

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备 实验前 12 h 开始禁食、自由饮水。按照家兔的体表面积公式： $S(m^2) = K \times W^{2/3}$ ， S 为体表面积 (m^2)， W 为体质量 (kg)， $K=10$ ，30% 烧伤面积 (TBSA) 为 514 cm^2 (约 20 $cm \times 26 cm$)，兔背部从肩至髌剃毛后，涂抹 10% 硫化钠除净毫毛。用 30 mg/kg 戊巴比妥钠行耳静脉注射，麻醉后右侧颈静脉和颈动脉置管 (预充含 200 μ /mL 肝素钠无菌生理盐水) 固定连接肝素帽。待兔清醒后单笼饲养 24 h，制备实验模型。

1.2.2 实验方法 实验时将 SC、P、K、PK 组兔固定于实验平台上，参照文献 [4] 方法制备兔 30% TBSA III° 严重烫伤模型 (将 35 层医用纱布在恒温水浴中加热至 99 $^{\circ}C$ ，充分接触待烫部位 25 s)。烫伤后第 1 个 24 h 补液量为 $1.75 \times TBSA(\%) \times W^{[5]}$ ，考虑一次大量输注肺水肿的问题，采取腹腔皮下注射 80 $mL \cdot d^{-1} \cdot kg^{-1}$ 平衡液。伤后 1 h，PK 组用异丙酚 1.5 mg/kg 静脉注射 1~2 min 后，用 2% 地卡因咽喉部表面麻醉下经口明视行气管内插管，保留自主呼吸，开放式给氧。用微量泵 (WZS-50F6 双通道，浙江大学医学仪器有限公司) 静脉匀速输注异丙酚 (批号 X14080A, AstraZeneca 公司, 英国) 和氯胺酮 (批号 KH140304, 江苏恒瑞医药股份有限公司) 维持麻醉，麻醉持续 4 h 停用麻醉药物，其中 P 组给予异丙酚 20 $mg \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$ ，K 组给予氯胺酮 20 $\mu g \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$ 、PK 组给予异丙酚 10 $mg \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$ 和氯胺酮 10 $mg \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$ ；而 C 组和 SC 组仅补液未进行特殊处理。

1.2.3 监测指标 分别于烫伤前、烫伤后 1、6、12、24 h 取颈动脉血行血气分析 (i-STAT 动脉血气分析仪)，指标包括 pH、

二氧化碳分压 (PaCO₂)、氧分压 (PaO₂)、血氧饱和度 (SO₂)、乳酸 (Lac)，取颈内静脉血用酶联免疫吸附测定法 (ELISA 法) 检测血清 IL-1 β (批号：CSB-E06896Rb)、IL-6 (批号：CSB-E06903Rb) 及 TNF- α (批号：CSB-E06998Rb) 浓度，试剂盒均为华美生物工程有限公司提供。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行分析，计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间两两比较采用 t 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组一般情况比较 P、K、PK 组兔体质量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。建立的严重兔烫伤模型经光镜病理切片证实模型制备成功。药物处理 P 组异丙酚用量为 (178.24 \pm 9.39) mg，K 组氯胺酮用量为 (186.96 \pm 8.57) mg，PK 组异丙酚用量为 (92.87 \pm 5.41) mg，氯胺酮用量为 (89.84 \pm 5.07) mg。

2.2 各组血气分析比较 各组各时点血气分析见表 1，烫伤为兔血气变化的主要因素，SC 组和 PK 组伤后 PaCO₂ 比烫伤前和 C 组明显降低 ($P < 0.01$)、PO₂、Lac 升高，而 SC 组和 PK 组血 Lac 水平高于烫伤前和 C 组 ($P < 0.01$)，且在其后各时间点血 Lac 值逐渐升高，但均稳定在正常水平，血 pH 值、PaO₂、SO₂ 在烫伤后各时间点与烫伤前比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。PK 组虽然麻醉后 PO₂ 降低 ($P < 0.05$)，但 SO₂ 无明显改变 ($P > 0.05$)。

2.3 各组炎性因子比较 血清 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 的动态变化见表 2。烫伤后各组 IL-1 β 、TNF- α 持续升高 ($P < 0.05$)，IL-6 约 6 h 达峰。P 组、K 组和 PK 组麻醉后 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 各时间点均比 SC 组降低 ($P < 0.05$)。

表 1 各组兔血气分析的动态变化 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

项目	组别	烫伤前	烫伤后 (h)			
			1	6	12	24
pH	C 组	7.45 \pm 0.06	7.45 \pm 0.03	7.45 \pm 0.05	7.45 \pm 0.04	7.45 \pm 0.07
	SC 组	7.44 \pm 0.06	7.35 \pm 0.07	7.41 \pm 0.10	7.42 \pm 0.08	7.45 \pm 0.09
	P 组	7.43 \pm 0.07	7.37 \pm 0.03	7.42 \pm 0.07	7.44 \pm 0.07	7.45 \pm 0.08
	K 组	7.44 \pm 0.05	7.39 \pm 0.04	7.39 \pm 0.09	7.43 \pm 0.06	7.46 \pm 0.06
	PK 组	7.42 \pm 0.09	7.37 \pm 0.05	7.40 \pm 0.07	7.45 \pm 0.02	7.44 \pm 0.08
PaCO ₂ (mm Hg)	C 组	45.00 \pm 5.00	30.00 \pm 7.00	32.00 \pm 5.00	31.00 \pm 7.00	34.00 \pm 2.00
	SC 组	45.00 \pm 5.00	30.00 \pm 8.00 ^b	29.00 \pm 4.00 ^b	32.00 \pm 4.00 ^b	32.00 \pm 6.00 ^b
	P 组	45.00 \pm 3.00	31.00 \pm 5.00	32.00 \pm 2.00	33.00 \pm 3.00	34.00 \pm 5.00
	K 组	44.00 \pm 2.00	31.00 \pm 7.00	33.00 \pm 5.00	31.00 \pm 5.00	33.00 \pm 4.00
	PK 组	44.00 \pm 4.00	31.00 \pm 6.00 ^b	32.00 \pm 3.00 ^b	30.00 \pm 5.00 ^b	35.00 \pm 5.00 ^b
PaO ₂ (mm Hg)	C 组	85.00 \pm 8.00	96.00 \pm 9.00	87.00 \pm 3.00	90.00 \pm 5.00	90.00 \pm 6.00
	SC 组	84.00 \pm 7.00	111.00 \pm 17.00 ^a	108.00 \pm 21.00 ^b	106.00 \pm 18.00 ^a	81.00 \pm 21.00
	P 组	85.00 \pm 9.00	35.00 \pm 7.00	71.00 \pm 9.00	95.00 \pm 11.00	99.00 \pm 9.00
	K 组	86.00 \pm 6.00	32.00 \pm 6.00	62.00 \pm 8.00	90.00 \pm 8.00	91.00 \pm 8.00
	PK 组	85.00 \pm 6.00	33.00 \pm 9.00 ^d	67.00 \pm 3.00 ^d	94.00 \pm 3.00	96.00 \pm 7.00 ^a
SO ₂ (%)	C 组	95.00 \pm 3.00	98.00 \pm 1.00	97.00 \pm 2.00	96.00 \pm 3.00	97.00 \pm 4.00
	SC 组	95.00 \pm 3.00	98.00 \pm 0.00	87.00 \pm 1.00 ^b	98.00 \pm 1.00	96.00 \pm 6.00
	P 组	96.00 \pm 3.00	98.00 \pm 1.00	97.00 \pm 2.00	97.00 \pm 1.00	98.00 \pm 2.00
	K 组	97.00 \pm 2.00	98.00 \pm 1.00	98.00 \pm 1.00	98.00 \pm 0.00	97.00 \pm 1.00

续表 1 各组兔血气分析的动态变化($\bar{x} \pm s, n=10$)

项目	组别	烫伤前	烫伤后(h)			
			1	6	12	24
Lac(mmol/L)	PK 组	98.00±2.00 ^d	98.00±0.00	98.00±1.00 ^d	98.00±1.00	97.00±1.00
	C 组	1.10±0.50	2.10±0.50	0.90±0.10	0.90±0.10	1.10±0.20
	SC 组	1.10±0.30	2.30±0.30	3.30±0.60 ^b	4.30±0.50 ^b	7.50±0.80 ^b
	P 组	1.20±0.20	2.10±0.50	2.80±0.40	2.70±0.30	3.70±0.50
	K 组	1.30±0.30	2.10±0.40	2.70±0.30	2.50±0.20	3.50±0.70
	PK 组	1.30±0.40	2.20±0.50	2.70±0.70	2.20±0.40 ^d	3.60±0.60 ^d

^a: $P<0.05$,^b: $P<0.01$,与 C 组比较;^c: $P<0.05$,^d: $P<0.01$,与 SC 组比较。

表 2 严重烫伤兔血清 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 的动态变化($\bar{x} \pm s, n=10$)

项目	组别	烫伤前	烫伤后(h)			
			1	6	12	24
IL-1 β (pg/mL)	C 组	14.78±1.27	13.79±1.11	14.23±1.30	12.91±1.12	14.05±1.37
	SC 组	15.41±1.58	30.27±2.93 ^a	402.91±13.23 ^a	427.33±27.66 ^a	431.36±19.31 ^a
	P 组	14.38±2.10	31.63±2.44	192.12±20.03 ^d	26.59±2.71 ^d	33.47±2.97 ^f
	K 组	15.01±1.69	31.98±1.95	177.40±19.57 ^g	21.47±3.28	25.68±1.61 ^g
	PK 组	14.97±0.61	31.20±3.01 ^b	163.38±11.36 ^c	19.28±2.51 ^c	19.49±9.26 ^c
IL-6(pg/mL)	C 组	45.23±24.25	46.31±4.12	44.89±3.91	45.42±4.70	44.33±5.12
	SC 组	46.31±6.10	47.22±1.49	119.27±7.03 ^a	118.61±10.39 ^a	112.04±3.22 ^a
	P 组	45.97±3.87	47.69±3.04	61.50±5.71 ^d	62.23±4.47 ^d	64.09±4.85 ^d
	K 组	45.46±5.11	47.36±2.77	53.27±4.19 ^g	54.38±5.12 ^g	55.73±6.37
	PK 组	45.83±5.20	47.10±4.30	50.21±3.50 ^c	52.10±4.23 ^c	53.30±6.17 ^c
TNF- α (pg/mL)	C 组	189.11±14.29	190.95±14.97	195.60±14.67	203.39±5.91	196.73±10.42
	SC 组	195.42±21.18	243.39±20.85 ^a	586.41±18.25 ^a	716.54±28.76 ^a	721.85±21.23 ^a
	P 组	192.39±18.24	240.41±13.39	260.02±13.57 ^d	262.47±22.49 ^d	259.54±34.58 ^d
	K 组	188.45±11.97	239.07±19.65	255.40±19.79 ^g	251.16±15.30 ^g	253.79±21.07
	PK 组	187.86±21.02	237.41±21.07	245.56±18.93 ^c	246.03±20.74 ^c	250.17±28.93 ^c

^a: $P<0.05$,与 C 组比较;^b: $P<0.05$,^c: $P<0.01$,与 SC 组比较;^d: $P<0.05$,^f: $P<0.01$,与 PK 组比较;^g: $P<0.05$,与 K 组比较。

2.4 不同药物组间比较 在不同药物干预方案中,PK 组与 P 组及 K 组相比 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 升高较少,组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

严重烧伤早期切痂植皮术患者术前仍存在低血容量,同时伴有严重的全身炎症反应,对麻醉耐受性差,要求麻醉有良好的镇痛、镇静作用且对循环功能无不良影响,术后苏醒迅速。静脉注射小于 1 mg/kg 或持续静脉输注小于 20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的氯胺酮有良好的镇痛作用,复合镇静剂量的异丙酚能满足不需要肌松的烧伤手术的麻醉^[2]。本研究将静脉输注小剂量氯胺酮复合异丙酚用于兔严重烧伤早期麻醉,在不影响呼吸功能的情况下能显著降低血清炎症细胞因子的浓度,这对于防止严重烧伤术后过度炎症反应可能有重要意义。

严重烧伤后,机体过度释放多种细胞因子和炎症介质如 TNF- α 、IL-6 等,可激活如 NF- κ B、p38 丝裂素活化蛋白激酶和 c-Jun 氨基末端激酶等信号通路,细胞因子级联反应失控,促炎和抗炎反应失衡。其中 TNF- α 可能在细胞因子网络中起着关键作用^[6],它是炎症反应的最终启动者,能促进 IL-1、IL-2、IL-8、IL-10、白三烯等释放^[7],而且可以促进中性粒细胞和内皮细

胞之间的黏附及中性粒细胞的移行,从而进一步加重组织脏器的损伤。IL-1 β 能通过自分泌或旁分泌刺激其他细胞因子和炎症介质的产生,诱发抗原递呈细胞表面免疫分子的表达,为 T 淋巴细胞的活化提供第二信号,促进 B 淋巴细胞的增生、分化,介导免疫球蛋白的分泌,由此激活补体,增强细胞免疫和体液免疫介导的组织损伤过程;此外,细胞因子 IL-1 β 能促进血管内皮-白细胞黏附分子的表达,趋化中性粒细胞等炎症细胞,而引起一系列炎症反应和组织破坏,其细胞因子 mRNA 的表达与炎症程度呈正相关,可作为临床上判断疾病严重程度和疗效的指标^[8]。IL-6 由激活的巨噬细胞、淋巴细胞及上皮细胞分泌,能被 IL-1 β 和 TNF- α 诱导,是急性期反应的主要细胞因子,也是组织损伤的早期敏感指标。氯胺酮能直接抑制促炎性细胞因子的生成^[9],特别是 TNF- α 诱导 IL-6、IL-8 的生成,在体外大于 73 $\mu\text{mol/L}$ 能够抑制内毒素诱导 TNF- α 的产生,大于 73 $\mu\text{mol/L}$ 可以抑制超抗原刺激的人外周血促炎因子的产生^[10];异丙酚能有效地降低机体 IL-6 的生成量,能抑制内毒素诱导的血清 TNF- α 升高^[3]并能抑制 T 细胞分化^[11]。本观察发现,异丙酚-氯胺酮麻醉明显降低严重烧伤患者围术期血清炎症细胞因子的浓度,其确切机制尚不清楚,异丙酚-氯胺酮

降低免严重烧伤全身炎症反应可能的机制为通过降低烧伤后内毒素的大量产生,同时阻断内毒素刺激单核巨噬细胞等释放 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症介质,以及小剂量氯胺酮镇痛降低伤害刺激引起的应激反应而降低全身炎症反应。

本研究显示,免严重烫伤后早期血清 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 进行性升高。TNF- α 主要由单核巨噬细胞产生,是介导炎症反应的主要因子。严重烫伤常带有内毒素增加,内毒素可刺激 TNF- α 水平升高,并与烫伤的严重程度及预后关系密切。严重烫伤后释放增多的内毒素可激活中性粒细胞等炎症细胞促使 TNF- α 的释放,烫伤后血清 IL-6 的升高亦与严重烫伤后内毒素升高有关联,IL-6 是由激活的巨噬细胞、淋巴细胞和内皮细胞等分泌并能诱导 B 淋巴细胞活化。IL-1 β 和 TNF- α 存在协同作用,即 TNF- α 能诱导巨噬细胞释放 IL-1 β ,IL-1 β 也能刺激 TNF- α 的产生。机体过度释放多种细胞因子和炎症介质如内毒素、IL-6 和 TNF- α 等,由此产生连锁放大效应,其中 TNF- α 在激活其他细胞因子方面起核心作用。IL-6 参与损伤后急性期反应,是组织损伤和创伤严重程度的重要指标,无论是烫伤本身还是合并感染均导致 IL-6 的释放,IL-6 大量产生可损伤免疫系统功能或导致严重感染。氯胺酮-异丙酚静脉麻醉相较单纯使用氯胺酮或者单纯使用异丙酚可更有效地降低严重烧伤早期免血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的浓度,在一定程度上抑制严重烧伤早期全身炎症反应。

综上所述,异丙酚复合氯胺酮麻醉能更有效地降低严重烧伤早期免血清促炎细胞因子的水平,是严重烧伤早期手术时一种较好的麻醉方法。

参考文献

[1] 夏建国,彭坚,肖红,等.小剂量氯胺酮静脉自控镇痛对严重烧伤休克期患者细胞因子平衡的影响[J].中国危重病急救医学,2006,18(1):32-35.

[2] Yan J, Erdem H, Li R, et al. Steroid receptor coactivator-3/AIB1 promotes cell migration and invasiveness through focal adhesion turnover and matrix metalloproteinase ex-

pression[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(13): 5460-5468.

- [3] 夏建国,孙建斌.氯胺酮-异丙酚或芬太尼-异丙酚麻醉下严重烧伤早期患者切痂植皮术后炎症反应的比较[J].中华麻醉学杂志,2008,28(9):853-854.
- [4] 刘利兵,于军,张学策,等.新西兰兔烫伤模型的建立[J].第四军医大学学报,2009,30(1):86-88.
- [5] 谭清彦,杨传山,冯玉芳,等.加温输液对兔烧伤休克期血液流变学指标的影响[J].中华烧伤杂志,2007,23(4):298-299.
- [6] 隰建成,马远征,周宝桐,等.创伤性脓毒症外周血中性粒细胞及组织中肿瘤坏死因子- α mRNA 表达的变化[J].中国危重病急救医学,2006,18(1):28-31.
- [7] Leghmar K, Contreras X, Moureau C, et al. HIV-1 tat protein induces TNF-alpha and IL-10 production by human macrophages; differential implication of PKC-betaII and-delta isozymes and MAP kinases ERK1/2 and p38 [J]. *Cell Immunol*, 2008, 254(1): 46-55.
- [8] Christman JW, Sadikot RT, Blackwell TS. The role of nuclear factor-kappa B in pulmonary diseases [J]. *Chest*, 2000, 117(5): 1482-1487.
- [9] Lange M, Bröking K, van Aken H, et al. Role of ketamine in sepsis and systemic inflammatory response syndrome [J]. *Anaesthetist*, 2006, 55(8): 883-891.
- [10] Kawasaki C, Kawasaki T, Ogata M, et al. Ketamine isomers suppress superantigen-induced proinflammatory cytokine production in human whole blood [J]. *Can J Anaesth*, 2001, 48(8): 819-823.
- [11] Yuki K, Soriano SG, Shimaoka M. Sedative drug modulates T-cell and lymphocyte function-associated antigen-1 function [J]. *Anesth Analg*, 2011, 112(4): 830-838.

(收稿日期:2016-02-15 修回日期:2016-06-27)

(上接第 3329 页)

Reversal of cardiac and renal fibrosis by pirfenidone and spironolactone in streptozotocin-dia-betic rats [J]. *Br J Pharmacol*, 2001, 133(5): 687-694.

[6] Shimamoto A, Chong AJ, Yada M, et al. Inhibition of Toll-like receptor 4 with eritoran attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Circulation*, 2006, 114(1 Suppl): S270-274.

[7] Ogawa K, Hirooka Y, Kishi T, et al. Brain AT1 receptor activates the sympathetic nervous system through toll-like receptor 4 in mice with heart failure [J]. *Cardiovasc Pharmacol*, 2011, 58(5): 543-549.

[8] Ladefoged M, Buschard K, Hansen AM. Increased expression of Toll-like receptor 4 and inflammatory cytokines, interleukin-6 in particular, in islets from a mouse model of obesity and type 2 diabetes [J]. *APMIS*, 2013, 121(6): 531-538.

- [9] Dasu MR, Devaraj S, Zhao L, et al. High Glucose induces toll-like receptor expression in Human Monocytes: mechanism of activation [J]. *Diabetes*, 2008, 57(11): 3090-3098.
- [10] Amyot J, Semache M, Ferdaoussi M, et al. Lipopolysaccharides impair insulin gene expression in isolated islets of Langerhans via Toll-Like Receptor-4 and NF-kB signaling [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e36200.
- [11] Guha M, Maekman N. LPS induction of gene expression in human monocytes [J]. *Cell Signal*, 2001, 13(2): 85-94.
- [12] 李骅,王四旺,张邦乐,等.丹参素的药理活性与药物动力学研究进展 [J]. *西北药学杂志*, 2011, 26(4): 310-312.
- [13] 薛忠文,董天,张琦,等.参芍口服液对冠状动脉粥样硬化大鼠主动脉 IL-8、VCAM-1 和 ICAM-1 表达的影响 [J]. *中成药*, 2012, 34(11): 2077-2081.

(收稿日期:2016-02-07 修回日期:2016-06-25)