

## • 综述 •

## 美蓝抗休克应用的研究进展

梁敏 吴多志(综述) 周德华(审校)

【关键词】 休克; 美蓝; 一氧化氮; 过氧亚硝酸阴离子

休克是由各种因素引起有效血容量不足、急性微循环障碍、组织灌注不足而导致以组织细胞缺血、缺氧、代谢障碍和器官功能受损为特征的综合征。重症难治性休克(RS)时顽固低血压经抗休克治疗仍难以回升。探讨血管对升压药物反应性下降的机制成为目前 RS 研究的热点问题之一。在众多拮抗一氧化氮合酶(NOS)制剂临床试用失败的情况下,近年研究发现的**美蓝(MB)**具有 NOS 抑制剂和氧自由基(OFR)清除剂的特性<sup>[1-3]</sup>。临床辅助治疗多种类型 RS 显示出良好疗效<sup>[4-6]</sup>。现对 RS 时循环功能障碍机制的当前概念及 MB 在抗休克应用中的研究进展进行综述。

## 1 RS 时循环功能障碍的机制

大量研究表明,体内一氧化氮(NO)的过度产生引起血管病理性扩张,对血管收缩剂反应性降低,造成血流动力学紊乱和组织灌注不足,这可能是诱发脓毒症和休克的最后共同途径,包括:  
①NO/环磷酸鸟苷(cGMP)途径:RS 时细菌、内毒素、炎性介质对心肌的抑制作用是通过 NO/cGMP 途径而实现的<sup>[7-9]</sup>。  
②NO/过氧亚硝酸阴离子(ONOO<sup>-</sup>)途径:OFR 直接氧化急性调节蛋白使其巯基-亚硝基化(S-nitrosylation)<sup>[10]</sup>。在创伤、休克、感染等病理条件下诱生型一氧化氮合酶(iNOS)活性增加,合成大量 NO 与超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>),结合形成具有强氧化性的 ONOO<sup>-</sup>,产生细胞毒作用,参与了 RS 时机体的病理损害<sup>[11]</sup>。

## 1.1 NO/cGMP 途径是引起 RS 循环

基金项目:海南省自然科学基金资助项目(2000-80010);海南省卫生厅重点科研基金资助项目(2002-55)

作者单位:570311 海口,海南省人民医院麻醉科

作者简介:(1955-),女(汉族),天津人,医学硕士,教授,主任医师,中华医学会麻醉学分会委员,海南医学会麻醉学分会主任委员及危重病医学分会委员(Email: MZK2230@163.com)。

功能障碍的共同途径:NO 是一种简单的二价气体,依环境和产生量的不同在多种途径中起调节和信号转导作用。NO 由 NOS 家族中神经元型一氧化氮合酶(nNOS)、内皮型一氧化氮合酶(eNOS)、iNOS 以及线粒体型一氧化氮合酶(mNOS)所产生<sup>[12]</sup>。目前认为,细胞受到刺激后,细胞内多种信号转导途径被磷酸化激活,将信号转到细胞核内作用于转录因子,启动 iNOS 基因表达<sup>[13]</sup>。NO 的过量合成是脓毒性休克时低血压和血管对儿茶酚胺类反应性降低的关键介质。研究显示,NOS 抑制剂可改善脓毒性休克鼠心功能,使心脏对去甲肾上腺素(NE)敏感性升高同时降低心排量<sup>[14]</sup>。NO 介导的 β-肾上腺素能受体(β-AR)反应阻抑不依赖于 cGMP 机制。休克时 iNOS 激活产生的 NO 介导细胞因子长时间持续表达,导致延迟性心肌收缩功能障碍。NO 诱导 cGMP 形成并自然激活蛋白激酶 G(PKG)及磷酸二酯酶 I(PDE I)也使 β-AR 敏感性变迟钝。PKG 介导肌钙蛋白 I 磷酸化也使心肌基础收缩力迟钝<sup>[15]</sup>。在脓毒症红细胞中发现 NO 依靠 iNOS 与血浆中的亚硝酸盐相互作用生成亚硝基血红蛋白(SNOHb)是导致急性炎症性疾病时血管扩张的新机制<sup>[16]</sup>。

1.2 NO/ONOO<sup>-</sup>途径对心血管机能的干扰:高浓度 NO 传递系统的另一个作用是酪氨酸硝基化,能多方面影响蛋白功能。ONOO<sup>-</sup>与半胱氨酸的酚基反应形成硝基半胱氨酸,通过多种途径不可逆抑制线粒体呼吸链,造成心肌能量供应障碍、DNA 脱氨基及链断裂,抑制心肌肌原纤维、肌酸激酶,减弱心肌收缩力,诱导心肌凋亡等直接或间接作用使心肌功能受损<sup>[17-19]</sup>。内毒素休克大鼠 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性的异常激活使体内血管床或体外血管对缩血管药物反应性降低<sup>[20]</sup>。NO/ONOO<sup>-</sup>激活环氧化酶(COX),增加血管系统前列腺素类血管活性物质的产生<sup>[21]</sup>。造成内皮依性调

节机制失常,加重休克时血管功能障碍所造成的血管麻痹。巨噬细胞、中性粒细胞等合成的 NO 和来自黄嘌呤氧化酶(XO)的 O<sub>2</sub><sup>-</sup>形成的 ONOO<sup>-</sup>与多巴胺反应生成一种氧化衍生物,使 NE 氧化和灭活、修饰 α1-AR,降低这些受体的结合容量和 NE 刺激引起的细胞内游离钙离子浓度([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>)增高,AR 失活也参与血管对缩血管药物反应性降低<sup>[13,22,23]</sup>。

## 2 MB 抗休克作用机制的研究

2.1 抑制 iNOS 的激活,减少 NO 的过量产生:MB 是一个潜在的 NOS 抑制剂,可非选择性地直接抑制 NOS,降低 NO 的大量生成<sup>[2]</sup>。动物实验发现,MB (3 mg/kg)能显著抑制盐水注射大鼠的 iNOS 活性,并可完全阻滞脂多糖(LPS)诱导 iNOS 的升高<sup>[1]</sup>。血浆一氧化氮代谢产物总量(NO<sub>x</sub>)可作为全身炎症反应综合征(SIRS)患者潜在预告多器官功能障碍综合征(MODS)的指标<sup>[8,24]</sup>。

2.2 抑制 NO/cGMP 途径:可溶性鸟苷酸环化酶(sGC)是介导 NO 参与细胞信号调控的关键酶,通过催化产生的细胞内第二信使 cGMP,在舒张血管、气管平滑肌及细胞增殖等调控中发挥重要作用。MB 是典型的 sGC 抑制剂,通过氧化对 sGC 活化起关键作用的亚铁血红蛋白和(或)巯醇,选择性强抑制 sGC,降低 cGMP,逆转感染性休克心血管功能紊乱。MB 可以剂量相关的方式显著地降低鼠脑 cGMP 含量<sup>[25]</sup>。

2.3 清除 OFR:RS 时大量 OFR 产生而又不能及时清除,补充抗 OFR 物质能明显升高血压,增加心排血量和组织氧合。体外实验显示,MB 可从 XO 的铁硫中心接受一个电子,充当该酶的电子替换体从而抑制 O<sub>2</sub><sup>-</sup>的生成。MB 可减少体内前列腺素类的释放,抑制花生四烯酸途径的 COX 代谢产物生成<sup>[21]</sup>。2~5 mg/kg 的 MB 可有效地预防 OFR 对体外模型肝、肾组织的损害,故称 MB 为新型的抗氧化药物<sup>[3]</sup>。

### 3 MB 在治疗休克中的应用

从组织氧合角度认识,休克的本质是细胞代谢产能过程受到组织氧供限制的状态,感染性休克患者最终能否成活,取决于组织氧合障碍是否得到纠正<sup>[26]</sup>。脓毒性休克氧化代谢被破坏是以氧摄取损害为特征的。首先,给脓毒性休克患者增加氧输送,不增加氧耗及减低缺氧代谢水平(通过测定动脉乳酸浓度)。第二,已有报道,脓毒性休克患者组织氧张力在正常水平,而动脉乳酸浓度升高。第三,脓毒性休克一些介质可直接损害线粒体功能<sup>[27]</sup>。最近的研究显示,在内毒素鼠细胞氧消耗被破坏的同时还存在细胞因子刺激细胞 NO/ONOO<sup>-</sup> 依赖机制,毒性更强的 ONOO<sup>-</sup> 造成细胞呼吸紊乱称之为细胞病理性低氧血症。可引起严重的组织缺氧,最终导致 MODS。注入中、低剂量的 MB,可明显增加肠系膜上动脉和股动脉的血流量,改善氧合又不影响肾脏等重要器官的灌注,对改善感染性休克血流动力学、增加氧摄取、降低血乳酸,显示出良好的前景<sup>[28]</sup>。临床也观察到 MB 能使动脉血乳酸明显下降,这不是组织氧代谢改善的结果,而是 MB 的直接作用。

**3.1 MB 治疗脓毒性休克:**MB 能推迟脓毒性休克动物的死亡,可改善脓毒性休克患者的预后<sup>[4,5]</sup>。Schneider 等<sup>[29]</sup>于 1992 年首先报告了对 2 例脓毒性休克患者单剂注入低剂量(2 mg/kg)MB 后出现短时间的血管收缩和正性肌力作用。临床研究证实,持续输注(1 h)MB 可显著增加高动力脓毒性休克患者的平均动脉压(MAP)、体/肺循环系统的血管阻力,改善心肌功能,维持氧运输;使机体对缩血管药物的反应性增强,减少肾上腺素能药物支持。明显逆转脓毒性休克患者的血流动力学紊乱,不减低心排血量<sup>[4,30]</sup>。给脓毒性休克白鼠模型注射 MB 或 NOS 抑制剂可短期升高血压,与对照组相比存活率却显著降低,重复注射则可增加实验动物的死亡。提示:在脓毒性休克终末阶段应用 NOS 抑制剂是不能预防动物发生顽固性低血压和死亡的<sup>[31]</sup>。

**3.2 MB 治疗出血性休克:**研究发现,出血性休克随之复苏引起显著的肠系膜对缩血管药物的低反应性,而且依赖于肠内 iNOS 的表达,证实 OFR 在内皮功能障碍和出血性休克早期炎症反应中起

到了重要作用<sup>[32]</sup>。观察 MB 结合限量乳酸林格液(MB/RL)对 RS 犬的治疗作用发现,与单用 MB 组或 RL 组比较,MB/RL 组的 MAP、心排血量、脑和心肌血流及氧释放均显著升高,血乳酸水平显著降低<sup>[4]</sup>。家兔不可逆失血性休克时应用 7.5 mg/kg MB,能快速升高血压,延长动物存活时间,并能一过性降低血清 NO 水平<sup>[33]</sup>。

**3.3 MB 治疗创伤性休克:**实验发现,给创伤性休克兔进行复苏时单纯输血、输液,但血压维持较为困难,而应用 MB 可以降低血浆 NO、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )及白细胞介素-6(IL-6)的水平,稳定血流动力学,有助于创伤性休克的纠正<sup>[34]</sup>。其机制可能与抑制 NOS 活性、NO/cGMP 途径及清除缺血/再灌注后释放的 OFR 有关。

**3.4 MB 治疗过敏性休克:**1.5 mg/kg 的 MB 可显著降低心脏手术后血管麻痹患者的发病率与病死率<sup>[35]</sup>。不仅为治疗心肺分流术(CPB)后低系统血管阻力(SVR),而且为其他类型的血管麻痹包括过敏性休克提供了新思路。应用 MB 治疗 6 例过敏性休克,在 10~15 min 可完全纠正,说明 MB 可逆转荨麻疹及血管性水肿。Oliveira Neto 等<sup>[6]</sup>在心血管导管室内用有创血流动力学监测记录了 MB 对 3 例在冠状血管造影术期间因放射性造影剂致过敏性休克的救命作用。

### 4 问题和展望

MB 辅助治疗 RS 效果明确,但 MB 对其他重要器官功能似乎无显著的逆转作用。目前,应用 NOS 抑制剂治疗 RS 在国内尚未用于临床。MB 这种多位点的作用使它对临床 RS 的治疗有一定突破,其适应证的选择和对多种 RS 的疗效还有待进一步验证。MB 潜在的逆转肺功能作用,还需要认真探讨。MB 在治疗与脓毒症有关的急性肺损伤(acute lung injury, ALI)机制中是否存在抑制 NO 途径和 COX 代谢产物的结合作用还需要进一步的实验研究。如果上述问题均能解决,则可能为临床抗休克治疗提供一种简便易得、价廉、有效、经济、安全的药物。

### 参考文献:

- Lomniczi A, Cebal E, Canteros G, et al. Methylene blue inhibits the increase of inducible nitric oxide synthase activity induced by stress and lipopolysaccharide in the medial basal hypothalamus of rats

[J]. Neuroimmunomodulation, 2000, 8: 122-127.

- 梁敏,魏小斌,吴爱珍,等.亚甲蓝体内抗氧化特性的临床研究[J].中国危重病急救医学,2003,15:170-173.
- Salaris S C, Babbs C F, Voorhees W D 3rd. Methylene blue as an inhibitor of superoxide generation by xanthine oxidase. A potential new drug for the attenuation of ischemia/reperfusion injury[J]. Biochem Pharmacol, 1991, 42: 499-506.
- Kirov M Y, Evgenov O V, Evgenov N V, et al. Infusion of methylene blue in human septic shock: a pilot, randomized, controlled study[J]. Crit Care Med, 2001, 29:1860-1867.
- Ghiassi S, Sun Y S, Kim V B, et al. Methylene blue enhancement of resuscitation after refractory hemorrhagic shock [J]. J Trauma, 2004, 57:515-521.
- Oliveira Neto A M, Duarte N M, Vicente W V, et al. Methylene blue, an effective treatment for contrast medium-induced anaphylaxis[J]. Med Sci Monit, 2003, 9: CS102-106.
- Levy R J, Deutschman C S. Evaluating myocardial depression in sepsis [J]. Shock, 2004, 22:1-10.
- Hayashi Y, Abe M, Murai A, et al. Comparison of effects of nitric oxide synthase (NOS) inhibitors on plasma nitrite/nitrate levels and tissue NOS activity in septic organs [J]. Microbiol Immunol, 2005, 49:139-147.
- Tatsumi T, Akashi K, Keira N, et al. Cytokine-induced nitric oxide inhibits mitochondrial energy production and induces myocardial dysfunction in endotoxin-treated rat hearts [J]. J Mol Cell Cardiol, 2004, 37:775-784.
- Martinez-Ruiz A, Villanueva L, Gonzalez de Orduna C, et al. S-nitrosylation of Hsp90 promotes the inhibition of its ATPase and endothelial nitric oxide synthase regulatory activities [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102: 8525-8530.
- Takakura K, Xiaohong W, Takeuchi K, et al. Deactivation of norepinephrine by peroxynitrite as a new pathogenesis in the hypotension of septic shock [J]. Anesthesiology, 2003, 98:928-934.
- Valdez L B, Zaobornyj T, Boveris A. Functional activity of mitochondrial nitric oxide synthase [J]. Methods Enzymol, 2005, 396:444-455.
- 姚咏明,盛志勇.脓毒症信号转导机制

- 的现代认识[J]. 中国危重病急救医学, 2003, 15: 3-6.
- 14 Barth E, Radermacher P, Thiemermann C, et al. Role of inducible nitric oxide synthase in the reduced responsiveness of the myocardium to catecholamines in a hyperdynamic, murine model of septic shock[J]. Crit Care Med, 2006, 34: 307-313.
  - 15 Li D, Qu Y, Tao L, et al. Inhibition of iNOS protects the aging heart against beta adrenergic receptor stimulation induced cardiac dysfunction and myocardial ischemic injury [J]. J Surg Res, 2006, 131: 64-72.
  - 16 Crawford J H, Chacko B K, Pruitt H M, et al. Transduction of NO - bioactivity by the red blood cell in sepsis; novel mechanisms of vasodilation during acute inflammatory disease [J]. Blood, 2004, 104: 1375-1382.
  - 17 Kawahara K, Hachiro T, Yokokawa T, et al. Ischemia/reperfusion-induced death of cardiac myocytes; possible involvement of nitric oxide in the coordination of ATP supply and demand during ischemia [J]. J Mol Cell Cardiol, 2006, 40: 35-46.
  - 18 Burney S, Caulfield J L, Niles J C, et al. The chemistry of DNA damage from nitric oxide and peroxynitrite [J]. Mutat Res, 1999, 424: 37-49.
  - 19 Inoue M, Sato E F, Park A M, et al. Cross-talk between no and oxyradicals, a supersystem that regulates energy metabolism and survival of animals [J]. Free Radic Res, 2001, 33: 757-770.
  - 20 Chen S J, Chen K H, Wu C C. Nitric oxide-cyclic GMP contributes to abnormal activation of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  in the aorta from rats with endotoxic shock [J]. Shock, 2005, 23: 179-185.
  - 21 Evgenov O V, Evgenov N V, Molines T E, et al. Methylene blue reduces pulmonary oedema and cyclo-oxygenase products in endotoxaemic sheep [J]. Eur Respir J, 2002, 20: 957-964.
  - 22 Takakura K, Xiaohong W, Takeuchi K, et al. Peroxynitrite decreases dopamine's vasoconstrictive activity [J]. Anesth Analg, 2003, 97: 1492-1496.
  - 23 Takakura K, Taniguchi T, Muramatsu I, et al. Modification of alpha 1 adrenoceptors by peroxynitrite as a possible mechanism of systemic hypotension in sepsis [J]. Crit Care Med, 2002, 30: 894-899.
  - 24 Ekmekci H, Isler I, Sonmez H, et al. Comparison of platelet fibronectin, ADP-induced platelet aggregation and serum total nitric oxide (NOx) levels in angiographically determined coronary artery disease [J]. Thromb Res, 2006, 117: 249-254.
  - 25 Duan Y, Haugabook S J, Sahley C L, et al. Methylene blue blocks cGMP production and disrupts directed migration of microglia to nerve lesions in the leech CNS [J]. J Neurobiol, 2003, 57: 183-192.
  - 26 田卓民. 感染 炎症 多器官损伤 [J]. 中国危重病急救医学, 2002, 14: 504-507.
  - 27 Boulous M, Astiz M E, Barua R S, et al. Impaired mitochondrial function induced by serum from septic shock patients is attenuated by inhibition of nitric oxide synthase and poly (ADP - ribose) synthase [J]. Crit Care Med, 2003, 31: 353-358.
  - 28 Galili Y, Ben-Abraham R, Weinbroum A, et al. Methylene blue prevents pulmonary injury after intestinal ischemia reperfusion [J]. J Trauma, 1998, 45: 222-225.
  - 29 Schneider F, Lutun P, Hasselmann M, et al. Methylene blue increases systemic vascular resistance in human septic shock. Preliminary observations [J]. Intensive Care Med, 1992, 18: 309-311.
  - 30 Park B K, Shim T S, Lim C M, et al. The effects of methylene blue on hemodynamic parameters and cytokine levels in refractory septic shock [J]. Korean J Intern Med, 2005, 20: 123-128.
  - 31 Khromov O S, Ivanova I V, Stefanov O V. Inhibition of nitric oxide synthesis during bacterial shock does not prevent development of resistant hypotension and death in rats [J]. Fiziol Zh, 2005, 51: 42-51.
  - 32 Savoye G, Tamion F, Richard V, et al. Hemorrhagic shock resuscitation affects early and selective mesenteric artery endothelial function through a free radical-dependent mechanism [J]. Shock, 2005, 23: 411-416.
  - 33 李天琅, 陈毅军, 施小燕, 等. 美蓝对家兔失血性休克作用的实验研究 [J]. 中华急诊医学杂志, 2003, 12: 745-747.
  - 34 王厚清, 李建国, 黄祖敏, 等. 创伤性休克兔血浆一氧化氮、TNF- $\alpha$ 、IL-6 和血流动力学的动态变化及亚甲蓝的干预作用 [J]. 遵义医学院学报, 2005, 28: 326-329.
  - 35 Levin R L, Degrange M A, Bruno G F, et al. Methylene blue reduces mortality and morbidity in vasoplegic patients after cardiac surgery [J]. Ann Thorac Surg, 2004, 77: 496-499.

(收稿日期: 2005-11-06)

修回日期: 2006-03-06)

(本文编辑: 李银平)

## • 启事 •

## “微创颅内血肿清除术”专题高级研讨班通知

由中国医院协会(原中华医院管理学会)主办的全国神经内科主任(微创颅内血肿清除术)临床适宜技术高级研讨班, 拟定于 2006 年 9 月 10-15 日在安徽省黄山市举办, 培训费 980 元, 食宿统一安排, 费用自理。学习期满授予学员 I 类继续教育学分。

内容: 立体定向硬通道管引流治疗脑深部小血肿; 高血压脑出血的简易血肿穿刺定位方法; 微创颅内血肿穿刺清除技术治疗常规; 高血压脑出血穿刺引流并发症的治疗; 硬通道穿刺抽吸引流治疗高血压脑出血(附 1 210 例病例总结); 多点微创穿刺引流治疗重症高血压脑出血(附 39 例报告); 持续腰大池引流脑脊液的安全性及临床应用的探讨; 外伤性颅内血肿的微创治疗; 临床录像、模拟操作、现场答疑等。教师: 顾征、孙仁泉等教授; 学员要求: 神经内、外科及急诊科医生; 报名办法: 将姓名、单位、职务、职称、电话、地址、邮编写清楚后寄至北京市东城区东四西大街 46 号 5406 室中国医院协会科技开发部 张君收; 邮编: 100711; 信封请注明: “颅内高研班”; 电话: (010)85416788/65238282; 传真: (010)65238282; Email: chapx@sina.com。

(中国医院协会)