

血液滤过对重症中暑休克犬内皮素和一氧化氮的影响

陈光明 高丽芳 许慧娜 王承峰 詹海霞 王文睿 陈锦华 陈建

【摘要】 目的 探讨血液滤过(hemofiltration, HF)对重症中暑休克犬内皮素(endothelin, ET)和一氧化氮(nitric oxide, NO)的影响。**方法** 16只健康雄性杂种犬,随机分为中暑对照组(HS组)和血液滤过组(HF组)各8只。采用整体高温来诱导犬重症中暑休克,模型成功后立即出舱,HS组置于常温下观察,HF组立即行HF治疗,观察两组犬各时间点血浆ET和血清NO含量及NO/ET值的变化。**结果** 两组犬中暑前ET和NO含量及NO/ET值比较无统计学差异($P > 0.05$)。中暑休克时ET和NO含量及NO/ET值较中暑前明显升高($P < 0.01$),且两组之间比较无统计学差异($P > 0.05$)。休克后1h:HS组ET值上升,HF组ET值下降,与休克时比较均无统计学意义($P > 0.05$),但HF组ET明显低于HS组($P < 0.05$);HS组NO值升高,但无统计学意义,HF组NO值下降,低于休克时($P < 0.05$),HF组NO明显低于HS组($P < 0.01$);HS组NO/ET值略降低,HF组NO/ET值亦下降,但均无统计学意义($P > 0.05$),两组之间NO/ET比较亦无统计学意义($P > 0.05$);休克后2h和3h:HS组ET值继续上升明显高于休克时($P < 0.01$),HF组ET值逐渐下降明显低于休克时($P < 0.01$),HF组ET值明显低于HS组($P < 0.01$);HS组NO值继续上升,但与休克时比较无统计学意义($P > 0.05$),HF组NO逐渐下降,明显低于休克时($P < 0.01$),HF组NO明显低于HS组($P < 0.01$);HS组NO/ET略低于休克时,但无统计学意义($P > 0.05$),HF组NO/ET值明显低于休克时($P < 0.01$),HF组NO/ET值明显低于HS组($P < 0.01$)。**结论** 重症中暑休克犬会出现血浆ET和血清NO的升高及NO/ET值的失调,HF可清除血中异常升高的ET和NO,并恢复NO/ET值,而清除NO和ET可能是HF治疗重症中暑时稳定其血压和改善微循环灌注的重要机制之一。

【关键词】 中暑; 血液滤过; 内皮缩血管肽类; 一氧化氮

Effects of hemofiltration on endothelin and nitric oxide in severe heat stroke dogs with shock CHEN Guang-ming, GAO Li-fang, XU Hui-na, WANG Cheng-feng, ZHAN Hai-xia, WANG Wen-rui, CHEN Jin-hua, CHEN Jian. Department of Paediatrics, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, Fuzhou 350025, China
Corresponding author: CHEN Jian, Email: doctorj1@163.com

【Abstract】 Objective To explore the effects of hemofiltration on endothelin and nitric oxide in severe heat stroke dogs with shock. **Methods** Sixteen healthy male hybrid dogs were randomly divided into 2 groups, 8 for each: as heat stroke group (HS group) and hemofiltration group (HF group). Severe heat stroke model was induced with high temperature. The dogs were taken out of the heating cabin as soon as it reached heat stroke level, then observed under normal temperature with no treatment. The HF group accepted hemofiltration treatment immediately. The changes of ET, NO, NO/ET of two groups of dogs were observed and compared. **Results** The value of the ET, NO, NO/ET were compared, there were no significant differences ($P > 0.05$) between two groups before heatstroke. The value of ET, NO, NO/ET of the dogs were all higher when got heat stroke and the two groups of dogs showed no significant difference ($P > 0.05$). One hour after heat stroke, the ET of HS group rose continually while HF group declined, but there were no difference comparing with the time of got heat stroke. The value of ET in HF group was lower than HS group ($P < 0.05$). The NO of HS group rose but showed no significant difference ($P > 0.05$), while in HF group the NO declined and showed significant difference ($P < 0.01$). The value of NO in HF group was lower than HS group ($P < 0.01$). The ratio of NO/ET in HS group and HF group all declined and showed no significant difference ($P >$

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2012.13.028

基金项目:南京军区医学科学技术研究“十一·五”计划课题项目(06MA141)

作者单位:350025 南京军区福州总医院儿科(陈光明、王承峰、詹海霞),胸外科(王文睿),统计室(陈锦华),肾内科(陈建);福建中医药大学[高丽芳(硕士研究生)];厦门大学附属第一医院病案室(许慧娜)

通讯作者:陈建,Email:doctorj1@163.com

0.05)。There was no significant difference in NO/ET between two groups at this time ($P > 0.05$)。After two and three hours, comparing with the time of got heat stroke, the value of ET in HS group rose apparently and showed significant difference ($P < 0.01$), the value of ET in HF group slowly declined and showed significant difference ($P < 0.01$)。The value of ET in HF group was obviously lower than HS group ($P < 0.01$)。The value of NO in HS group still rose but showed no difference ($P > 0.05$), the value of NO in HF group continuously declined and showed significant difference ($P < 0.01$)。The value of NO in HF group was lower than HS group ($P < 0.01$)。The ratio of NO/ET in HS group was little lower comparing with the time of got heat stroke, but showed no significant difference ($P > 0.05$)。The ratio of NO/ET in HF group declined and showed significant difference ($P < 0.01$) and apparently lower than HS group ($P < 0.01$)。Conclusions The value of plasma ET and serum NO will rise and the balance of NO/ET will be disturbed in dogs with severe heat stroke caused shock, hemofiltration can remove the ET and NO from blood, and renew the ratio of NO/ET, so the clearance of ET and NO from blood by HF may be one of the important mechanism in stabilizing the blood pressure and improving circumfusion in dogs with severe heat stroke.

【Key words】 Heat stroke; Hemofiltration; Endothelins; Nitric oxide

重症中暑(heat stroke, HS)常出现血压下降、休克和多脏器损害,其发病凶险,病死率高,且存活患者常遗留不同程度的中枢神经系统后遗症^[1-4]。内皮素(endothelin, ET)和一氧化氮(nitric oxide, NO)是主要的血管收缩和舒张物质,是一对重要的血管张力调节物质,主要功能是改善微循环,但在分泌失调时又引起严重的组织细胞缺血缺氧性损害,与脓毒症的发生和发展密切相关^[5-6]。但有关ET和NO与中暑休克的关系,尚未见文献报道。本课题前期的研究发现血液滤过(hemofiltration, HF)可迅速降低重症中暑犬的中心体温、稳定血流动力学和改善内环境,并明显提高生存率^[7];本研究进一步观察HF对重症中暑犬血浆ET和血清NO含量的影响,以探讨其稳定血压和改善微循环灌注的机制。

材料与方 法

一、实验材料

1. 主要材料:仿真模拟高温气候舱(南方医科大学热卫系高温实验室研制)。多功能心电监护仪、有创连续动脉血压监测模块、直肠温度探头(飞利浦科技有限公司)。电脑型超声波加湿器(北京亚都室内环保科技有限公司)。BM-25连续性床边血液净化机(美国百特公司)和配套的体外循环管路。AV-600S聚砜膜滤器(德国Fresenius公司)。8 Fr双腔静脉留置导管(美国Arrow公司)。

2. 主要试剂及仪器:内皮素试剂盒(解放军总医院),NO试剂盒(南京建成生物工程研究所),GC-1200 γ 放射免疫计数器(中国科学技术大学科技实业总公司中佳光电仪器分公司),721-型分光光度计(厦门分析仪器厂),KDC-1044低速台式离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司)。

3. 动物及分组:普通级健康雄性杂种犬16只,体

质量11.0~17.0 kg,由南京军区福州总医院比较医学科提供。饲养于常温[环境温度(24.69 ± 1.28) $^{\circ}\text{C}$,环境湿度(49.88 ± 6.49)%]。随机分为中暑对照组(HS组)8只,血液滤过组(HF组)8只,两组犬体质量分别为(14.02 ± 1.99)kg和(14.09 ± 1.63)kg,比较差异无统计学意义($t = -0.082, P = 0.935$)。

二、实验方法

1. 麻醉:实验前6 h禁食,实验时以盐酸氯氨酮40 mg/kg,阿托品0.05 mg/kg肌注注射,实验过程小剂量追加氯胺酮以维持麻醉。麻醉成功后给予生理盐水200 ml直肠灌洗以清除直肠内残余粪便,之后插入直肠温度探头(插入肛门内10 cm),连续监测肛温代表中心体温。

2. 股静脉和股动脉置管:麻醉成功后以手触摸一侧股动脉搏动处,局部备皮、消毒、铺巾,逐层切开,解剖分离股动脉和股静脉,置入8 Fr双腔中心静脉导管,动脉端用于连续监测有创动脉血压和动脉血气,静脉端用于血液滤过通路和采集静脉血标本。

3. 重症中暑犬模型建立:参照文献^[8-10]加以改进,采用整体高温来诱导中暑。每次将两只犬(HS组和HF组各1只)同时置入温度(36 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$,湿度70%的仿真模拟高温气候舱内。中暑休克形成的判断标准为肛温 >42 $^{\circ}\text{C}$,平均动脉压瞬时下降 >25 mm Hg。模型成功后立即出舱,HS组置于常温下观察,HF组立即接机行HF治疗。

4. HF:采用膜面积1.4 m^2 的AV-600S聚砜膜空心纤维血液过滤器。首先用25 IU/ml肝素生理盐水循环管路30 min,然后将预先采集的200 ml犬全血输入血管通路待机。血流速率为70 ml/min,置换速度200 $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,按前稀释法输入;首剂肝素用量1250 IU/kg,于血滤前1 min从动脉端推入,维持用量625 $\text{IU} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,通过微量推注泵从滤器前泵入。

HF 时间为 3 h。置换液配方: 钠离子 138.28 mmol/L, 氯离子 106.58 mmol/L, 碳酸氢根 35.72 mmol/L, 钙离子 2.71 mmol/L, 镁离子 1.52 mmol/L, 葡萄糖 9.26 mmol/L, 钾离子 4.02 mmol/L。置换液温度为 (24.69 ± 1.28) °C。

5. 血浆 ET 测定: 放射免疫法, 测定中暑前 (Pre-HS)、中暑休克时、中暑休克后 1、2、3 h 血浆 ET 水平 (单位 ng/L)。标本留取方法: 普通试管中加抑肽酶 20 μl, EDTA 15 μl, 取血 1 ml, 混匀、离心, 取上清 500 μl, -20 °C 保存, 试验用 100 μl, 严格按照试剂盒说明书操作。

6. 血清 NO 检测: 用 NO₂⁻ 和 NO₃⁻ 表示 NO 的含量, 测定中暑前 (Pre-HS)、中暑休克时、中暑休克后 1、2、3 h 血清 NO 水平 (单位 μmol/L)。严格按照试剂盒说明书操作。

三、统计学分析

采用 SPSS 11.0 软件进行统计分析, 所有计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 均数间比较采用独立样本 *t* 检验, 组内比较采用配对 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两组犬血浆 ET 变化 (表 1): 两组犬中暑前 ET 比较无统计学差异 (*P* > 0.05); 中暑休克时 ET 较热中暑前明显升高 (*P* < 0.01), 且两组犬 ET 比较无统计学

差异 (*P* > 0.05); 休克后 1 h HS 组 ET 继续上升, HF 组 ET 下降, 与休克时比较均无统计学意义 (*P* > 0.05), 但 HF 组 ET 明显低于对照组 (*P* < 0.05); 休克后 2 h 和 3 h HS 组 ET 继续上升, 明显高于休克时 (*P* < 0.01), HF 组 ET 逐渐下降, 明显低于休克时 (*P* < 0.01), HF 组 ET 明显低于 HS 组 (*P* < 0.01)。

2. 两组犬血清 NO 变化 (表 2): 两组犬中暑前 NO 比较无统计学差异 (*P* > 0.05); 中暑休克时 NO 较中暑前明显升高 (*P* < 0.01), 且两组犬 NO 比较无统计学差异 (*P* > 0.05); 休克后 1 h HS 组 NO 略升高, 但无统计学意义, HF 组 NO 下降, 低于休克时 (*P* < 0.05), HF 组 NO 明显低于 HS 组 (*P* < 0.01); 休克后 2 h 和 3 h HS 组 NO 继续上升, 但与休克时比较无统计学意义 (*P* > 0.05), HF 组 NO 继续下降, 明显低于休克时 (*P* < 0.01), HF 组 NO 明显低于 HS 组 (*P* < 0.01)。

3. 两组犬 NO/ET 值变化 (表 3): 两组犬中暑前 NO/ET 值比较无统计学差异 (*P* > 0.05); 中暑休克时 NO/ET 值较中暑前明显升高 (*P* < 0.01), 且两组犬 NO/ET 值比较无统计学差异 (*P* > 0.05); 休克 1 h HS 组 NO/ET 值略降低, HF 组 NO/ET 值亦下降, 但均无统计学意义, 两组之间 NO/ET 值比较亦无统计学意义 (*P* > 0.05); 休克后 2 h 和 3 h HS 组 NO/ET 值略低于休克时, 但无统计学意义 (*P* > 0.05), HF 组 NO/ET 值明显低于休克时 (*P* < 0.01), HF 组 NO/ET 值明显低于 HS 组 (*P* < 0.01)。

表 1 两组犬血浆 ET 变化 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	中暑前	休克时	1 h	2 h	3 h
HS 组	8	65.69 ± 15.69	91.28 ± 12.82 ^a	102.83 ± 15.58	120.86 ± 12.09 ^b	126.60 ± 16.14 ^b
HF 组	8	66.35 ± 14.10	90.06 ± 13.83 ^a	78.07 ± 14.29	64.07 ± 13.25 ^b	69.54 ± 12.42 ^b
<i>P</i> 值		0.897	0.858	0.020	0.000	0.000

注: 组内与中暑前比较, ^a*P* < 0.01; 组内与休克时比较, ^b*P* < 0.01

表 2 两组犬血清 NO 变化 (μmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	中暑前	休克时	1 h	2 h	3 h
HS 组	8	40.50 ± 11.85	131.99 ± 30.39 ^a	140.88 ± 12.07	153.56 ± 20.89	158.36 ± 9.95
HF 组	8	38.47 ± 10.86	129.82 ± 25.63 ^a	98.79 ± 22.26 ^b	50.80 ± 19.42 ^c	42.68 ± 9.07 ^c
<i>P</i> 值		0.726	0.879	0.006	0.000	0.000

注: 组内与中暑前比较, ^a*P* < 0.01; 组内与休克时比较, ^b*P* < 0.05, ^c*P* < 0.01

表 3 两组犬 NO/ET 比值变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	中暑前	休克时	1 h	2 h	3 h
HS 组	8	0.62 ± 0.14	1.46 ± 0.34 ^a	1.40 ± 0.33	1.28 ± 0.22	1.26 ± 0.16
HF 组	8	0.59 ± 0.17	1.46 ± 0.30 ^a	1.27 ± 0.16	0.79 ± 0.20 ^b	0.61 ± 0.08 ^b
<i>P</i> 值		0.702	0.960	0.329	0.006	0.000

注: 组内与中暑前比较, ^a*P* < 0.01; 组内与休克时比较, ^b*P* < 0.01

讨 论

NO作为一种内源性的血管舒张因子,由血管内皮细胞释放,是一种新型生物信使分子。ET是由血管内皮细胞所产生的一种作用持久而且强烈的缩血管因子。NO和ET的相互联系十分紧密,二者在多种生理功能方面的相互对立作用日益受到人们的关注。在脓毒症早期,由于血管内皮损伤导致NO和ET的增加,后者在全身炎症反应中发挥重要作用^[11]。

重症中暑休克常出现血压下降、休克和多脏器损害,在病理生理的很多方面与脓毒症极其相似^[12],是否也存在血管内皮损伤及NO和ET的释放增加,目前未见文献报道。本实验结果显示犬中暑休克后血浆NO和血清ET明显升高,NO/ET值也明显高于中暑前,其原因可能有:(1)中暑后机体代谢增加,内脏血流减少,导致肠道和肝脏缺氧,氮激活^[13]。(2)肠黏膜通透性增加,肠道细菌异位,内毒素进入血液循环^[14-16]。(3)内毒素和炎症介质的增加,导致血管内皮的损伤,血管通透性增加^[17-18]。由于以上原因导致NO和ET的释放增加和比例失调,从而引起血压下降和微循环灌注障碍,进一步导致多脏器损害,甚至死亡。

HF后犬ET和NO逐渐下降,NO/ET值逐渐恢复正常,提示HF治疗重症中暑的机制除与其早期快速降温、纠正酸碱失衡及电解质紊乱有关外^[7],可能还与其清除血中异常升高的NO和ET,并恢复NO/ET值有关。我们在临床工作中发现,一些重症患者在做HF前血压下降,需要多种血管活性物质(多巴胺、肾上腺素、去甲肾上腺素等)来维持血压的稳定,但随着HF的进行,血压逐渐回升,有的患者甚至还出现高血压而需要硝普钠来降压,推测其机制可能也与此有关。

总之,本研究的结果显示,重症中暑休克犬会出现血浆ET和血清NO的升高及NO/ET值的失调,HF可清除血中异常升高的ET和NO,并恢复NO/ET值。而清除NO和ET可能是HF治疗重症中暑时稳定其血压和改善微循环灌注的重要机制之一。

参 考 文 献

[1] Miyauchi T, Tsuruta R, Kutsuna S, et al. Successful treatment with hydrocortisone for heat stroke with critical illness-related corticosteroid insufficiency: transitional changes in serum cytokine and cortisol con-

centrations. *J Anesth*, 2009, 23:266-269.

- [2] Guard A, Gallagher SS. Heat related deaths to young children in parked cars; an analysis of 171 fatalities in the United States, 1995-2002. *Inj Prev*, 2005, 11:33-37.
- [3] Pease S, Bouadma L, Keramarrec N, et al. Early organ dysfunction course, cooling time and outcome in classic heatstroke. *Intensive Care Med*, 2009, 35:1454-1458.
- [4] Sithinamsuwan P, Piyavechviratana K, Kitthaweesin T, et al. Exertional heatstroke: early recognition and outcome with aggressive combined cooling—a 12-year experience. *Mil Med*, 2009, 174:496-502.
- [5] 占利民, 余又新, 胡德林, 等. 脓毒症大鼠血清一氧化氮和内皮素-1水平变化的研究. *现代中西医结合杂志*, 2010, 19:1318-1319.
- [6] 彭娜, 向定成, 苏磊, 等. 脓毒症大鼠心肌内皮素-1、肿瘤坏死因子- α 表达与心肌损伤的关系. *实用医学杂志*, 2010, 26:944-946.
- [7] 陈光明, 卢金福, 王文睿, 等. 连续性血液滤过对重症中暑休克犬内环境和生存率的影响. *解放军医学杂志*, 2011, 36:828-832.
- [8] Yang HH, Chang CP, Cheng RT, et al. Attenuation of acute lung inflammation and injury by whole body cooling in a rat heatstroke model. *J Biomed Biotechnol*, 2009, 2009:1-9.
- [9] Amsterdam JT, Syverud SA, Barker WJ, et al. Dantrolene sodium for treatment of heatstroke victims; lack of efficacy in a canine model. *Am J Emerg Med*, 1986, 4:399-405.
- [10] Shen KH, Chang CK, Lin MT, et al. Interleukin-1 receptor antagonist restores homeostatic function and limits multiorgan damage in heatstroke. *Eur J Appl Physiol*, 2008, 103:561-568.
- [11] Iskit AB, Guc O. Effects of endothelin and nitric oxide on organ injury, mesenteric ischemia, and survival in experimental models of septic shock. *Acta Pharmacologia Sinica*, 2003, 24:953-957.
- [12] Lin XJ, Mei GP, Liu J, et al. Therapeutic effects of melatonin on heatstroke-induced multiple organ dysfunction syndrome in rats. *J Pineal Res*, 2011, 50:436-444.
- [13] Lee CC, Lee YY, Chang CK, et al. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase attenuates renal ischemia and damage in experimental heatstroke. *J Pharmacol Sci*, 2005, 99:68-76.
- [14] Ramírez P, Martí V, de la Plata AM, et al. Bacterial translocation in heat stroke. *Am J Emerg Med*, 2009, 27:1168. e1-2.
- [15] Shapiro Y, Alkan M, Epstein Y, et al. Increase in rat intestinal permeability to endotoxin during hyperthermia. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 1986, 55:410-412.
- [16] Liu C, Li A, Weng YB, et al. Changes in intestinal mucosal immune barrier in rats with endotoxemia. *World J Gastroenterol*, 2009, 15:5843-5850.
- [17] Bouchama A, Roberts G, Al Mohanna F, et al. Inflammatory, hemostatic, and clinical changes in a baboon experimental model for heatstroke. *J Appl Physiol*, 2005, 98:697-705.
- [18] Buttenschoen K, Radermacher P, Bracht H. Endotoxin elimination in sepsis: physiology and therapeutic application. *Langenbecks Arch Surg*, 2010, 395:597-605.

(收稿日期:2012-01-11)

(本文编辑:吴莹)