

不同目标血糖脓毒症大鼠肝、肺损伤的病理分析*

何永来¹, 齐妍^{2△}, 张景玉³, 朱建波², 单琦⁴, 蒋金芳², 梁伟华², 李洪安², 程青虹^{1▲}

(1. 石河子大学医学院第一附属医院 ICU, 新疆石河子 832000; 2. 石河子大学医学院病理系/第一附属医院病理科, 新疆石河子 832002; 3. 石河子大学医学院预防医学系, 新疆石河子 832000; 4. 河南科技大学第一附属医院新区 ICU, 河南洛阳 471000)

摘要:目的 利用盲肠结扎穿孔孔伴严重腹腔感染造成的脓毒症模型, 探讨胰岛素不同目标血糖对脓毒症肝、肺组织形态的影响。方法 选取 40 只 SD 大鼠随机分为 5 组, 通过盲肠结扎穿孔术 (CLP) 法制备大鼠脓毒症模型, 按分组进行不同处理: 假手术组 (Sham 组), CLP 组, 目标血糖控制 A 组、B 组和 C 组, 每组 8 只。CLP 术后 12 h 处死, 通过组织形态观察, 对肝、肺损伤不同病理积分进行评估。结果 肝、肺组织病理总评分在 CLP 及血糖处理后明显高于 Sham 组 ($P < 0.05$)。在单项肝、肺的观察指标中, A 组与 Sham 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 3 组血糖组肝、肺损伤程度随着血糖水平升高病变渐进加重, 两两比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。肺损伤主要表现为肺泡壁毛细血管充血、肺小叶及间质水肿、支气管炎, CLP 组与血糖控制 A、B、C 3 组比较, 与 A、B 组差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 与 C 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。肝损伤主要为肝细胞水样变性、脂肪变性, CLP 组与血糖控制 A、B、C 3 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), CLP 组出现了明显碎片状坏死。结论 脓毒症大鼠的肝、肺损伤程度随着血糖水平升高逐渐加重, 控制血糖可使脓毒症模型鼠的肝、肺的损伤减低。

关键词: 脓毒症; 强化血糖控制; 肝损伤; 肺损伤

中图分类号: R631.2

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)33-4428-04

Study on the impact of different levels intensive glycemic control on the morphology of liver and lung in rats with sepsis*

He Yonglai¹, Qi Yan^{2△}, Zhang Jingyu³, Zhu Jianbo², Chan Qi⁴,
Jiang Jinfang², Liang Weihua², Li Hongan², Cheng Qinghong^{1▲}

(1. ICU, the First Affiliated Hospital of Medicine School of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China; 2. Department of Pathology, Medicine School of Shihezi University/the First Affiliated Hospital of Medicine School of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China; 3. Department of Preventive Medicine, Medicine School of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China; 4. ICU, the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471000, China)

Abstract: Objective To investigate the changes and significance of different target blood glucose on septic liver and lung damage and its morphology. The purpose of this study was to evaluate the pathological injury of liver and lung induced by higher blood glucose. **Methods** Forty SD rats randomly divided into sham operation group, sepsis group, group A (glucose was controlled at 4.4 to 6.1 mmol/L), group B (glucose was controlled at 6.1 to 8.3 mmol/L) and group C (glucose was controlled at 8.3 to 10.0 mmol/L), with 8 rats in each group. The liver and lung tissue were obtained 12 hours after cecal ligation and puncture. Then evaluate and analyze the morphology change in liver and lung injury from different pathological scores, including eight observation marker for liver and seven marker for lung. **Results** The pathological injury of liver and lung was significantly higher than sham treatment group for CLP and group A to C ($P < 0.05$). In observation of individual indicators of the injury of liver and lung, group A had no significant difference with the sham group ($P > 0.05$), but in the three blood glucose groups, liver and lung injury progressive disease with the level of blood glucose elevating and the difference was significant ($P < 0.05$). The main pathological features of lung injury were alveolar wall capillary congestion, pulmonary lobules and interstitial edema, bronchitis, and CLP group had significant differences with group A and B ($P < 0.05$), and had no significant differences with group C ($P > 0.05$). For liver injury the main pathological features were hydropic and fatty degeneration, and CLP group had significant differences with group A, B and C ($P < 0.05$). While CLP group showed a significant piecemeal necrosis for liver injury. **Conclusion** The injury of liver and lung injury in septic rats were gradually increased with elevated blood glucose levels; blood glucose controlled within the normal range of liver rat model of sepsis could reduce the liver and lung injury.

Key words: sepsis; intensive glycemic control; liver damage; lung damage

脓毒症是外科临床常见的一种危重症,除了可以引起剧烈的全身炎症反应外,还常导致肝、肺、肾、肠道和脑等多个器官的功能损伤,其中肺损伤发生早、病情重,常是患者死亡的直接

原因,但是肝、肺损伤的发生机制目前尚不完全清楚^[1-2]。脓毒症患者应激状态下,胰高血糖素、糖皮质激素等反向调节激素常分泌增加,而胰岛素则分泌正常或减少,使机体分解代谢和

糖异生作用增强而糖原合成作用减弱,造成血糖水平升高及自由脂肪酸、酮体和乳酸产生增多,导致细胞代谢功能的失调和炎症因子级联反应的启动^[3],导致大量炎症因子如肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、IL-1、IL-6^[4]等释放入血,加之激活的粒细胞和单核巨噬细胞释放大量的超氧化物,从而直接引起不同器官炎症损伤。同时,大量炎症因子的释放可选择性地激活转录因子、生长因子和次级调节因子,从而间接引起机体多种调节功能紊乱,进一步造成肝、肺等重要器官的损伤^[5]。因此,加强对脓毒症状态下肝肺功能障碍的防治及血糖的维护具有重要的临床意义。本研究以盲肠结扎穿孔术(CLP)造成的脓毒症大鼠为模型及不同血糖控制组模型鼠,从而来评估及分析肝、肺损伤的病理形态改变,现报道如下。

111 材料与方法

1.1 材料 选取 40 只 SPF 级健康雄性成年 SD 大鼠,体质量(300±20)g,由新疆医科大学动物实验中心提供。适应性饲养 1 周,温度(22±3)℃,湿度(50±20)%,每天光照 12 h/黑暗 12 h,提供约 15 g 全营养鼠粮及足量饮水。将 SD 大鼠按随机数字表法分为 5 组:假手术组(Sham 组, $n=8$)、脓毒症组(CLP 组, $n=8$)、血糖控制 A 组(A 组, $n=8$)、血糖控制 B 组(B 组, $n=8$)、血糖控制 C 组(C 组, $n=8$)。各组大鼠术前禁食 12 h,不禁水,用 1%戊巴比妥钠注射液(100 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠后,仰卧位固定,颈部和腹部备皮。各组大鼠取右颈部纵行切口 1.5 cm,无菌条件下分离并暴露右颈外静脉,行右颈外静脉置管术。置入直径约 1.0 mm 的一次性硬膜外麻醉导管,置入深度约 3.0 cm,此时导管前端在上腔静脉内(经解剖证实),远心端一道,近心端两道结扎固定导管。建立由切口至颈背部的皮下隧道,导管由颈背部引出并穿行于弹簧内,弹簧一端固定于颈背部皮肤,另一端固定于饲养笼外的支架上。导管外端接三通管,用 25 U/mL 肝素液 0.2 mL 保留冲洗导管,封管备用。并通过微量注射泵静脉给药。

1.2 方法

1.2.1 脓毒症大鼠模型的制备 采用改良的 CLP 法制备大鼠脓毒症模型(模型成功标准:可达到动物 SIRS 参照标准^[6],且经病理学观察可见脓毒性肝、肺损伤)。CLP 模型鼠制备具体方法:中、下腹正中切口 2.0 cm,在盲肠根部用无菌 4 号线结扎,注意避开血管,自制穿孔针在距盲肠末端 1.0 cm 处戳孔,直径 0.5 cm,挤出约黄豆粒大小粪便,然后把盲肠推回腹腔,结扎离断双侧网膜,关闭腹腔,逐层缝合。术后立即皮下注射 50 mL/kg 乳酸钠林格液,补充手术过程中的体液丢失。所有大鼠实验期间禁食经静脉给予营养支持,每日摄入总热量均控制在 70 kcal/只左右,此为正常成年大鼠每日正常生理需

要量。

1.2.2 各组处理方案及胰岛素的配制 Sham 组:仅做开腹处理,静脉泵注与其他各组等容量的生理盐水;CLP 组:行 CLP,静脉泵注与各血糖控制组等容量的生理盐水;各血糖控制组(A、B、C 组):行 CLP,静脉泵注胰岛素生理盐水溶液,其中 A 组目标血糖控制在 4.4~6.1 mmol/L, B 组目标血糖控制在 6.1~8.3 mmol/L, C 组目标血糖控制在 8.3~10.0 mmol/L。胰岛素用法为 15 U 胰岛素加入生理盐水 20 mL 内以微量泵泵入,运用快速血糖仪检测大鼠尾静脉血糖水平,及时调整胰岛素用量,间隔为 1 h。各组间进液体量的差异用生理盐水补齐。实验所用的胰岛素为速效胰岛素注射液。

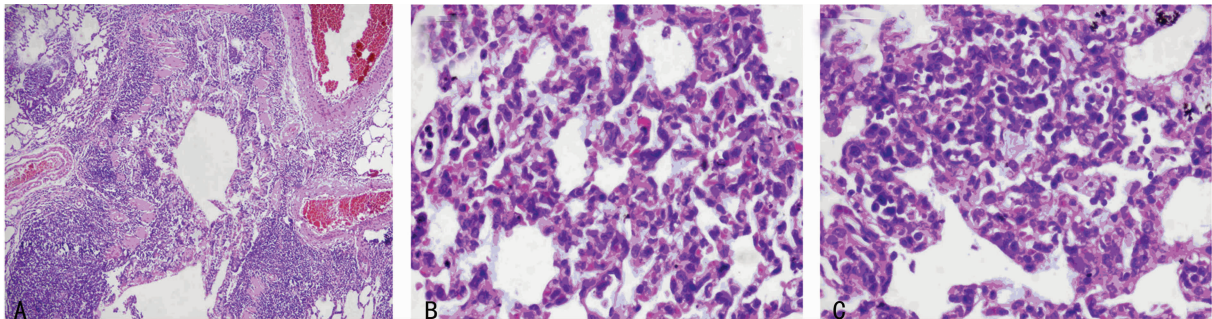
1.2.3 肝、肺组织光镜标本的制备及组织病理评分 模型制备成功后,各组术后 12 h 后取肝、肺组织,立即放入 10%中性福尔马林固定,6~12 h 后进行石蜡组织包埋,制备 4 μ m 切片,苏木素-伊红(HE)染色,用中性树胶封片。光镜下观察病理组织学变化,并参考 Aslami 等^[7]和 Hou 等^[8]的方法计算肝、肺组织损伤病理评分参考:肺损伤病理评分共 7 项指标,(1)肺泡壁毛细血管扩张、充血;(2)肺泡腔内水肿液;(3)肺间质水肿;(4)炎性细胞浸润支气管;(5)肺泡壁增厚变宽(炎性细胞浸润或者纤维化);(6)肺间质出血;(7)肺泡腔内见红细胞,每项指标评分为无病变计 0 分,<25%计 1 分,25%~<50%计 2 分,50%~75%计 3 分,>75%计 4 分,再计算 5 个 400 倍视野评分的平均值。肝损伤病理评估通过 8 项指标,(1)肝细胞水肿;(2)脂肪变性;(3)碎片状坏死;(4)弥漫坏死或者桥接坏死;(5)肝窦扩张;(6)肝窦水肿;(7)汇管区纤维化;(8)汇管区淋巴细胞浸润(超过 50 个细胞)。每项指标评分:无病变计 0 分,<25%计 1 分,25%~<50%计 2 分,50%~75%计 3 分,>75%计 4 分,再计算 5 个 400 倍视野积分的平均值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,整体比较方差齐时采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

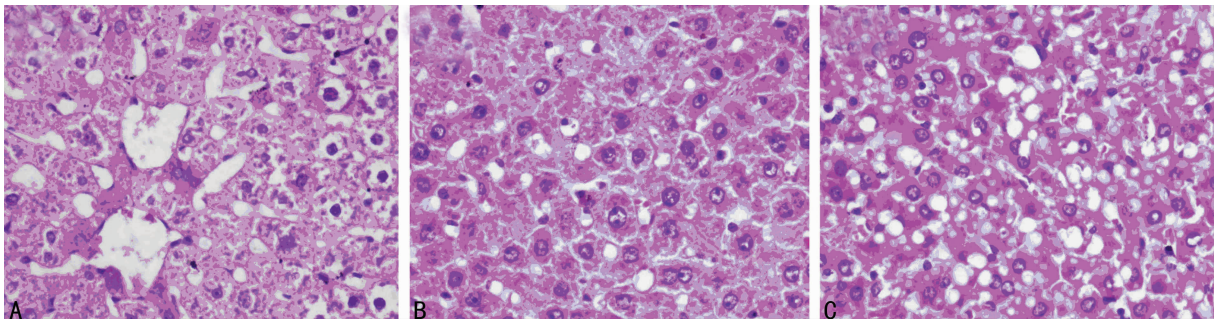
2.1 各组大鼠肝、肺组织病理形态变化

2.1.1 各组肺损伤的病理形态改变 Sham 组肺小叶组织形态无明显异常,CLP 组在肺小叶及支气管壁均出现较重的化脓性炎症改变,部分肺泡腔内及支气管腔内出现脓液,间质大量中性粒细胞浸润,血管高度扩张充血(图 1)。血糖控制组肺损伤的改变随着血糖水平升高损伤逐渐加重:A 组<B 组<C 组,主要表现为肺泡壁毛细血管充血、肺泡壁炎症浸润程度、肺间质水肿均呈逐渐加重趋势。



A:CLP 组;B:血糖控制 B 组;C:血糖控制 C 组。

图 1 血糖控制 B 组和 C 组及 CLP 组的肺损伤病理形态改变



A:CLP 组;B:血糖 B 组;C:血糖控制 C 组。

图 2 血糖控制 B 组和 C 组及 CLP 组的肝损伤病理形态改变

表 1 脓毒症大鼠及各血糖控制组肺损伤病理评分结果(̄x±s,分)

组别	肺泡壁淤血	肺泡腔水肿液	肺间质水肿	支气管炎症	肺泡壁增厚	肺间质出血	肺泡腔红细胞	总评分
Sham 组	0.57±0.54	0	0.57±0.54	0.43±0.54▲	0.14±0.38	0.57±0.54	0	2.43±0.98▲
CLP 组	2.71±0.49*▲	1.86±0.38*▲	2.71±0.49*▲	2.86±0.38*▲	2.86±0.38*▲	2.71±0.49*▲	1.86±0.38*▲	18.43±2.23*▲
A 组	1.00±0.54	0.38±0.74	1.00±0.54	1.63±0.74*	0.63±1.06	1.00±0.54	0.38±0.74	7.25±4.10*
B 组	1.86±0.90*▲	1.57±0.79*▲	1.86±0.90*▲	1.71±0.49*	1.86±1.07*▲	1.86±0.90*▲	1.57±0.79*▲	12.57±2.34*▲
C 组	1.75±0.46*▲	1.75±0.46*▲	1.75±0.46*▲	2.88±0.35*▲	2.38±0.52*▲	1.75±0.46*▲	1.75±0.46*▲	15.88±2.64*▲

*:P<0.05,与 sham 组比较;▲:P<0.05,与 A 组比较。

表 2 脓毒症大鼠及各血糖控制组肝损伤病理评分结果(̄x±s,分)

组别	肝细胞水肿	肝脂肪变性	肝窦扩张	肝窦水肿	汇管区纤维化	汇管区炎症	总评分
Sham 组	0.57±0.54	0.57±0.54	0.14±0.54	0	0	0.43±0.54	1.43±0.79
CLP 组	3.71±0.49*▲	3.71±0.49*▲	3.57±0.54*▲	3.14±0.38*▲	1.86±0.38*▲	2.43±0.54*▲	17.43±2.07*▲
A 组	0.75±0.46	0.75±0.46	0.63±0.74	0	0	0.50±0.54	2.25±1.67
B 组	2.00±0.58*▲	2.00±0.58*▲	1.86±0.69*▲	1.00±0.58*▲	1.14±0.38*▲	1.43±0.54*▲	9.00±2.71*▲
C 组	3.25±0.46*▲	3.25±0.46*▲	2.63±0.52*▲	1.75±0.46*▲	1.75±0.46*▲	1.75±0.46*▲	13.75±1.83*▲

*:P<0.05,与 Sham 组比较;▲:P<0.05,与 A 组比较。

2.1.1 各组肝损伤的病理形态改变 Sham 组肝小叶组织形态结构无明显异常,CLP 组肝细胞损伤明显比其他组严重,肝细胞弥漫水样变性,部分区碎片状坏死,肝窦高度扩张、充血,汇管区可见炎性细胞浸润明显(图 2)。血糖控制组 3 组随着血糖水平升高,其肝细胞水样变性、脂肪变性、间质炎症及间质充血均逐渐加重,依次为 A 组<B 组<C 组。

2.2 各组大鼠肝、肺组织损伤评价

2.2.1 肺损伤病理评分 根据 Aslami 等^[7]肺损伤病理标准,总评分 CLP 组、血糖控制组与 Sham 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),肺损伤程度呈逐渐加重趋势;CLP 组与血糖控制 A 组和 B 组差异有统计学意义($P<0.05$),与 C 组比较差异无统计学意义($P>0.05$);血糖控制 3 组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。其余各指标组间分析比较,除 A 组与对照组、B 组与 C 组之间差异无统计学意义($P>0.05$)外,其余各组比较差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2.2 肝组织损伤病理评分 根据 Hou 等^[8]肝组织损伤病理评分标准,5 组均没有出现肝细胞弥漫坏死或者桥接坏死,且只在 CLP 组出现了碎片状坏死,具体评分见表 2。CLP 组及血糖控制组与 Sham 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);肝细胞水样变性和脂肪变性这两项指标,除 CLP 组与血糖控制 C 组间差异无统计学意义($P>0.05$)外,其余各组间差异均有统计学意义($P<0.05$);对于汇管区炎症这一指标,

除血糖控制 B 组和 C 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)外,其余各组差异均有统计学意义($P<0.05$)。通过总评分,与 Sham 组比较,血糖控制 A、B、C 组及 CLP 组,肝损伤程度呈逐渐加重趋势。

3 讨论

脓毒症是临床上一种常见但较难治疗的全身炎症反应综合征(MODS),尽管现在医疗技术日渐进步,但其病死率仍然较高。国外流行病学调查结果显示,全球每年新发重度脓毒症患者超过 1 800 万,发病率为 0.3%,且以每年 1.5%的速度递增。美国每年新增病例 70 万例,发病率每年增长 1.5%~8.0%,其中死亡 21 万例,病死率大于 30%^[9-10]。鉴于脓毒症的危害性,2002 年 10 月欧美国家多个组织共同发起并签署“巴塞罗那宣言”,旨在降低脓毒症病死率^[11],但目前脓毒症病死率仍在 25%以上。其本质是大量细胞因子和炎症介质释放导致的宿主自身免疫性损伤,在脓毒症早期肺功能即可发生异常,并与病死率有密切关系,大约有 40%~50%的患者合并肝脏、肺组织和心脏功能不全,其中约 7%出现严重呼吸功能衰竭^[1]。危重患者应激状态下,胰高血糖素、糖皮质激素、儿茶酚胺、生长激素等反向调节激素常分泌增加,而胰岛素则分泌正常或减少,使机体分解代谢和糖异生作用增强而糖原合成作用减弱,使血糖水平升高及自由脂肪酸、酮体和乳酸产生增多,导致细胞代谢功能的失调和炎症因子级联反应的启动,使大量炎

症因子如 $\text{TNF-}\alpha$ 、IL-1、IL-6 等释放入血,加之激活的粒细胞和单核巨噬细胞释放大量的超氧化物,从而直接引起组织细胞的炎症损伤和氧化损伤。另外,大量炎症因子的释放可选择性地激活转录因子、生长因子和次级调节因子,间接引起机体多种调节功能紊乱,其中主要为抑制内皮型一氧化氮合酶和激活野生型一氧化氮合酶,导致体内一氧化氮释放的调节紊乱,引起血管舒缩功能失调,导致肝、肺、肾、心脏等脏器的功能障碍。

脓毒症所致的多器官功能衰竭是重症监护室(ICU)患者常见的死亡原因,其中肺、心脏等功能障碍出现的较早且症状较为明显。因此,支持治疗通常集中肺、肾脏和心脏等。尤其是炎症较重时,肺部损伤更为明显。Song 等^[2]通过脓毒症大鼠模型所致的急性肺炎,研究脓毒症与炎症的相关性,演示了中性粒细胞在肺炎中迁移至受损组织,导致肺小叶结构及肺泡损伤病理形态改变,这种损伤危机到大鼠免疫系统,甚至是会引起死亡,而血液纯化则可能降低脓毒症的病死率。本实验也发现,CLP 组所致的肺组织炎症反应最重,肺泡壁明显增厚,肺间质、肺泡壁、支气管壁,甚至肺泡腔内均可见多量中性粒细胞浸润,部分支气管腔内可见脓液。

临床 ICU 患者出现肝功能障碍或者肝衰竭相对较晚或少见。然而,Bulger 等^[13]研究发现,在 113 例脓毒性休克患者中,肝功能的异常主要表现为黄疸,其发生率为 23%。临床上,在感染性休克患者中,肝功能明显异常者少见;个别出现肝小叶坏死的患者可表现出短暂的(5~25 d)、血清酶升高(正常上限 10~300 倍)。此种临床现象曾被称为“休克肝”。本研究 CLP 组的肝损伤以变质性炎为主,较对照组肝细胞弥漫水样变性,部分区碎片状坏死,肝窦高度扩张、充血,汇管区可见炎细胞浸润明显。

临床观察发现,危重患者不仅常出现血糖水平升高,而且还常伴发血脂代谢障碍,主要表现在血三酰甘油的升高和高密度脂蛋白及低密度脂蛋白的降低。而研究显示,强化胰岛素治疗可以显著改善血脂代谢异常,使危重患者的血三酰甘油降低、高密度脂蛋白及低密度脂蛋白升高,从而有利于血清脂质的转运和内毒素的清除、改善患者预后。血糖水平升高后可作用于内皮细胞,使其释放组织纤溶酶原激活物抑制剂-1 和激活 von Willebrand 因子,从而引起血浆纤维蛋白溶解减少和血小板高度激活,加之内皮细胞释放内皮素和血栓素 B_2 等内源性物质引起微循环血管强烈收缩,使组织细胞缺血坏死,引起弥散性血管内凝血(DIC),最终导致 MODS 的发生^[5]。应激性高血糖除了致炎作用外,还存在免疫抑制作用,主要表现在以下 3 个方面:(1)高血糖可以导致白细胞的黏附、趋化、吞噬、细菌杀伤和呼吸爆发等功能受损;(2)高血糖可以导致外周血 B 淋巴细胞和 T 细胞的凋亡增加,使其数量明显减少;(3)高血糖可以导致免疫球蛋白糖基化,使其免疫功能下降。另外,由于危重患者往往存在免疫功能失调,所以极易发生严重感染^[5]。本研究结果显示,随着血糖水平升高,肝、肺组织损伤均逐渐加重,依次为 A 组<B 组<C 组。A 组血糖在正常范围内,其病变也最轻微,比 Sham 组的损伤稍重,但差异无统计学意义($P>0.05$),提示脓毒症大鼠血糖维持在正常范围内时,可减少或减慢病情的进展。血糖一旦持续升高,肝、肺组织病变即开始加重。有文献表明,机体大部分组织细胞的葡萄糖摄取是直接依赖于细胞膜上的葡萄糖转运体进行的,高血糖尤其是危重患者更容易出现细胞内糖超载,从而增强细胞的氧化应激,使氧自由基产生增多,导致组织细胞损伤;此外,细胞内糖

超载还可以引起细胞的形态及功能异常,尤其是影响线粒体的形态及功能,线粒体功能失调引起组织细胞能量代谢紊乱,最终导致器官功能衰竭。

综上所述,脓毒症大鼠中血糖升高后明显使得肝、肺组织病变加重,而将血糖维持在正常范围内,肝、肺组织病变明显减轻,这提示在临床工作中,进行强化胰岛素治疗,也许可以降低脓毒症患者的病死率和减低或者避免多器官功能障碍或衰竭。

参考文献:

- [1] Martin GS, Mannino DM, Eaton S, et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000 [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(16): 1546-1554.
- [2] Song SO, Hogg J, Peng ZY, et al. Ensemble models of neutrophil trafficking in severe sepsis [J]. *PLoS Comput Biol*, 2012, 8(3): 1-16.
- [3] Calisto KL, Carvalho Bde M, Ropelle ER, et al. Atorvastatin improves survival in septic rats: effect on tissue inflammatory pathway and on insulin signaling [J]. *PLoS One*, 2010, 5(12): 1-12.
- [4] Mostafa Anower AK, Shim JA, Choi B, et al. Pretreatment with interleukin-6 small interfering RNA can improve the survival rate of polymicrobial cecal ligation and puncture mice by down regulating interleukin-6 production [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 688(1/3): 76-83.
- [5] Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, et al. Endothelial cell apoptosis in sepsis [J]. *Crit Care Med*, 2002, 30 (5 Suppl): S225-228.
- [6] 盛志勇, 胡森. 多器官功能障碍综合征 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 18-63.
- [7] Aslami H, Pulskens WP, Kuipers MT, et al. Hydrogen sulfide donor naHS reduces organ injury in a rat model of pneumococcal pneumosepsis, associated with improved bio-energetic status [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): 1-11.
- [8] Hou LC, Qin MZ, Zheng LN, Lu Y, et al. Severity of sepsis is correlated with the elevation of serum high-mobility group box 1 in rats [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2009, 122(4): 449-454.
- [9] Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. The enigma of sepsis [J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(4): 460-467.
- [10] Martin GS, Mannino DM, Eaton S, et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000 [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(16): 1546-1554.
- [11] Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock; 2012 [J]. *Crit Care Med*, 2012, 41(2): 580-637.
- [13] Bulger EM, May S, Kerby JD, et al. ROC investigators. Out-of-hospital hypertonic resuscitation after traumatic hypovolemic shock: a randomized, placebo controlled trial [J]. *Ann Surg*, 2011, 253(3): 431-441.