

# 肝素对脓毒症大鼠静脉血白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 和血管紧张素 I 表达的影响

陈松 马晓春

【关键词】 脓毒症； 肝素； 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ； 白细胞介素-6； 血管紧张素 I

严重脓毒症常发生器官功能不全，如急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、急性肾衰竭和急性肝衰竭等，如果发生脓毒性休克，即使通过液体复苏仍会出现难以纠正的低血压<sup>[1-2]</sup>。目前认为脓毒症的发生与炎症、凝血功能失调密切相关，炎症、凝血之间的稳态失调将引发器官功能衰竭，最终导致死亡<sup>[3-4]</sup>。肝素作为一种抗凝剂，同时具有抗炎作用<sup>[5]</sup>，或许可成为脓毒症治疗的新策略<sup>[6]</sup>。本研究中通过观察肝素对脓毒症大鼠血中炎症细胞因子水平的影响，探讨肝素抑制炎症反应的可能机制。

## 1 材料与方 法

**1.1 动物分组及模型制备：**健康雄性 Wistar 大鼠 24 只，体重 250~300 g，由中国医科大学动物部提供(动物合格证号：SCXK(辽)2008-0005)。按随机数字表法将大鼠分成正常对照组、模型组、肝素对照组、肝素治疗组 4 组，每组 6 只。采用腹腔静脉注射脂多糖(LPS，美国 Sigma 公司)7 mg/kg 制备脓毒症动物模型<sup>[7]</sup>。制模前 30 min 股静脉注射肝素 100 U/kg。

**1.2 检测指标及方法：**在注射 LPS 后 0、3、6、9、12、24 h 取股静脉血，采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、血管紧张素 I (Ang I)水平，操作严格按试剂盒(美国 RB 公司)说明书进行。

**1.3 统计学处理：**使用 SPSS 16.0 软件，数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示，行

F 检验， $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 肝素对血中 IL-6、TNF- $\alpha$  水平的影响(图 1)：**模型组 IL-6、TNF- $\alpha$  均较正常对照组明显升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )，3 h 时 IL-6 水平达高峰，随后缓慢下降；TNF- $\alpha$  水平于 3 h 达高峰后迅速下降。肝素治疗组 IL-6、TNF- $\alpha$  水平较模型组明显降低，但仍高于正常对照组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。肝素对照组 IL-6、TNF- $\alpha$  水平与正常对照组相当。

**2.2 肝素对血中 Ang I 水平的影响(图 1)：**模型组 Ang I 水平较正常对照组明显升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )，分别于 6 h 和 12 h 达高峰；肝素治疗组 Ang I 较模型组明显降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。肝素对照组 Ang I 水平与正常对照组相当。

## 3 讨 论

对重症医学科医师来说，治疗严重脓毒症和脓毒性休克面临很大的挑战，尽管支持疗法有了长足的进步，但脓毒性休克的发生率和病死率依然很高。最近在中国 6 个省 10 所大学附属医院外科重症监护病房(ICU)的前瞻性研究观察了 3 665 例患者，报道的严重脓毒症发病率为 8.68%，病死率为 48.70%，患者平均住院费用是 1.139 万美元；除感染微生物的类型不同外，严重脓毒症的发病率、病死率及其他主要临床特点与发达国家的相近<sup>[8]</sup>。随着人口老龄化，免疫抑制剂的广泛应用和侵入性操作的增加，脓毒症发病率以每年 1.5% 的速度逐年增高<sup>[9]</sup>。脓毒症已成为重症医学的严峻挑战之一，对其病理机制的深入了解可能有助于治疗水平的提高。

目前对脓毒症患者的生理状态评价主要采用急性生理学及慢性健康状况评分系统 I (APACHE I) 评分或多器官功能障碍(MOD)评分系统。最近研究发现患者血浆实验室指标可以作为两种评分系统的有益补充。血浆 IL-6 浓度与疾

病严重程度密切相关，对临床预后具有明显预测价值，而对蛋白 C(PC)、IL-8、IL-10、TNF- $\alpha$  和降钙素原的浓度无明显评价价值<sup>[10]</sup>。肾上腺髓质素前体肽原(Prepro-ADM)是一个新的标记物，测定其浓度也可在脓毒症危险分层中发挥重要作用<sup>[11]</sup>。结合血浆实验室指标和评分系统综合评估治疗效果是重症医学科医师值得关注的。开展血浆实验室指标的大队列研究，判断指标的临床诊断性价值是可行和必要的。

经典观点认为脓毒症的病理机制是炎症的过度反应，控制炎症过度反应也许是治疗脓毒症策略之一。李鑫和马晓春<sup>[12]</sup>报道，血必净注射液对 LPS 诱导大鼠肾脏微血管内皮细胞具有保护作用。炎症反应主要通过释放细胞因子实现。细胞因子的大量释放，导致组织损伤和器官功能不全<sup>[1-13]</sup>。其中 TNF- $\alpha$  是导致脓毒症的核心细胞因子，TNF- $\alpha$  增强内皮细胞细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)和趋化因子的表达，增强白细胞的聚集效应；上调整合素的黏合性，促进中性粒细胞的活化和外渗，外渗至肺、肝、肠道等器官的中性粒细胞释放氧自由基和蛋白酶导致组织损伤；活化单核/巨噬细胞，促进其他促炎因子的分泌，扩增炎症反应<sup>[14]</sup>。

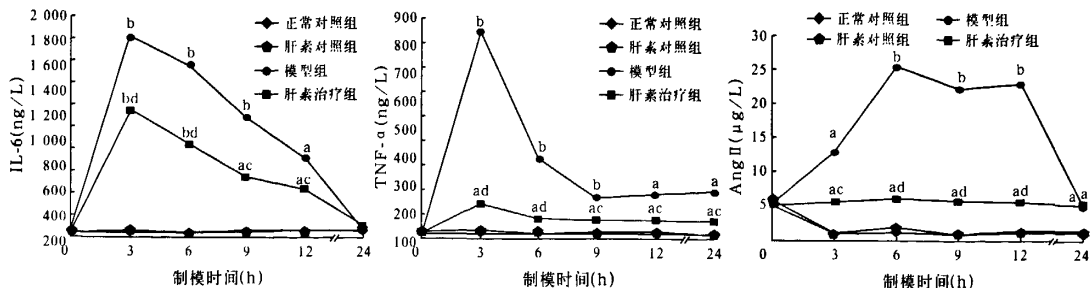
天然抗凝剂如抗凝血酶(AT)、组织因子通路抑制物(TFPI)和 PC 表达下调可加重脓毒症的高凝状态。肝素具有抗凝和抗炎作用<sup>[5]</sup>，这种抗炎作用可能是通过调节血浆 AT<sup>[15]</sup>或活化蛋白 C (APC)水平<sup>[16]</sup>，抑制核转录因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)表达实现的<sup>[17]</sup>，鉴于此，肝素也许与 APC 具有相似的治疗效应<sup>[6]</sup>。在脓毒症动物模型中，肝素治疗策略具有的明显保护性作用，可以提高实验动物的存活率<sup>[18]</sup>。最近一项多中心回顾性队列研究评价了早期应用肝素治疗对脓毒症患者的保护作用。共 2 356 例脓毒症患者入组，其中 722 例接受静脉肝素治疗，

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.09.014

基金项目：辽宁省科技厅药物源头创新研究项目(2007-01-27-7)；辽宁省教育厅高校科研计划项目(2008836)；辽宁省沈阳市科技项目(F10-205-1-01)

作者单位：110001 辽宁沈阳，中国医科大学附属第一医院重症医学科

通信作者：马晓春，Email: xcma2972@sina.com



注:IL-6:白细胞介素-6,TNF-α:肿瘤坏死因子-α,Ang II:血管紧张素 II;  
与正常对照组比较,\*P<0.05,bP<0.01,与模型组比较,cP<0.05,dP<0.01

图1 肝素对脓毒症大鼠血中炎症细胞因子水平的影响

治疗组 28 d 病死率降低了 4.1%;进一步分析亚组患者,APACHE I 评分为 29~53 分的极危重组 28 d 病死率明显降低,达 13%,而在出血等副作用方面,治疗组和对照组无差异。说明早期应用肝素治疗可能与脓毒性休克患者病死率降低相关,这种相关性在重症患者中更加明显<sup>[19]</sup>。由于回顾性队列研究本身的局限性,肝素的治疗效应需要大样本前瞻性随机试验进一步证明。在低分子肝素治疗脓毒症方面,国内文献报道在 40 例脓毒症患者,低分子肝素治疗可通过抑制炎症介质和氧自由基释放降低脓毒症病死率<sup>[20]</sup>。在器官功能损伤方面,低分子肝素通过改善微循环,间接抑制 NF-κB,减少中性粒细胞及血小板的黏附,从而减轻肺损伤<sup>[21]</sup>。本研究中肝素治疗组静脉血 IL-6、TNF-α、Ang II 较模型组明显降低,肝素能下调血 Ang II 表达,抑制脓毒症炎症反应。

综上所述,肝素的旧药新用,也许成为 APC 替代治疗的新思路。选择具有抗炎、抗凝、抗凋亡作用的药物,也许可以成为治疗脓毒症的一种综合策略。

参考文献

[1] Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock; 2008. Crit Care Med, 2008, 36: 296-327.  
[2] Rice TW, Bernard GR. Therapeutic intervention and targets for sepsis. Annu Rev Med, 2005, 56: 225-248.  
[3] Esmon C. The protein C pathway. Crit Care Med, 2000, 28: S44-48.  
[4] Grinnell BW, Joyce D. Recombinant human activated protein C: a system modulator of vascular function for treatment of severe sepsis. Crit Care

Med, 2001, 29: S53-60.  
[5] Carr J. The anti-inflammatory action of heparin; heparin as an antagonist to histamine, bradykinin and prostaglandin E1. Thromb Res, 1979, 16: 507-516.  
[6] Agarwal R, Gupta D. Anticoagulation in sepsis; is low-dose heparin as effective as activated protein C? Intensive Care Med, 2005, 31: 1297-1298.  
[7] Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. Science, 1999, 285: 248-251.  
[8] Cheng B, Xie G, Yao S, et al. Epidemiology of severe sepsis in critically ill surgical patients in ten university hospitals in China. Crit Care Med, 2007, 35: 2538-2546.  
[9] Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States; analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med, 2001, 29: 1303-1310.  
[10] Oberholzer A, Souza SM, Tschoeke SK, et al. Plasma cytokine measurements augment prognostic scores as indicators of outcome in patients with severe sepsis. Shock, 2005, 23: 488-493.  
[11] 康福新, 俞康龙. 前肾上腺髓质素作为脓毒症危险分层新标志物的探讨. 中国危重病急救医学, 2008, 20: 452-455.  
[12] 李鑫, 马晓春. 血必净注射液对脂多糖诱导大鼠肾脏微血管内皮细胞组织因子表达的影响及机制探讨. 中国中西医结合急救杂志, 2009, 16: 218-222.  
[13] Bone RC. Immunologic dissonance; a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the

multiple organ dysfunction syndrome (MODS). Ann Intern Med, 1996, 125: 680-687.  
[14] Reinhart K, Karzai W. Anti-tumor necrosis factor therapy in sepsis; update on clinical trials and lessons learned. Crit Care Med, 2001, 29: S121-125.  
[15] Wiedermann CJ. Clinical review; molecular mechanisms underlying the role of antithrombin in sepsis. Crit Care, 2006, 10: 209.  
[16] Iba T, Kidokoro A, Fukunaga M, et al. Antithrombin ameliorates endotoxin-induced organ dysfunction more efficiently when combined with danaparoid sodium than with unfractionated heparin. Intensive Care Med, 2005, 31: 1101-1108.  
[17] Thourani VH, Brar SS, Kennedy TP, et al. Nonanticoagulant heparin inhibits NF-kappa B activation and attenuates myocardial reperfusion injury. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000, 278: H2084-2093.  
[18] Yang S, Hauptman JG. The efficacy of heparin and antithrombin III in fluid-resuscitated cecal ligation and puncture. Shock, 1994, 2: 433-437.  
[19] Zarychanski R, Doucette S, Fergusson D, et al. Early intravenous unfractionated heparin and mortality in septic shock. Crit Care Med, 2008, 36: 2973-2979.  
[20] 艾宇航, 张丽娜, 龚华, 等. 低分子肝素治疗脓毒症的前瞻性临床研究. 中国危重病急救医学, 2005, 17: 736-739.  
[21] 栾正刚, 娜拉·普鲁, 章志丹, 等. 低分子肝素和阿司匹林对急性肺损伤的治疗作用. 中国危重病急救医学, 2006, 18: 456-458.

(收稿日期: 2010-08-10)  
(本文编辑: 李银平)