

• 论著 •

脓毒症患者血小板参数与 Toll 样受体 4 表达的关系及中西医结合治疗研究

王兵 王勇强 曹书华 梁勇

【摘要】 目的 观察西药联合加味凉膈散对脓毒症患者血小板参数变化及活化状态与血小板 Toll 样受体 4 (TLR4) 表达、炎症反应变化的影响。方法 64 例脓毒症患者依据“不平衡指数最小的分配原则”随机分为西医常规治疗组(X 组, 32 例)和西医联合加味凉膈散组(L 组, 32 例), 比较两组患者入院时及治疗 3、5、9 d 的血小板计数(PLT)、平均血小板体积(MPV)、血小板分布宽度(PDW)、血小板 TLR4 阳性表达率、血小板膜糖蛋白 GP II b/III a 的半胱天冬酶原活化复合物-1 (PAC-1) 表位阳性表达率及血浆可溶性 CD40 配体 (sCD40L)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 浓度变化, 以及急性生理学及慢性健康状况评分系统 I (APACHE I) 评分、重症监护病房 (ICU) 住院时间、出血事件及 28 d 病死率。以同期 15 例健康体检者作为对照组(C 组)。结果与 C 组比较, 脓毒症患者 PLT ($\times 10^9/L$) 显著降低 (211.37 ± 77.84 比 272.33 ± 34.23 , $P < 0.01$), MPV (fL)、PDW (fL) 均显著增大 (MPV: 10.24 ± 0.81 比 9.64 ± 0.66 ; PDW: 17.79 ± 1.68 比 15.61 ± 1.54 , $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$), 伴有血小板 TLR4 及 PAC-1 表达上调 [TLR4: (39.93 ± 9.07)% 比 (23.50 ± 4.68)%, PAC-1: (42.21 ± 8.74)% 比 (21.02 ± 3.49)%, 均 $P < 0.01$], 血浆中 sCD40L ($\mu g/L$) 和 TNF- α (ng/L) 浓度显著上升 (sCD40L: 6.94 ± 1.05 比 3.27 ± 0.41 ; TNF- α : 60.10 ± 9.77 比 4.08 ± 3.08 , 均 $P < 0.01$)。治疗后 9 d, L 组肝肾功能、TLR4 和 PAC-1 表达及血浆 sCD40L、TNF- α 浓度较 X 组显著降低 [肌酐 ($\mu mol/L$): 106.2 ± 34.4 比 127.5 ± 43.7 ; 丙氨酸转氨酶 (U/L): 31.7 ± 12.5 比 41.9 ± 19.9 ; 天冬氨酸转氨酶 (U/L): 54.1 ± 21.6 比 68.5 ± 24.1 ; TLR4: (27.14 ± 6.08)% 比 (30.92 ± 5.47)%; PAC-1: (27.52 ± 6.51)% 比 (31.24 ± 5.77)%; sCD40L: 3.86 ± 0.69 比 4.38 ± 0.73 ; TNF- α : 22.06 ± 7.19 比 28.25 ± 8.99 , $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$], PLT ($\times 10^9/L$) 较 X 组显著升高 (261.93 ± 55.32 比 231.37 ± 63.58 , $P < 0.05$)。相关性分析显示: 脓毒症患者血小板 PAC-1 表达与 PLT 呈负相关 ($r = -0.409$, $P < 0.01$), 与 MPV、PDW、血小板 TLR4 表达、血浆 sCD40L 水平呈正相关 ($r_1 = 0.262$, $r_2 = 0.318$, $r_3 = 0.341$, $r_4 = 0.519$, 均 $P < 0.01$); sCD40L 与 TNF- α 呈正相关 ($r = 0.542$, $P < 0.01$)。L 组 ICU 住院时间 (d) 明显短于 X 组 (8.06 ± 2.86 比 9.31 ± 2.48 , $P < 0.05$), 出血发生率低于 X 组 (12.5% 比 21.9% , $P < 0.05$), 9 d APACHE I 评分 (分) 显著低于 X 组 (12.75 ± 4.56 比 14.59 ± 3.97 , $P < 0.05$)。L 组与 X 组 28 d 病死率差异无统计学意义 (15.63% 比 18.75% , $P > 0.05$)。结论 脓毒症炎症反应常伴有血小板 TLR4 表达上调、血小板活化及 PLT 减少; 西医联合加味凉膈散可通过下调血小板 TLR4 表达、减少血小板活化及炎症介质的释放, 从而改善脓毒症患者血小板减少状态。

【关键词】 脓毒症; 凉膈散; 血小板减少; Toll 样受体 4; 膜糖蛋白 GP II b/III a; 可溶性 CD40 配体

Platelet parameters and platelet Toll-like receptor 4 (TLR4) expression in patients with sepsis, and the effect of a joint treatment-plan integrating traditional Chinese and western medicine: a clinical study WANG Bing, WANG Yong-qiang, CAO Shu-hua, LIANG Yong. Emergency Medicine Research Institute, Tianjin the First Center Hospital, Tianjin 300192, China

Corresponding author: WANG Yong-qiang, Email: yongqiangwang1962@sina.com

【Abstract】 **Objective** To examine the efficacy of a treatment regimen combining modern (Western) medication and a traditional Chinese medicinal recipe Modified Liang-Ge San (凉膈散) on sepsis, and its effect on platelet parameters/activation, platelet TLR4 expression and the intensity of inflammatory response in the patients. **Methods** 64 patients with sepsis were randomly assigned to two groups (32 each) to receive Western therapy only (group X) and Western therapy + Modified Liang-Ge San (group L). The values of: platelet count (PLT), mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW), the expression of TLR4 and procaspase activating compound-1 (PAC-1) in platelets, plasma concentration of soluble CD40 ligand (sCD40L) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were collected on the day of admission, and 3, 5, 9 days after treatment. Acute physiology and chronic health evaluation I (APACHE I) score, length of stay in intensive care unit (ICU), bleeding events and 28 day mortality in these patients were also analyzed. A group of 15 healthy volunteers (group C) were used as control. **Results** Compared to group C, the patients with sepsis have significantly: lower PLT ($\times 10^9/L$: 211.37 ± 77.84 vs. 272.33 ± 34.23 , $P < 0.01$), increased MPV (fL: 10.24 ± 0.81 vs. 9.64 ± 0.66 , $P < 0.05$) and PDW (fL: 17.79 ± 1.68 vs. 15.61 ± 1.54 , $P < 0.01$), up-regulated platelet TLR4 [(39.93 ± 9.07)% vs. (23.50 ± 4.68)%] and PAC-1 expression [(42.21 ± 8.74)% vs. (21.02 ± 3.49)%], both $P < 0.01$, and higher level of sCD40L ($\mu g/L$:

6.94±1.05 vs. 3.27±0.41) and TNF- α (ng/L; 60.10±9.77 vs. 4.08±3.08), both $P<0.01$. Compared to group X, group L had significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$, respectively) lower value in: creatinine ($\mu\text{mol/L}$: 106.2±34.4 vs. 127.5±43.7); alanine aminotransferase (U/L; 31.7±12.5 vs. 41.9±19.9); aspartate aminotransferase (U/L; 54.1±21.6 vs. 68.5±24.1); TLR4 [(27.14±6.08)% vs. (30.92±5.47)%]; PAC-1 [(27.52±6.51)% vs. (31.24±5.77)%]; sCD40L (3.86±0.69 vs. 4.38±0.73); TNF- α (22.06±7.19 vs. 28.25±8.99), and higher PLT (261.93±55.32 vs. 231.37±63.58, $P<0.05$), in the 9 days after treatment. In patients with sepsis, platelet PAC-1 expression correlated significantly to PLT ($r=-0.409$, $P<0.01$) negatively, and MPV, PDW, platelet TLR4 expression, plasma sCD40L ($r_1=0.262$, $r_2=0.318$, $r_3=0.341$, $r_4=0.519$, all $P<0.01$) positively; sCD40L and TNF- α was positively correlated ($r=0.542$, $P<0.01$) in these patients. In comparison with group X, the length of stay in ICU (day; 8.06±2.86 vs. 9.31±2.48), the incidence of bleeding (12.5% vs. 21.9%) and APACHE I score (12.75±4.56 vs. 14.59±3.97) were significantly lower (all $P<0.05$) in group L on the 9 days after treatment. No significant difference was found in 28 day mortality between group L and X (15.63% vs. 18.75%, $P>0.05$).

Conclusion In patients with sepsis, platelet TLR4 expression is elevated together with platelet activation. The joint application of Western medicine and Modified Liang-Ge San may suppress such up-regulation in TLR4/other inflammatory mediators, and alleviate platelet activation/thrombocytopenia in these patients.

【Key words】 Sepsis; Liang-Ge San; Thrombocytopenia; Toll like receptor 4; Glycoprotein I b/IIa; Soluble CD40 ligand

感染诱发的血小板减少症(TCP)是脓毒症患者死亡的独立危险因素^[1-2],改善血小板减少状态有助于改善患者预后。本研究旨在明确脓毒症患者血小板参数及 Toll 样受体 4(TLR4)表达变化与血小板活化的关系,探讨联合加味凉膈散的中西医结合疗法对脓毒症患者血小板相关参数及预后的影响。

1 资料与方法

1.1 研究设计:本研究为前瞻性随机对照临床研究,符合医学伦理学标准,得到医院伦理委员会的批准,取得患者或家属的知情同意。

1.2 诊断依据及入选标准:入选病例符合 2001 年“国际脓毒症会议关于脓毒症诊断标准”^[3]者。排除标准:恶性肿瘤;免疫系统疾病;造血系统严重损伤;年龄 <14 岁或 >75 岁;心肺复苏后;终末期肝肾衰竭;入院 24 h 内死亡;近 2 周应用肝素类抗凝剂及抗血小板制剂者。基础治疗参照 2003 年“拯救脓毒症战役”(SSC)会议制定的脓毒症治疗指南^[4]。至少 1 次血小板计数(PLT) $<150\times 10^9/L$ 为 TCP^[5]。

1.3 研究对象及分组:选择天津市第一中心医院重症监护病房(ICU)2008 年 5 月至 2009 年 12 月收治的脓毒症患者 64 例。主要感染部位:肺部感染 54 例,腹膜炎 6 例,胆道感染 5 例,颅内感染 2 例;16 例患者存在多部位感染。微生物培养阳性 36 例,其中革兰阴性(G⁻)杆菌 23 例,革兰阳性(G⁺)球菌

6 例,混合感染 7 例。将 64 例患者以“性别、年龄、病种、急性生理学与慢性健康状况评分系统 I (APACHE I)评分、PLT”5 个因素水平进行评分,依据“不平衡指数最小的分配原则”随机分为西医常规治疗组 32 例(X 组)、西医常规治疗联合加味凉膈散组 32 例(L 组)。以同期门诊 15 例健康体检者为健康对照组(C 组)。

1.4 治疗方法:两组患者给予西医常规基础治疗。L 组患者除基础治疗外,加服加味凉膈散,每日 1 剂,每日 2 次,每次 100 ml,连续口服或鼻饲 9 d。加味凉膈散组方:连翘 20 g,黄芩 10 g,栀子 20 g,淡竹叶 10 g,大黄 9 g,薄荷 6 g,芒硝 10 g,甘草 6 g,玄参 10 g,丹参 10 g,麦冬 10 g,西洋参 10 g(由中药颗粒配伍组成,江阴天江药业生产,批号:0806213;西洋参饮片为天津格斯基公司生产,批号:080301)。

1.5 观察指标及检测方法:于入院当日及 3、5、9 d 清晨 6 时取外周静脉血,用血细胞分析仪(Sysmex KX-21N,日本)检测 PLT、平均血小板体积(MPV)、血小板分布宽度(PDW);采用流式细胞仪(FACS Callibur,美国 BD 公司)检测全血的血小板表面 TLR4 阳性表达率、血小板膜糖蛋白 GP I b/IIa 的半胱天冬酶原活化复合物-1(PAC-1)表位阳性表达率[异硫氰酸荧光素(FITC)标记 PAC-1 及对照 PAC-1+RGDS,藻红蛋白(PE)标记抗人 TLR4 及 IgG2a 同型对照,叶丝素蛋白(Percp)标记 CD61,美国 BD 公司];聚合酶链反应(ELISA)法检测血浆中可溶性 CD40 配体(sCD40L)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α ,美国 ADL 公司)浓度;生化分析仪检测肝

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2011.10.014

基金项目:天津市医药卫生科技基金重点项目(10KG104)

作者单位:300192 天津市第一中心医院重症医学科,天津市急救医学研究所

通信作者:王勇强,Email,yongqiangwang1962@sina.com

肾功能。记录 APACHE I 评分、ICU 住院时间、出血事件及 28 d 病死率。

1.6 统计学方法:使用 SPSS 11.5 统计软件。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,基于时间测量各组数据采用可重复测量的单因素方差分析,两组间参数比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料进行 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料(表 1):3 组受试者性别、年龄、APACHE I 评分比较差异均无统计学意义($P>0.05$),有可比性。

表 1 3 组受试者一般资料比较

组别	例数	性别		年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	APACHE I 评分 ($\bar{x}\pm s$,分)
		男	女		
C 组	15	10	5	58.3±14.2	
L 组	32	22	10	57.6± 8.3	18.21±5.97
X 组	32	21	11	63.1± 7.9	17.87±6.26

注,C 组,健康对照组,L 组,中西医结合治疗组,X 组,西医常规治疗组,APACHE I 评分,急性生理学与慢性健康状况评分系统 I 评分;空白代表无此项

2.2 肝肾功能(表 2):两组治疗后肝肾功能指标均较入院时显著下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$);至 9 d 时 L 组血肌酐(Cr)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)均较 X 组显著降低(均 $P<0.05$)。

2.3 血小板参数(表 3):L 组与 X 组 TCP 发生率差异无统计学意义(40.63%比 43.75%, $P>0.05$)。入院时 L 组和 X 组 PLT 即较 C 组显著降低,5 d 时回升,但仍低于 C 组($P<0.05$ 或 $P<0.01$);L 组 9 d 时已显著高于入院时水平($P<0.01$),并接近 C 组水平($P>0.05$);而 X 组 9 d 时虽较入院时显著

上升($P<0.05$),但仍低于 C 组($P<0.05$)。两组患者入院时 MPV、PDW 均较 C 组增大($P<0.05$ 或 $P<0.01$),随后均逐渐下降,治疗后 3~9 d 与 C 组比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。

2.4 血小板 TLR4、PAC-1 阳性表达及血浆 sCD40L 和 TNF- α 浓度(表 3;图 1):L 组和 X 组患者入院时血小板 TLR4、PAC-1 阳性表达均显著高于 C 组(均 $P<0.01$);治疗后逐渐下降,9 d 时两组均显著低于入院时(均 $P<0.01$),但 L 组已与 C 组无明显差异(均 $P>0.05$),且低于 X 组($P<0.01$ 和 $P<0.05$)。两组患者入院时血浆 sCD40L、TNF- α 浓度较 C 组显著升高(均 $P<0.01$);治疗后逐渐降低,9 d 时 sCD40L 和 TNF- α 均较入院时明显降低(均 $P<0.01$),但仍较 C 组显著升高(均 $P<0.01$)。L 组治疗 5 d 后 sCD40L、3 d 后 TNF- α 已明显低于 X 组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表 2 两组脓毒症患者治疗前后肝肾功能的动态变化($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	例数	Cr ($\mu\text{mol/L}$)	Urea (mmol/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)
L 组	入院时	32	168.8±89.8	15.8±8.5	79.4±48.2	111.3±49.6
	3 d	32	154.6±56.9	14.9±6.6	69.8±30.2	98.7±28.1
	5 d	32	133.8±48.8	13.4±6.5	62.2±30.0	82.1±26.5
	9 d	32	106.2±34.4 ^{ac}	10.9±5.3 ^b	31.7±12.5 ^{ac}	54.1±21.6 ^{ac}
X 组	入院时	32	170.5±46.3	14.1±7.3	73.3±29.2	103.9±33.2
	3 d	32	144.8±46.7	13.3±6.7	71.7±34.0	89.9±23.7
	5 d	32	142.0±58.1	12.2±5.2	61.8±30.9	78.9±25.1
	9 d	32	127.5±43.7 ^b	10.3±5.1 ^b	41.9±19.9 ^a	68.5±24.1 ^a

注,L 组,中西医结合治疗组,X 组,西医常规治疗组,Cr,肌酐,Urea,尿酸,ALT,丙氨酸转氨酶,AST,天冬氨酸转氨酶;与本组入院时比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.05$,与 X 组同期比较,^c $P<0.05$

表 3 两组脓毒症患者治疗前后血小板参数,TLR4、PAC-1 阳性表达率和血浆 sCD40L、TNF- α 浓度的动态变化及与健康对照组的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	例数	PLT($\times 10^9/L$)	MPV(fL)	PDW(fL)	TLR4(%)	PAC-1(%)	sCD40L($\mu\text{g/L}$)	TNF- α (ng/L)
C 组		15	272.33±34.23	9.64±0.66	15.61±1.54	23.50±4.68	21.02±3.49	3.27±0.41	4.08± 3.08
脓毒症组		64	211.37±77.84 ^a	10.24±0.81 ^b	17.79±1.68 ^a	39.93±9.07 ^a	42.21±8.74 ^a	6.94±1.05 ^a	60.10± 9.77 ^a
L 组	入院时	32	214.31±77.04 ^a	10.20±0.94 ^b	17.97±1.71 ^a	40.15±8.58 ^a	43.14±9.75 ^a	6.86±0.98 ^a	58.94±10.60 ^a
	3 d	32	209.03±78.12 ^a	10.13±0.93	16.87±1.82	36.68±7.73 ^a	39.53±7.49 ^a	5.50±1.13 ^a	41.12±11.56 ^{ac}
	5 d	32	227.15±64.51 ^b	9.97±0.84	16.53±1.54	30.57±6.64 ^a	32.44±6.61 ^{ac}	4.58±0.91 ^{ac}	34.32± 9.55 ^{ac}
	9 d	32	261.93±55.32 ^{de}	9.86±0.76	16.29±1.47	27.14±6.08 ^{cd}	27.52±6.51 ^{de}	3.86±0.69 ^{cd}	22.06± 7.19 ^{cd}
X 组	入院时	32	208.43±28.46 ^a	10.24±0.76 ^b	17.68±1.60 ^a	39.71±9.57 ^a	41.27±7.72 ^a	7.02±1.12 ^a	61.26± 8.94 ^a
	3 d	32	214.72±82.01 ^a	10.07±0.76	16.95±1.61	37.31±7.30 ^a	40.15±8.42 ^a	5.72±1.20 ^a	47.93±10.99 ^a
	5 d	32	224.87±75.01 ^a	10.10±0.97	16.48±1.29	33.29±5.69 ^a	36.65±7.42 ^a	5.08±0.84 ^a	40.41±11.61 ^a
	9 d	32	231.37±63.58 ^{bc}	9.98±0.63	16.26±1.45	30.92±5.47 ^{cd}	31.24±5.77 ^d	4.38±0.73 ^{cd}	28.25± 8.99 ^{cd}

注,TLR4,Toll 样受体 4,PAC-1,半胱天冬酶原活化化合物-1,sCD40L,可溶性 CD40 配体,TNF- α ,肿瘤坏死因子- α ,C 组,健康对照组,L 组,中西医结合治疗组,X 组,西医常规治疗组,PLT,血小板计数,MPV,平均血小板体积,PDW,血小板分布宽度;与 C 组比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.05$,与本组入院时比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$;与 X 组同期比较,^e $P<0.05$,^f $P<0.01$

注,TLR4,Toll 样受体 4,PAC-1,半胱天冬酶原活化复合物-1

图 1 流式细胞仪检测健康者(A)及脓毒症患者(B)全血中血小板 TLR4 和 PAC-1 的表达

2.5 相关性分析:脓毒症患者血小板 PAC-1 表达与 PLT 呈负相关($r = -0.409, P < 0.01$),与 MPV、PDW、血小板 TLR4 表达、血浆 sCD40L 均呈正相关($r_1 = 0.262, r_2 = 0.318, r_3 = 0.341, r_4 = 0.519$,均 $P < 0.01$)。sCD40L 与 TNF- α 呈正相关($r = 0.542, P < 0.01$)。

2.6 预后(表 4):L 组患者 ICU 住院时间明显短于 X 组($P < 0.05$)。两组共 11 例出血患者中 8 例 PLT 低于 $150 \times 10^9/L$;L 组出血发生率低于 X 组($P < 0.05$)。9 d 时 L 组 APACHE I 评分显著低于 X 组($P < 0.05$)。ICU 住院期间共死亡 9 例患者(14.06%),两组间 28 d 病死率差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 4 两组脓症患者预后比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ICU 住院时间 ($\bar{x} \pm s, d$)	9 d APACHE I 评分($\bar{x} \pm s, 分$)	出血发生 率[%(例)]	28 d 病死 率[%(例)]
L 组	32	8.06 \pm 2.86 ^a	12.75 \pm 4.56 ^a	12.5(4) ^a	15.63
X 组	32	9.31 \pm 2.48	14.59 \pm 3.97	21.9(7)	18.75

注:L 组,中西医结合治疗组,X 组,西医常规治疗组,ICU,重症监护病房,APACHE I 评分,急性生理学及慢性健康状况评分系统 I 评分;与 X 组比较,^a $P < 0.05$

3 讨论

ICU 危重患者 TCP 发生率很高,PLT 与生存率呈负相关,尤其入院后 PLT 值持续降低超过 4 d 或 ICU 住院期间降低 $> 50\%$ 的患者病死率升高 4~6 倍^[2,5]。多项研究证明脓毒症是 TCP 的独立危险因素^[1,2,6]。因此,控制感染、减少可能引起 TCP 的危险因素,及时恢复血小板减少状态是降低 ICU 脓毒症 TCP 患者病死率的关键问题。

本研究显示,脓症患者入院时不仅 PLT 显著降低,MPV 及 PDW 均增大,提示脓症患者体内有大量血小板黏附、聚集而高度活化,造成循环血中血小板明显减少,导致骨髓中巨核细胞反应性生成大而致密的血小板。本研究确定以活化的糖蛋白 GP II b/III a PAC-1 表位^[7]以及血小板源性细胞因子 sCD40L^[8]作为观察血小板参与脓毒症炎症反应

中活化破坏和分泌释放过程的监测指标,同时监测血浆中促炎介质 TNF- α 浓度以观察炎症反应进展情况。结果显示:脓症患者血小板 PAC-1 表达率及血浆中 sCD40L 浓度均显著上升,两者变化呈正相关,提示血小板 PAC-1 表位暴露与 sCD40L 大量释放是脓毒症炎症反应中血小板活化的主要形式之一,且两者在炎症反应过程中可能存在密切的关系和相互作用,加速血小板活化进程。而 TNF- α 浓度升高提示其在细胞因子“瀑布”效应中起着始动作用^[9],与血小板活化之间存在密切的联系,共同参与和扩大炎症反应,参与脓毒症 TCP 的发病。TLRs 是宿主抵御病原微生物入侵的第一道防线,TLR4 能识别革兰阴性细菌表面的脂多糖(LPS)^[10-11],最终激活获得性免疫系统。既往研究焦点集中于淋巴细胞、单核细胞等有核免疫细胞表面的 TLR4;近年研究发现血小板亦具有表达 TLRs 的功能^[12-13]。本研究结果显示,脓症患者入院时血小板 TLR4 阳性表达率和 PAC-1 即同时上调,提示血小板 TLR4 介导的炎症反应与血小板活化存在一定的相关性。

脓毒症病机特点为毒邪内蕴、络脉瘀滞、正气颓衰,肺失宣降、络脉瘀滞是其重要的病位,“毒”是其发病的病理核心,即“热由毒化”、“瘀从毒结”,毒、热、瘀在脓毒症 TCP 发病过程中相互搏结^[14-15]。脓毒症并发 TCP 病期应属邪毒入里,自少阳、阳明即将进入三阴,即病入营血,毒深热盛,瘀热互结,如不及时救治,即至正虚。因此组方应以攻逐毒邪为主,兼顾化瘀通络扶正。本研究中以温病治疗常用解毒清热名方凉膈散(载宋《和剂局方》)为基本方,全方君连翘轻清透散上焦之热;配黄芩以清胸膈郁热;栀子通泻三焦,引火下行;大黄、芒硝泻火通便,以荡涤中焦燥热内结;佐以薄荷、竹叶解热于上,达“火郁发之”;加味玄参清热凉血、滋阴而解毒;丹参为活血化瘀之要药;西洋参补肺降火、生津液,以防热盛而伤气阴;麦冬助西洋参滋肺之阴而生津;甘草调和诸药,甘缓和中。全方清上与泻下并行,但泻下为清泻胸膈郁热而设,根据肺与大肠阴阳表里理论,体现

“以泻代清”和给邪以出路,同时兼顾了热盛伤正,体现了祛邪而不忘扶正。

凉膈散从不同通路和位点对脓毒症解毒功能的基础实验已经取得成果^[16-17],本研究也显示其在保护脓症患者肝肾功能、升高 PLT、下调血小板 TLR4 及 PAC-1 过度表达、减少循环中 sCD40L 及 TNF- α 水平方面优于常规西医治疗。提示加味凉膈散不仅具有解毒抗炎、攻邪安正,保护器官功能,提高脓毒症抗病力作用^[18],还可能通过拮抗内毒素与血小板 TLR4 结合,抑制内毒素对血小板刺激后的受体表达上调,减少 LPS 诱发血小板活化及炎症介质的释放,降低循环中 sCD40L 及 TNF- α 含量,从而缓解脓毒症及其 PLT 的减少,并且在降低脓症患者 APACHE I 评分、缩短患者 ICU 住院时间、减少 ICU 患者出血发生率中显示一定优势。

综上,血小板 TLR4 在脓毒症发病中表达上调并介导以 sCD40L 释放增加、GP II b/III a 的 PAC-1 表位暴露为特征的血小板活化,从而参与脓毒症 TCP 的发病;加味凉膈散通过降低 TLR4-LPS 介导的血小板活化、缓解促炎因子损伤,从而对脓毒症 TCP 发挥一定疗效。

参考文献

[1] Levi M, Löwenberg EC. Thrombocytopenia in critically ill patients. *Semin Thromb Hemost*, 2008, 34, 417-424.
 [2] Hui P, Cook DJ, Lim W, et al. The frequency and clinical significance of thrombocytopenia complicating critical illness: a systematic review. *Chest*, 2011, 139, 271-278.
 [3] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ ESICM/ ACCP/ATS/SIS international sepsis definitions conference. *Intensive Care Med*, 2003, 29, 530-538.
 [4] Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, et al. Surviving sepsis campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med*, 2004, 32, 858-873.
 [5] Strauss R, Wehler M, Mehler K, et al. Thrombocytopenia

in patients in the medical intensive care unit, bleeding prevalence, transfusion requirements, and outcome. *Crit Care Med*, 2002, 30, 1765-1771.
 [6] 殷冬梅,李银平.微粒与脓毒症凝血功能紊乱. *中国中西医结合急救杂志*, 2009, 16, 190-192.
 [7] Verstraete M. Synthetic inhibitors of platelet glycoprotein IIb/IIIa in clinical development. *Circulation*, 2000, 101, E76-E80.
 [8] Henn V, Steinbach S, Büchner K, et al. The inflammatory action of CD40 ligand (CD154) expressed on activated human platelets is temporally limited by coexpressed CD40. *Blood*, 2001, 98, 1047-1054.
 [9] 梁华平,姚咏明,王正国.关注脓毒症及其结局的预测研究. *中国危重病急救医学*, 2005, 17, 709-711.
 [10] Goldstein DR. Toll-like receptors and other links between innate and acquired alloimmunity. *Curr Opin Immunol*, 2004, 16, 538-544.
 [11] Schilling JD, Mulvey MA, Vincent CD, et al. Bacterial invasion augments epithelial cytokine responses to *Escherichia coli* through a lipopolysaccharide-dependent mechanism. *J Immunol*, 2001, 166, 1148-1155.
 [12] Cognasse F, Hamzeh H, Chavarin P, et al. Evidence of Toll-like receptor molecules on human platelets. *Immunol Cell Biol*, 2005, 83, 196-198.
 [13] McGuire K, Jones M, Werling D, et al. Radiation hybrid mapping of all 10 characterized bovine Toll-like receptors. *Anim Genet*, 2006, 37, 47-50.
 [14] 刘清泉,蓝海涛.中医对脓毒症的认识及辨证体系的研究. *中华中西医结合临床杂志*, 2004, 4, 261-264.
 [15] 曹书华,王今达,李银平.从“菌毒并治”到“四证四法”——关于中西医结合治疗多器官功能障碍综合征辨证思路的深入与完善. *中国危重病急救医学*, 2005, 17, 641-643.
 [16] 余林中,江爱达,陈育亮,等.凉膈散对内毒素血症小鼠的肝脏库普弗细胞 CD14 和清道夫受体表达的影响. *中国中药杂志*, 2006, 31, 220-223.
 [17] 李志军,王东强,胡顺鹏,等.菌毒并治对脓毒症大鼠模型影响的肝基因芯片研究. *中国危重病急救医学*, 2009, 21, 44-47.
 [18] 王兵,邵蕾,徐春雷,等.加味凉膈散对早期脓毒症解毒抗炎攻邪安正作用观察. *辽宁中医杂志*, 2009, 36, 941-942.

(收稿日期:2011-09-03)

(本文编辑:李银平)

• 科研新闻速递 •

大鼠失血性休克和再灌注后肝脏中游离铁上调与血红素氧合酶-1 上调无关

创伤失血性休克(HTS)时缺血/再灌注(I/R)损伤诱导生成血红素氧合酶-1(HO-1),如果不加以适当控制,游离铁(Fe)会引起氧化应激反应。澳大利亚研究人员对此进行了研究,目的是研究 HTS 后 HO-1 对肝脏 Fe 水平的介导效应以及血浆中转铁蛋白(TFBI)的变化。实验方法包括剖腹探查术、放血、不足或充足的 I/R。结果显示:在 HTS 后 40 min,麻醉大鼠表现出 HO-1 mRNA 表达上调,休克 3 h 后 HO-1 活性增加。Fe 水平在休克后 40 min 瞬间升高,而 HO-1 活性在这一时间点上未受到影响。在 HTS 动物中,血浆 TFBI 水平在休克 40 min 时达到最高,随后下降。此外,研究人员通过在实验前 6 h 时给予动物 HO 活性抑制剂(ZnPP $\text{\textcircled{R}}$)或激活剂氯高铁血红素(hemin)来调节 HO-1 的活性。结果在 HTS 后 18 h,所有休克组动物 HO-1 活性均增加,其中预先给予 hemin 处理的动物处于最高水平。ZnPP $\text{\textcircled{R}}$ 组动物肝脏中 HO-1 mRNA 和 Fe 水平高于未给予 ZnPP $\text{\textcircled{R}}$ 的动物。TFBI 水平在休克前受到药理作用影响。所有 HTS 组动物再灌注后 TFBI 水平升高,而预先用 hemin 处理过的动物 TFBI 水平升高程度显著减少。实验数据显示,HTS 早期肝脏和血浆中 Fe 水平升高并不是由 HO-1 上调介导的,而很可能是内部铁储存动用加强或细胞损伤加重所致。因此,研究人员认为,HTS 和 I/R 损伤后通过 hemin 增强 HO-1 活性并不能直接引起肝脏中铁的升高。

刘维维,编译自《Shock》,2011-08-11(电子版);胡森,审核