

[文章编号] 1000-4718(2006)09-1837-02

· 短篇论著 ·

# 巴马小型猪脑死亡状态下血清炎症介质的改变 及在肝脏损伤中的作用\*

李捷, 张水军<sup>△</sup>, 史冀华, 宋燕, 翟文龙, 李震  
(郑州大学第一附属医院外科, 河南 郑州 450052)

**[摘要]** 目的: 探讨巴马小型猪在脑死亡状态下血清炎症介质的变化及对肝脏损伤的作用。方法: 巴马小型猪 10 只, 随机分脑死亡组与对照组, 每组 5 只。用颅内加压法建立脑死亡模型, 对照组仅开颅麻醉维持, 分别于 3、6、12、18 和 24h 取血清测丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)及 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平。结果: (1)炎症介质变化: 脑死亡组动物血清 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平自脑死亡后 3h 开始升高, 并随着时间的延长而继续升高; 脑死亡后 3、6、12、18 和 24 h 脑死亡组明显高于对照组( $P < 0.05$ )。 (2) 肝脏酶学变化: 血清 ALT、AST 水平自脑死亡后 12 h 开始升高, 并随着时间的延长而继续升高; 脑死亡后 12、18 和 24 h 脑死亡组明显高于对照组( $P < 0.05$ )。结论: 巴马小型猪脑死亡状态下血清炎症介质升高, 并随着时间的延长而继续升高。脑死亡状态下肝脏功能的损伤可能与这些炎症介质的水平升高有关。

**[关键词]** 脑死亡; 巴马小型猪; 炎症介导素类; 肝

**[KEY WORDS]** Brain death; Ba-Ma mini pig; Inflammation mediators; Liver

**[中图分类号]** R363 **[文献标识码]** A

脑死亡供体在欧美国家已成为器官移植的主要供体来源<sup>[1]</sup>。随着移植技术的不断发展, 新的有效免疫抑制药物的不断出现, 脑死亡者提供器官与活体亲属或非亲属提供器官进行移植, 在技术与治疗方法上已无差别, 但脑死亡供者器官移植, 无论在近期或远期疗效上, 均较活体亲属或非亲属提供器官者差。对于非亲属活体供者提供器官进行移植, 与脑死亡者比较, 并没有遗传背景上的优势, 为何其效果要优于脑死亡者, 推测脑死亡在其中有着极为重要的影响。本实验拟利用巴马小型猪脑死亡模型, 检测血清炎症介质及肝脏酶学变化, 探讨脑死亡状态下血清炎症介质的变化及对肝脏损伤的作用。

## 材料和 方法

### 1 巴马小型猪脑死亡模型复制及实验分组

**1.1 实验动物分组** 巴马小型猪 10 只, 雌雄不限, 体重(25 $\pm$ 4)kg, 由第三军医大学实验动物中心提供, 河南省实验动物中心饲养。随机分为脑死亡组与对照组, 每组 5 只。

**1.2 巴马小型猪脑死亡模型的复制** 巴马小型猪使用氯胺酮(10 mg/kg)、安定(10 mg)、阿托品(0.03 mg/kg)肌注基础麻醉, 取仰卧位固定。静脉注射硫喷妥钠(10 mg/kg)、潘可罗宁(0.15 mg/kg)、氯胺酮(1-2 mg/kg)维持全身麻醉, 气管内插管维持呼吸, 颈总动、静脉插管记录动脉血压、心率和中心静脉压, 膀胱造瘘记录尿量。

脑死亡组按照 Pratschke 等<sup>[2]</sup>和 Alonso 等<sup>[3]</sup>方法并有改动, 复制脑死亡模型。在巴马小型猪颅骨骨膜上对称置入电极, 记录脑电变化, 沿颅骨正中中线开颅, 在硬脑膜外腔置入 Foley 18F 气囊导管, 2 mL/min 的速度注入生理盐水使颅内压增高复制脑死亡模型。巴马小型猪脑死亡判定标准<sup>[2-4]</sup>: ①

深昏迷; ②瞳孔对光反射和角膜反射消失; ③自主呼吸停止; ④脑电静息; ⑤阿托品试验阴性; ⑥首次判定符合①、②、③、④和⑤后, 观察 12 h 无变化, 方可判定为脑死亡, 脑死亡状态维持 24 h。对照组仅开颅, 静脉注射硫喷妥钠、潘可罗宁、氯胺酮维持全身麻醉 24 h。脑死亡组脑死亡模型建成后即停止麻醉; 对照组停麻醉药后 1 h 内动物全部苏醒。观察期维持血流动力学稳定。

**1.3 样品收集及检测** 脑死亡组在初次判定脑死亡后 3、6、12、18 和 24 h, 对照组在麻醉成功后 3、6、12、18 和 24 h, 分别于上腔静脉内取血 5 mL, 静置 30 min 后于 3 000 r/min 离心 10 min, 全自动生化分析仪(日立 7600 型)检测血清中丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)水平, ELISA 法(试剂盒购自美国 Sigma 公司)测 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平。

### 2 统计学处理

所有数据均采用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 应用 SPSS 10.0 分析软件, 采用重复数据方差分析、单因素方差分析, 进行统计处理。

## 结 果

### 1 炎症介质水平的变化

脑死亡组血清 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平自初次判定脑死亡后 3 h 开始升高, 3、6、12、18 和 24 h 脑死亡组 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平与对照组比较差异显著( $P < 0.05$ ); 脑死亡组初次判定脑死亡 3 h 以后各时点与前一时刻相比差异显著( $P < 0.05$ ), 其值逐渐升高, 第 24 h 最明显; 对照组 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平保持基本稳定, 各时点 IL-1 $\beta$ 、IL-

[收稿日期] 2004-11-15 [修回日期] 2005-01-24

\* [基金项目] 河南省杰出人才创新基金资助(No. 0421002500)

<sup>△</sup>通讯作者 Tel: 0371-6913032; E-mail: zhangshuijun@zzu.edu.cn

6、TNF-α水平统计学无明显差异。见表1。

2 血清酶学水平的改变

脑死亡组血清中 ALT、AST 水平在初次判定脑死亡后 12 h 开始升高,12、18 和 24 h 脑死亡组 ALT、AST 水平与对照

组比差异显著(P<0.05);初次判定脑死亡组 12 h 以后各时点与前一时点相比差异显著(P<0.05),其值逐渐升高,第 24 h 最明显。对照组 ALT、AST 水平保持基本稳定,各时点 ALT、AST 水平统计学无明显差异。见表2。

表 1 不同时间点各组血清 IL-1β、IL-6、TNF-α 含量的变化

Tab 1 Changes of serum IL-1β, IL-6, TNF-α content at each time point after brain death (ng/L.  $\bar{x} \pm s$ . n=5)

Group	3 h	6 h	12 h	18 h	24 h
IL-1β					
Control	5.91 ± 0.17	5.91 ± 0.10	6.06 ± 0.12	6.08 ± 0.12	6.10 ± 0.15
Brain death	8.26 ± 0.21*▲	9.17 ± 0.08*▲	10.30 ± 0.11*▲	12.53 ± 0.35*▲	16.37 ± 0.16*▲
IL-6					
Control	17.35 ± 0.59	18.04 ± 0.23	17.99 ± 0.83	17.77 ± 1.05	17.62 ± 0.67
Brain death	29.50 ± 1.92*▲	37.92 ± 1.69*▲	46.32 ± 1.70*▲	56.62 ± 1.95*▲	66.68 ± 2.11*▲
TNF-α					
Control	14.94 ± 0.36	15.03 ± 0.49	14.71 ± 0.46	14.66 ± 0.31	14.64 ± 0.63
Brain death	19.45 ± 0.16*▲	21.76 ± 0.25*▲	24.31 ± 0.20*▲	27.65 ± 0.27*▲	31.35 ± 0.16*▲

\*P<0.05 vs control group; ▲P<0.05 vs the previous time point.

表 2 不同时间点各组血清 ALT 和 AST 水平的变化

Tab 2 Changes of serum ALT and AST levels at each time point after brain death (U/L.  $\bar{x} \pm s$ . n=5)

Group	3 h	6 h	12 h	18 h	24 h
ALT					
Control	32.80 ± 3.11	31.60 ± 4.16	33.00 ± 6.67	29.00 ± 1.58	36.60 ± 5.59
Brain death	35.80 ± 4.92	32.60 ± 3.05	141.80 ± 9.12*▲	191.40 ± 10.92*▲	238.60 ± 10.41*▲
AST					
Control	27.80 ± 3.03	29.00 ± 5.20	27.40 ± 3.85	29.80 ± 1.64	29.20 ± 3.42
Brain - death	29.40 ± 2.07	29.60 ± 4.09	91.40 ± 8.14*▲	126.60 ± 5.50*▲	184.40 ± 5.37*▲

\*P<0.05 vs control group; ▲P<0.05 vs the previous time point.

讨 论

IL-1 家族主要包括 IL-1α、IL-1β、IL-1γ 3 种。IL-1β 主要由活化的单核/巨噬细胞产生,具有广泛的生物学效应,在炎症损伤中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。IL-6 由单核/巨噬细胞、血管内皮细胞、成纤维细胞、角质细胞及 T 细胞产生,是机体免疫-神经-内分泌网络调节的主要分子。TNF-α 的细胞来源广泛,而肝脏的枯否氏细胞(Kupffer cell, KC)作为体内最大的固定巨噬细胞池是其来源, TNF-α 可通过诱导自由基产生及脂质过氧化、活化中性粒细胞及单核巨噬细胞等机制介导炎症损伤。在炎症反应过程中,IL-1β、IL-6、TNF-α 又可相互诱导、协调及负反馈调节。

本研究显示,脑死亡后 3 h 动物血清中 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平开始升高,且随着时间的延长而继续升高,脑死亡后 3、6、12、18 和 24 h 脑死亡组明显高于对照组,表明脑死亡状态伴随有炎症介质的大量释放。这与 Amado 等<sup>[6]</sup>在机体脑死亡状态与体内炎症介质之间关系的实验研究中发现的脑死亡状态时 IL-6 水平显著升高的结果相一致。

在本实验中观察到,脑死亡动物血清 ALT、AST 水平在初次判定脑死亡后 12 h 显著升高,且随着时间的延长而逐渐升高。有关脑死亡后肝功能损伤机制目前仍不明确,有研究表明血流动力学、内分泌系统和免疫学方面的改变是影响供体器官功能最主要的 3 个方面<sup>[7]</sup>。本实验表明,在维持血流动力学稳定的状态下,脑死亡动物血清 ALT、AST 水平显著升高,与 IL-1β、IL-6、TNF-α 升高趋势相同,提示这些炎症介质可能是造成肝脏功能障碍的重要因素。而脑死亡引起

肝脏损伤的具体机制,有待进一步研究。

[参 考 文 献]

[1] Busson M, N' Doye P, Benoit G, et al. Donor factors influencing organ transplant prognosis[J]. Transplant Proc, 1995, 27(12): 1662-1664.

[2] Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, et al. A model of gradual onset brain death for transplant-associated studies in rats[J]. Transplantation, 2000, 69(3): 427-430.

[3] Alonso EM, Piper JB, Echols G, et al. Allograft rejection in pediatric recipients of living related liver transplants [J]. Hepatology, 1996, 23(1): 40-43.

[4] 徐弘道. 脑死亡判定标准(成人). 脑死亡判定技术规范(征求意见稿)[J]. 中华医学杂志, 2003, 83(3): 262-263.

[5] 高 玲,康劲松,候中赤,等. 神经钙调蛋白介导 IL-1β 诱导的 NF-κB p65 的表达及神经毒性[J]. 中国病理生理杂志, 2005, 21(4): 625-629.

[6] Amado JA, Lopez-Espadas F, Vazquez-Barquero A, et al. Blood levels of cytokines in brain-dead patients; relationship with circulating hormones and acute-phase reactants[J]. Metabolism, 1995, 44(6): 812-816.

[7] Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, et al. Brain death and its influence on donor organ quality and outcome after transplantation[J]. Transplantation, 1999, 67(3): 343-348.