

烧伤对局部引流淋巴液致炎因子与抗炎因子影响的实验研究

王坤 张玉玲 王德昌 冯永强

【摘要】 目的 探讨大鼠烧伤创面引流淋巴液致炎因子(TNF- α)和抗炎因子(IL-4)水平变化。**方法** 大鼠单侧后腿(随机)浸于70℃热水30 s,造成为4%总体表面积(TBSA)深Ⅱ度烫伤,对侧后腿浸于22℃热水30 s,实验分为烧伤腿组(A组)和对侧未烧伤腿组(B组);单侧腿烧伤大鼠又称为烧伤组,正常组大鼠未做任何处理,实验分为3个时间点:烧伤后6 h(10只)、烧伤后24 h(10只)、烧伤后72 h(10只)。收集双侧髂总淋巴结输出淋巴管内的淋巴液及动脉血。应用酶联免疫吸附法(ELISA)检测TNF- α 、IL-4浓度。**结果** 烧伤后6、24和72 h的TNF- α 及IL-4水平,A组显著高于B组($P < 0.05$);血浆TNF- α 及IL-4水平,烧伤组与正常组比较差异无显著性。**结论** 烧伤能引起局部引流淋巴液致炎因子与抗炎因子水平升高,从而影响局部免疫。

【关键词】 烧伤; 淋巴; 致炎因子; 抗炎因子

烧伤常伴随急性的炎症反应过程,其病理生理非常复杂,参与烧伤反应的介质很多,其中细胞因子引起广泛重视^[1],淋巴系统作为重要的免疫系统,同样参与了其炎症反应过程,我们通过检测局部引流淋巴液中致炎因子与抗炎因子的动态变化,探讨其在烧伤后炎症反应中的作用。

一、材料和方法

1. 动物模型制作及分组:成年雄性Wistar大鼠(山东大学动物实验中心提供)40只,体重250~300 g,在腹腔注射麻醉下(3%戊巴比妥钠,40 mg/kg),刮除大鼠双侧后腿毛发。将大鼠单侧后腿(随机)浸于70℃热水30 s^[2],造成为4%总体表面积(TBSA)深Ⅱ度烫伤,对侧后腿浸于22℃热水30 s,烫伤后未给予包扎,给予头孢哌酮(40 mg·kg⁻¹·d⁻¹)腹腔注射以防止感染。实验分为烧伤腿组(A组)和对侧未烧伤腿组(B组)。实验分为3个时间点:烧伤后6 h(10只)、烧伤后24 h(10只)、烧伤后72 h(10只)。正常组大鼠10只,未接受任何处理。

2. 标本收集:麻醉成功后,刮除腹部毛发,沿腹部正中做切口,长约5 cm,先把肠管翻向左侧,在右下腹腔即可看到右髂总淋巴结,在手术显微镜下仔细分离右髂总淋巴结的输出淋巴管,游离出大约1.5~2 cm,用3-0丝线结扎其上端。对侧接受同样的处理。将大鼠双侧后腿按摩30 min后,使淋巴管充盈,用一次性静脉输液针(直径0.45 mm)插入充盈的淋巴管,抽出淋巴液约40 μ l,将淋巴液置于Eppendorf管中,加入肝素(终浓度20 IU/ml),置于离心机离心(离心机半径8 cm,600 r/min)10 min,取其上清置于-80℃超低温冰箱。取完淋巴液后,取动脉血2 ml并分离出血清。

3. TNF- α 、IL-4水平测定:运用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定淋巴液及血清TNF- α 、IL-4浓度。具体步骤严格按照试剂盒说明书进行,试剂盒由Biosource International, Camarillo, CA公司提供。

4. 统计学处理:实验数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,实验结果应用SPSS 13.0软件处理,应用 t 检验进行差异性分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

二、结果

1. 大鼠烧伤局部引流淋巴液TNF- α 水平变化:烧伤后6、24和72 h的淋巴液TNF- α 水平,A组显著高于B组[(52.18 \pm 5.38) pg/ml vs. (16.69 \pm 1.62) pg/ml, $P < 0.01$; (27.66 \pm 2.31) pg/ml vs. (15.49 \pm 1.17) pg/ml, $P < 0.01$; (25.06 \pm 2.52) pg/ml vs. (17.35 \pm 2.10) pg/ml, $P < 0.05$]。

2. 大鼠烧伤局部引流淋巴液IL-4水平变化:烧伤后6、24和72 h的淋巴液IL-4水平,A组显著高于B组[(14.96 \pm 1.14) pg/ml vs. (9.65 \pm 0.69) pg/ml, $P < 0.01$; (15.87 \pm 1.54) pg/ml vs. (9.10 \pm 0.74) pg/ml, $P < 0.01$; (15.44 \pm 1.59) pg/ml vs. (8.41 \pm 1.01) pg/ml, $P < 0.05$]。

3. 烧伤组与正常组大鼠血浆TNF- α 水平变化:烧伤后6、24和72 h的血浆TNF- α 水平,烧伤组与正常组比较差异无统计学意义[(17.94 \pm 1.32) pg/ml vs. (16.56 \pm 1.22) pg/ml, $P > 0.05$; (15.35 \pm 1.79) pg/ml vs. (16.56 \pm 1.22) pg/ml, $P > 0.05$; (16.36 \pm 1.24) pg/ml vs. (16.56 \pm 1.22) pg/ml, $P > 0.05$]。

4. 烧伤组与正常组大鼠血浆 IL-4 水平变化:烧伤后 6、24 和 72 h 的血浆 IL-4 水平,烧伤组与正常组比较差异无统计学意义[(8.69 ± 0.51) pg/ml vs. (8.09 ± 0.74) pg/ml, $P > 0.05$; (9.01 ± 0.75) pg/ml vs. (8.09 ± 0.74) pg/ml, $P > 0.05$; (7.98 ± 0.59) pg/ml vs. (8.09 ± 0.74) pg/ml, $P > 0.05$]。

三、讨论

机体在损伤、大面积烧伤或感染时,可以产生一系列致炎因子与抗炎因子,如果两者之间彼此取得平衡,则内环境稳定得以保持,否则,将出现过度炎症反应与过度抗炎反应,即可导致多器官功能障碍综合征(MODS),甚至多器官功能衰竭(MOF)出现。其中 TNF- α 、IL-6、IL-8 等为最有影响的致炎因子,IL-4、IL-10、IL-13 等为最重要的抗炎因子^[3-6]。在本实验中我们选择最有代表性的致炎因子 TNF- α 及抗炎因子 IL-4 作为研究对象。其中, TNF- α 在体内的大量产生和释放会破坏机体的免疫平衡,与其他炎症因子一起产生多种病理损伤。TNF- α 对众多的组织器官产生生物学效应,是细胞因子网络中一个重要的多功能成员,是机体维持内部自稳、抵御各种致病因子必不可少的免疫调节因子。IL-4 作为一种典型的抗炎因子,其可强烈抑制 TNF- α 、IL-6 等致炎因子的合成^[7-8]。

既往研究多专注于大面积烧伤后血液中炎症因子发生的变化^[9-11],而对局部淋巴免疫研究甚少,本研究结果提示烧伤能够导致局部淋巴细胞产生致炎因子 TNF- α 及抗炎因子 IL-4,从而导致引流淋巴液的 TNF- α 及 IL-4 升高,然后通过淋巴系统回流,进入胸导管然后波及全身。另外,实验结果提示 4% 的烧伤面积并没有引起血液中的 TNF- α 及 IL-4 明显升高,产生该结果的机制,我们主要考虑两个方面,首先,4% 的烧伤面积并没有引起血液中的免疫细胞产生大量的 TNF- α 与 IL-4,其次,虽然局部引流淋巴液 TNF- α 与 IL-4 浓度升高,但因为其流量小,当通过胸导管回流至血液后便被稀释,以致浓度没有升高,尽管如此,但局部淋巴免疫仍可能参与了烧伤后炎症反应。另外,至于该实验中局部引流淋巴液 TNF- α 与 IL-4 的升高对机体起到保护作用还是损伤还需要作进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 朱莉,刘晶星,陆德源. 烧伤与细胞因子研究进展. 国外医学:创伤与外科基本问题分册,1996,17:15-17.
- [2] Piccolo MT, Wang Y, Verbrugge S, et al. Role of chemotactic factors in neutrophil activation after thermal injury in rats. *Inflammation*, 1999, 23: 371-385.
- [3] Wan S, Yim AP. Cytokines in myocardial injury: impact on cardiac surgical approach. *Eur J Cardiothorac Surg*, 1999, 16:107-111.
- [4] 王正国. 创伤基础研究进展. 中华创伤杂志, 2005, 21:6-10.
- [5] 王赞鑫, 邵杰, 李培军, 等. 促炎因子与抗炎因子在冠脉搭桥术围术期的变化. 天津医药, 2008, 36:87-89.
- [6] 黄顺伟, 管向东, 陈娟, 等. 免疫调理治疗改善脓毒症炎症因子、体液和细胞免疫以及预后的作用[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版, 2009, 3:34-38.
- [7] 黄东生, 丁悦, 叶伟, 等. 促炎因子与抗炎因子在突出腰椎间盘突出组织中的表达及其意义. 中华实验外科杂志, 2006, 23:86-87.
- [8] Schmidt-Weber CB, Alexander SI, Henault LE, et al. IL-4 enhances IL-10 gene expression in murine Th2 cells in the absence of TCR engagement. *J Immunol*, 1999, 162:238-244.
- [9] 匡新建, 马克嫫, 段体武. 严重烧伤患者早期几种细胞因子的变化意义. 中华烧伤杂志, 2002, 18:302-304.
- [10] 李济福, 屈跃军. 乌司他丁对重度烧伤患者血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平的影响. 山东医药, 2010, 50:87-88.
- [11] Reyes R Jr, Wu Y, Lai Q, et al. Early inflammatory response in rat brain after peripheral thermal injury. *Neurosci Lett*, 2006, 407:11-15.

(收稿日期:2011-01-30)

(本文编辑:戚红丹)

王坤, 张玉玲, 王德昌, 等. 烧伤对局部引流淋巴液致炎因子与抗炎因子影响的实验研究[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版, 2011, 5(7): 2102-2103.