

多巴胺和去甲肾上腺素对脓毒症休克兔急性肺损伤的保护作用

宋 杨,张 铮*,秦海东,沈 华,鲍 磊

(南京医科大学附属南京医院急诊科,江苏 南京 210006)

[摘要] 目的:评价多巴胺和去甲肾上腺素对脓毒症休克兔急性肺损伤的保护作用。方法:采用盲肠结扎穿孔(CLP)联合静脉注入内毒素的方法复制脓毒症休克动物模型,将63只新西兰大白兔分为假手术对照组(A组, $n=7$)、模型组(B组, $n=14$)、多巴胺治疗组(C组, $n=14$)、去甲肾上腺素治疗组(D组, $n=14$)、多巴胺联合去甲肾上腺素治疗组(E组, $n=14$),各组分别于造模后3、6 h处死7只。留取血清标本,用酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)检测各时相点血清中肺泡表面活性蛋白A与肺泡表面活性蛋白D(surfactant protein A and surfactant protein D,SP-A and SP-D)的浓度值,并留取肺组织标本做光镜和电镜检查。结果:各组血清中SP-A与SP-D的浓度值在各时相点均高于A组($P<0.05$);与B组比较,C组血清中SP-A与SP-D的浓度值在3、6 h差异均无统计学意义($P>0.05$);D、E组血清中SP-A与SP-D的浓度值在3、6 h均显著低于B组($P<0.05$)。形态学观察发现D、E组肺组织损伤明显轻于B、C组。结论:脓毒症休克时肺组织损伤严重;单独应用去甲肾上腺素或联合应用去甲肾上腺素和多巴胺可以有效减轻脓毒症休克引起的肺组织损伤,对肺组织起保护作用。

[关键词] 脓毒症休克;急性肺损伤;肺泡表面活性蛋白A;肺泡表面活性蛋白D

[中图分类号] R563

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)05-617-04

doi:10.7655/NYDXBNS20140516

Protective effects of dopamine and norepinephrine on the acute lung injury in a rabbit model of septic shock

Song Yang,Zhang Zheng*,Qin Haidong,Shen Hua,Bao Lei

(Department of Emergency,the First Hospital of Nanjing Affiliated to NJMU,Nanjing 210006,China)

[Abstract] **Objective:**To evaluate the protective effects of dopamine and norepinephrine on the acute lung injury(ALI) in a rabbit model of septic shock. **Methods:**A cecal ligation and puncture procedure combined with intravenous injection of lipopolysaccharides was used to make a septic shock model. Sixty three rabbits were randomly divided into 5 groups:sham operation group(group A, $n=7$),septic shock group(group B, $n=14$),dopamine treatment group(group C, $n=14$),norepinephrine treatment group (group D, $n=14$),and dopamine combined with norepinephrine treatment group(group E, $n=14$). Seven rabbits from each group were sacrificed 3 and 6 hours after septic shock,the concentration values of surfactant protein A and surfactant protein D (SP-A and SP-D)in plasma were tested by ELISA method and the morphological changes of lung tissue were performed at 3 and 6 h. **Results:**The concentrations of SP-A and SP-D in each group were significantly increased than those in group A ($P<0.05$). No significant differences in the concentration values of SP-A and SP-D in plasma were found between group B and C at 3 and 6 h ($P>0.05$);in group D and E,the concentration values of SP-A and SP-D in plasma were significantly lower than those in group B at 3 h and 6 h ($P<0.05$). The morphological changes of lung tissue were lessened in group D and E than those in group B and C. **Conclusion:**The lung tissue was injured severely in septic shock model. Norepinephrine or norepinephrine combined with dopamine can relieve the lesion of lung tissue and play a protective role.

[Key words] Septic shock;Acute lung injury;Surfactant protein A;Surfactant protein D

[Acta Univ Med Nanjing,2014,34(05):617-620]

[基金项目] 南京市卫生局重大项目(2007-3-7)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:zzlp2000@yahoo.com.

cn

脓毒症(sepsis)是由细菌感染引起的全身性炎症反应综合征(SIRS),临床上证实有细菌存在或有高度可疑感染灶。脓毒症是诱发多器官功能障碍综

综合征(MODS)并导致该类患者死亡的主要原因。脓毒症时,肺脏是最容易受损伤的靶器官之一,表现为急性肺损伤(acute lung injury,ALI),其出现最早,且发生率最高^[1-2]。SP-A与SP-D是由肺泡II型上皮细胞(alveolar epithelial cells type II, AEC-II)合成并分泌到肺泡腔中的一种胶原糖蛋白,具有先天的局部免疫功能^[3-4];SP-A主要储存于AEC-II的板层小体(lamellar body, Lb)中,SP-D储存于AEC-II的内质网和高尔基体中。有研究显示,ALI时血清中SP-A与SP-D的浓度值升高,其升高程度与肺组织损伤程度成正相关,故血清中SP-A与SP-D的水平可反应肺组织损伤的严重程度^[5]。

脓毒症休克是脓毒症的严重阶段,是一种分布性休克,以血流分布异常、动-静脉短路为主要特征。目前,循环支持治疗脓毒症休克的主要原则仍然是在充分液体复苏的基础上应用血管活性药物^[6]。本实验通过检测脓毒症休克兔ALI时不同时相点血清中SP-A与SP-D的浓度值,以评价不同血管活性药物对脓毒症休克兔ALI的保护作用。

1 材料和方法

1.1 材料

雄性新西兰大白兔63只,体质量2.0~2.5 kg,由南京医科大学附属南京医院动物实验中心提供,禁食24 h后称质量,予20%乌拉坦3 ml/kg麻醉后,左颈动脉置管监测动脉压(ABP),右股静脉置管补液。参照全竹富等^[7]改进的盲肠结扎穿孔术(CLP)联合静脉注入内毒素的方法制备脓毒症休克动物模型。术后待血压稳定15 min后予内毒素(LPS,血清型O55B5, Sigma公司,美国)600 μg/(kg·min)静脉推注,时间约15 min。平均动脉压降至基础值的60%视为达到休克标准。动物休克后随机分为4组:造模组(B组, n = 14);多巴胺治疗组(C组, n = 14);去甲肾上腺素治疗组(D组, n = 14);多巴胺联合去甲肾上腺素治疗组(E组, n = 14)。4组均

以1 ml/(kg·min)的速率输注林格氏液进行液体复苏。液体复苏后,C组持续输注多巴胺3.0~5.0 μg/(kg·min);D组持续输注去甲肾上腺素0.05~0.50 μg/(kg·min);E组持续输注去甲肾上腺素0.05~0.50 μg/(kg·min)和多巴胺3~5 μg/(kg·min),以平均动脉压恢复至70 mmHg为准。另设假手术对照组7只(A组):动物仅接受盲肠探查术。

1.2 方法

1.2.1 兔肺组织光镜检查

各组取右下肺组织4%多聚甲醛固定,石蜡包埋切片,苏木素伊红染色,在普通光镜下观察各组肺组织病理变化。

1.2.2 兔肺组织电镜检查

各组取右下肺组织2.5%戊二醛固定,做常规透射电镜检查。

1.2.3 兔血清SP-A、SP-D浓度值测定

采用酶联免疫吸附(ELISA)双抗体夹心法,按试剂盒说明操作,酶标仪测定。

1.3 统计学方法

采用SPSS18.0软件进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组均数比较采用单因素方差分析,均数间两两比较采用q检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 光镜

B、C组在3、6 h时间点均可见肺泡结构紊乱,细胞排列不规则,肺泡淤血水肿明显,大量炎症细胞及红细胞浸润;6 h病变较3 h更为严重;D、E组在同时相点肺泡结构基本完整,细胞排列较为规则,肺泡淤血水肿较轻,炎症细胞及红细胞浸润较同时相点B、C组少(图1)。

2.2 透射电镜

B、C组在3、6 h时间点均可见AEC-II游离面微绒毛变短、稀疏,排列不整齐,部分严重缺失;内质

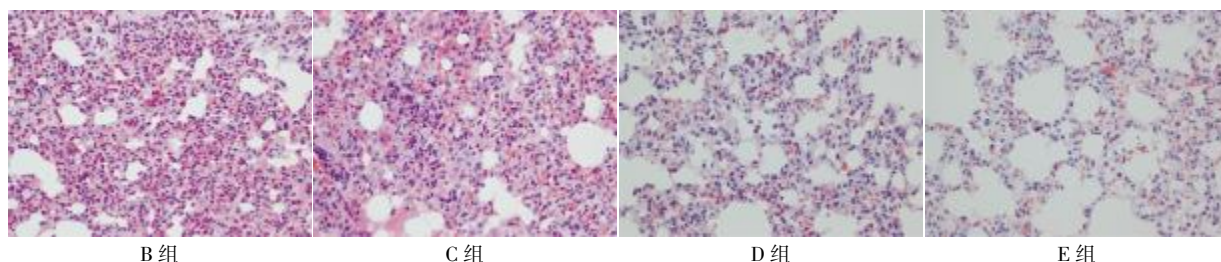


图1 模型组兔肺组织6 h时间点光镜观察(HE, ×400)

Figure 1 The observation of light microscopy at 6 h in group B of rabbit lung tissue (HE, ×400)

网、高尔基体显著扩张、崩解;线粒体增生模糊,高度肿胀,嵴大部分消失,呈空泡状;Lb 边界不清,破溃、脱颗粒较严重,可见残余碎片;部分可见细胞核形态不规则,边界模糊,凹凸不平,核质不均一等病变;6 h 点病变较 3 h 点更为严重;D、E 组病变程度较轻,AEC- II 游离面微绒毛排列较为规则,脱落较少;内质网、高尔基体扩张不明显;线粒体轻微肿胀,嵴较清晰,空泡变化不明显;Lb 边界较为清楚,脱颗粒较少(图 2)。

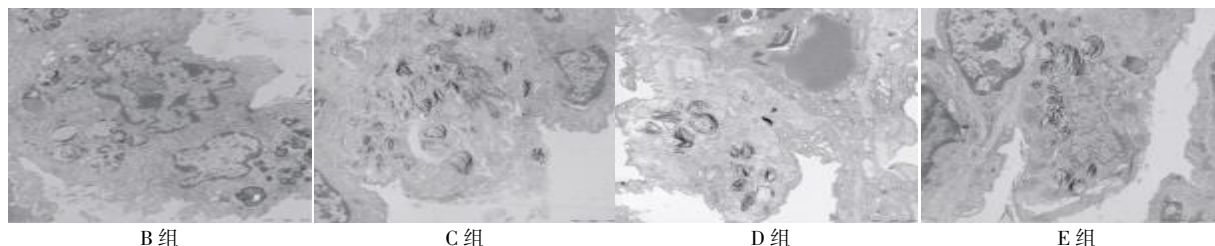


图 2 模型组兔肺组织 6 h 时间点电镜观察($\times 12\ 000$)

Figure 2 The observation of electron microscopy at 6 h in group B of rabbit lung tissue ($\times 12\ 000$)

表 1 兔休克复苏后 3、6 h 血清中 SP-A 浓度值

Table 1 The concentration values of SP-A in plasma at 3h and 6h after resuscitation

($n=7$, ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	SP-A		SP-D	
	3 h	6 h	3 h	6 h
A 组	2.90 \pm 0.40		18.39 \pm 1.96	
B 组	4.95 \pm 0.65 $^{\Delta}$	5.29 \pm 0.88 $^{\Delta}$	37.60 \pm 3.91 $^{\Delta}$	42.04 \pm 1.06 $^{\Delta\#}$
C 组	4.76 \pm 0.83 $^{\Delta}$	5.18 \pm 0.99 $^{\Delta}$	36.55 \pm 4.02 $^{\Delta}$	41.24 \pm 1.06 $^{\Delta\#}$
D 组	3.65 \pm 0.82 $^{\Delta*}$	4.26 \pm 0.41 *	28.75 \pm 2.81 $^{\Delta*}$	31.79 \pm 1.53 $^{\Delta*}$
E 组	3.61 \pm 0.45 $^{\Delta*}$	3.93 \pm 0.44 $^{\Delta*}$	25.63 \pm 2.31 $^{\Delta*}$	27.41 \pm 1.16 $^{\Delta*}$

与 A 组比较, $^{\Delta}P < 0.05$; 与同时相点 B 组比较, $^*P < 0.05$ 。

3 讨论

脓毒症是导致急性肺损伤发生的主要病因之一,脓毒症休克时肺组织严重损伤^[8]。关于 ALI 时 SP-A 与 SP-D 在血液循环中浓度增高的机制存在几种假说。首先,ALI 发生时 AEC- II 严重损伤,储存于其中的 SP-A 与 SP-D 释放到肺泡液中;肺泡液和肺血管血液循环之间存在一定的浓度差,并且 SP-A 与 SP-D 具有很强的亲水性^[9],于是通过通透性增加的肺泡毛细血管渗透到血液循环中;其次,ALI 发生时血液中 SP-A 与 SP-D 的清除率降低,进一步使其在血清中的浓度增加^[10]。本研究显示,在造模后 3 h 血清中 SP-A 与 SP-D 的浓度即开始显著升高(与假手术对照组比较 $P < 0.05$);而 SP-D 的浓度在造模后 6 h 进一步升高(与造模后 3 h 比较 $P < 0.05$),说明血清中 SP-A 与 SP-D 的浓度在脓毒症休克早期

2.3 血清 SP-A, SP-D 浓度值

各组血清中 SP-A 与 SP-D 的浓度值在各时相点均高于 A 组($P < 0.05$);与 B 组比较,C 组血清中 SP-A 与 SP-D 的浓度值在 3、6 h 时间点差异均无统计学意义($P > 0.05$);D、E 组血清中 SP-A 与 SP-D 的浓度值在 3、6 h 均显著低于 B 组($P < 0.05$),差异有统计学意义。另外,在造模后 6 h B 组血清中 SP-D 的浓度值显著高于造模后 3 h ($P < 0.05$, 表 1)。

即开始升高;同时组织学也显示肺组织出现损伤。因此,在脓毒症休克早期肺组织损伤即发生;而血清中 SP-A 与 SP-D 的浓度值可作为 ALI 的早期诊断指标。

脓毒症休克时,容量分布异常,机体有效循环血容量减少,组织有效血流灌注减少,内脏器官缺血缺氧,由此引起 MODS;在液体复苏的基础上,临床多给予血管活性药物治疗。但是,对血管活性药物疗效的评价,不应单纯以升高血压为标准,而应同时关注组织灌注是否得到改善。本研究结果显示,多巴胺治疗组各时相点血清中 SP-A 与 SP-D 的浓度值与造模组相应时相点比较无明显差异,光镜和电镜观察结果也显示肺组织损伤严重。其机制可能为:小剂量多巴胺[3~5 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$]主要作用于 β 受体,可增加每搏输出量和心率以提高平均动脉压^[11-12],使脓毒症休克时动脉血压升高;但是,小剂量多巴胺对氧代谢无明显作用,不能显著改善组织灌注和氧合,因此,

不能减轻脓毒症休克时缺血、缺氧对肺组织造成的损伤,这与 Taniguchi 等^[13]的研究结果相一致;另外,小剂量多巴胺对 α 受体作用弱,不能显著收缩外周血管,降低血管通透性^[14],所以,不能减少肺组织中 SP-A 与 SP-D 向血液循环中渗透,故血清中 SP-A 与 SP-D 浓度值与造模组比较无统计学差异。但是,本实验观察到去甲肾上腺素治疗组和多巴胺联合去甲肾上腺素治疗组各时相点血清中 SP-A 与 SP-D 浓度值与造模组相应时相点比较显著降低,同时光镜和电镜观察结果也显示肺组织损伤较轻。以往认为,去甲肾上腺素是强烈的 α 受体激动剂,具有强烈的缩血管作用,能增加心脏后负荷,降低心排出量,同时导致内脏血管收缩,加重内脏缺血,因此,以往很少应用去甲肾上腺素治疗脓毒症休克。但近几年的研究显示,脓毒症休克患者应用去甲肾上腺素,可明显改善全身血流动力学,改善内脏缺血、缺氧^[15-16]。其机制为:去甲肾上腺素能收缩动-静脉短路血管,减少其分流,使需氧部位血管反应恢复,流向该部位血流增加,从而改善全身血流动力学,改善内脏器官缺血、缺氧^[17]。故脓毒症休克时应用去甲肾上腺素可以有效减轻缺血、缺氧对肺组织造成的损伤。另外,由于去甲肾上腺素具有强烈的血管收缩作用,能收缩脓毒症休克时扩张的肺毛细血管,降低其通透性,故可以显著降低血清中 SP-A 与 SP-D 的浓度。此外,本研究还显示,单独应用去甲肾上腺素与联合应用多巴胺和去甲肾上腺素对脓毒症休克兔急性肺损伤的作用无统计学差异,但是在升高动脉压和改善心率方面,联合应用多巴胺和去甲肾上腺素的效果优于单独使用去甲肾上腺素。

[参考文献]

- [1] Gordon DR, Ellen C. Incidence and outcomes of acute lung injury[J]. *N Engl J Med*, 2005, 3(53):1685-1693
- [2] Dushianthan A, Grocott MPW, Postle AD, et al. Acute respiratory distress syndrome and acute lung injury [J]. *Postgrad Med J*, 2011, 87(1031):612-622
- [3] Silveyra P, Floros J. Genetic variant associations of human SP-A and SP-D with acute and chronic lung injury [J]. *Front Biosci*, 2012, 1(17):407-429
- [4] Nayak A, Dodagatta-Marri E, Tsolaki AG, et al. An Insight into the diverse roles of surfactant proteins, SP-A and SP-D in innate and adaptive immunity [J]. *Front Immunol*, 2012, 3:131
- [5] Eisner MD, Parsons P, Matthay MA, et al. Plasma surfactant protein levels and clinical outcomes in patients with acute lung injury[J]. *Thorax*, 2003, 58(11):983-988
- [6] Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock 2008 [J]. *Crit Care Med*, 2008, 36(1):237-296
- [7] 全竹富, 汪义军, 刘放南, 等. 腹腔感染对机体器官结构和功能的影响: 一种多器官功能障碍综合征的动物模型[J]. *医学研究生学报*, 2000, 13(1):33-36
- [8] Bakowitz M, Bruns B, McCunn M. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome in the injured patient [J]. *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine*, 2012, 20(1):54
- [9] Sorensen GL, Husby S, Holmskov U. Surfactant protein A and surfactant protein D variation in pulmonary disease [J]. *Immunobiology*, 2007, 212(4-5):381-416
- [10] Chronoes ZC, Chronoes ZS, Shepherd VL. Pulmonary surfactant: An immunological perspective [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2010, 25(1):13-26
- [11] Boulain T, Runge I, Bercault N, et al. Dopamin therapy in septic shock: detrimental effect on survival? [J]. *J Crit Care*, 2009, 24(4):575-582
- [12] Nathan Coxford R, Lang E, Dowling S. Dopamine versus norepinephrine in the treatment of shock [J]. *CJEM*, 2011, 13(6):395-397
- [13] Taniguchi T, Kurita A, Mukawa C, et al. Dose related effects of direct hemoperfusion using a cytokine adsorbent column for the treatment of experimental endotoxemia[J]. *Intensive Care Med*, 2007, 33(3):529-533
- [14] Avinash Agrawal, Alok Gupta, et al. Comparative study of dopamine and norepinephrine in the management of septic shock[J]. *Saudi J Anaesth*, 2011, 5(2):162-166
- [15] Vincent JL, Biston P, Devriendt J, et al. Dopamine versus norepinephrine: is one better [J]. *Minerva Anesthesiol*, 2009, 75(5):333-337
- [16] De Backer D, Biston P, Devriendt J, et al. Comparison of dopamine and norepinephrine in the treatment of shock [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(9):779-789
- [17] Sharma R, Tepas JJ, Hudak ML, et al. Neonatal gut barrier and multiple organ failure: role of endotoxin and proinflammatory cytokines in sepsis and necrotizing enterocolitis[J]. *J Pediatr Surg*, 2007, 42(3):456-461

[收稿日期] 2013-12-29