

血必净注射液对脓毒症大鼠纤溶系统功能的影响

吕 杰, 杨劲松, 安友仲

(北京大学人民医院 SICU, 北京 100044)

【摘要】 目的 观察血必净注射液对脓毒症早期循环及纤溶系统功能的影响。方法 采用盲肠结扎穿孔术(CLP)制备脓毒症大鼠模型。75 只雄性 SD 大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组和血必净组, 各组按处死时间又分为术后 2、4、6、8、12 h 5 个亚组, 每组 5 只。假手术组和模型组术后即刻静脉补充生理盐水; 血必净组术后 1 h 内给予血必净注射液, 之后补充生理盐水。每小时监测平均动脉压(MAP); 各组于相应时间点取血检测血浆组织型纤溶酶原激活物(t-PA)及其抑制物(PAI)含量。结果 假手术组 MAP 有所下降, 但在正常范围内; 模型组和血必净组 MAP 均下降, 并逐渐进入休克状态, 11 h 和 12 h MAP 与假手术组相比差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。假手术组血浆 t-PA 含量无明显变化; 模型组血浆 t-PA 含量在术后 2 h 即明显高于假手术组, 之后逐渐下降, 至 12 h 仍高于假手术组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 血必净组血浆 t-PA 含量在术后 2 h 即高于假手术组, 之后逐渐升高, 且于术后 6、8、12 h 显著高于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。假手术组血浆 PAI 含量无明显变化; 模型组血浆 PAI 含量在术后 4 h 明显高于假手术组($P < 0.05$), 之后降至假手术组水平, 12 h 时明显低于假手术组($P < 0.05$); 血必净组在术后 6、8、12 h PAI 显著高于假手术组和模型组(均 $P < 0.01$)。结论 血必净注射液对脓毒症大鼠早期循环功能有一定的改善作用, 并能促进纤溶系统的激活, 从而改善脓毒症早期机体的高凝状态。

【关键词】 血必净注射液; 脓毒症; 循环; 纤溶系统

中图分类号: R285.5; R365 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2010.02.009

The effects of Xuebijing injection (血必净注射液) on fibrinolytic system in septic rats LÜ Jie, YANG Jin-song, AN You-zhong. Surgical Intensive Care Unit, People's Hospital of Peking University, Beijing 100044, China ; ;

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of Xuebijing injection (血必净注射液) on function of circulation and fibrinolytic system in septic rats. **Methods** Sprague-Dawley (SD) rats were subjected to sepsis induced by cecal ligation and puncture (CLP). Seventy-five male healthy SD rats were randomly divided into three groups: sham operation, septic model and Xuebijing treatment groups. According to the time of sacrifice, the three groups were subdivided into five subgroups: 2, 4, 6, 8 and 12 hours subgroups (each $n = 5$). After operation, normal saline (NS) was intravenously infused immediately in sham operation and model groups. Within 1 hour after operation, Xuebijing injection was transfused, and afterwards NS was transfused into Xuebijing group. The mean arterial pressure (MAP) was monitored every hour. The blood samples at various time points were collected to measure the levels of plasma tissue plasminogen activator (t-PA) and its inhibitor (PAI). **Results** The MAP of sham operation group was a little decreased, but within normal limit. The MAPs of model and Xuebijing treatment groups were decreased markedly, and the rats in these groups developed into the state of septic shock. The MAPs of the model and Xuebijing groups at the time points of 11 hours and 12 hours were both lower significantly than those at the corresponding time points in sham operation group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). t-PA levels in plasma of the sham operation group had no obvious change; at postoperative 2 hours, the t-PA levels in plasma of the model group were higher than those of the sham operation group markedly, and then declined gradually but at the time point of 12 hours, the t-PA level was still higher than that of sham operation group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The plasma t-PA level of Xuebijing treatment group was higher than that of the sham operation group at the time point of 2 hours, then it was gradually increased, till at the time points of 6, 8 and 12 hours, it was significantly higher than that in the model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The PAI levels of sham operation group had no significant change; at postoperative 4 hours, the PAI level in plasma of the model group was significantly higher than that at the corresponding point in the sham operation group ($P < 0.05$), and afterwards it sharply declined until it was lower than that of the sham operation group at the time point of 12 hours ($P < 0.05$). The levels of plasma PAI of Xuebijing treatment group were obviously higher than those of the sham operation group and model group at the time points of 6, 8, 12 hours (all $P < 0.01$). **Conclusion** At the early stage of sepsis, Xuebijing injection may improve the function of circulation. It probably helps to activate fibrinolytic system, and inhibits the development of hypercoagulation induced by sepsis.

【Key words】 Xuebijing injection; Sepsis; Circulation; Fibrinolytic system

基金项目: 天津市科技创新专项基金项目(06F22DSH00403)

作者简介: 吕 杰(1982-), 男(汉族), 内蒙古自治区人, 医学硕士, 医师, Email: bhonghonga@163.com.

在脓毒症的发病和防治研究中, 人们逐渐注意到凝血/纤溶系统功能紊乱在疾病发生发展过程中起到非常重要的作用。纤维蛋白溶解系统的主要功

能是降解沉积在血管壁的纤维蛋白,清除已形成的血栓,维持血流通畅。参与纤溶系统的酶都属于丝氨酸蛋白酶,其中既有激活纤溶系统的酶,也有抑制纤溶系统激活的酶,主要成员有组织型纤溶酶原激活物(t-PA)以及 t-PA 的抑制物(PAI)^[1]。在脓毒症发生初期,内毒素及各种致炎因子引起组织血管内皮细胞的损伤,进一步引起凝血及纤溶系统的紊乱。而血必净注射液主要成分为红花黄色素 A、赤芍苷等,具有活血化瘀的作用。基于以上原因,本研究旨在观察血必净注射液对脓毒症大鼠早期循环及纤溶系统功能的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组:清洁级雄性 SD 大鼠 75 只,体重 300~400 g,购自北京大学医学部实验动物中心。按随机数字表法将大鼠分为假手术组、模型组和血必净治疗组 3 组,每组 25 只。各组再分为术后 2、4、6、8、12 h 5 个亚组,每个亚组 5 只。

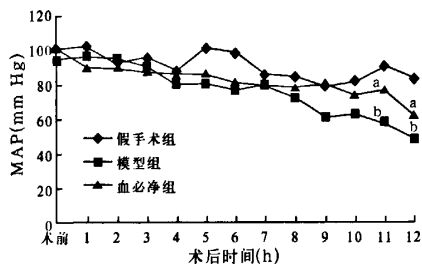
1.2 动物模型制备及给药:腹腔注射水合氯醛麻醉大鼠,右侧颈动脉置管接压力套囊,通过心电监护仪监测平均动脉压(MAP);右侧股静脉置管持续输液。模型组按照 Chaudry 等^[2]报告的方法行盲肠结扎穿孔术(CLP),制备严重腹腔感染致脓毒症模型。术后经股静脉插管持续输注生理盐水维持循环,术后 1 h 经微量泵泵入水合氯醛维持镇静状态。假手术组仅行开腹探查,翻动盲肠后关腹。血必净组术后经股静脉插管给予血必净注射液 4 ml/kg,1 h 后以生理盐水持续输注维持循环,用法和用量与模型组相同。

1.3 检测指标及方法:各组分别于术后 2、4、6、8、12 h 经颈动脉取血约 5 ml,离心后分离血浆,置于 -80 °C 下保存。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血浆 t-PA、PAI 含量,试剂盒由美国 Sigma 公司提供,操作按说明书步骤进行,将样品吸光度(A)值代入标准曲线,计算出样品 t-PA 和 PAI 的浓度。

1.4 统计学方法:用 SPSS 15.0 统计软件,结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用单因素方差分析和 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组早期 MAP 的变化(图 1):假手术组 MAP 随时间推移有轻微下降,但始终在正常范围内[收缩压 ≥ 90 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa)、MAP ≥ 70 mm Hg]。模型组大鼠 MAP 随时间推移也逐渐下降,约 9 h 后 MAP < 70 mm Hg,进入休克状态,11 h 和 12 h MAP 与假手术组相比差异出现统计学意义(均 $P < 0.01$)。血必净组 MAP 也同样逐渐下降,在约 10 h 后进入休克状态,11 h 和 12 h MAP 与假手术组相比差异有统计学意义(均 $P < 0.05$),但略高于模型组(均 $P > 0.05$)。



注:与假手术组比较,* $P < 0.05$,^b $P < 0.01$

图 1 各组大鼠不同时间点 MAP 变化趋势

2.2 各组血浆 t-PA 含量的比较(表 1):假手术组大鼠血浆 t-PA 含量随时间推移无明显变化,处于低水平。而模型组大鼠血浆 t-PA 含量在术后早期明显高于假手术组,2 h 达高峰之后逐渐下降,6 h 时仍高于假手术组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。血必净组大鼠血浆 t-PA 含量在术后早期即明显高于假手术组,之后逐渐升高,12 h 达高峰($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且 6、8、12 h 明显高于模型组(均 $P < 0.01$)。

2.3 各组血浆 PAI 含量的变化(表 1):假手术组大鼠血浆 PAI 含量随时间推移无明显变化。模型组大鼠血浆 PAI 含量在术后 4 h 明显升高($P < 0.05$),后逐渐下降,8 h 后低于假手术组,并在 12 h 差异有统计学意义($P < 0.05$)。血必净组术后 2 h 和 4 h 血浆 PAI 已经高于假手术组,但差异无统计学意义,6、8、12 h 显著高于假手术组和模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠术后不同时间点血浆 t-PA 和 PAI 含量变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	t-PA 含量($\mu\text{g/L}$)					PAI 含量($\mu\text{g/L}$)				
		术后 2 h	术后 4 h	术后 6 h	术后 8 h	术后 12 h	术后 2 h	术后 4 h	术后 6 h	术后 8 h	术后 12 h
假手术组	25	1.71±0.51	1.23±0.69	1.44±0.62	1.62±0.87	0.85±0.22	4.44±0.88	4.35±1.18	4.46±0.67	4.68±2.10	4.98±1.39
模型组	25	20.13±2.95 ^b	18.04±7.61 ^b	3.72±1.91 ^a	2.66±1.09	1.98±0.92 ^a	4.35±0.63	7.28±3.99 ^a	5.61±1.82	4.42±1.11	2.88±1.21 ^a
血必净组	25	2.69±0.47 ^a	2.12±0.40 ^a	6.17±0.79 ^{bd}	10.40±1.76 ^{bd}	18.20±2.85 ^{bd}	5.37±1.30	5.04±0.74	9.65±0.73 ^{bc}	12.94±2.12 ^{bd}	11.58±1.39 ^{bd}

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与模型组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

3 讨论

在重症监护病房(ICU)中,严重全身性感染患者因病情需要往往处于镇静和正压机械通气状态,在此基础上,机体的炎症反应、代谢情况以及对药物的反应可能与其他感染患者不同。本实验中尽可能模拟临床全身感染性炎症的治疗模式,并观察了从发生全身感染性炎症到发展为感染性休克过程中大鼠的血流动力学变化。在脓毒症的发生发展过程中,血流动力学的不稳定往往是多种原因造成的,其中血管内皮损伤导致大量炎症介质、心肌抑制因子以及某些血管活性物质释放,造成对机体的“二次打击”^[3-4]。因此,可以看到假手术组大鼠因麻醉的影响血压有所波动,但在实验观察的全过程中都基本稳定于正常范围内。而模型组大鼠随着感染的加重,血压逐渐下降,并逐渐进入休克状态。CLP 后 1 h 内应用血必净注射液的大鼠进入休克期的时间与模型组相比稍晚一些,而且 MAP 也高于模型组。血必净注射液对循环功能有一定的改善,可能是因为在一定程度上拮抗或抑制了上述炎症介质对血管内皮细胞的损伤。

近年来的动物实验及临床试验观察都发现,凝血及纤溶系统的功能紊乱贯穿于脓毒症发生发展的全过程,凝血、抗凝及纤溶系统的功能紊乱是脓毒症发生发展及预后的决定因素之一^[5-6]。在脓毒症发生的早期,病原体及其毒素的大量释放损伤血管内皮细胞,使得内皮细胞在结构和功能上都发生了改变,一方面,损伤的内皮细胞释放大量细胞因子,进一步加重内皮细胞和各个器官系统的损伤;另一方面,内皮细胞使各种蛋白水解酶释放,从而启动内源性凝血系统。在内毒素和炎症因子如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)等的刺激下,内皮细胞释放组织因子(TF),启动外源性凝血途径并加速凝血酶的生成^[1]。机体随即产生抗凝物质和启动纤溶系统,但纤溶系统及生理性的抗凝系统受到炎症

介质不同程度的抑制,使得血液在脓毒症早期处于明显的高凝状态,微血管内微血栓广泛形成,导致微循环障碍,各器官系统功能受损^[7]。在本实验中可以看到,模型组大鼠术后早期血浆 t-PA 和 PAI 含量在短期内明显升高,之后逐渐下降并接近于假手术组水平,甚至更低,完全符合脓毒症发生早期的病理生理过程。在起始应用血必净注射液之后,血浆 t-PA 和 PAI 较模型组明显升高,应该说,血必净注射液含有较多活血化瘀的中药活性成分,而祖国传统医学中的“活血化瘀”可能更侧重于对血管内皮细胞的保护,而并非仅仅作用于“抗凝”^[8-9];在脓毒症早期使用血必净注射液对大鼠纤溶系统的激活有一定的促进作用,这可能一定程度上改善脓毒症早期机体的高凝状态,减少微血栓的形成,从而达到改善微循环的作用。

参考文献

- [1] Esmon CT. The impact of the inflammatory response on coagulation. *Thromb Res*, 2004, 114(5-6): 321-327.
- [2] Chaudry IH, Wichterman KA, Baue AE. Effect of sepsis on tissue adenine nucleotide levels. *Surgery*, 1979, 85(2): 205-211.
- [3] Sakaue Y, Nezu Y, Komori S, et al. Evaluation of hepatosplanchnic circulation and intestinal oxygenation in dogs with a condition that mimicked septic shock induced by continuous infusion of a low dose of lipopolysaccharide. *Am J Vet Res*, 2004, 65(10): 1347-1354.
- [4] 李春盛. 关于脓毒症的几个问题. *中国危重病急救医学*, 2002, 14(6): 323-328.
- [5] 姚咏明, 盛志勇. 脓毒症防治学. 北京: 科学技术文献出版社, 2008: 468-470.
- [6] Hack CE. Tissue factor pathway of coagulation in sepsis. *Crit Care Med*, 2000, 28(9 Suppl): S25-30.
- [7] Bauer I, Bauer M, Raddatz A, et al. Influence of gender on stimulated cytokine response in patients with severe sepsis. *Anaesthesist*, 2006, 55(5): 515-527.
- [8] 李志军, 孙元莹, 吴云良, 等. 血必净注射液防治家兔应激性脏器损伤的研究. *中国危重病急救医学*, 2006, 18(2): 105-108.
- [9] 张淑文, 孙成栋, 文艳, 等. 血必净注射液对脓毒症大鼠血清炎症介质及 Th1/2 的影响. *中国危重病急救医学*, 2006, 18(11): 673-676.

(收稿日期: 2009-11-04)

(本文编辑: 李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

《中国中西医结合急救杂志》对作者署名的一般要求

同时具备以下 3 项条件者方可署名为作者: ①参与选题和设计, 或参与资料的分析与解释者; ②起草或修改论文中关键性理论或其他主要内容者; ③能对编辑部的修改意见进行核修, 在学术上进行答辩, 并最终同意该文发表者。

仅参与研究项目资金的获得或收集资料者不能列为作者, 仅对科研小组进行一般管理者也不宜列为作者。对文章中的各主要结论, 均须至少有 1 位作者负责。作者中如有外籍作者, 应征得本人同意, 并在投稿时向编辑部提供相应证明材料。集体署名的文稿, 在题名下列出署名单位, 并于文末列出整理者姓名, 并须明确该文的主要负责人, 在论文首页脚注通信作者姓名、单位、邮政编码及 Email 地址。通信作者一般只列 1 位, 由投稿者确定。如需注明协作组成员, 则于文末参考文献前列出协作组成员的单位及姓名。

作者的具体排序应在投稿前即确定, 在编排过程中不应再改动, 确需改动时必须出示单位证明。