol.1988; 65:106～108
84. Warshaw AL, et al. Small intestinal permeability to macromolecules.Lab Investigation 1971; 25:675～684
85. Hoekstra D, et al.Release of outer memberane fragments from normally growing Escherichia coli.Biochim Biophys Acta 1976; 455:889
86. Van Der Waaijy D, et al.Faecal endotoxin and activity of the gut-associated lymphoid tissue in patients with malignant (B cell) lymphoma. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg. A 1985; 259:520～530
87. Emody L, et al.Physilogical effect of orally administered endotoxin to man. J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol 1974; 4:454～458

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

88. Ery DE.et al.Atypical clostridial bacteremia.Surg Gynecol Obstet 1981; 153:28～30
89. Papa M.et al.The effect of eschemia of the dogs colon on transmural migration of bacteria and endotoxin.J Surg Res 1983; 35:264～269
90. Walker RI.et al. The contribution of intestinal endotoxin to mortality in hosts with compromised resistance.Exp Hematol 1978; 6:172～184
91. Morrison DC, et al.Bacterial endotoxins and host immune responses.ADV Immunol 1979; 28: 293～450
92. Walker, RI. The contribution of endotoxin to mortality in hosts with compromised resistance:A review. Exp Hematol 1978; 6:172～184
93. Ninnemann, JI.Trauma, Sepsis and Immune response. JBCR 1987; 8:462～468
94. Morrison D, et al.The effects of bacterial endotoxins on host mediation systems.Am J Pathol 1978; 93:526～618
95. Deitch EA, et al.The immunocompromised host. Surg Clin North Amer 1988; 68:181～190
96. Gogers MJ, et al.The relationship between faecal endotoxin and faecal microflora of the c57BL mouse.J Hyg Camb 1985; 95:397～402
97. Madara JL, et al.Structura,changes in the plasma membrane accompanying differentiation of epithelial cells in human and monkey small intestine.Gastroenterology 1980; 78:963～975
98. Marcial MA, et al. Partitioning of paracellular conductance along the crypt-villus axis. J Membr Biol 1984; 80:59～70
99. Madara,JL.Intestinal absorptive cell tight junctions are linked to cytoskeleton. Amc Physiol Soc 1987; c171～c175
100. Madara, JL. Loosenign tight junctions. Lessons from the intestiec. J Clin Invest.1989; 83: 1089～1094
101. Fleming TP, et al. Development of tight junctions in the mouse early embryo:control of assebly of the tight junction-speific protein, Zo-1.JCell Biol 1989; 108:1407～1418
102. Gumbiner B.The structure, biochemistry and assembly of epithelial tight junctions.Am J Physiol 1987; 253:C749～C758
103. Walker RI,et al.Association of leukopenia and intestinal permeability with radiation-induced sensitivity to endotoxin.Life Sci 1978; 23:2315～2322
104. Rhodes RS, et al.Intestinal barrier function in hemorrhagic shock.J Surg Res 1973; 14:305～312
105. Kirksey JD, et al.Gastrointestinal complications of burns.Am J Surg 1968; 116:627～633
106. Hass A, et al.Endotoxin levels in immunocomproised children with fever.J Paediatr 1986; 109:265～269
107. Lifschitz C. Intestinal permeability.J Pediatr Gastroenterol Nutr 1985;4:520～522
108. O'Dwyer ST, et al.A single dose of endotoxin increases intestinal permeability in healthy humans.Arch Surg.1989; 123:1459～1464

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

五、蛋白质营养不良促进肠源性感染

马 利 黎 鳌 肖光夏 Edwin A Deitch* (西南医院 烧伤研究所)

提 要 防止肠道内细菌侵入体内形成感染是肠粘膜的主要生理功能之一。研究证明，在肠粘膜屏障功能受损的条件下，肠道中的细菌和内毒素能够侵入体内形成肠源性感染。因为蛋白质营养不良和内毒素血症患者对G^-杆菌感染的易感性增高，因此本实验旨在观察，单纯蛋白质营养不良或单纯内毒素血症以及在两者合并存在的条件下，肠粘膜屏障的改变与肠源性细菌感染的关系。结果显示，蛋白质营养不良造成动物肠粘膜发生严重萎缩，但并未引起肠源性细菌感染；但蛋白质营养不良加上内毒素血症却导致肠源性细菌全身播散，感染的程度与蛋白质营养不良时间的长短是一致的。蛋白质营养不良对肠源性感染有促进作用。

关键词 肠源性感染；内毒素血症；蛋白质营养不良

营养与机体的健康状况密切相关。流行病学、临床和尸检的研究都证实了营养不良和感染发生两者间的平行关系。据全美卫生组织 (Pan American Health Organization) 的一份调查报告，57%五岁以下儿童的死因，都直接或间接地与营养不良的因素有关[1]。在营养不良群体中，感染和腹泻等并发症以及病死率平均增加7倍[2]。一组恶性淋巴瘤的病人，并发肺部感染者的血清白蛋白浓度均低于未并发者[3]。

临床上伴有营养不良的各类外科病人，术后感染的发生率和病死率均明显增高[4]。由于创伤能够造成机体代谢紊乱、分解代谢亢进，所以营养不良是外科常见并发症之一。烧伤病人营养不良问题尤为严重。多方面的研究证实，营养不良能够降低机体抗感染的防御功能，提高宿主发生感染的机会。反之，感染本身也能够进一步加重营养不良的状况[5]。Scrimshaw把营养不良和感染两者之间的相互作用关系称之为"协同作用"(Synergistic)[6]。鉴于感染仍然是严重烧伤等创伤患者的主要死因之一，而营养不良问题在外科临床上又十分突出，因此研究营养不良与感染发生两者间的关系，具有重要的临床意义。

在蛋白质营养不良条件下，小肠常是主要受损的靶器官之一，主要表现为肠粘膜的严重萎缩[7]。肠粘膜分泌型抗体 (SIgA) 生成的量以及对病毒疫苗的应激反应能力均不同程度的下降[8-9]。同时肠粘膜中粘液 (mucus) 和粘蛋白 (mucin) 产生的绝对量也减少[10]。而肠粘膜分泌的粘液和粘蛋白以及SIgA抗体则是肠粘膜抗感染屏障的重要成分，在抵御肠道菌群定植和侵入性感染的发生中起重要作用[11]。因此蛋白质营养不良因素本身就可能造成肠粘膜抗感染屏障功能的下降。所以本实验的目的是：

① 观察在不同程度蛋白质营养不良的条件下，是否会发生肠源性感染。

② 观察在肠源性感染的发病过程中，蛋白质营养不良和内毒素是否具有"协同致病作用"。

③ 观察在蛋白质营养不良条件下，肠粘膜屏障改变的情况。

* 美国路易斯安娜州Shreveport医学院外科

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

1 材料和方法

本实验采用SPF小鼠（CD—1）随机分为4个实验组（表1），进行细菌学调查及观察病死率。另外增加一组18只小鼠，观察蛋白质营养不良3周，加内毒素后动物的病死率。

表1 实验动物分组

动物分组	动物数量
对照组	10
单纯内毒素组	35
单纯蛋白质营养不良组	30
蛋白质营养不良加内毒素组	60

备注 （1）单纯内毒素组（腹腔注射大肠杆菌内毒素026:B6 2mg/只）和蛋白质营养不良加内毒素组的动物分别观察24和48h。

（2）蛋白质营养不良动物，按低蛋白质饲养时间的不同分为1周、2周、3周3个实验组。

进行蛋白质营养不良实验的动物，接受低蛋白质饲养1～3周，造成不同程度的蛋白质营养不良。这种特殊的低蛋白质动物饲料（Teklard Test Diets Medison,WI）中含有20%脂肪、67%碳水化合物和0.03%蛋白质（蛋白质含量几乎是零）。此外，这种低蛋白质动物饲料中的微量元素、维生素以及矿物质含量均符合全美实验动物管理委员会标准。

实验所用的细菌脂多糖为大肠杆菌内毒素（Escherichia Coli，026:B6），（Sigma Chemical Co.,St.Louis MO）。

细菌培养方法

动物行断颈活杀，无菌操作打开腹腔，依次剪取完整的肠系膜淋巴结、脾脏、肝脏和盲肠。称重后分别置入盛有心脑浸液的匀浆管中进行匀浆。取肠系膜淋巴结、脾脏和肝脏匀浆液各0.2ml，分别接种到MacConkey琼脂平板上培养G^-杆菌及血琼脂平板上培养兼性需氧菌。37℃孵育24～48h，对培养阳性的平板进行菌落计数，观察动物内脏细菌生长的阳性率和菌量情况。取盲肠匀浆液0.1ml，用生理盐水按10^3、10^5、10^7……不同倍数进行梯度稀释，取0.1ml不同稀释倍数的匀浆液分别接种到MacConkey琼脂平板和血琼脂平板上，37℃孵育24h，进行菌落计数，定量观察肠道内菌量变化情况。

所获动物内脏培养的G^-杆菌用API20E系统（Analytab Products, Plainview, NY）进行鉴定，G^+细菌用Finegold（1986）的标准方法鉴定。

形态学观察方法

肠粘膜的形态学研究是用半薄塑料切片在光学显微镜下进行观察的。将动物的回肠和盲肠标本固定在磷酸福尔马林缓冲液中（Fish.Co）6h以上。梯度酒精脱水后，包埋在乙二醇异丁烯酸溶液中（JB—4，Polyscience, Inc、Warringto, PA）。切片厚度为2μm，用1%甲苯胺蓝染色，Olympus光学显微镜观察并照相。并用10×目镜千分尺（Ocular micrometer）对各组动物小肠壁的厚度、绒毛的高度、肠粘膜陷窝的深度以及绒毛的数量进行定量测量和计数，以了解不同程度的蛋白质营养不良与小肠粘膜的改变情况。

统计学处理

实验所得数据分别用X^2检验，T—检验和回归—相关的方法进行处理。

2 结果和分析

2.1 低蛋白质饲料饲养1周后，小鼠开始出现营养不良体征。表现为体重进行性下降。3周后动物的平均体重从27g显著降低至15.9g，体重下降的程度近50%；2周者下降至18.5g；1周者下降至23g。

大肠杆菌内毒素没有明显改变蛋白质营养不良小鼠的体重、单纯内毒素组的平均体重为27.4g，蛋白质营养不良1周加内毒素组体重为23.5g，2周者为16.5g，3周者为15.2g（图1）。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

2.2 所有单纯蛋白质营养不良动物的内脏细菌培养均为阴性。说明，单纯蛋白质营养不良并没有造成肠源性感染。但给蛋白质营养不良小鼠腹腔注射内毒素后，肠源性感染的发生率则显著增高（表2）。表现为，蛋白质营养不良1至3周加内毒素24和48h实验组，不但肠源性细菌感染的阳性率均显著高于单纯内毒素组，而且小鼠每个脏器中所含细菌的菌量也明显增高（表3）。结果说明，在蛋白质营养不良条件下，G⁻杆菌内毒素更易促成肠源性细菌感染。同时也提示，在肠源性感染的发病过程中，蛋白质营养不良和内毒素两者具有协同致病作用。

表2 蛋白质营养不良和大肠杆菌内毒素促进肠道细菌移居

动物分组	大肠杆菌内毒素24小时(%)					大肠杆菌内毒素48小时(%)				
	动物数量	肠系膜淋巴结	肝脏	脾脏	MLS[c]	动物数量	肠系膜淋巴结	肝脏	脾脏	MLS[c]
对照组	10	0	0	0	0	ND	ND	ND	ND	
单纯内毒素组	20	75(15/20)	10(2/20)	5(1/20)	30(18/60)	15	27(4/15)	6.7(1/15)	13(2/15)	16(7/45)
单纯蛋白质营养不良组	15[a]	6.6(1/15)	6.6(1/15)	0	4.4(2/45)	15[a]	0	0	0	0
蛋白质营养不良加内毒素组	25[b]	80(20/25)	44(11/25)	64(16/25)	63(47/75)d	16[b]	75(12/16)	31(5/16)	44(7/16)	50(24/48)

备注：a.三组营养不良动物的总数

b.三组蛋白质营养不良加上大肠杆菌内毒素动物的总和。

c.动物肠系膜淋巴结、肝脏、脾脏细菌培养阳性率的总和。

d.肠道细菌移居的阳性率显著高于单纯大肠杆菌内毒素组的动物（$P<0.05$）

ND：未做。

表3 蛋白质营养不良和大肠杆菌内毒素促进肠道细菌移居

动物分组	大肠杆菌内毒素24小时				大肠杆菌内毒素48小时			
	动物数量	肠系膜淋巴结	肝脏	脾脏	动物数量	肠系膜淋巴结	肝脏	脾脏
单纯大肠杆菌内毒素组	20	28±33	1.0±0.4	1.5±6	15	13±22	0.2±0.8	7.5±2
蛋白质营养不良加大肠杆菌内毒素组	25	96±125	89±205	95±150	16	142±196	33±81	150±30
P值		<0.02	<0.05	<0.006		<0.02	<0.13	<0.1

备注：1.动物内脏中的细菌菌量以每克脏器中所含细菌菌落（CFU）数量的标准误×10^2表示。

2.蛋白质营养不良为7天，14天和21天三组动物的总和。

2.3 蛋白质营养不良的程度与肠源性感染的发生率两者间是呈平行关系（图1）。在大肠杆菌内毒素作用下，蛋白质营养不良1周小鼠的肠源性感染阳性率为26%，2周者为54%，3周者则增高到77%。说明，蛋白质营养不良越严重，机体抗感染的防御功能就越差。因而大肠杆菌内毒素造成肠源性感染的发生率就越高。同时小鼠的预后也越差。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

图 2 显示，蛋白质营养不良的程度与内毒素造成小鼠病死率的高低呈平行关系。蛋白质营养不良的程度越重，内毒素造成小鼠病死率就越高。蛋白质营养不良 1 周的小鼠未发生死亡，2 周的25只小鼠死亡 7 只（28%），3 周的18只小鼠死亡15只（83%）。提示，在蛋白质营养不良条件下，内毒素在增加肠源性感染发病率的同时，还显著增加了小鼠的病死率，三者间的关系是平行的。

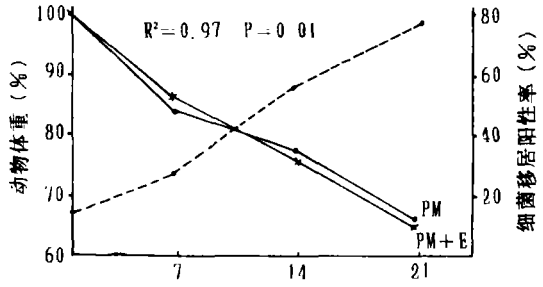


图 1 （1）单纯蛋白质营养不良(PM,·—·)动物体重和蛋白质营养不良加大肠杆菌内毒素（PM+E，×—×）动物体重下降的程度基本相同。（2）大肠杆菌内毒素造成肠源性感染的发生与蛋白质营养不良的程度直接相关（·····）。

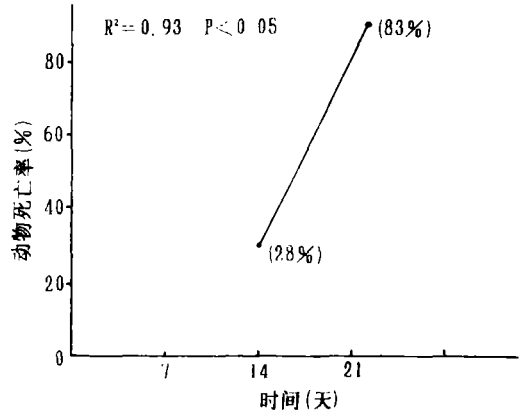


图 2 蛋白质营养不良的程度与大肠杆菌内毒素造成动物的死亡率呈直接相关。

2.4 从实验小鼠内脏中培养阳性的细菌，依其检出率的高低排列：在肠系膜淋巴结中为大肠杆菌、肠杆菌、肺炎克雷白杆菌、葡萄球菌和绿脓杆菌；肝脏中为大肠杆菌，肺炎克雷

表 4 蛋白质营养不良和大肠杆菌内毒素造成肠道菌群紊乱的情况

动物分组	革兰氏阴性杆菌[b]	革兰氏阳性细菌[b]
对照组	$3.5\pm2.2\times10^5$	$9\pm9.6\times10^7$
单纯蛋白质营养不良组[c]	$5.6\pm5.5\times10^6$[a]	$4.1\pm3.0\times10^7$
单纯大肠杆菌内毒素组	$1.7\pm1.8\times10^7$[a]	$2.2\pm1.9\times10^8$[a]
蛋白质营养不良 7 天加大肠杆菌内毒素组	$4.6\pm1.6\times10^7$[a]	$3.7\pm2.2\times10^8$[a]
蛋白质营养不良14天加大肠杆菌内毒素组	$2.9\pm2.0\times10^7$[a]	$1.7\pm1.3\times10^8$[a]
蛋白质营养不良21天加大肠杆菌内毒素组	$7.6\pm10\times10^7$[a]	$4.4\pm3.1\times10^8$[a]

备注：a. 动物肠道中菌量比对照动物肠道中菌量显著增高（$P<0.01$）。

b. 动物肠道中菌量以每克盲肠中含有菌落（CFU）数量的标准误表示。

c. 三组蛋白质营养不良动物肠道内细菌的平均值。

白杆菌、肠杆菌、葡萄球菌、绿脓杆菌和肠球菌；脾脏中为大肠杆菌、肺炎克雷白杆菌、肠杆菌、葡萄球菌和肠球菌。

2.5 形态学的观察发现，蛋白质营养不良的小鼠小肠粘膜发生明显改变。表现为肠粘膜的高度、肠腺深度、以及绒毛数量的减少；肠壁厚度进行性萎缩（表 5）。营养不良的时间

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

越长，小鼠小肠损伤的程度越重。其中小肠绒毛的高度（$R^2 = 0.96$，$P = 0.02$）和肠壁厚度（$R^2 = 0.94$，$P = 0.04$）与蛋白质营养不良的程度呈直接相关（图 3 ～ 6）。

表 5　蛋白质营养不良对动物小肠组织形态学的影响

动物分组	数量a	绒毛高度	肠壁厚度	肠腺深度	绒毛数量/1.2mm[b]
对照组	60	2.6±0.22	4.5±0.37	1.2±0.14	11.6±1.4
蛋白质营养不良7天组	60	2.4±0.22	3.1±0.30	0.5±0.07	9.2±1.0
蛋白质营养不良14天组	60	1.4±0.27	1.9±0.28	0.4±0.08	9.0±1.4
蛋白质营养不良21天组	60	1.1±0.22	1.8±0.28	0.3±0.09	8.3±1.3

备注：a. 在目镜(×10)千分尺下被测量绒毛的数量。

b. 平均30个视野绒毛的平均数量±标准误。

c. 表中值以平均数±标准误（毫米×10^{-1}）表示。

d. 回归一相关分析结果，绒毛高度R = 0.96，P = 0.02
肠壁厚度R = 0.94，P = 0.04 肠腺深度R = 0.88，P = 0.11。

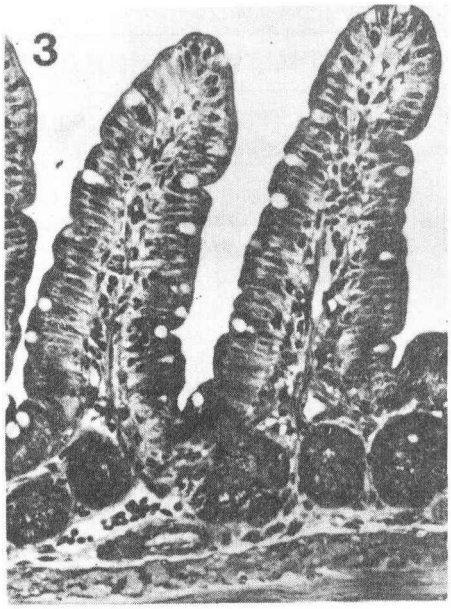


图 3　对照动物正常小肠粘膜。×200

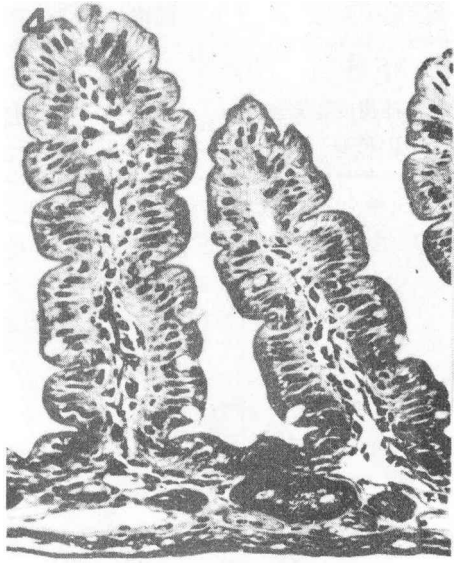


图 4　蛋白质营养不良 7 天动物小肠粘膜。肠粘膜绒毛高度、肠腺深度以及肠壁厚度明显减少。×200

单纯大肠杆菌内毒素导致动物小肠粘膜充血、水肿(图12)，并引起绒毛高度($P<0.01$)和肠壁厚度明显下降（$P = 0.03$），同时也显著增加了肠腺的高度（$P<0.01$）（表6）。

蛋白质营养不良加内毒素组小鼠肠粘膜也发生进行性萎缩（表7），其中绒毛高度、肠壁厚度及绒毛数量减少的程度均与蛋白质营养不良的程度直接相关（图 7、8、10）。同时大肠杆菌内毒素还造成营养不良小鼠肠粘膜充血、水肿以及发生急性应激性溃疡(图 9、11）。显然，大肠杆菌内毒素加重了蛋白质营养不良动物肠粘膜损伤的程度。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

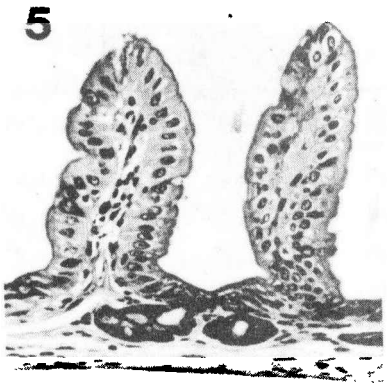


图5　蛋白质营养不良14天动物小肠粘膜。肠粘膜明显萎缩，肠壁明显变薄。肠粘膜上皮细胞体积变小，细胞核与细胞浆比例明显减少。×200

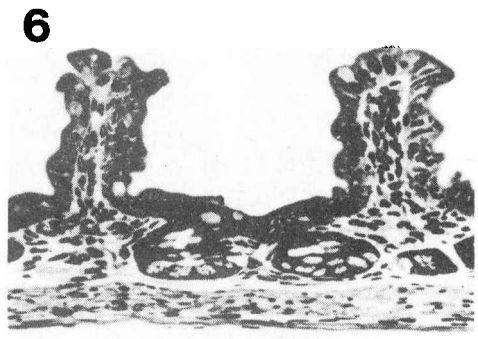


图6　蛋白质营养不良21天动物小肠粘膜。肠粘膜严重萎缩，肠壁变薄，肠粘膜绒毛稀疏，但肠粘膜的物理性屏障尚完整。×200

表6　大肠杆菌内毒素对动物小肠组织学的影响[d]

动物分组	数量[a]	绒毛高度	肠壁厚度	肠腺深度	绒毛数量/1.2毫米[b]
对照组	60	2.6±0.22	4.5±0.33	1.2±0.11	11.6±1.6
大肠杆菌内毒素组	60	2.2±0.30	4.3±0.61	1.4±0.28	11.8±1.1
T-检验		P<0.001	P<0.003	P<0.001	P<0.42

备注：a．在目镜(×10)千分尺下被测绒毛数量。

b．平均30个视野下绒毛的平均数量±标准误。

c．表中值以平均数±标准误（毫米±10^{-1}）表示。

d．动物为大肠杆菌内毒素24小时实验组。

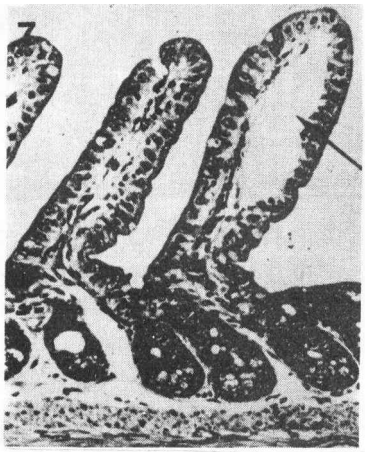


图7　蛋白质营养不良7天加大肠杆菌内毒素动物小肠粘膜。肠粘膜水肿，肠绒毛内出现上皮细胞下水肿间隙（箭头示）。肠粘膜仍表现有萎缩性改变。×200

2.6 蛋白质营养不良也可导致肠道菌群失调和 G^- 杆菌优势繁殖（表4），只是程度较轻。蛋白质营养不良1周，肠道菌群变化不明显，G^-杆菌菌量为 $3.5\pm2.2\times10^5$，2—3周后，肠道内G^-杆菌菌量略增加，分别为$5.6\pm5.5\times10^6$和$5.8\pm9.3\times10^6$。

单纯大肠杆菌内毒素组小鼠肠道内 G^- 杆菌菌量增加100倍。蛋白质营养不良加内毒素小鼠肠道内 G^- 杆菌菌量也比对照小鼠组增加100倍（表4）。鉴于以上两组小鼠肠道内菌量基本相同，所以，肠道菌群失调并不是蛋白质营养不良加内毒素组小鼠肠源性感染发病率增高的主要因素。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

表7　蛋白质营养不良加大肠杆菌内毒素对动物小肠组织形态学的响影[d]

动物分组	数量[a]	绒毛高度	肠壁厚度	肠腺深度	绒毛数量/1.2毫米[d]
大肠杆菌内毒素组	60	2.2±0.30	4.3±0.61	1.4±0.28	11.8±1.1
大肠杆菌内毒素加蛋白质营养不良7天组	60	1.8±0.29	3.0±0.37	0.7±0.13	10.7±1.3
大肠杆菌内毒素加蛋白质营养不良14天组	60	1.2±0.31	2.0±0.10	0.3±0.07	8.7±1.6
大肠杆菌内毒素加蛋白质营养不良21天组	60	1.0±0.23	2.0±0.35	0.1±0.09	7.2±1.1

备注：a．在目镜(×10)千分尺下被测绒毛的数量。

b．平均30个视野下绒毛的平均数量±标准误。

c．表中值以平均数±标准误（毫米×10^{-1}）表示。

d．动物为大肠杆菌内毒素24小时组。

e．回归--相关分析结果：

绒毛高度R = 0.98，P = 0.02；

肠壁厚度R = 0.92，P = 0.06；

绒毛数量R = 0.99，P = 0.004。

肠腺深度P = 0.11。

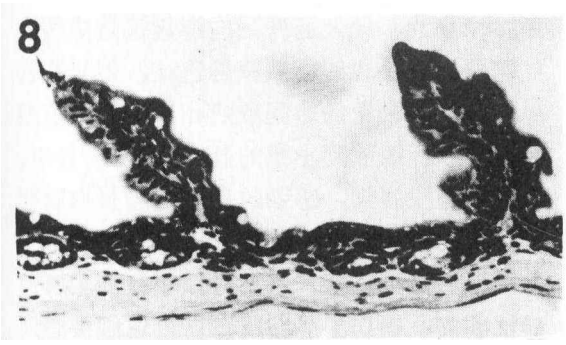




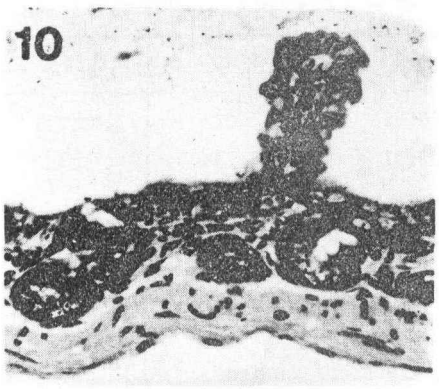
图8～9　蛋白质营养不良14天加大肠杆菌内毒素动物小肠粘膜。肠粘膜表现为明显萎缩性改变以及急性应激性溃疡病灶的形成。溃疡灶内粘膜呈急性坏死性脱落（箭头示）。×200

2.7 蛋白质营养不良造成机体抗感染防御功能下降，提高G^-杆菌感染的发病率，其主要原因之一是蛋白质营养不良可以降低机体的细胞免疫功能。临床特征包括外周淋巴细胞减少，T-细胞转化功能和迟发性变态反应处于抑制状态以及淋巴细胞DNA的合成功能显著下降等。病人出现扁桃体体积缩小，胸腺萎缩，外周淋巴组织的生发中心和副皮质区（胸腺淋巴细胞依赖区）也明显缩小[12][13]。本实验观察了小鼠小肠表面（从十二指肠到回肠末端）集合淋巴组织的(Peyer's patches)数量改变情况。每组5只小鼠，小肠的集合淋巴组织对照组平均为9.4个；蛋白质营养不良1周平均数量为8.4个，2周为7.2个，3周仅2.8个。同时小鼠小肠淋巴组织的体积也明显缩小，萎缩的程度与蛋白质营养不良的程度是一致的。

通过实验得出如下结论：

1. 实验小鼠在接受低蛋白质饲养1～3周后，发生进行性营养不良，表现为体重进行

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n



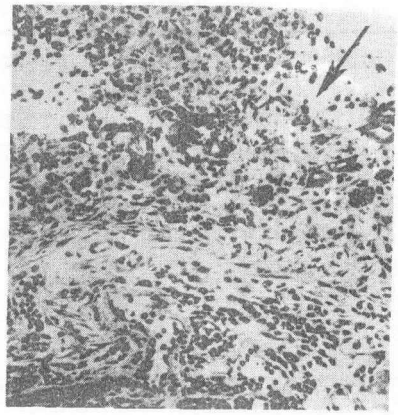


图10～11 蛋白质营养不良21天加大肠杆菌内毒素动物小肠和盲肠粘膜。肠粘膜严重萎缩，绒毛稀疏以及盲肠粘膜出现急性应激性溃疡，溃疡灶内肠粘膜脱落，粘膜下层充血，水肿，间质中有大量炎性细胞浸润。×200



图12 大肠杆菌内毒素引起动物小肠粘膜发生明显充血，水肿。肠绒毛变短，绒毛上皮下出现水肿间隙，绒毛顶部单个肠粘膜上皮细胞坏死脱落（箭头示）。×200

性下降。

② 单纯蛋白质营养不良并没有造成肠道细菌移居的发生，这与肠道菌群失调、菌群增殖的程度较低有关。

③ 蛋白质营养不良具有降低机体感染的防御功能，间接促成肠源性感染发生的作用。表现为单纯大肠杆菌内毒素仅造成肠道细菌侵入到小鼠的肠系膜淋巴结，但是在营养不良和内毒素的协同致病作用下，肠道细菌可进一步播散到小鼠的肝,脾等多脏器中、形成全身性感染。感染的程度也与蛋白质营养不良的程度呈直接相关。

④ 蛋白质营养不良导致小鼠肠粘膜进行性萎缩，损伤了肠粘膜抵御肠道细菌感染的屏障功能。肠粘膜损伤的程度也与蛋白质营养不良的程度直接相关。大肠杆菌内毒素进一步加重了蛋白质营养不良小鼠肠粘膜的损伤。蛋白质营养不良加大肠杆菌内毒素所致的肠粘膜的严重损伤应是促进肠源性感染的重要原因之一。

⑤ 蛋白质营养不良促进肠源性感染发生的主要原因之二是显著降低了机体的细胞免疫功能。使机体细胞免疫功能的应答能力下降，因而对肠道细菌移居的控制作用也相应降低。在大肠杆菌内毒素的作用下，发生了肠源性细菌的全身感染。

参 考 文 献

1. Puffer RR, et al. Patterns of mortality in chilhood. Pan Am Health Organ. Washington, DC 1973
2. Chandra RK. Mucosal immune responses in malnutrition. Ann Ny Acad Sci. 1983:409: 345～351
3. Hughes WT, et al. Protein-calorie malnutrition:a host determinant for pneumocystis cari-

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

nii infection. Am J Dis Child. 1974: 128:44～52
4. Chandra Rk, Nutrition, Immunity, and Infection:present knowledge and future directions Lancet. 1983: 26:688～691
5. Chaudry IH, et al. Effect of polonged starvation on reticuloendothelia function and survival following trauma.J Trauma. 1981: 21:604～611
6. Scrimshaw NS. Synerism of malnutrition and infection. Evidence from field studies in Guatemala. JAMA 1970: 212:1685～1692
7. Takano J. Intestinal changes in protein-deficient rats. Exp Mol Pathol.1964: 3:224～231
8. Chandra RK. Reduced secretory antibody response to live attenuated measles and poliovirus vaccined in malnourished children. Brit Med J. 1975: 2:583～585
9. Sirisinha S, et al. Secretory and serum IgA in children with protein-calorie malnutrition. Pediatrics. 1975: 55:166～170
10. Sherman P, et al. Mucin depletion on the intestine of malnourished rats. Am J Physiol 248 (gastrointest. Liver Physiol). 1985: 11:G418～G423
11. Forstner G, et al. Clinical aspects of gastrointestinal mucus. In:Mucus in health and Disease II, edited by E.N.Chantler, J.B Elder, and M.Elstein.New York:Plenum.1982: 199～224
12. Chandra RK. Preliminary communication:rosette-forming T lymphocytes cell-mediated immunity in malnutrition. Bri Med J 1974: 7:608～609
13. Smythe PM, et al. Thymolymphatic deficiency and depression of cell-mediated immunity in protein-calorie malnutrition. Lancet. 1971: 30:939～943

The Effects of Protein Malnutrition on the Bacterial Translocation from the Gut

Ma Li,et al. (Burn Research Instiute,Southwest Hospital, Third Military Medical College)

Since protein malnourished or endotoxemic patients are at increased risk of developing nosocomial infections with enteric organisms, we investiaged the effects of these risk factors alone and in combination on the intestinal mucosal barrier to bacteria. Protein malnutrition resulted in severe ileal atrophy that was directly reltaed to the length of time the mice were protein malnourished. Although protein malnutrition did not promote bacteial translocation from the gut to systemic organs,the protein malnourished mice were more susceptible to endotoxin-induced bacterial translocation than normally nourished mice(p 0.01).Since the gross epithelial damage documented ofter endotoxin administration in normally nourished mice was increased after protein malnutrition,there was correlation between the gross appearance of the epithelial mucosal barrier and the extent of endotoxin-induced bacteral translocation. These results suggest that the synergistic effect of endotoxin plus protein malnutrition on bacterial translocation is primarily related to failure of the gut mucosal barrier, and at least in part related to the protein-malnourished mice less able to clear translocating bacteria due to the immunosuppressive effects of protein malnutrition.

Key words: bacterial translocation; endotoxin; protein malnutrition

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

六、肠梗阻与肠源性感染

马 利 黎 鳌 肖光夏 Edwin A.Deitch*（西南医院 烧伤研究所）

提 要 研究证明，肠梗阻后，小肠的运动，吸收和分泌功能发生明显改变，但肠粘膜抗感染屏障功能是否发生衰竭尚未澄清。因此本实验利用小鼠动物模型，观察在单纯肠梗阻条件下，肠道中细菌能否通过肠粘膜侵入体内形成全身性感染。结果表明，肠梗阻后6h，肠道中的细菌已大量侵入动物的肠系膜淋巴结，梗阻后24h，肠道细菌进行性地侵入动物的肠系膜淋巴结，肝脏、脾脏和血循环；细菌播散的程度与动物肠道中$G^{(-)}$杆菌增长和肠粘膜损伤的程度一致的。但给无菌小鼠也造成肠梗阻，24h后动物肠粘膜未发生损伤，提示，肠道中的细菌是造成肠梗阻动物肠粘膜损伤的主要致病因素。研究结果证明，肠梗阻能够导致肠源性细菌全身感染。

关键词 肠梗阻，肠源性感染

肠梗阻是临床常见病之一，分为机械性和麻痹性肠梗阻两种类型。尽管两者病因不同，但疾病发展的结果都将导致肠道郁滞（intestinal stasis）。表现为肠道内容物滞留（stagnation），继发肠道内细菌增殖（细菌定植、优势繁殖等）和吸收不良。被阻塞的肠管扩张，肠腔内大量液体和气体潴留，肠粘膜充血、水肿等。

传统的观点认为，肠道梗阻造成肠腔内压增高，引起肠粘膜血流灌注障碍，造成肠粘膜发生缺血性损伤；又由于大量液体潴留在肠腔内（生理死腔）导致低血容量性休克。目前的研究提示，上述观点尚有待商榷或补充。

已有实验证明，肠腔内压要超过5.33kPa(40mmHg)，肠粘膜才出现损伤。但在多种动物实验中观察到，梗阻时的肠腔内压从未超过1.07kPa(8mmHg)。梗阻段肠粘膜中的血流量不但没有减少，反而显著增加。肠粘膜的分泌功能也呈亢进状态。那么在肠梗阻条件下，造成肠粘膜损伤的真正原因是什么呢？早在1965年，Thomas等曾发现，小肠梗阻后，无菌动物的存活率明显高于普通有菌动物。1981年Heneghan等进一步证实，在无菌动物梗阻肠段中，既没有大量分泌的液体存在，梗阻段肠粘膜也没有明显损伤。但是，在梗阻条件下，普通动物肠道中的菌量却显著增长，肠道中使用非吸收性抗生素则可以显著改善肠梗阻动物的存活率[1][2]。推测，在肠梗阻病理生理改变的发病机制中，肠道细菌是主要致病因素。

既然肠梗阻的病理生理发展过程与肠道菌群的作用有关，而在肠梗阻条件下又常发生菌群失调，因此本实验研究的目的有二：即肠梗阻情况下，肠道内细菌是否能够侵入（移居）体内形成肠源性感染？梗阻肠腔中的细菌究竟造成肠粘膜发生了什么样的病变？

1 材料和方法

1.1 实验采用SPF（CD—1）小鼠196只。12只为正常对照；50只为手术对照；69只为近侧肠梗阻实验组；65只为远侧肠梗阻实验组。除对照组外，其他各组动物分别在术后4、6、12、24和48h活杀。每时相点动物数不少于8只。小鼠活杀后，取心血和内脏进行细菌培养以观察肠道细菌的移居情况；并对回肠，盲肠和升结肠进行肠道细菌定量培养和形态学观察。并在近侧和远侧肠梗阻组中任选20只小鼠进行术后病死率调查。加用无菌小鼠10只，分别造成近侧和远侧肠梗阻，观察形态学改变。

1.2 肠梗阻动物模型制作，小鼠经腹腔麻醉后（Pentobarbital 35mg/kg），腹部剃毛，消毒。做腹

*美国路易斯安娜州Shreveport医学院外科

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

壁切口长约1 cm，打开腹腔找到盲肠。近侧肠梗阻小鼠，则在回盲瓣近侧1cm处用4号手术线围绕小肠管结扎，远侧肠梗阻者在盲肠和结肠交接处远侧 1 cm 处结扎。手术对照动物除不进行肠管结扎外，其余步骤皆同。腹壁用3号手术线缝合，切口用火棉胶封固。

1.3 细菌培养方法，动物行断颈活杀，抽取心血0.5ml注入盛有50ml脑心浸液的培养瓶中，37℃ 孵育3天。血培养如有细菌生长，则再次转种到血平板上做纯细菌培养，然后进行细菌鉴定。$G^{(-)}$杆菌用API20-E系统进行鉴定（Analytab Products, Plainview, NY），$G^{(+)}$细菌按Finegold的标准方法鉴定[3][4]。

内脏细菌培养是在无菌操作下打开动物腹腔，首先用无菌棉拭子涂抹暴露的内脏表面，置入10ml心脑浸液中（37℃普通孵育24h，以监测有无细菌污染）。然后在升结肠的肠系膜部位剪取引流空肠、回肠和盲肠的肠系膜淋巴结以及动物的肝脏、脾脏，称重后分别注入盛有 0.5ml和 5 ml的匀浆管中进行匀浆。取匀浆液0.2ml，分别接种到血平板和 MacConkey琼脂平板上，37℃孵育24～48h，对培养阳性的平板进行菌落计数，观察动物内脏细菌生长的阳性率和菌量情况。

动物肠道中细菌定量培养的方法：取完动物内脏后，剪取完整的动物盲肠，部分回肠和结肠，称重后放入盛有 9 ml心脑浸液的匀浆管中，匀浆后用生理盐水按10^3、10^5、10^7……不同倍数进行梯度稀释，取0.1ml不同稀释倍数的匀浆液分别接种到血琼脂平板和 MacConkey琼脂平板上，37℃ 孵育 24h，进行菌落计数，定量监测肠道内兼性需氧性细菌和G^-细菌的菌量变化情况。

1.4 形态学方法：动物内脏的形态学研究是采用半薄塑料切片在光学显微镜下进行观察的。动物活杀后取回肠段和盲肠标本，置入磷酸福尔马林缓冲液中（Fish.Co）固定 6 h，然后组织经过梯度酒精系列脱水，包埋在乙二醇异丁烯酸中（glycol methacrylate, JB-4, Polyscience.Inc）。切片厚度为2 μm，用1%甲苯胺蓝（Toludin blue）染色，Olympus显微镜观察并照相。

1.5 实验所得资料用标准统计学方法处理。

2 结果与讨论

2.1 肠梗阻明显促发了肠源性感染，肠梗阻小鼠肠道细菌移居的阳性率明显高于手术对照组（表 1）。早在肠梗阻后 4h，近侧和远侧肠梗阻小鼠的内脏中已经能够培养到细菌，随着肠梗阻时间的延长，肠道细菌移居的发生率呈进行性增高（图 1）。肠系膜淋巴结仍然是细菌移居的主要部位，在肠梗阻早期阶段，肠系膜淋巴结细菌培养的阳性率高于肝、脾和心血（图 2 A、B、C）。在肠梗阻后的各个时期，近侧肠梗阻小鼠不仅肠道细菌移居的发生率，而且肠道细菌侵入小鼠内脏中的菌量均高于远侧肠梗阻小鼠（表 1、2）。

表 1 肠梗阻后不同时间与肠道细菌移居的关系

肠梗阻后时间	手术对照组	近侧肠梗阻组	远侧肠梗阻组
4h	2.3%(1/44)	23%(9/40)	6.4%(2/32)
6h	4.2%(2/48)	32%(14/44)	18%(7/40)
12h	0%(0/28)	34%(11/32)	31%(10/32)
24h	0%(0/40)	68%(27/40)	40%(16/40)
48h	0%(0/40)	68%(27/40)	50%(18/36)

a.细菌培养阳性脏器的百分率。每只动物培养肝脏、脾脏、肠系膜淋巴结和血液。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

表2　比较肠道不同梗阻部位肠道细菌移居的情况

实验分组	肠梗阻的时间 小于6h	大于12h	P值
近侧肠梗阻	27%(23/84)	58%(65/112)	P<0.0001
远侧肠梗阻	13%(9/72)	41%(44/108)	P<0.0002
X^2检验	P<0.02	P<0.01	

a.细菌培养阳性脏器的百分率，每只动物培养肝脏、脾脏、肠系膜淋巴结和血液。

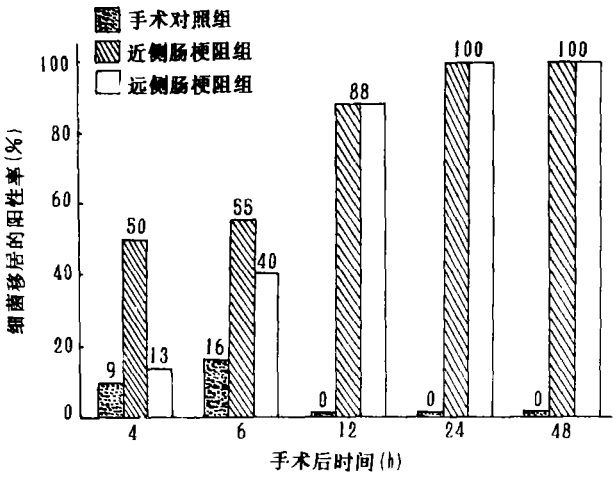


图1　细菌侵入动物各内脏中的阳性率(%)

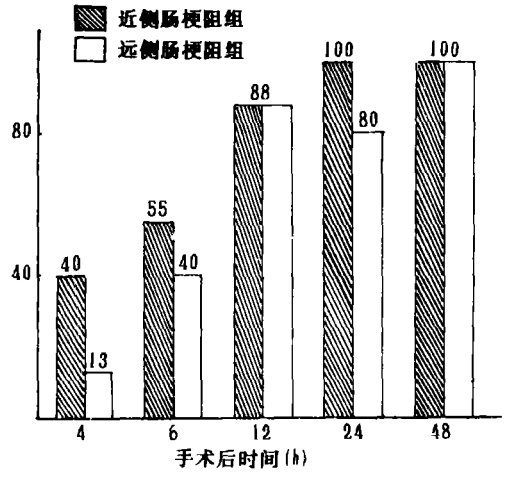


图2 A　细菌移居到肠系膜淋巴的阳性率(　)

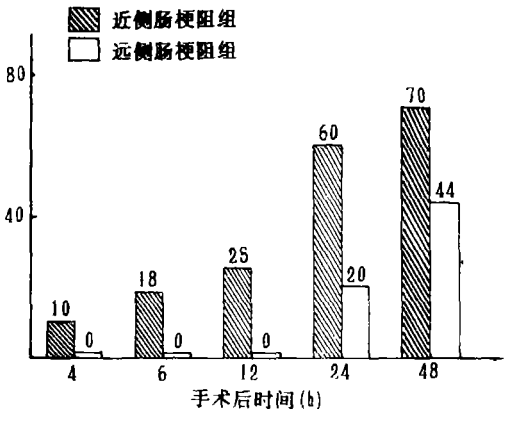


图2 B　细菌移居到肝脏的阳性率(%)

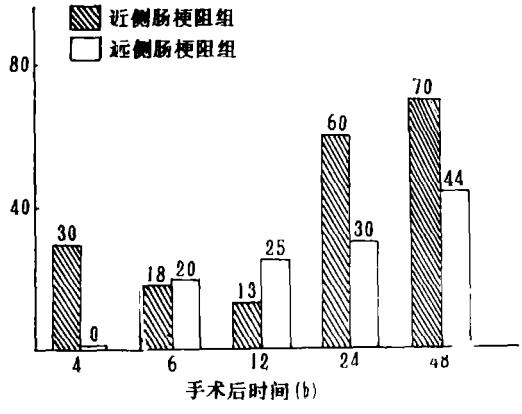


图2 C　细菌移居到脾脏的阳性率(%)

内脏细菌定量培养结果显示，肠梗阻时间越长，肠道细菌侵入脏器中的菌量就越高（表3）。肠梗阻后48h，小鼠内脏中的菌量最高（P<0.01）。所有肠梗阻小鼠内脏（肠系膜淋巴结、肝、脾和心血）细菌培养共376次，阳性142次，阳性率为38%。手术对照动物，术后6h内的90次内脏细菌培养仅3次阳性，阳性率3%（表1）。所有实验动物内脏中培养到的细菌以大肠杆菌为主。同时肠道中多种G^-和G^+细菌也侵入体内（表4）。

尽管在肠梗阻后48h内近侧和远侧肠梗阻小鼠的肠源性感染发病率已很高，小鼠也出现

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

表 3　肠道梗阻后不同时间与动物内脏中菌量之间的关系

肠梗阻后时间	近侧肠梗阻 肠系膜淋巴结	肝　脏	脾　脏	远侧肠梗阻 肠系膜淋巴结	肝　脏	脾　脏
4h	28±17[a]	668±428	740±703	4±4	0	0
6h	117±87	2555±1637	4518±4258	86±70	290±190	0
12h	166±60	12±10	12±7	72±25	56±32	0
24h	1532±778	2037±2343	3334±1600	1054±761	97±64	48±36
48h	11430±2427[b]	4861±2726	4404±2253	6670±4344[b]	3394±2191[b]	5548±3610[b]

a.动物内脏中菌量以每克脏器中含有多少个菌落的均数±标准差表示。

b.与其余各组动物内脏中菌量比较差异显著$P<0.01$。

表 4　动物内脏中阳性生长的细菌

细菌	细菌分离的次数[a]	细菌出现频率（%）
大肠杆菌	90	39.4
肺炎克雷白杆菌	48	21.1
变形模仿菌	33	14.5
肠球菌	18	7.9
乳酸类杆菌	15	6.6
肠杆菌属	7	3.1
链球菌属	6	2.6
梭状杆菌属	6	2.6
绿脓杆菌	2	0.9
奈瑟氏菌属	1	0.4
G^-球菌属	2	0.9

a.所有动物内脏中细菌分离的阳性次数为228次。

病态，但尚无死亡。近侧肠梗阻后第 4 天，小鼠病死率为55%（图 3），到第 6 天小鼠全部死亡。远侧肠梗阻小鼠的早期存活率高于近侧梗阻小鼠，但到梗阻后第 8 天也全部死亡。

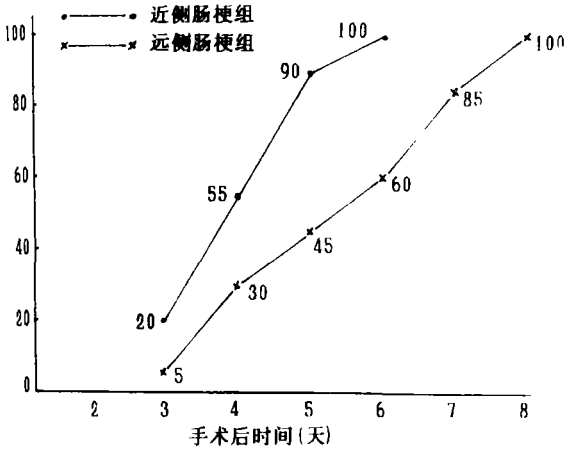


图 3　手术后动物死亡率（%）

2.2 因为肠梗阻多合并有肠道菌群失调，而肠道菌群失调又与肠源性感染的发生具有一定关系[5]。所以本实验也定量观察了肠梗阻小鼠小肠、盲肠以及结肠中菌量的变化情况。手术对照小鼠肠道中菌量未发生明显变化。近侧肠梗阻小鼠盲肠和结肠中的菌量也未发生显著改变，而小肠菌量在肠梗阻后24h需氧菌菌量显著增高。远侧肠梗阻小鼠小肠和盲肠中所有需氧菌菌量推迟到48h才显著增高(表 5)。在菌群结构方面，近侧

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

和远侧肠梗阻小鼠在肠梗阻后6h已发生显著改变，表现为G^-杆菌明显增高，分别增加1000倍和100倍（表5）。实际上早在4h，无论近侧或远侧肠梗阻，小鼠小肠中的G^-杆菌已开始

表5 肠梗阻后动物肠道内菌量的变化情况

实验分组	所有需氧菌菌量[d] 回肠	所有需氧菌菌量[d] 盲肠	所有需氧菌菌量[d] 结肠	肠道杆菌菌量 回肠	肠道杆菌菌量 盲肠	肠道杆菌菌量 结肠
手术对照组[a]						
0	$3.3\pm2.8\times10^7$	$3.5\pm1.3\times10^8$	$1.1\pm1.3\times10^8$	$5.3\pm11.3\times10^5$	$3.0\pm4.1\times10^5$	$1.2\pm1.2\times10^5$
4	$5.6\pm6.1\times10^7$	$5.7\pm6.5\times10^7$	$5.6\pm9.5\times10^7$	$7.4\pm13.3\times10_5$	$7.1\pm12.9\times10^5$	$4.8\pm8.8\times10^5$
6	$4.0\pm10.9\times10^8$	$4.3\pm8.4\times10^8$	$1.3\pm0.9\times10^8$	$1.8\pm1.7\times10^5$	$6.3\pm11.8\times10^6$	$2.2\pm4.2\times10^8$
48	$9.7\pm12.9\times10^7$	$2.3\pm2.4\times10^8$	$1.6\pm2.2\times10^8$	$2.9\pm7.3\times10^6$	$9.5\pm18.7\times10^7$	$2.0\pm3.8\times10^7$
近侧肠梗阻						
4	$9.4\pm13\times10^8$	$4.6\pm4.0\times10^8$	$1.5\pm2.5\times10^8$	$1.8\pm22\times10^7$	$3.2\pm3.1\times10^5$	$4.7\pm11.8\times10^5$
6	$7.9\pm18.2\times10^9$	$3.5\pm3.7\times10^8$	$2.7\pm3.0\times10^7$	$4.4\pm5.8\times10^8$	$1.8\pm2.3\times10^6$	$1.2\pm1.8\times10^6$
12	$3.0\pm1.5\times10^9$	$4.3\pm5.4\times10^8$	$3.4\pm4.7\times10^7$	$1.4\pm1.0\times10^9$	$5.3\pm7.3\times10^7$	$7.5\pm8.0\times10^6$
24	$1.2\pm0.9\times10^{10}$	$6.8\pm4.2\times10^8$	$5.9\pm5.7\times10^8$	$8.1\pm4.3\times10^9$	$8.2\pm11.2\times10^8$	$2.9\pm3.8\times10^8$
48	$1.3\pm1.2\times10^{10}$	$9.9\pm9.5\times10^8$	$5.3\pm5.2\times10^8$	$2.4\pm1.6\times10^{10}$	$1.4\pm2.2\times10^9$	$3.9\pm2.6\times10^8$
远侧肠梗阻						
4	$6.5\pm11.7\times10^8$	$3.8\pm7.0\times10^8$	ND[e]	$5.6\pm14\times10^6$	$3.0\pm2.5\times10^5$	ND[e]
6	$2.8\pm2.5\times10^9$	$5.1\pm3.9\times10^8$	ND	$8.1\pm9.0\times10^7$	$1.3\pm3.4\times10^8$	ND
12	$5.3\pm5.4\times10^8$	$6.2\pm8.9\times10^8$	ND	$2.4\pm4.3\times10^8$	$4.0\pm6.8\times10^8$	ND
24	$9.0\pm10.0\times10^9$	$1.7\pm3.1\times10^9$	ND	$6.2\pm8.2\times10^9$	$1.1\pm2.4\times10^9$	ND
48	$2.9\pm1.2\times10^{10}$	$1.8\pm1.9\times10_1^0$	ND	$4.2\pm3.5\times10^{10}$	$1.8\pm2.1\times10^{10}$	ND

a. 手术对照组的12h和24h两组动物未做肠道菌量变化的观察。

b. 与相应的单纯手术组动物肠道菌量相比较差异十分显著$P<0.01$。

c. 与相应的单纯手术组动物肠道菌量相比较差异显著$P<0.05$。

d. 肠道菌量以每克组织含有多少个菌落的均数±标准误表示。

e. ND：未做

增殖。说明，在肠梗阻时，肠道菌群紊乱和G^-杆菌增殖的发生是相当快的。

2.3 形态学观察发现，肠梗阻后肠粘膜发生严重损伤。近侧肠梗阻后12、24和48h，小肠粘膜水肿进行性加重，粘膜水肿大都是从粘膜下层开始发展的，表现为肠梗阻后12h，粘膜下层间隙明显增宽，间质疏松，淋巴管明显扩张，肠绒毛变短，绒毛间质也呈水肿变性

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

（图4为对照，图5）。随后，严重水肿从肠粘膜下层进一步向肠绒毛顶部延伸，将位于肠绒毛之间陷窝部位的肠粘膜上皮细胞层从底向上顶起，肠绒毛从正常的指样规则排列转变成为不规则的锯齿状（图6）。严重水肿的粘膜间质可压迫肠粘膜上皮细胞层，造成粘膜上皮细胞呈萎缩性改变，表现为肠粘膜上皮细胞体积缩小。此外，在肠绒毛顶部尚可见上皮细胞灶性坏死，脱落，在肠粘膜表面形成灶性溃疡。梗阻后48h，肠粘膜间质严重水肿，肠绒毛严重萎缩以至于几乎完全消失，使小肠粘膜貌似结肠粘　（图7）。近侧肠梗阻小鼠的盲肠粘膜没有发现有明显损伤。

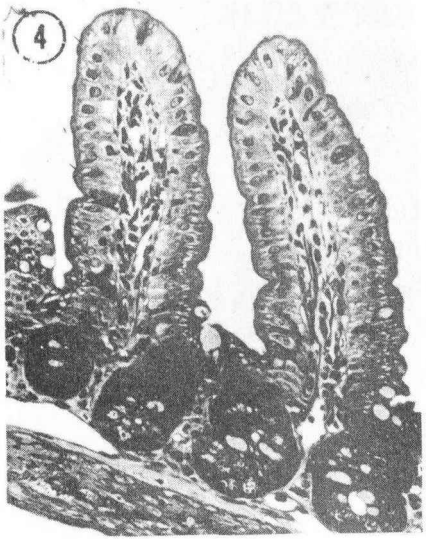


图4　单纯手术对照组动物回肠粘膜基本正常。×200

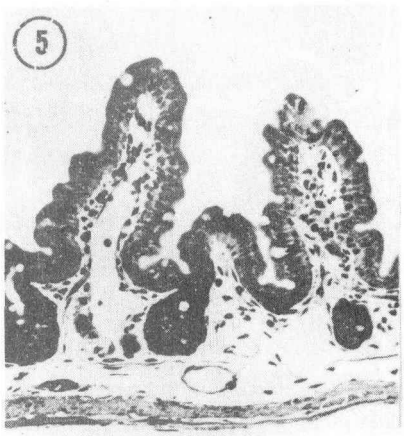


图5　近侧小肠梗阻后12h，动物小肠粘膜表现为明显水肿。肠粘膜下层显著增宽，间质疏松，水肿，淋巴管明显扩张。×200

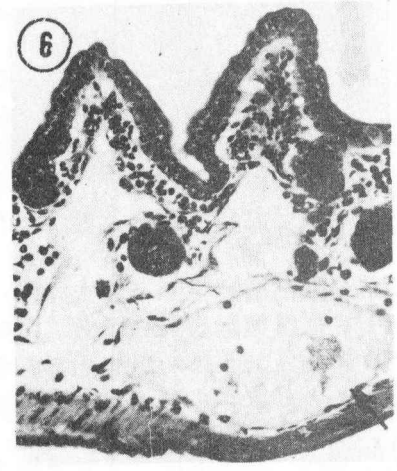


图6　近侧肠梗阻后24h，肠粘膜水肿进一步加重，肠绒毛萎缩、变短，肠粘膜间质中扩张的淋巴管中可见成团细菌（图中箭头示）。×200

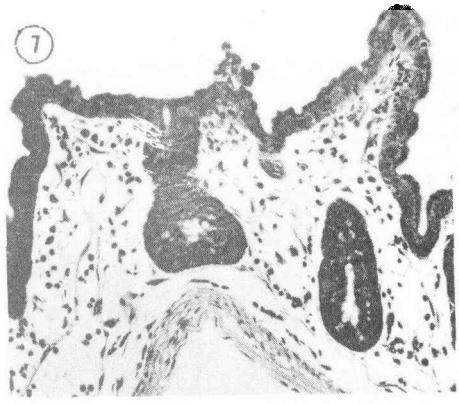


图7　近侧肠梗阻后48h，肠粘膜除了发生间质水肿，淋巴管扩张以及绒毛顶部上皮细胞变性坏死脱落之外，肠绒毛呈明显萎缩性改变，绒毛几乎消失，小肠粘膜“貌似”盲肠粘膜。肠粘膜上皮细胞层也呈明显萎缩性变。×200

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

远侧肠梗阻小鼠的肠粘膜也发生类似于近侧肠梗阻小鼠肠粘膜的形态学改变。肠粘膜间质水肿进行性加重，间质中淋巴管明显扩张，肠绒毛萎缩变短以及消失以信肠粘膜上皮细胞萎缩变性，绒毛顶部上皮细胞灶性坏死脱落，形成溃疡等改变（图 8 ～11）。在小肠粘膜发生损伤的同时，小鼠盲肠粘膜也发生灶性坏死、脱落，形成溃疡（图12）。溃疡灶内有大量中性白细胞浸润，溃疡灶下方扩张的毛细血管内有炎性细胞“附壁现象”。图 9 中箭头所示，为严重水肿的肠绒毛，水肿液似从绒毛的顶部向肠腔中“溢出”，大量肠道内细菌定植在肠粘膜表面。

肠梗阻24h后，无论近侧或远侧肠梗阻、小鼠肠粘膜的间质中均可观察到成团的细菌聚集在扩张的淋巴管中（图13），间质中有炎性细胞浸润。提示，肠道淋巴系统可能是肠道细菌侵入体内的重要途径。

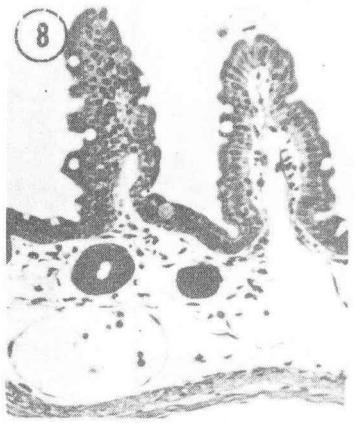


图 8　远侧肠梗阻后12h，动物小肠的粘膜下层也发生明显水肿，淋巴管扩张。× 200

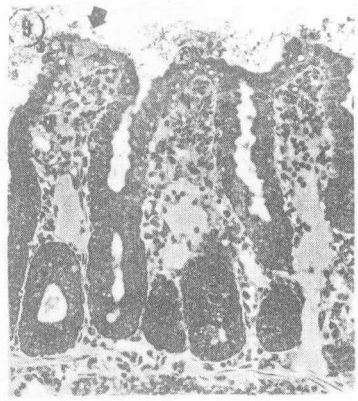


图 9　远侧肠梗阻后24h，动物肠粘膜示严重水肿，淋巴管扩张，绒毛顶部上皮细胞灶性坏死脱落（箭头示）等改变。图中箭头示绒毛间质中的水肿液似乎是从绒毛顶部外溢，同时肠粘膜表面有大量肠道细菌的群集。× 200

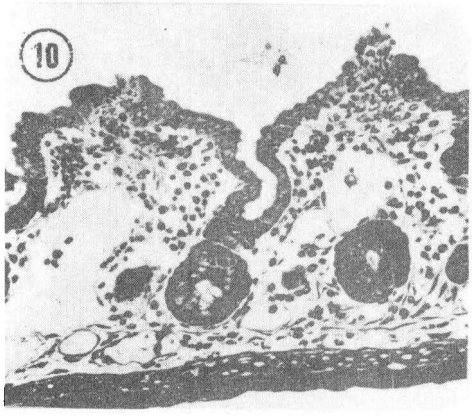


图10　远侧肠梗阻后48h，肠粘膜间质严重水肿，上皮细胞萎缩，绒毛顶部上皮细胞坏死脱落，间质中有大量中性粒细胞浸润。× 200

为了证明在肠梗阻条件下肠粘膜发生的损伤，究竟是肠道内细菌作用的结果，还是因为手术结扎所致的机械性损伤？为此我们做了如下工作：选用10只无菌小鼠，分别造成近侧和远侧肠梗阻，24h后观察肠粘膜的形态学改变。结果提示，近侧或远侧肠梗阻后24h，无菌小鼠肠粘膜的形态学表现基本正常（图14～15）。说明，在肠道中没有细菌的条件下，单纯小肠梗阻并不能造成肠粘膜损伤。此外，在取肠梗阻小鼠小肠组织标本时，同时取手术结扎处小肠的组织标本，连同手术结扎线，一起脱水、包埋，进行连续切片观察，位于手术结扎线部位的肠粘膜，没有发生明显损伤。同时近侧和远侧肠梗阻小鼠的结肠粘膜也均没有发生损伤。说明，在肠梗阻条件下，肠道内细菌是造成肠粘膜损伤的主要发病因素。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n



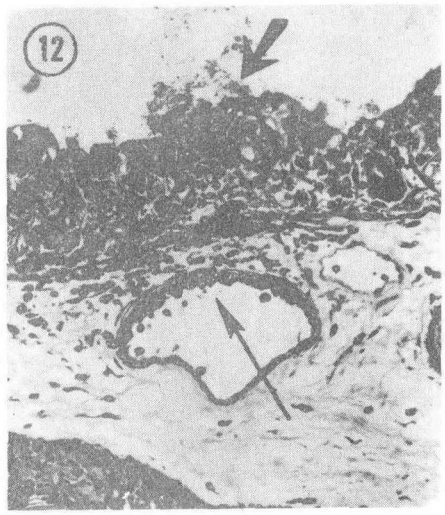


图11～12　远侧肠梗阻后48h，动物小肠和盲肠粘膜灶性坏死脱，落形成裸露溃疡面（箭头示）。溃疡灶内有大量中性粒细胞浸润，毛细血管扩张．充血并有炎性细胞附壁现象。×200

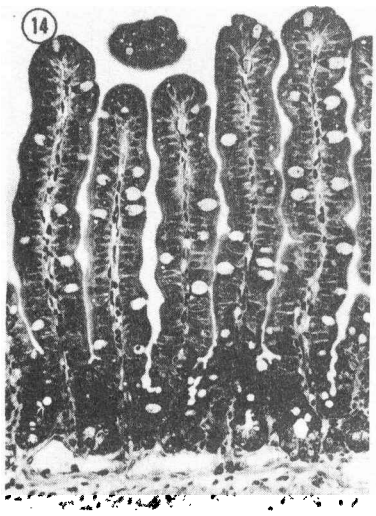


图13　为近侧肠梗阻后24h，在动物小肠粘膜中扩张的淋巴管内所见的成团的细菌（箭头示）。×640

人们早就发现在肠梗阻后，肠道的运动、吸收以及分泌功能均发生改变。本实验进一步证明，单纯肠道梗阻能够造成肠粘膜屏障功能衰竭，促进肠道内细菌侵入体内，形成肠源性感染。近侧和远侧肠梗阻后6h，肠道细菌侵入到肠系膜淋巴结的发生率分别为60%和40%。近侧和远侧肠梗阻后24～48 h，肠道细菌不但侵入到肠系膜淋巴结，尚侵入肝、脾和血循环，形成肠源性菌血症。随着肠梗阻时间的延长，不但肠源性细菌感染的发病率增高，侵入到小鼠内脏中细菌的量也增多，小鼠的病死率也随之上升。也就是，肠梗阻时间越长，肠源性感染的程度就越重，后果是形成致死性肠源性败血症。

肠梗阻后，肠道蠕动功能障碍应该是导致肠源性感染发生的直接原因。在肠源性感染的发病过程中，肠道内细菌直接粘附到肠粘膜上皮细胞表面，应是肠源性感染的起始。因为正常的肠蠕动能够有效地阻止肠道内容物的郁滞，最大限度地防止肠道细菌与肠粘膜接触，使之无法在肠粘膜上皮细胞表面粘附、定植以及穿越肠粘膜上皮细胞层。另外，在肠道有效蠕动的协助下，肠粘膜分泌的粘液对肠道内细菌起到一种持续的“冲洗”作用。肠道内其他多抗种感染防御机制的正常发挥，也都需要建立在肠蠕动功能正常的基础上。例如Dixon等将铬[51]—标记的红细胞和细菌注入到动物肠腔中，正常的肠蠕动能将“细菌和红细胞”很快“清理出”肠道[6]。但在盲端肠襻综合症（blind loop syndrome）的条件下，由于缺乏有效的肠蠕动，结果肠道内细菌明显增殖[7-11]。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n



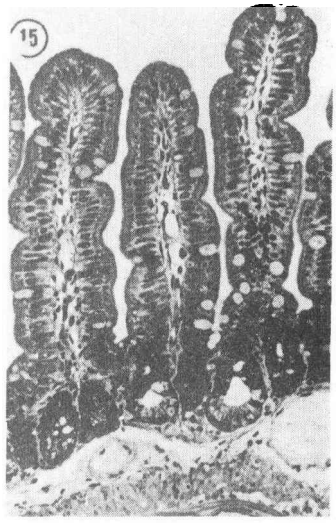


图14～15　分别为近侧和远侧肠梗阻后24h无菌动物小肠粘膜的表现。形态学表现基本正常。×200

众所周知，单纯机械性肠梗阻能够导致肠道蠕动的功能下降，形成肠麻痹。梗阻时间越长，肠道平滑肌收缩功能越差，肠麻痹就越严重，肠梗阻患者的病死率也随之上升[12-13]。肠道平滑肌的运动直接受平滑肌膜电位控制，应用肌电图观察肠道平滑肌的肌电运动（myoelectric activity，MEA），就能够得知肠道平滑肌的运动功能。Brolin等给大鼠造成机械性肠梗阻24h后再“松开”梗阻，动物小肠的肌电运动显著降低，并持续48h以上；如果肠梗阻48h后再“松开”梗阻，小肠肌电运动降低则持续72h以上[14][15]。

当然肠麻痹除了是机械性肠梗阻的后果之一外，同时也是严重感染、创伤及其他多种原因并发的严重肠功能障碍或衰竭的表现形式。虽然麻痹性和机械性肠梗阻的病因不同，但其发展结果都是肠管明显扩张、淤滞、肠壁明显充血、水肿以及肠道菌群失调、G^-杆菌增殖等[14][16]。虽然麻痹性肠梗阻能否引起肠源性感染还有待证实，但本实验的结果提示，在麻痹性肠梗阻的条件下，肠源性感染是应该存在的。

本实验首次观察到，在单纯肠道梗阻后的早期阶段，由于肠道内菌群失调，G^-杆菌增殖以及肠粘膜屏障的严重损伤，肠道内细菌可导致致死性的肠源性感染。我们的观点是，在严重创伤条件下，由于肠粘膜屏障功能衰竭而导致的肠源性感染，在多脏器功能系列衰竭的发生中起重要作用。

参 考 文 献

1. Thomas MA, et al. Strangulation obstruction in germfree dogs. Surgery 1965; 58:37～46
2. Heneghan JB, et al. Intestinal obstruction in germ-free dogs. Eur J Clin Invest 1981; 11:285～290
3. Holeman LV, et al. Anaerobe Laboratory Manual, Afh ed Blackburg,va,virginia polytechnic Institute and State university 1977
4. Finegold SM, et al. Bailey and scott's diagnostic microbiology. 7th ed. The Co.,ST. Louis, Mo. 1986:914
5. Deitch EA, et al. Effect of oral antibiotics and bacterial overgrowth of the translocation of the GI-tract microflora in burned rats J Trauma 1987; 25:385～392
6. Dixon JMS. The fate of bacterial in the small intestine. J pathol Bacteriol 1960; 79:131～14

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

7. Broido PW, et al. Microflora of the gastrointestinal tract and the surgical malabsorption syndromes. Surg Gynecol Obstet 1972; 135:449～460
8. Drude RB, et al. The pathophysiology of intestinal bacterial overgrowth syndromes. Arch Intern ded, 1980; 140:1349～1352
9. Gorbach SL. Intestinal microflora. Gastroenterology 1971; 60:1110～1129
10. King CE, et al. Small intestine bacterial overgrowth. Gastroenterology 1979; 76:1035～1055
11. Tabaqchali S. The pathophysiological role of small intestinal bacterial flora. scand J Gastrenterol. (Suppl) .1970; 6:139～163
12. Brolin RE. The role of gastrointestinal tube decompression in the treatment of mechanical intestinal obstruction. Amer Surg 1983; 49:131
13. Playforth RH, et al. Mechanical small bowel obstruction. Ann Surg 1970; 171:783
14. Lausin M, et al. Myoelectric activity of the small bowel in machanical obstruction and intra-abdominal bacterial contamination. Eur Surg Res 1988; 20:304～309
15. Brolin RE, et al. Gastrointestinal myoelectric activity in mechanical intestinal obstruction. J Surg Res 1985; 38:515～523
16. Tannock GW, et al. 1974. Influences of dietary and environmental stress on microbiological populations in the murine gastrointestinal tract. Infect Immun 1974; 9:591～598

The Obstructed Intestine as a Reservoir for Systemic Infection

Ma Ll, et al. (Burn Research Institute, Southwestern Hospital, Third Military Medical College)

It is well accepted that intestinal motility, absorption and secretion are altered after intestinal obstruction, but whether the normal bacterial barrier function of the gut also fails after intestinal obstruction is not known. Thus, we tested whether after simple intestinal obstrction, bacteria would translocate across the viable intestinal wall to cause systemic infection· within 6 hr of intestinal ligation 1 cm proximal or distal to the ileocecal valve, bacteria had translocated to the mesenteric lymph nodes (MLN) and within 24 hr after intestinal obstruction bacteria had spread to the liver, spleen, and blood stream. Bacteial translocation rarely occurred in the animals undergoing laparotomy and sham intestinal ligation, indicating that bacterial translocation was not due to surgical stress. Bacterial translocation induced by intestinal obstruction appears to be due to several factors including, 1) disruption of the ecology of the normal gut microflora leading to intestinal overgowth with certain enteric bacilli and 2) mucosal damage. Mucosal injury induced by mechanical obstruction appears to require the presence of bacteria, since the intestinal mucosal appeanrace of germ-free mice subjected to inestinal obstruction remained normal. These results indicate that the viable obstructed intestine may be a resevoir for systemic bacterial infection.

Key words, intestinal obstruction, bacterial translocation

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

七、胆道梗阻导致肠源性感染

马 利 肖光夏 黎 鳌 Edwin A Deitch *（西南医院 烧伤研究所）

提 要 本实验利用胆总管结扎的小鼠动物模型，观察阻塞性黄疸能否导致肠源性感染。实验证明，结扎小鼠胆总管7日后，不但动物血中胆红素浓度显著增高，而且肠源性感染的发病率也显著高于对照动物（$P<0.05$）。胆总管梗阻后，发生肠源性感染动物的肠道中G^-杆菌菌量显著增高100倍（$P<0.05$），同时，动物肠粘膜也发生损伤。提示，由于胆道梗阻，肠腔中缺乏胆盐，造成动物肠道中G^-杆菌增殖以及肠粘膜屏障的损伤是促进肠源性感染的原因。

关键词 胆管阻塞；肝外异位；细菌；胆总管疾病；细菌感染

感染和内毒素血症仍然是阻塞性黄疸病人的主要死因之一[1][2]。造成这类病人发生内毒素血症的主要原因是因为其肠道中缺乏胆酸，使肠腔中的内毒素和门静脉循环中的内毒素含量相继增高，以及患者肝脏网状内皮系统屏障功能衰竭，不能够有效地清除门静脉中大量的肠源性内毒素所致[3-5]。在肠粘膜屏障功能受损，肠腔中内毒素漏入体内的条件下，肠道中的细菌也能够侵入体内，鉴于循环中的内毒素能够促进肠源性细菌感染的研究结果提示[6][7][8]，设想，在总胆管梗阻的条件下，肠源性细菌感染是应该存在的。

1 材料和方法

实验选用无特殊致病菌（SPF）小鼠共81只（CD—1、远系繁殖），鼠龄8周，雌雄各半，随机分为正常对照、手术对照和胆总管结扎3个实验组。动物经腹腔麻醉后（Pentobarbital，50mg/kg），无菌操作下打开腹腔，分离出门肝静脉，用5号手术线结扎动物胆总管。手术后7日活杀动物，取肠系膜淋巴结（MLN）、肝脏、脾脏和盲肠，分别匀浆后接种到MacConkey 琼脂平板上培养G^-杆菌和血琼脂平板上培养所有兼性厌氧菌，37℃孵育24h，对培养阳性的平板进行菌落计数，观察动物内脏和肠道中细菌生长的情况。所获动物内脏培养的G^-杆菌用API20-E系统进行鉴定（Analytab Products, Plainview,NY），G^+细菌按Finegold 的标准方法鉴定[8]。

同时取动物肝脏和回肠组织，固定在磷酸福尔马林缓冲液中（Fish Co）6h以上。梯度酒精脱水后，包埋在乙二醇异丁烯酸溶液中（JB-4，Polysience, Inc., Warrington PA）。JB-4切片为2μm厚，经10%甲苯胺蓝染色，Olympus光学显微镜观察并照相。

实验所得资料按标准统计学方法处理。

2 结果

胆总管结扎动物，肠道细菌侵入肠系膜淋巴结的发病率要显著高于其他2组动物（表1）。所有3组

表1 肠道细菌移居肠系膜淋巴结（MLN）的发病率和菌量

实验分组	动物数	细菌移居[1]		胆红素浓度
		发病率	菌量/g	mg/dl
对 照	20	5%	5	0.5±0.1[2]
手术对照	28	7%	27±22	未做
胆总管结扎	33	33%[2]	24±37	18.7±2.4

1. 肠道细菌移居的发病率以MLN中有活菌生长动物数的百分数表示。
菌量以每一MLN中含有菌落形成单位（CFu）的平均数±标准误表示。
2. 与其他两组相比较差异显著（$P<0.05$）。

*美国路易斯安娜州Shreveport医学院外科。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

动物的肝脏、脾脏以及血循环中均无细菌生长，动物腹腔培养的结果为阴性。胆总管结扎动物的血中胆红素浓度显著增高（表1）。侵入到动物肠系膜淋巴结中的细菌以大肠杆菌为主，其次为变形杆菌和葡萄球菌属。

动物实验已经证实，肠道菌群紊乱、G^-杆菌的增殖对肠源性感染有促进作用[7]。所以本实验也观察了动物盲肠中的菌量变化情况（表2），虽然胆总管结扎动物肠道中的菌量均高于其余2组对照动物，但均

表2 动物盲肠菌量*

实验分组	动物数	G^-杆菌	兼性厌氧菌	乳酸杆菌
对照	12	$3.6\pm1.6\times10^6$	$8.8\pm4.8\times10^8$	$9.1\pm3\times10^8$
手术对照	23	$1.3\pm0.6\times10^6$	$2.3\pm1.3\times10^8$	$1.4\pm2.6\times10^9$
胆总管结扎	33	$4.3\pm31\times10^7$	$1.2\pm3.5\times10^9$	$5.6\pm23\times10^9$

*菌量以每克动物盲肠中含有细菌菌落的均数±标准差表示。

无显著统计学差异。而同在胆总管结扎的实验组中，有肠道细菌移居的动物，其肠道G^-杆菌的菌量较肠道细菌未发生移居的动物显著增高100倍（$P<0.05$）（表3），说明，在胆总管梗阻条件下，肠道菌群紊

表3 肠源性感染动物和无肠源性感染动物肠道中菌量的差别

肠源性感染	动物数	G^-杆菌	兼性厌氧菌	乳酸杆菌
无	22	$1.2\pm0.3\times10^6$	$1.1\pm0.4\times10^9$	$2.8\pm0.4\times10^9$
有	11	$1.3\pm0.9\times10^8$	$1.5\pm0.8\times10^9$	$1.2\pm0.7\times10^{10}$
P值		<0.05	>0.05	>0.05

肠道菌量以每克动物盲肠中含有菌落的均数±标准误表示。

乱、G^-杆菌增殖与肠源性感染的发生具有一定内在联系。

形态学观察结果发现，胆总管结扎7日后，动物小肠粘膜发生水肿，表现在肠绒毛的上皮细胞层和间质的交界处出现较为广泛的水肿间隙，但肠粘膜的机械性屏障尚完整(图3)。此外，胆总管结扎动物肝脏中的门脉区，也发生明显纤维化，表现为肝细胞小叶的组织结构尚完整；但门脉区纤维母细胞大量增生，使门脉区面积增大，炎性细胞浸润明显（图1）。(图2和图4为对照动物肝脏和小肠组织)

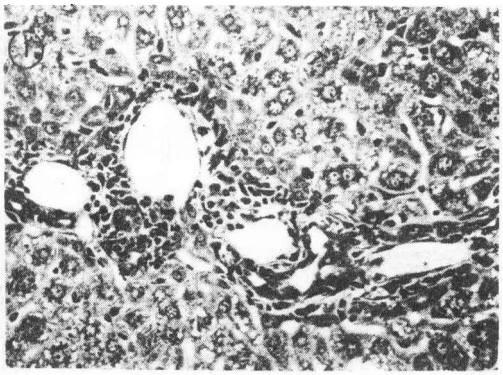


图1 胆总管结扎7日后小鼠肝脏的组织学。汇管区周围有大量纤维母细胞浸润。×200

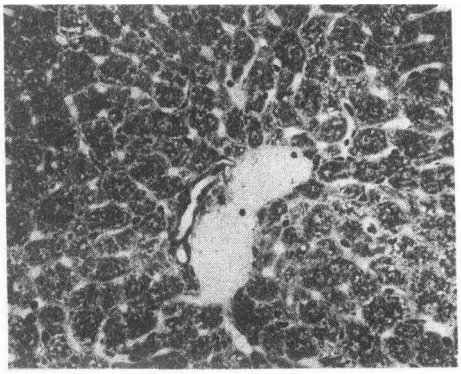


图2 手术对照小鼠肝脏的正常组织学。×200

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

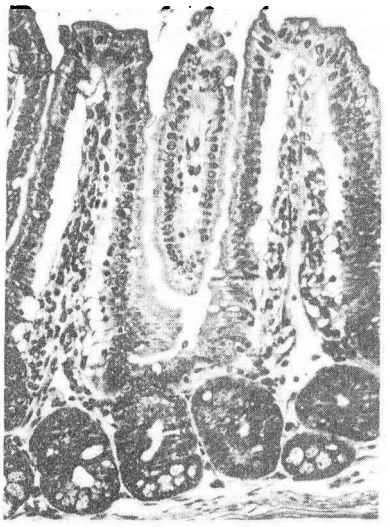


图 3　胆总管结扎 7 日后小鼠的回肠组织学。肠粘膜水肿，绒毛上部出现上皮细胞层下水肿间隙。×200

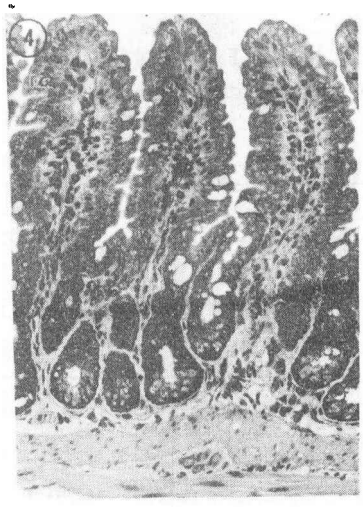


图 4　手术对照小鼠的正常回肠组织学。×200

3　讨论

当前，我们比以往任何时候都更加清楚地认识到，肠道不单纯是一个被动器官，胃肠功能紊乱也不仅仅局限于呕吐、腹泻和肠麻痹；在病理条件下，肠道以及肠道的内容物能够影响到体内其它脏器的功能和改变病人的预后。临床报导，咽喉部和胃内细菌可以引起医源性肺部感染 (nosocomial infection)[9][10]，肠道也可以是一类免疫功能低下患者全身细菌感染的感染源[11][12][13]。

30年前，Ravin和Fine等就曾推论，在人类的各种感染和非感染情况下，肠源性内毒素血症的途径是存在的[14]。以后，许多报导均证实，阻塞性黄疸病人并发内毒素血症比较常见[2][15][16]。统计资料提示，门脉性内毒素血症的发病率在38～67%之间，而全身性内毒素血症发病率的范围是35～45%。据信，因肠道梗阻，肠道中缺乏胆盐，造成大量内毒素被吸收进入门脉循环是主要发病原因[2][4]。最近，Cahill等发现，口服脱氧胆酸盐能够将 1 组阻塞性黄疸病人门脉性内毒素血症的发病率从55%降至零。在肠腔中，胆盐能够和内毒素结合，形成 1 种难以吸收的去污剂样 (Detergent) 复合物，从而阻止内毒素血症的发生[2][17]。另外，肝脏对门静脉循环中内毒素的清除能力下降也是全身性内毒素血症发生的原因之一。结扎了大鼠胆总管之后，肝脏网状内皮系统 (RES) 对胶性碳[3] 和活菌[18]的清除功能均受损害。临床研究也证实，郁胆病人肝脏网状内皮系统对白蛋白微聚物的清除功能也有损伤[19]。

正常的肠粘膜是阻止肠道中细菌、内毒素侵入体内的有效屏障。动物实验结果证实，在某些病理情况下，肠道中的细菌能够通过肠粘膜侵入体内形成肠源性感染。其主要发病因素包括：肠道中微生态环境的破坏，导致 G^- 杆菌增殖、宿主免疫功能下降、肠粘膜屏障的破坏以及内毒素血症[6][7][8][11]。本实验证明，胆总管梗阻 7 日后，能够造成30% (11/33) 的动物发生肠源性感染。手术应激未能引起肠源性感染，因为手术对照组动物肠源性感染发病率仅为 7 % (2/28) ($P<0.03$)。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

关于为什么胆总管结扎后能够造成肠道细菌侵入体内的确切机制尚不清楚。但本实验形态学观察结果证实，肠粘膜屏障功能受损是明确存在的。另外，肠道菌群失调也应该是胆道梗阻动物发生肠源性感染的原因之一。因为发生肠源性感染动物肠道中G^-杆菌的菌量（10^8/g）比未发生肠源性感染的动物增加100倍（10^6/g）。众所周知，肠道G^-杆菌增殖的确能够促进肠源性感染[7]。因此，在胆道梗阻条件下发生的肠源性感染有肠粘膜屏障破坏和肠道菌群紊乱的协同作用。

虽然，在胆总管梗阻条件下，肠道中缺乏胆盐可能是造成肠道菌群紊乱、肠粘膜损伤和肠源性感染的原因之一，但不是唯一的因素。随着正常人胆汁进入肠道中IgA的含量仅为1%，但小鼠胆汁中则含有大量的IgA[20]，所以，胆总管梗阻小鼠肠道中不但胆盐含量少，IgA的含量也减少。而IgA又是维护肠粘膜屏障，防止肠道细菌粘附的重要因素之一。动物实验已证实，循环中的内毒素能够引起肠源性感染[8]，而在胆总管梗阻条件下，内毒素血症又是存在的[3]，因此，在阻塞性黄疸条件下，内毒素血症也可以是造成肠源性感染的原因之一。在这种情况下，循环中的内毒素能够通过提高肠粘膜的通透性而促进肠源性细菌和内毒素持续侵入体内。

免疫功能下降对于促进肠源性感染也有意义[11]。胆道梗阻和内毒素血症都常伴有严重的特异性和非特异性免疫功能失调[21][22][23][24]。研究提示，在阻止肠源性感染的发病机制中，全身免疫功能可能起到第二线防御作用，这方面的研究还正在进行中[25][26][27]。

参考文献

1. Holman JM, et al. Sepsis in the management of complicated biliary disorders. Am J Surg 1979: 138:809～813

2. Cahill CJ, et al. Bile salts, endotoxin and renal function in obstructive jaundice. Surg Gyn Obstet 1987: 165:519～522

3. Holman JM, Rikkers L. Biliary obstructon and host defense failure. J Surg Res 1982: 32:208～13

4 Kocsar LT, et al. Effect of bile acids on the intestinal absorption of endotoxin in rats. J Bacteriol 1969: 220～223

5. Roughneen PT, et al. Endotoxemia and cholestasis. Surg Gyn Obstet 1988:167:205～210

6. Berg RD, Garlington AW. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. Infect Immun 1979:23:403～411

7. Deitch EA, et al. Effect of oral antibiotics and bacterial overgrowth on the translocation of the GI tract microflora in burned rats. J Trauma 1985: 25:385～392

8. Deitch EA, et al. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. Arch Surg 1987:122:185～190

9. Atherton ST, White DJ. Stomach as a source of bacteria colonizing respiratory tract during artificial ventilation. Lancet 1978: 2:968～969

10. Driks MR, et al. Nosocomial pneumonia in intubated patients given sucralfate as compared with antacids or histamine type 2 blockers: The role of gastric colonization. New Engl J Med 1987:317:1378～1382

11. Deitch EA. The immunocompromised host. Surg Clin North Amer 1988:68:181～190

12. Carrico CJ, et al. Multiple organ failure syndrome. Arch Surg 1986:121:196～206

13. Border JR, et al. The gut origin septic states in blunt multiple trauma (ISS=40) in the

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

ICU. Ann Surg 1987;206:427～448

14. Ravin HA, Fine J. Biological implications of intestinal endotoxins. Fed Proc 1962. 21 65～68

15. Wilkinson SP, et al. Endotoxaemia and renal failure in cirrhosis and obstructive jaundice. Br Med J 1976;2:1415～1418

16. Pain JA, Bailey ME. Measurement of operative plasma endotoxin levels in jaundiced and non-jaundiced patients. Eur Surg Res 1987:19:207～216

17. Bertok L. Physico-chemical defense of vertebrate organsims: the role of bile acids in defense against bacterial endotoxins. Perspect Biol Med 1977:21:70～76

18. Katz R, et al. Impaired bacterial clearance and trapping in obstructive jaundice. Ann Surg 1984:199:14～20

19. Drivas G, et al. Study of reticuloendothelial phagocytic capacity in patients with cholestasis. Br Med J 1976: 1:1568～1569

20. Cebra JJ, et al. The secretory IgA system of the gut. CIBA Symposium 1977: 46: 5～28

21. Roughneen PT, et al. Impaired specific cellular immunity in extrahepatic cholestasis and its reversibility by internal biliary drainage. J Surg Res 1986: 41:113～125

22. Roughneen PT, et al. Suppression of host versus graft reponse in experimental biliary obstructive. Transplantation 1986; 42: 391～393

23. Pinto M, Kaplun A. Immune statrus in mice with experimental biliary obstruction. Clin Immunol Immunopathol 1980: 16: 396～405

24. Morrison DC, Ryan JL. Bacterial endotoxins and host immune responses. Adv Immunol 1979: 28: 293～450

25. Ninnemann JL, et al. Induction of prostaglandin synthesis-dependent suppressor cells with endotoxin: Occurrence in patients with thermal injuries. J Clin Immunol 1984: 3: 142～150

26. Berg RD. Immunosuppression and insestinal bacterial overgrowth synergistically promote bacterial translocation. Arch Surg 1988: 123: 1359～1364

27 Maddaus MA, et al. Effect of T cell modulation of the translocation of bacteria from the gutand mesenteric lymph node. Ann Surg 1988: 207: 387～398

(收稿: 1989.12.10: 修回:1990.01.20)

Bile Duct Obstruction Promotes the Bacterial Translocation from the Gut

Ma Li, et al. (Burn Research Institute, Southwest Hospital, Third Military Medical College)

Experiments are performed to determine if obstructive jaundice promotes the translocation of bacteria from the gastrointestinal(GI) tract to visceral organs. Mice for experiments are divided into 3 groups: control group(Cg)(n=20), sham-ligatated group(SLg)(n=28)undergo laparotomy and manipulatiion of the portal region, and the ligated group(Lg)(n=33) have their common bile ducts ligated. 7 days later mice are sacrificed, their visceral organs are cultured, and GI tracts

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

are examined histologically. Results: of the Lg the bilirubin levels elevate (18.7 mg/dl), incinidnce of bacterial translocation (BT) is higher (33%), the cecal levels of gram-negative enteric bacilli are 100-fold higher, subepithelial edema involving ileal villi is present, indicating that intestinal bacterial overgrowth is a major factor responsible for BT; in the other 2 groups the bilirubin levels are much lower (0.5mg/dl), incidence of BT is lower too (Cg 5%, SLg 7%), intestinal mucosa is normal. Conclusion: absence of bile in the GI tract allows enteric bacilli to overgrow and the combination of bacterial overgowth and mucosal injury to promote BT.

Key words: bile duct obstruction; extrahepatic translocation; bacteria; common bile duct disease; bacterial infections

论文摘要

严重烧伤后脏器损害及其机理的临床研究

黄跃生 杨宗城 黎 鳌（西南医院 烧伤研究所）

本研究观察了57例严重烧伤病人（TBSA>30%，平均61.2±22.1%）的心、肺、肝、肾功能，心肌酶谱，循环血小板微聚物比率（CPAR），血小板计数，全血粘度，TXA_2，PGI_2以及死亡病人主要脏器的病理形态变化。结果发现，严重烧伤早期脏器功能均有不同程度的变化。心功能伤后1/2天降至最低值，以后逐渐回升，但每搏量和每搏指数在整个观测期（伤后5天）内均低于正常水平；心肌酶谱明显增高者，心功能降低更明显。TBSA大于80%、伴中重度吸入性损伤、严重休克和全身性感染者，肺功能受损重，持续时间也长。伤后大部分病人血Cr和uN在休克期内轻度增高，但TBSA大于80%、重度休克和全身性感染者肾功能受损大都较重。本组共有21例（36.8%）发生脏器衰竭，其中16例为多脏器衰竭（MOF），死亡15例，发生心、肺、肾和肝功能衰竭者分别为15、16、10和6例。伤后TXA_2、PGI_2、全血粘度均明显增高，但TXA_2增高的幅度较大，因而TXA_2/PGI_2比值明显增高。有功能衰竭的脏器组织TXA_2和TXA_2/PGI_2比值也明显增高，而CPAR和血小板计数则明显降低。死亡病人脏器组织可有明显变性、坏死，或充血、出血、水肿和血栓形成。本文结合各指标结果和临床情况进行了讨论，认为：1、除烧伤本身的严重程度外，吸入性损伤、严重休克和全身性感染是烧伤后导致脏器损害的主要发病因素。2、严重烧伤后脏器功能均可有不同程度的变化：①伤后很早即可发生心肌的器质性损害，持续时间较长，是烧伤后早期心功能降低以至衰竭的重要原因。②肺功能衰竭大多发生于伴有中重度吸入性损伤、以及并发严重休克和/或全身性感染等患者。烧伤后肺功能衰竭可分为早发型，迟发型和早发型三种类型。③休克的严重程度和抗休克的治疗效果是决定肾脏损害的基本因素。严重的全身性感染可加速肾功能衰竭的发展。主要因严重休克所致者多为少尿型，因感染所致者则多为非少尿型。④烧伤后肝组织病变的检出率远高于临床肝功能异常发生率。原因可能与肝脏代偿能力强、检测时机不合适、检测方法或指标不够灵敏等有关。3、由于CPAR和心肌酶谱较早地反映了循环微聚物形成和组织器官缺血损害，可作为预测烧伤后MOF发生的辅助指标。4、烧伤后TXA_2和PGI_2均明显增高，与烧伤面积和病情呈正相关。TXA_2增高的幅度大，TXA_2/PGI_2明显失衡：①TXA_2/PGI_2失衡是烧伤后MOF发生和发展的重要原因之一。②在烧伤脏器损害有关发病因素（休克、吸入性损伤和全身性感染）中TXA_2/PGI_2失衡均起重要作用。主要机理是促使微聚物和血栓形成，继而引起脏器损害。

（收稿：1990.02.09）

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n