

# 20AA 复方氨基酸联用大剂量维生素 B6 对创伤性凝血病大鼠凝血功能的影响

岳茂兴 楚鹰 包卿 郑旭文 沈文明 刘政 周培根 李瑛 卞晓星 黄琴梅 梁华平

创伤性凝血病 (TIC) 是世界性治疗难题, 主要表现为严重创伤或大手术后机体出现的凝血障碍或紊乱<sup>[1-2]</sup>。创伤后早期死亡与无法控制的出血以及创伤失血后凝血病有关。严重 TIC 患者的病死率更高, 可达 80% 左右<sup>[3]</sup>。目前国际上对于 TIC 的救治主要采用损伤控制性外科与复苏、成分输血、凝血因子制品及止血药物、目标导向输血方案等<sup>[4-8]</sup>。本课题组前期采用 20AA 复方氨基酸联合大剂量维生素 B6 救治 TIC 取得了较好的效果<sup>[9-10]</sup>, 开创了一种救治 TIC 简便、有效且国内外具有独创性的新疗法。本研究在 TIC 大鼠模型基础上, 进一步探讨 20AA 复方氨基酸联用大剂量维生素 B6 治疗 TIC 大鼠的作用机制, 报告如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验动物分组:** 雄性 SD 大鼠 24 只, 体质量 170~200 g, 由江苏大学实验动物中心提供 [动物许可证号: SCXK (苏) 2013-0011]。按随机数字表法将大鼠分为正常对照组、模型组、新疗法组, 每组 8 只。

**1.2 动物模型制备与处理:** 腹腔注射水合氯醛 4 mL/kg 麻醉大鼠, 固定于立体定向仪上, 通过造成大鼠重型颅脑损伤、双股骨折、开腹及腹主动脉放血 20% 制成多发伤模型<sup>[11]</sup>。新疗法组于制模后以微量泵输注 20AA 复方氨基酸注射液 10 mL (丰诺安, 辰欣药业股份有限公司) + 维生素 B6 注射液 4 mL (石药集团欧意药业有限公司生产, 相当于人体剂量: 丰诺安 500 mL + 维生素 B6 200 mL), 输液速度 4 mL/h; 模型组输注 0.9% 等渗盐水 14 mL; 正常对照组未予任何处理。本课题组前期用血栓弹力图 (TEG) 证实, 该模型在伤后 4~6 h 出现高凝状态, 之后凝血功能持续下降, 24 h 时出现显著差异, 与临床重型颅脑损伤患者出现的凝血功能变化规律较为一致<sup>[12]</sup>, 故选择 24 h 作为观察时间点。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学要求。

**1.3 标本采集及指标检测:** 于制模后 24 h 取腹主动脉血, 枸橼酸钠抗凝, 取 2.25 mL 血迅速注入 BD 盖盖采血管中混

匀。取 1 mL 全血标本, 参照文献<sup>[13]</sup>方法检测 TEG [凝血反应时间 (R)、血块生成时间 (K)、血块生成率 (Angle)、血块最大宽度值 (MA)]; 剩余血样离心 3 min 收集血浆, 检测凝血 4 项指标 [凝血酶原时间 (PT)、活化部分凝血活酶时间 (APTT)、纤维蛋白原 (FIB)、凝血酶时间 (TT)]。

**1.4 统计学分析:** 应用 SPSS 13.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较用单因素方差分析, 两两比较用 LSD-*t* 检验;  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 TEG 结果 (表 1):** 制模 24 h 后, 模型组反映凝血因子活性的 R 值显著高于正常对照组 ( $P < 0.05$ )。新疗法组 R 值较模型组显著降低, 反映 FIB 活性的 Angle 值较模型组显著升高 (均  $P < 0.05$ )。3 组间反映整体血块生成时间和血块最大强度的 K 值、MA 值差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。

表 1 20AA 复方氨基酸联合大剂量维生素 B6 对多发伤致创伤性凝血病模型大鼠 TEG 参数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	R (min)	K (min)	Angle (°)	MA (mm)
正常对照组	8	2.08 ± 0.64	0.82 ± 0.04	79.26 ± 1.41	73.46 ± 4.54
模型组	8	3.21 ± 0.30 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.04	79.54 ± 2.13	82.43 ± 2.17
新疗法组	8	2.24 ± 0.68 <sup>b</sup>	0.81 ± 0.04	81.98 ± 1.78 <sup>b</sup>	82.24 ± 2.12
F 值		7.834	0.060	4.664	17.608
P 值		0.004	0.930	0.020	0.900

注: TEG 为血栓弹力图, R 为凝血反应时间, K 为血块生成时间, Angle 为血块生成率, MA 为血块最大宽度值; 与正常对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

**2.2 凝血功能试验结果 (表 2):** 模型组 PT、APTT 及 TT 较正常对照组有所延长, FIB 有所升高 (均  $P > 0.05$ ); 新疗法组凝血 4 项各项数值较模型组有所改善, 但均未表现出统计学差异 (均  $P > 0.05$ )。

表 2 20AA 复方氨基酸联合大剂量维生素 B6 对多发伤致创伤性凝血病模型大鼠凝血 4 项指标的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	PT (s)	APTT (s)	FIB (g/L)	TT (s)
正常对照组	8	10.45 ± 1.09	17.21 ± 2.66	3.99 ± 1.64	31.05 ± 7.35
模型组	8	11.79 ± 1.55	21.87 ± 2.75	6.99 ± 0.21	35.09 ± 6.53
新疗法组	8	11.24 ± 1.39	21.13 ± 4.47	7.21 ± 0.88	29.93 ± 8.68
F 值		1.884	4.224	19.861	0.909
P 值		0.459	0.684	0.711	0.217

注: PT 为凝血酶原时间, APTT 为活化部分凝血活酶时间, FIB 为纤维蛋白原, TT 为凝血酶时间

DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2015.11.011

基金项目: 国家发明专利 (ZL 2010 1 0248451.9); 美国授权专利 (US 8,952,040 B2); 欧盟授权专利 (EP10855546.7); 国家重点实验室开放课题资助项目 (SKLKF201312); 江苏省医药卫生重大课题资助项目 (Z201013); 常州市基础应用研究基金资助项目 (CJ20140001)

作者单位: 213002 江苏常州, 江苏大学附属武进医院 (岳茂兴、楚鹰、包卿、郑旭文、沈文明、周培根、李瑛、卞晓星、黄琴梅); 400042 重庆, 第三军医大学大坪医院野战外科研究所, 创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室第一研究室 (刘政、梁华平)

通讯作者: 梁华平, Email: 13638356728@163.com

### 3 讨论

创伤是全球范围内中青年致死、致残的首要原因<sup>[14]</sup>, 40% 的创伤致死患者是由出血导致<sup>[15]</sup>, 约 1/4 患者入院时即有急性 TIC, 病死率是非 TIC 患者的 4~6 倍<sup>[16-17]</sup>。最新观点认为, TIC 由创伤导致的组织损伤和低灌注引发, 活化蛋白 C 介导其发生发展, 凝血系统各成分和因素参与其病理生理反应过程, 而低温、酸中毒、血液稀释、炎症反应等可进一步恶化已存在的凝血功能障碍, 最终导致 TIC<sup>[18-19]</sup>。及早预防与纠正凝血病有利于改善创伤患者预后。以损失控制外科与目标导向止血复苏为主的救治方法能明显改善创伤患者的凝血功能, 降低病死率, 但需大量输入血液制品或重组凝血因子, 同时新鲜血浆、浓缩红细胞和小血小板的最佳比例, 以及重组 F VII a 与纤维蛋白原或冷沉淀的应用指征等仍有争议<sup>[19]</sup>。因此, 探索 TIC 的新疗法具有重要意义。

本研究结果显示, 20AA 复方氨基酸联合大剂量维生素 B6 也能够救治 TIC, 该疗法简便易行, 费用低廉, 是国内外首创的治疗方法。20AA 复方氨基酸与人体氨基酸谱基本一致, 输入后即可为机体提供底物<sup>[10]</sup>, 其含有的 L- 鸟氨酸是尿素循环的中间代谢物, 能迅速激活肝细胞内的尿素循环, 将机体产生的有害 CO<sub>2</sub> 和氨通过尿素循环转化为尿素排出体外, 并能有效清除多器官功能障碍综合征 (MODS) 时产生的大量有害自由基, 从而减少自由基对器官的毒害, 恢复肝功能正常代谢<sup>[20]</sup>。维生素 B6 在人体代谢中主要以磷酸吡多醛形式参与近 60 多种酶反应, 多数与氨基酸代谢有关, 包括转氨基、脱羧、侧链裂解、脱水及转硫化作用<sup>[21]</sup>。20AA 复方氨基酸联合维生素 B6 能促进肝内酶代谢体系快速恢复, 产生重要凝血因子, 迅速恢复内源性凝血途径, 同时配合常规治疗, 能有效治疗凝血病大出血的濒死患者。

传统的凝血 4 项指标通常只能反映凝血早期的状态, 不能反映整个凝血过程。TEG 是基于全血的凝血功能检测方法, 其检测时间短, 能监测凝血全过程, 全面反映凝血因子、纤维蛋白活性以及血小板功能的变化, 有助于早期诊断凝血功能障碍, 是目前测定凝血功能的“金标准”之一<sup>[22-23]</sup>。本研究在 TIC 动物模型的基础上, 分别用 TEG 和凝血 4 项检测新疗法对大鼠凝血功能的影响, 结果提示, 新疗法可能通过提高凝血因子活性、改善 FIB 水平以提高凝血功能。尽管新疗法组与模型组凝血 4 项结果不存在统计学差异, 但新疗法组各项指标均有改善, 与 TEG 结果具有相同的变化趋势。本实验中凝血 4 项检测所用的试剂盒是针对人凝血功能检测的, 有可能无法准确监测大鼠凝血功能的改变, 这也是未检测到有统计学差异的原因之一。大鼠创伤后 FIB 值升高与 TEG 检测的 Angle 值变化一致, 但 TEG 结果与凝血 4 项结果是否具有相关性, 还需要进一步的实验验证。另外, FIB 在创伤过程中可受炎性因子的调控升高, 这也是正常的生理现象。这些结果说明我们制备的 TIC 大鼠模型可能只反映了凝血因子丢失或活性下降的特征, 而血小板功能下降或纤溶亢进等特征未能得到很好的复制, 所以有些 TEG 参数在模型组和正常对照组之间未出现统计学差异。

### 参考文献

- [1] 岳茂兴, 周培根, 梁华平, 等. 创伤性凝血功能障碍的早期诊断和 20AA 复方氨基酸联合大剂量维生素 B6 新疗法应用 [J]. 中华卫生应急电子杂志, 2015, 1 (1): 4-7.
- [2] MacLeod JB, Winkler AM, McCoy CC, et al. Early trauma induced coagulopathy (ETIC): prevalence across the injury spectrum [J]. *Injury*, 2014, 45 (5): 910-915.
- [3] Katrantha ED, Gonzalez LS 3rd. Trauma-induced coagulopathy [J]. *Crit Care Nurse*, 2014, 34 (4): 54-63.
- [4] Johnson JL, Moore EE, Kashuk JL, et al. Effect of blood products transfusion on the development of postinjury multiple organ failure [J]. *Arch Surg*, 2010, 145 (10): 973-977.
- [5] Borgman MA, Spinella PC, Perkins JG, et al. The ratio of blood products transfused affects mortality in patients receiving massive transfusions at a combat support hospital [J]. *J Trauma*, 2007, 63 (4): 805-813.
- [6] Stinger HK, Spinella PC, Perkins JG, et al. The ratio of fibrinogen to red cells transfused affects survival in casualties receiving massive transfusions at an army combat support hospital [J]. *J Trauma*, 2008, 64 (2 Suppl): S79-85; discussion S85.
- [7] Neal MD, Marsh A, Marino R, et al. Massive transfusion: an evidence-based review of recent developments [J]. *Arch Surg*, 2012, 147 (6): 563-571.
- [8] 王梅. 限制性液体复苏在创伤失血性休克中的临床应用 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2010, 17 (1): 31-33.
- [9] 岳茂兴, 周培根, 梁华平, 等. 20AA 复方氨基酸联合大剂量维生素 B6 治疗创伤凝血障碍的患者多中心前瞻性临床研究操作实施方案 [J]. 中华卫生应急电子杂志, 2015, 1 (1): 48-49.
- [10] 岳茂兴, 夏锡仪, 李瑛, 等. 丰诺安联合大剂量维生素 B6 新疗法救治严重创伤后凝血病大出血患者的临床研究 [J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25 (5): 310.
- [11] 包卿, 刘政, 楚鹰, 等. 大鼠多发伤致凝血功能障碍模型的建立 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (2): 143-144.
- [12] 梁晋, 祝捷, 李建国, 等. 亚低温对重型颅脑损伤患者凝血功能及预后的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, 21 (1): 18-21.
- [13] 许志平, 崔玉静, 吴铁军. 血栓弹力图在监测妊娠高血压综合征患者凝血机制中的应用 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (10): 752-754.
- [14] Peden M, McGee K, Sharma G. The injury chart book: a graphical overview of the global burden of injuries [M]. Geneva: World Health Organization, 2002.
- [15] Hess JR, Brohi K, Dutton RP, et al. The coagulopathy of trauma: a review of mechanisms [J]. *J Trauma*, 2008, 65 (4): 748-754.
- [16] Brohi K, Singh J, Heron M, et al. Acute traumatic coagulopathy [J]. *J Trauma*, 2003, 54 (6): 1127-1130.
- [17] Niles SE, McLaughlin DF, Perkins JG, et al. Increased mortality associated with the early coagulopathy of trauma in combat casualties [J]. *J Trauma*, 2008, 64 (6): 1459-1463.
- [18] 黎介寿, 李幼生. 重视战创伤急性凝血功能障碍的早期诊断与治疗 [J]. 解放军医学杂志, 2013, 38 (1): 1-5.
- [19] 李幼生. 急性创伤性凝血功能障碍研究进展 [J]. 中华卫生应急电子杂志, 2015, 1 (2): 11-14.
- [20] CRASH-2 trial collaborators. Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2): a randomised, placebo-controlled trial [J]. *Lancet*, 2010, 376 (9734): 23-32.
- [21] Combs GF. The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health [M]. Amsterdam: Elsevier, 2008.
- [22] Holcomb JB, Minei KM, Scerbo ML, et al. Admission rapid thrombelastography can replace conventional coagulation tests in the emergency department: experience with 1974 consecutive trauma patients [J]. *Ann Surg*, 2012, 256 (3): 476-486.
- [23] Müller MC, Balvers K, Binnekade JM, et al. Thromboelastometry and organ failure in trauma patients: a prospective cohort study [J]. *Crit Care*, 2014, 18 (6): 687.

(收稿日期: 2015-07-20)

(本文编辑: 李银平)