



assay. **Results** There was no significant difference in arterial oxygenation index among the three groups at  $T_0$  ( $P > 0.05$ ). The arterial oxygenation index of the hypoxic group and TEB group at  $T_1$  was lower than that of  $T_0$  ( $P < 0.05$ ). The arterial oxygenation index in the hypoxia group and TEB group at  $T_1$  was lower than that in the control group ( $P < 0.05$ ). The arterial oxygenation index in the TEB group at  $T_1$  was higher than that in the hypoxic group ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the level of serum TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-10 among the three groups at  $T_0$  ( $P > 0.05$ ), but the levels of serum TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-10 at  $T_1$  in the three groups were higher than those at  $T_0$  ( $P < 0.05$ ). The levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-10 in serum and BALF of the hypoxia group and the TEB group at  $T_1$  were higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). The levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-10 in serum and BALF at  $T_1$  in the hypoxic group were lower than those in the hypoxic group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** TEB can reduce the release of inflammatory cytokines and correct the imbalance between inflammatory reaction and anti-inflammatory reaction in rats with acute hypoxic lung injury.

**Key words:** thoracic epidural block; hypoxic lung injury; bronchoalveolar lavage fluid; inflammatory cytokines

开胸手术后肺损伤一般指各种胸部外科手术后以非心源性肺水肿和持续低氧血症为症状的临床综合征。胸段硬膜外阻滞(thoracic epidural block, TEB)可有效阻滞相应阶段的交感神经,降低交感神经张力,扩张相应阶段的小动脉,从而改善阻滞区域的血流和微循环,降低胸部外科手术后患者心肺并发症发生率及病死率<sup>[1]</sup>。但是,TEB对缺氧性肺损伤炎症因子的影响目前研究较少。本研究拟建立大鼠急性缺氧性肺损伤模型,观察TEB对急性缺氧性肺损伤大鼠血清和支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)等炎症因子水平的影响,进一步探究TEB的作用机制,为其临床应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 选取45只健康雄性清洁级Wistar大鼠(北京维通利华实验动物技术有限公司),鼠龄80~100 d,体质量( $350 \pm 20$ ) g;在统一标准饲料和清洁级恒温( $25^\circ\text{C}$ )环境下饲养1周,自由饮水,实验前12 h禁食。整个实验过程均严格按照动物伦理学要求处置实验动物。

**1.2 主要试剂与仪器** 含体积分数14%氧的氮氧混合压缩空气、含体积分数21%氧的氮氧混合压缩空气(新乡市北普特种气体有限公司),大鼠TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10检测试剂盒(上海越研生物科技有限公司);RGZ-120型体质量计(河南曙光健士医疗器械集团股份有限公司),多功能生物信息采集系统、ALC-V8小动物呼吸机(上海奥尔科特生物科技有限公司),多功能台式高速冷冻离心机、全波长扫描酶标仪(美国Thermo Scientific公司), $37^\circ\text{C}$ 恒温培养箱(德国Heraeus公司),化学发光荧光成像系统(美国GE公司)。

**1.3 动物分组及实验方法** 将45只大鼠随机分为

对照组、缺氧组和TEB组,每组15只。各组大鼠腹腔注射 $100\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 水合氯醛( $300\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )进行麻醉,行胸段硬膜外腔置管并留管,TEB组大鼠经胸段硬膜外腔给予 $5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 罗哌卡因 $0.125\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ <sup>[2]</sup>,通过皮温变化( $0.5 \sim 1.0^\circ\text{C}$ )间接判断TEB是否成功<sup>[3]</sup>;对照组与缺氧组大鼠经胸段硬膜外腔给予等量的生理盐水。TEB模型制备成功10 min后,各组大鼠行颈动脉置管术并气管插管,连接小动物呼吸机行机械通气,缺氧组与TEB组大鼠吸入含体积分数14%氧的氮氧混合气体,连续监测大鼠的生命体征及通气参数,并每隔5 min( $T_{5\text{ min}}$ 、 $T_{10\text{ min}}$ 、 $T_{15\text{ min}}$ )抽取颈动脉血 $0.3 \sim 0.5\text{ mL}$ ,测动脉血气,直至动脉血氧合指数 $<300$ 为急性缺氧性肺损伤模型建立成功;对照组大鼠持续吸入含体积分数21%氧的氮氧混合气体。建立急性缺氧性肺损伤模型期间,TEB组大鼠每2 h追加 $5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 罗哌卡因 $0.125\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,对照组与缺氧组大鼠追加相同剂量生理盐水,共追加2次。于气管插管前( $T_0$ )、急性缺氧性肺损伤模型建立成功后4 h( $T_1$ )进行各组大鼠动脉血气分析。

### 1.4 各组大鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-10水平检测

于气管插管前( $T_0$ )、急性缺氧性肺损伤模型建立成功后4 h( $T_1$ )时,经右侧颈总动脉采血 $0.5\text{ mL}$ , $4^\circ\text{C}$   $5\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min,取上层血清, $-20^\circ\text{C}$ 冰箱过夜后置于 $-70^\circ\text{C}$ 冰箱内保存待测。采用酶联免疫吸附试验检测各组大鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10水平,严格按照试剂盒说明书进行操作。

### 1.5 各组大鼠BALF中TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10水平检测

急性缺氧性肺损伤模型建立成功后4 h( $T_1$ ),取血后处死大鼠。大鼠处死后沿腹正中线向上做切口至胸腔,在右主支气管上端剪下大鼠右肺,将16G套管针缓缓插入右主支气管后用丝线固定,接5 mL注射器,吸取 $4^\circ\text{C}$ 无菌生理盐水2 mL,缓慢注入肺内,停留10 s后缓慢回抽,然后再缓慢注入肺内,连续操作3次,将回抽液置于10 mL灭菌离心

管内;重复上述灌洗操作 3 次,共收集 4~5 mL 灌洗液。将灌洗液经单层纱布过滤后 4 ℃ 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上清液。经-20 ℃ 冰箱过夜后置于-70 ℃ 冰箱内保存。采用酶联免疫吸附试验检测大鼠 BALF 中 TNF-α、IL-6 和 IL-10 水平<sup>[4-5]</sup>,严格按照试剂盒说明书进行操作。

**1.6 统计学处理** 应用 SPSS 21.0 统计软件进行数据处理,计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

**2.1 3 组大鼠造模情况** 实验过程中因液体负荷过大死亡 4 只大鼠,其中对照组 2 只,缺氧组 1 只,TEB 组 1 只;反复插管死亡 3 只,每组 1 只;TEB 过程中死亡 3 只,每组 1 只;采血过程中死亡 3 只,每

表 1 3 组大鼠不同时间点动脉血氧合指数比较

Tab.1 Comparison of arterial oxygenation index of rats among the three groups at different time points ( $\bar{x} \pm s$ )						
组别	<i>n</i>	动脉血氧合指数				
		T <sub>0</sub>	T <sub>5 min</sub>	T <sub>10 min</sub>	T <sub>15 min</sub>	T <sub>1</sub>
对照组	10	552.9±82.9	529.1±89.1	500.5±69.6	486.2±50.9	463.8±41.9
缺氧组	10	550.5±77.6	468.6±55.7	358.6±45.7	254.3±31.4	219.3±28.6 <sup>ab</sup>
TEB 组	10	547.1±75.7	500.7±49.3	386.4±42.1	286.4±27.9	251.4±15.0 <sup>abc</sup>

注:与 T<sub>0</sub> 比较<sup>a</sup>*P*<0.05;与对照组比较<sup>b</sup>*P*<0.05;与缺氧组比较<sup>c</sup>*P*<0.05。

**2.2 3 组大鼠血清 TNF-α、IL-6、IL-10 水平比较** 结果见表 2。对照组、缺氧组、TEB 组大鼠 T<sub>0</sub> 时血清 TNF-α、IL-6、IL-10 水平比较差异无统计学意义(*P*>0.05),T<sub>1</sub> 时血清 TNF-α、IL-6、IL-10 水平高于 T<sub>0</sub> 时,差异有统计学意义(*P*<0.05)。缺氧组和 TEB 组大鼠 T<sub>1</sub> 时血清 TNF-α、IL-6 和 IL-10 水平高于与对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。TEB 组大鼠 T<sub>1</sub> 时血清 TNF-α、IL-6 和 IL-10 水平低于缺氧组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。

表 2 3 组大鼠不同时间点血清 TNF-α、IL-6、IL-10 水平比较  
Tab.2 Comparison of serum TNF-α, IL-6 and IL-10 levels of rats among the three groups at different time points ( $\bar{x} \pm s$ )

				$(\bar{x} \pm s)$
组别	$n$	TNF- $\alpha$ /(ng · L <sup>-1</sup> )	IL-6/(ng · L <sup>-1</sup> )	IL-10/(ng · L <sup>-1</sup> )
对照组	10			
	T <sub>0</sub>	58.67 ± 3.32	50.97 ± 2.50	23.39 ± 1.61
	T <sub>1</sub>	68.37 ± 4.13 <sup>a</sup>	61.60 ± 2.67 <sup>a</sup>	35.44 ± 1.94 <sup>a</sup>
缺氧组	10			
	T <sub>0</sub>	58.62 ± 3.40	51.29 ± 2.93	27.66 ± 1.77
	T <sub>1</sub>	147.78 ± 4.94 <sup>ab</sup>	137.72 ± 3.95 <sup>ab</sup>	73.01 ± 1.86 <sup>ab</sup>
TEB 组	10			
	T <sub>0</sub>	58.81 ± 3.60	51.13 ± 3.22	27.49 ± 1.78
	T <sub>1</sub>	114.76 ± 4.18 <sup>abc</sup>	107.62 ± 2.58 <sup>abc</sup>	53.94 ± 1.78 <sup>abc</sup>

注:与 T<sub>0</sub> 时比较<sup>a</sup>*P*<0.05;与对照组比较<sup>b</sup>*P*<0.05;与缺氧组比较<sup>c</sup>*P*<0.05。

组 1 只;缺氧组大鼠因麻醉死亡 1 只;TEB 组大鼠胸段硬膜外腔注药死亡 1 只。最终每组 10 只大鼠纳入研究。

**2.2 3 组大鼠急性缺氧性肺损伤造模前后动脉血氧合指数比较** 结果见表 1。对照组、缺氧组、TEB 组大鼠 T<sub>0</sub> 时动脉血氧合指数比较差异无统计学意义(*P*>0.05)。随着时间的延长,缺氧组和 TEB 组大鼠 T<sub>0</sub>、T<sub>5 min</sub>、T<sub>10 min</sub>、T<sub>15 min</sub>、T<sub>1</sub> 时动脉血氧合指数逐渐降低,缺氧组和 TEB 组大鼠 T<sub>1</sub> 时动脉血氧合指数低于 T<sub>0</sub> 时,差异有统计学意义(*P*<0.05)。缺氧组和 TEB 组大鼠 T<sub>1</sub> 时动脉血氧合指数低于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。TEB 组大鼠 T<sub>1</sub> 时动脉血氧合指数高于缺氧组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。

**2.4 3 组大鼠 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-10 水平比较** 结果见表 3。缺氧组和 TEB 组大鼠 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-10 水平高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。TEB 组大鼠 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-10 水平低于缺氧组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。

表 3 3 组大鼠 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-10 水平比较  
Tab.3 Comparison of TNF-α, IL-6 and IL-10 levels in BALF of rats among the three groups at different time points ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	TNF-α/(ng·L <sup>-1</sup> )	IL-6/(ng·L <sup>-1</sup> )	IL-10/(ng·L <sup>-1</sup> )
对照组	10	55.71±4.05	38.64±4.15	22.82±1.38
缺氧组	10	139.67±3.78 <sup>a</sup>	141.62±3.06 <sup>a</sup>	64.69±2.67 <sup>a</sup>
TEB 组	10	109.18±4.40 <sup>ab</sup>	98.50±1.84 <sup>ab</sup>	48.55±2.81 <sup>ab</sup>

注:与对照组比较<sup>a</sup>*P*<0.05;与缺氧组比较<sup>b</sup>*P*<0.05。

3 讨论

单肺通气是一种非生理性通气模式,在开胸手术过程当中可通过多种病理生理过程诱发局部甚至全身的应激反应。开胸手术过程中因单肺通气引起低氧血症的发生率高达 9%~27%,相关动物实验也表明,单肺通气超过 30 min 氧合指数会低于 300<sup>[6]</sup>,这主要是因为单肺通气会造成通气/血流比例失衡,肺内分流量增加,造成机体氧合降低,因此,单肺通气比双肺通气更容易造成术后急性肺损伤。

近年来,随着胸外科大手术的日益增多和对肺保护策略研究的深入,缺氧性肺损伤越来越受到重视。除单肺通气造成机体缺氧外,严重感染、多发性创伤、休克和中毒等因素也常常引起急性肺损伤(acute lung injury, ALI),甚至导致急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory dis-tress syndrome, ARDS),进而发展为多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),如果救治不及时往往导致死亡。ALI 顽固性低氧血症的主要原因是因为在多种炎性递质及效应细胞共同参与下造成肺泡上皮和血管内皮被广泛破坏,导致弥漫性肺实质损伤,肺泡及肺间质水肿,通气/血流比例严重失调<sup>[7]</sup>。在 ALI/ARDS 炎症反应发生、发展过程中,IL-6 和 TNF- $\alpha$  是最主要的促炎性细胞因子,而 IL-10 是最主要的抗炎性细胞因子,当促炎性细胞因子和抗炎性细胞因子失去平衡,会促使 ALI 向 ARDS 发展,甚至进展为 MODS,直至死亡<sup>[8]</sup>。目前对 ALI/ARDS 尚缺乏有效的治疗方法,病死率仍居高不下。因此,如何有效抑制手术或麻醉刺激引起的炎性因子释放,减弱或中断呈级联放大的瀑布样炎症反应,控制 ALI 的进一步发展,减少 ARDS 的发生,进而降低患者的病死率,改善预后,减少术后康复所需时间,已经成为临床工作中迫切需要解决的问题。

通过 TEB 神经阻滞的麻醉方法,可降低麻醉药物的浓度,能够使其主要阻滞交感神经,而对感觉和运动神经影响较小<sup>[9]</sup>。TEB 阻滞范围为 T<sub>1</sub> ~ T<sub>5</sub>,阻滞了交感神经通路,减少了去甲肾上腺素的释放,使血浆去甲肾上腺素水平减低,交感神经张力降低,血管平滑肌舒张,可减轻缺氧引起的肺血管收缩,增加肺组织的血流供应,与此同时还能扩张支气管,改善通气/血流比例和氧合状态,缓解机体缺氧,改善机体呼吸功能<sup>[10]</sup>。本研究结果显示,TEB 组大鼠 T<sub>1</sub> 时动脉血氧合指数高于缺氧组,差异有统计学意义。推测 TEB 可减轻缺氧所致肺血管和支气管收缩,改善机体的呼吸功能。

TEB 能够有效阻断胸段交感神经,抑制肾素-血管紧张素系统,使血管紧张素 II 水平下降,减少对机体神经-免疫-内分泌系统的刺激<sup>[11]</sup>。本研究结果显示,对照组大鼠 T<sub>1</sub> 时血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-10 水平高于 T<sub>0</sub> 时,说明即使机体不缺氧,麻醉、手术、机械通气也会成为一种伤害性刺激引发机体产生炎症反应<sup>[12]</sup>;缺氧组大鼠 T<sub>1</sub> 时血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 水平高于对照组,说明缺氧刺激引发了全身炎症反应;本研究结果显示,TEB 组大鼠 T<sub>1</sub> 时血清和 BALF 中

TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 水平高于对照组,但低于缺氧组,说明 TEB 具有较强的抗炎作用<sup>[13]</sup>,TEB 在减轻全身与肺组织炎症反应的同时,还能纠正促炎症反应和抗炎反应失衡,减轻全身炎症反应,对机体具有一定的保护作用。

综上所述,TEB 可减少急性缺氧性肺损伤大鼠炎性细胞因子的释放,纠正炎症反应和抗炎反应失衡,对机体有一定的保护作用。

## 参考文献:

- [1] 巩红岩,王庆志,岳修勤,等.超声引导连续胸椎旁神经阻滞复合右美托咪定麻醉对食管癌手术患者围术期应激反应的影响[J].新乡医学院学报,2016,33(4):291-296.
- [2] 陈宇清,荣令,周新.三七总皂苷对急性肺损伤大鼠血清和支气管肺泡灌洗液肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白介素6和白介素10水平的影响[J].实用心脑血管病杂志,2013,21(2):89-92.
- [3] 仓静,王丽珏,薛张纲.胸段硬膜外阻滞复合七氟醚麻醉对兔缺氧性肺损伤时炎症因子的影响[J].复旦学报(医学版),2009,36(2):182-185.
- [4] 刘武胜,李如梅,宋志峰,等.重症肺炎患者肺泡灌洗液的炎症因子动态变化特点及临床意义[J].临床肺科杂志,2016,21(5):831-834.
- [5] 王莹,黄英,李渠北,等.支气管肺泡灌洗术在儿童迁延性肺炎诊治中的作用[J].临床儿科杂志,2011,29(2):118-121.
- [6] 孙雪东,董金芳,陆地,等.支气管肺泡灌洗液中的炎症因子在呼吸机相关性肺炎患者中的动态变化[J].中华医院感染学杂志,2010,20(15):189-2191.
- [7] 李抒菡.支气管肺泡灌洗治疗支气管哮喘的疗效及灌洗液中炎症因子水平的检测[J].中外医疗,2015,23(5):8-9.
- [8] CASTEDO E,SEGOVIA J,ESCUERO C,et al. Ischemia-reperfusion injury during experimental heart transplantation. Evaluation of trimetazidine's cytoprotective effect[J]. Rev Esp Cardiol,2005,58(8):941-950.
- [9] 蓝岚,古妙宁,叶靖,等.长时间单肺通气对兔两侧肺灌洗液中 TNF- $\alpha$ 、IL-8 的影响[J].实用医学杂志,2012,28(4):561-563.
- [10] DONG Y,UNDYAL V V,GOTTLIEB R A,et al. Autophagy: definition, molecular machinery, and potential role in myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. Cardiovasc Pharmacol Ther, 2010,15(3):220-230.
- [11] HARIHARAN N,ZHAI P,SADOSHIMA J,et al. Oxidative stress stimulates autophagic flux during ischemia/reperfusion [J]. Antioxid Redox Signal,2011,14(11):2179-2190.
- [12] PRZYKLENK K,DONG Y,UANDYAL V,et al. Autophagy as a therapeutic target for ischaemia /reperfusion injury? Concepts, controversies, and challenges[J]. Cardiovasc Res,2012,94(2):197-205.
- [13] RATLIFF B B,RABADI M M,VASKO R,et al. Messengers without borders: mediators of systemic inflammatory response in AKI[J]. JASN,2013,24(4):529-536.

(本文编辑:杨博 英文编辑:杨博)