

不同方式液体复苏对失血性休克大鼠外周血单个核细胞中核转录因子- κ B 活性的影响

赵中江 孙冀武 邓哲

【摘要】目的 观察失血性休克大鼠外周血单个核细胞(PBMC)中核转录因子- κ B(NF- κ B)活性的变化以及不同方式液体复苏对其的影响。**方法** 将 32 只成功复制的失血性休克模型 SD 大鼠随机分为对照组、无液体复苏组、限制性液体复苏组和快速大量液体复苏组,每组 8 只;比较各组的救治疗效,并用酶联免疫吸附法(ELISA)检测各组 PBMC 中 NF- κ B 活性的变化。**结果** 限制性液体复苏组大鼠的存活时间较快速大量液体复苏组及无液体复苏组明显延长(P 均 <0.05);限制性液体复苏组大鼠 72 h 存活率明显高于快速大量液体复苏组和无液体复苏组,但低于对照组(P 均 <0.05)。除对照组外,其余各组创伤后 60 min 和 120 min PBMC 中 NF- κ B 活性均较创伤前有明显升高,且 120 min 较 60 min 也明显升高(P 均 <0.05);限制性液体复苏组 NF- κ B 活性明显低于快速大量液体复苏组和无液体复苏组(P 均 <0.05);死亡组创伤后 60 min 和 120 min NF- κ B 活性明显高于存活组(P 均 <0.05)。**结论** 限制性液体复苏可显著降低失血性休克大鼠的 72 h 死亡率;PBMC 中 NF- κ B 活性与预后密切相关,NF- κ B 活性高则提示预后不良,而限制性液体复苏时 NF- κ B 活性明显降低,有助于改善预后。

【关键词】 休克,失血性; 液体复苏; 外周血单个核细胞; 核转录因子- κ B

Effects of different means of fluid resuscitation on the activity of nuclear factor - κ B in peripheral blood mononuclear cells in rats with hemorrhagic shock ZHAO Zhong-jiang, SUN Ji-wu, DENG Zhe. Department of Emergency, Shenzhen Second People's Hospital, Shenzhen Emergency Center, Shenzhen 518035, Guangdong, China

【Abstract】Objective To observe the effects of different means of fluid resuscitation on the activity of nuclear factor - κ B (NF - κ B) in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in rats with hemorrhagic shock. **Methods** Rat models of hemorrhagic shock were reproduced using the modified Capone method. Thirty-two SD rats were randomly divided into four groups: control group, no fluid resuscitation group, limited fluid resuscitation group, large quantity fluid rapid resuscitation group (each $n=8$). The survival time and survival rate of each group were compared. The activities of NF - κ B in PBMC were assessed with enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The survival time of limited fluid resuscitation group was longer than that of large quantity fluid rapid resuscitation group and that of no fluid resuscitation group (both $P<0.05$). The 72 - hour survival rate in limited fluid resuscitation group was higher than that in large quantity fluid rapid resuscitation group and also in no fluid resuscitation group, while lower than that of control group (all $P<0.05$). The activities of NF - κ B in PBMC increased significantly 60 and 120 minutes after injury compared with those before injury except control group, that of 120 minutes was higher than 60 minutes (all $P<0.05$). The activities of NF - κ B in limited fluid resuscitation group was lower than those in large quantity fluid rapid resuscitation group and also in no fluid resuscitation group (all $P<0.05$). The activities of NF - κ B in the died rats were higher than those of the survivors 60 and 120 minutes after injury (both $P<0.05$). **Conclusion** The results of our study demonstrate that the limited fluid resuscitation during hemorrhagic shock could raise the 72 - hour survival rate and prolong survival time. The poor prognosis of hemorrhagic shock was associated with high NF - κ B activity in PBMC, which could be lowered with limited fluid resuscitation.

【Key words】 hemorrhagic shock; fluid resuscitation; peripheral blood mononuclear cell; nuclear factor - κ B

失血性休克是临床上常见急危重症,其病理生理过程和救治方法一直是研究的热点。失血性休克可以导致炎症反应激活,过度的炎症反应是多器官

功能障碍综合征(MODS)发生的重要病理生理基础。核转录因子- κ B(NF- κ B)是调节炎症反应的中枢环节^[1],但对其在失血性休克中调节作用的研究不多。本研究采用活动性出血制备 SD 大鼠失血性休克模型,观察不同方式液体复苏对大鼠外周血单个核细胞(PBMC)中 NF- κ B 活性的变化,以探讨不同方式液体复苏对失血性休克大鼠炎症免疫反应的影响。

基金项目:广东省深圳市科技计划基金资助项目(2005166)

作者单位:518035 深圳市第二人民医院急诊科,深圳市急救医疗中心

作者简介:赵中江(1964-),男(汉族),山东省人,主任医师 (Email:zj_zzj@21cn.com)。

1 材料与方法

1.1 麻醉和监测: 雄性 SD 大鼠 50 只, 体重 280~450 g, 由南方医科大学实验动物中心提供。腹腔注射 10 g/L 戊巴比妥钠(40 mg/kg) 麻醉大鼠, 固定于 25 °C 的恒温板上, 置颈动脉和股静脉导管, 肝素 500 U/kg 抗凝, 颈动脉导管连接压力转换器和监护仪进行持续血流动力学监测并抽取血液样本, 股静脉导管用于连接输液泵进行液体复苏。完成上述操作后, 符合以下条件者入选本实验: ①置管操作中出血量 < 0.2 ml (通过手术纱布在术前、术后的重量差值计算得出, 1 g = 0.9 ml); ②观察 10 min, 大鼠血流动力学状态平稳并有自主呼吸。共有 32 只大鼠符合条件进入本实验。

1.2 动物模型制备: 参照文献[2]方法略有改动制备未控制失血性休克动物模型。每 5 min 经颈动脉导管取血 1 次, 共抽 4 次(前 2 次为每次 10 ml/kg, 后 2 次为每次 5 ml/kg), 将抽取的血液经肝素抗凝处理以备急救时回输。30 min 时在离鼠尾根部 1/4 处切断鼠尾, 造成活动性出血, 用预先装有肝素的无菌容器盛接血液以用于急救时回输。断尾后(院前期)采用输液泵输入等渗盐水 2 ml · kg⁻¹ · min⁻¹ 进行早期液体复苏, 根据实际血压和目标血压而选择开或关, 必要时加快或减慢输液速度。于断尾后 60 min (急救期) 开始进行手术止血, 并输入足量液体(包括输血)至平均动脉压(MAP) ≥ 80 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa), 血细胞比容 ≥ 0.30。

1.3 动物分组: 将符合条件的 32 只大鼠按随机数字表法分为 4 组, 每组 8 只。①对照组仅进行插管和检测, 未给予任何处理和治疗; ②无液体复苏组在院前期未给予任何液体输入, 但在急救期接受手术止血和足量液体输入; ③限制性液体复苏组在院前期给予等渗盐水限制性输入, 维持 MAP 在 40 mm Hg 左右, 并在急救期接受手术止血和足量的液体输入; ④快速大量液体复苏组在院前期给予等渗盐水快速大量输入, 维持 MAP 在 80 mm Hg 左右, 并在急救期接受手术止血和足量的液体输入。4 组大鼠的体重、血红蛋白含量、血细胞比容和血小板计数等基础情况比较差异均无显著性, 有可比性。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 标本收集: 于大鼠断尾后 0、60 和 120 min 由颈动脉置管处抽取 1 ml 血液, 按文献[3]方法分离出 PBMC, 于 -80 °C 冻存备测。每次动脉取血后立即回输等量的血液以补充血容量。

1.4.2 NF-κB 检测: 参照 Schrum 等^[4]方法提取

PBMC 总蛋白, 用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 NF-κB 活性, 试剂盒购于深圳晶美生物工程有限公司, 严格按试剂盒说明书操作。

1.4.3 大鼠存活率: 观察 72 h 各组大鼠的存活率。

1.5 统计学处理: 使用 SPSS11.5 软件。资料采用完全随机分组设计方法, 所有数据用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 经方差齐性、正态分布检验后, 符合条件者采用单因素方差分析检验, 否则采用 Kruskal-Wallis 检验; 组内比较采用配对 *t* 检验, 率的比较采用 χ^2 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠存活时间和存活率比较(表 1): 限制性液体复苏组大鼠的存活时间比快速大量液体复苏组及无液体复苏组均明显延长; 限制性液体复苏组 72 h 大鼠存活率均明显高于快速大量液体复苏组和无液体复苏组, 但低于对照组(*P* 均 < 0.05)。

表 1 各组大鼠存活时间和 72 h 存活率比较(*n* = 8)

Table 1 Comparison of survival time and 72-hour survival rate of rats in each group (*n* = 8)

组别	存活时间($\bar{x} \pm s$, h)	72 h 存活率[%(%)]
对照组	72.00 ± 0.00	8(100)
无液体复苏组	30.95 ± 20.65 [△]	2(25) [△]
限制性液体复苏组	62.67 ± 15.97 ^{△*#}	6(75) ^{△*#}
快速大量液体复苏组	31.78 ± 22.64 [△]	2(25) [△]

注: 与对照组比较: [△]*P* < 0.05; 与无液体复苏组比较: **P* < 0.05; 与快速大量液体复苏组比较: #*P* < 0.05

2.2 各组创伤后不同时间点 PBMC 中 NF-κB 活性比较(表 2): 除对照组以外, 其余各组在创伤后 60 min 和 120 min PBMC 中 NF-κB 活性均较创伤前明显升高, 创伤后 120 min 时活性大于 60 min; 不同方式液体复苏组间两个时间点快速大量液体复苏组 PBMC 中 NF-κB 活性最高, 无液体复苏组次之, 限制性液体复苏组最低, 组间比较差异均有显著性(*P* 均 < 0.05)。

表 2 各组大鼠创伤后不同时间点 PBMC 中 NF-κB 活性的变化($\bar{x} \pm s$, *n* = 8)

Table 2 Change of NF-κB activity of rats at different time points after injury in each group ($\bar{x} \pm s$, *n* = 8) μg/L

组别	创伤前	创伤后 60 min	创伤后 120 min
对照组	9.23 ± 2.56	8.74 ± 3.86	9.90 ± 2.96
无液体复苏组	18.84 ± 8.09	66.98 ± 23.64 ^{△*}	108.79 ± 42.96 ^{△*□}
限制性液体复苏组	19.90 ± 7.93	41.76 ± 23.12 ^{#*△*}	73.64 ± 29.08 ^{#*△*□}
快速大量液体复苏组	17.89 ± 9.27	98.92 ± 29.67 ^{*△*}	144.65 ± 23.89 ^{*△*□}

注: 与对照组比较: [△]*P* < 0.05; 与无液体复苏组比较: **P* < 0.05; 与快速大量液体复苏组比较: #*P* < 0.05; 与本组创伤前比较: [☆]*P* < 0.05; 与本组创伤后 60 min 比较: [□]*P* < 0.05

2.3 失血性休克大鼠液体复苏后存活组与死亡组 PBMC 中 NF- κ B 活性比较(表 3):24 只失血性休克大鼠经过不同方式的液体复苏,72 h 内有 10 只存活,其中无液体复苏组 2 只,限制性液体复苏组 6 只,快速大量液体复苏组 2 只;14 只死亡。创伤后 60 min 和 120 min 死亡组 PBMC 中 NF- κ B 活性均明显高于存活组(P 均 <0.05)。

表 3 失血性休克大鼠创伤后不同时间点存活组与死亡组 PBMC 中 NF- κ B 活性的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of NF- κ B activity in PBMC of hemorrhagic shock rats at different time points after injury between survival group and death group($\bar{x}\pm s$) $\mu\text{g/L}$

组别	动物数(只)	创伤后 60 min	创伤后 120 min
存活组	10	36.98 \pm 23.69	92.04 \pm 25.47
死亡组	14	86.39 \pm 26.40*	124.29 \pm 33.59*

注:与存活组比较;* $P<0.05$

3 讨论

以往对于创伤失血性休克的常规治疗是迅速恢复血容量,快速输入大量液体,尽可能将血压恢复到正常水平。随着对休克病理生理过程的深入研究,有学者提出了延迟复苏(限制性液体复苏)的概念,即对创伤失血性休克,特别是有活动性出血的休克患者,不主张快速给予大量液体进行即刻复苏,而主张在到达手术室彻底止血前,只给予少量的平衡液维持机体基本需求,在手术彻底处理后再进行大量液体复苏^[5]。来自不同种类的动物实验和临床研究均表明,有活动性出血时在彻底止血前快速大量液体复苏可造成失血加速,不易形成凝血块或使已形成的凝血块脱落,血液过度稀释引起稀释性凝血功能障碍和减少组织氧供而加重酸中毒^[6,7]。另外,早期快速大量液体复苏可加重组织缺血/再灌注损伤,激活炎症免疫反应。由此看来,对失血性休克是否需要早期复苏取决于失血的情况和患者的状态,为避免患者在短期内死亡,对大出血和严重休克患者给予液体复苏是必要的,但同时也应该避免因快速和大量液体复苏所引发的问题^[8]。在创伤失血性休克早期进行限制性液体复苏,其主要目的是寻求一个复苏平衡点,在此既可通过液体复苏适当恢复组织器官的血流灌注,又不至于过多地扰乱机体的代偿机制和内环境。

研究表明,严重创伤可引起过度的炎症反应,继而并发急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、全身炎症反应综合征(SIRS)和 MODS^[9]。NF- κ B 作为一种普遍存在的核转录因子,是多种信号转导途径的汇聚点,其活化和移位入细胞核后可介导炎症细胞因子

如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1(IL-1)、IL-6 等转录,在调节危重病患者炎症反应的基因中起关键作用。Altavilla 等^[10]在失血性休克小鼠模型中发现,休克早期即出现肺、肝、脑细胞 NF- κ B 的活化,提示 NF- κ B 为 MODS 病理生理变化的启动因子。Brundage 等^[11]在未控制失血性休克猪模型中发现,NF- κ B 活性明显升高,并与休克严重程度成正比。严重失血性休克时血容量减少导致组织器官血流灌注减少、重要组织器官缺氧,以及液体复苏导致的各重要器官缺血/再灌注损伤、继发感染、组织肌肉坏死等,都会促进局部炎症因子的释放,引起炎症“瀑布效应”,进一步加重损伤,最终导致宿主防御衰竭,即出现 MODS^[12]。本研究结果表明,除对照组外,其余各组在创伤后 60 min NF- κ B 活性均较创伤前有明显升高,死亡组 NF- κ B 活性明显高于存活组,提示失血性休克后 NF- κ B 的活性与预后密切相关,NF- κ B 活性高提示预后不良。因此,可以在临床上进一步研究 NF- κ B 活性水平,并以此作为判断失血性休克患者预后的指标。

研究限制性液体复苏对失血性休克时 NF- κ B 活性的影响,有助于明确限制性液体复苏降低失血性休克死亡率的机制。目前,国内外有关这方面的报道还较少见。本研究发现,创伤后 60 min 和 120 min 快速大量液体复苏组 PBMC 中 NF- κ B 活性均明显高于限制性液体复苏组及无液体复苏组。由于血清 NF- κ B 活性升高与预后密切相关,因此,从分子机制方面也进一步证实了限制性液体复苏较快速大量液体复苏可降低失血性休克死亡率,改善预后。提示在临床救治失血性休克患者时应适当减少出血未控制期的液体输入量,既保证组织器官有一定的血流灌注,又防止大量液体输入引起缺血/再灌注损伤及凝血障碍,从而早期阻断炎症反应进程,减少失血性休克后发生 ARDS、SIRS 及 MODS 的可能性。

参考文献:

- 1 梁华平,王正国,朱佩芳. 针对 SIRS 的新型抗炎靶点及抗炎策略研究进展——从炎症介质到核因子- κ B[J]. 中国危重病急救医学,2001,13(11): 649-652.
- 2 Capone A C, Safar P, Stezoski W, et al. Improved outcome with fluid restriction in treatment of uncontrolled hemorrhagic shock [J]. J Am Coll Surg, 1995, 180(1): 49-56.
- 3 刘先胜,徐永健,张珍祥,等. 哮喘患者外周血淋巴细胞蛋白激酶 C 活性变化的研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 1999, 22(8): 461-464.
- 4 Schrum L W, Black D, Iimuro Y, et al. c-Jun does not mediate hepatocyte apoptosis following NF- κ B inhibition and partial hepatectomy[J]. J Surg Res, 2000, 88(2): 142-149.
- 5 王钦存,肖南,刁有芳,等. 未控制出血性休克早期液体复苏的实

- 验研究[J]. 中国危重病急救医学, 2002, 14(12): 746-749.
- 6 Kim S H, Stezowski S W, Safar P, et al. Hypothermia and minimal fluid resuscitation increase survival after uncontrolled hemorrhagic shock in rats[J]. J Trauma, 1997, 42(2): 213-222.
 - 7 Stern S A, Dronen S C, Wang X. Multiple resuscitation regimens in a near-fatal porcine aortic injury hemorrhage model[J]. Acad Emerg Med, 1995, 2(2): 89-97.
 - 8 林洪远. 复苏理念的更新值得关注[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(9): 513-515.
 - 9 Giannoudis P V, Hildebrand F, Pape H C. Inflammatory serum markers in patients with multiple trauma, can they predict outcome[J]? J Bone Joint Surg Br, 2004, 86(3): 313-323.
 - 10 Altavilla D, Saitta A, Squadrito G, et al. Evidence for a role of nuclear factor- κ B in acute hypovolemic hemorrhagic shock[J]. Surgery, 2002, 131(1): 50-58.
 - 11 Brundage S I, Schreiber M A, Holcomb J B, et al. Amplification of the proinflammatory transcription factor cascade increases with severity of uncontrolled hemorrhage in swine[J]. J Surg Res, 2003, 113(1): 74-80.
 - 12 Van Griensen M, Kretek C, Pape H C. Immune reactions after trauma[J]. Eur J Trauma, 2003, 29(4): 181-192.
- (收稿日期: 2006-09-20 修回日期: 2007-02-10)
(本文编辑: 李银平)

• 经验交流 •

血液灌流加血液透析抢救急性药物及毒物中毒 27 例

刘建香 杨云华 赵连玉

【关键词】 血液灌流; 血液透析; 中毒

血液灌流(HP)可清除机体内源性和外源性毒物, 目前已成为临床抢救急性药物、毒物中毒的首选措施, 但由于各类药物、毒物毒理性不同, 以及当患者常伴有各类严重并发症时, 单一 HP 治疗往往难以达到满意效果。我院 1996 年 1 月—2006 年 12 月对 27 例急性药物、毒物中毒患者行 HP 加血液透析(HD)抢救治疗, 疗效显著, 报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料: 男 16 例, 女 11 例; 镇静催眠药 10 例, 抗精神失常药 9 例, 有机磷农药 5 例, 拟除虫菊酯类农药 2 例, 鼠药 1 例; 服毒后至开始 HP/HD 时间为 3~12 h; 入院时深昏迷 9 例, 浅昏迷 11 例, 嗜睡 7 例, 低血压 9 例; 全部患者血小板计数(PLT)均在正常范围内。

1.2 治疗方法: 灌流器(YTS-200 型爱尔炭肾)串联置于透析器前, 将炭肾进行肝素化, 采用股静脉插管建立临时动静脉通路, 首次肝素剂量 1~2 mg/kg, 以后 10~15 mg/h, 治疗结束前 0.5 h 停用; 若患者无出血倾向, 一般不需检测全血部分凝血活酶时间; 血流量从 50~100 ml/min 开始, 待患者生命体征平稳时逐渐加大至 150~200 ml/min, 治疗 2~3 h。8 例患者进行 2 次治疗, 2 次治

作者单位: 300140 天津市第四中心医院肾内科

作者简介: 刘建香(1963-), 女(汉族), 天津市人, 副主任医师(E-mail: ljx6ljx@163.com)。

疗间隔 12~24 h, 治疗过程中密切观察患者意识状态, 监护生命体征, HP/HD 后结合 PLT 及有无出血倾向, 酌情用适量鱼精蛋白中和肝素。

1.3 结果: 27 例经 HP/HD 后, 26 例治愈, 成功率 96.3%。HP/HD 后 24 h 内意识转清; 其中 4 h 内清醒 20 例, 10 h 内清醒 4 例, 24 h 后清醒 1 例; 1 例杀灭菊酯中毒者在首次 HP/HD 后清醒, 24 h 后再次昏迷, 立即行 HP/HD 后好转; 1 例因家属放弃治疗自动出院。

2 讨论

采用 HP 联用 HD, 既可收到 HD 清除水分和小分子毒素、纠正电解质和酸碱平衡紊乱的效果, 也可达到 HP 清除特殊毒物的目的。对不明毒物、药物中毒或性质不明确的毒物中毒, 尤其对混合性药物中毒、大量饮酒后服毒等患者, HD 可弥补 HP 清除水溶性药物, 特别是游离或解离的小分子毒物不足; 借助 HD 的超滤作用, 可大量补充液体, 增强利尿的解毒作用, 减轻心、肾等器官负担, 增强解毒效果; 联用还可适当延长治疗时间, 避免单纯 HP 可能造成的电解质紊乱, 防止重吸收等反跳现象, 而且透析机加温透析液使血路加温^[1], 患者不会出现畏寒、寒颤反应。

治疗时间越早越好。有研究表明采用 HP 治疗 2 h, 血中有机磷农药浓度为 0, 间隔 22~34 h 再次行 HP, 可获相同效果^[2]。采用 HP 技术成功的关键在于掌握好灌流时机, 越早越好, 以服毒后

6 h 内治疗效果最佳, 此时, 血中药物或毒物浓度达高峰, 且多以游离状态存在, 因此清除的效能最高。每次 HP 治疗时间为 2~3 h, HP 3 h 吸附剂已基本饱和, 再延长时间不仅不能增加毒物清除率, 反而使所吸附的毒物开始被解除置换下来, 加重病情^[3]。由于 HP 与 HD 亦可将解磷定、阿托品等药物清除, 出现阿托品用量不足, 故应在 HP/HD 治疗有机磷农药中毒的同时, 及时补充调整阿托品等的用量。班文明等^[4]研究表明, 采用阿托品加 HP 治疗重度有机磷农药中毒较单纯使用阿托品, 可明显提高治愈率, 且给药次数与用量也明显减少。治疗过程中肝素用量应足够, 可根据患者的体重、PLT 及有无出血倾向而具体确定, 如果肝素用量过少, 易引起“凝罐”现象。

参考文献:

- 1 陈思静, 甘华. 血液灌流串联血液透析抢救急性中毒的临床应用[J]. 中国急救医学, 2001, 21(4): 239.
- 2 于笑霞, 韩和平, 李培新, 等. 血液灌流治疗急性有机磷农药中毒中间综合征的疗效研究[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(1): 54-55.
- 3 马建海, 朱庆荣. 血液灌流抢救重度有机磷农药中毒的疗效观察[J]. 中国危重病急救医学, 1996, 8(8): 479.
- 4 班文明, 倪代梅, 孙冬冬. 血液灌流加阿托品治疗重度有机磷农药中毒疗效观察[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12(3): 158.

(收稿日期: 2007-03-23)

(本文编辑: 李银平)