

去甲肾上腺素减轻非控制性失血性休克复苏后大鼠肾脏损伤

陈震¹, 刘璟², 王飞¹, 关雪¹, 李金宝¹, 邓小明^{1*}

1. 第二军医大学长海医院麻醉科, 上海 200433

2. 解放军 401 医院心内科, 青岛 266071

[摘要] **目的** 探讨去甲肾上腺素对非控制性失血性休克复苏后大鼠肾脏损伤的影响。**方法** 建立非控制性失血性休克复苏大鼠模型, 将模型大鼠随机分为 3 组: 假手术组、乳酸林格液(LR)组和去甲肾上腺素(NE)组。休克 180 min, 观察并记录各组大鼠的血流动力学变化(平均动脉压, MAP)。复苏时 NE 组以 $10 \mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$ 泵注 NE; LR 组泵注等量的乳酸林格液。同时, 两组在 70 min 内回输 40 ml/kg 的乳酸林格液及半量失血。复苏结束后再观察 20 min, 取血液标本检测尿素氮(BUN)及肌酐(Cr)。复苏后 24 h, 观察大鼠生存率并取左肾做病理检测。**结果** NE 组血清 BUN、Cr 值较 LR 组下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 24 h 生存率高于 LR 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 在保证血容量的情况下, 非控制性失血性休克的复苏过程中使用 NE 较单纯乳酸林格液复苏可减轻大鼠肾脏损伤, 提高生存率。

[关键词] 非控制性失血性休克; 去甲肾上腺素; 肾损伤; 复苏

[中图分类号] R 364.14 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)03-0282-04

Norepinephrine alleviates renal injury after resuscitation in a rat model of uncontrolled hemorrhagic shock

CHEN Zhen¹, LIU Jing², WANG Fei¹, GUAN Xue¹, LI Jin-bao¹, DENG Xiao-ming^{1*}

1. Department of Anesthesia, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Cardiology, No. 401 Hospital of PLA, Qingdao 266071, Shandong, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of norepinephrine on renal injury after resuscitation in a rat model of uncontrolled hemorrhagic shock. **Methods** Rat model of uncontrolled hemorrhagic shock was established and the model rats were randomly divided into 3 groups, namely, the Sham-operation group, the lactated Ringer's solution (LR) group, and norepinephrine (NE) group. The mean artery pressure (MAP) were observed in each group 180 min after shock. During resuscitation animals in NE group received norepinephrine ($10 \mu\text{g}/[\text{kg} \cdot \text{min}]$); the LR group received the same volume of lactated Ringer's solution. During 70 min resuscitation, lactated Ringer's solution (40 ml/kg) and half of the shed blood were transfused into animals in NE group and LR group. The blood samples was collected 20 min following half shed blood transfusion for measuring blood urea nitrogen (BUN) and creatinine (Cr). The survival rates were observed 24 h after the resuscitation and the left kidney was evaluated pathologically. **Results** The serum levels of BUN and Cr in NE group were significantly lower than those in the LR group ($P < 0.05$). And the 24 h survival rate of NE group was significantly higher than that of the LR group ($P < 0.05$). **Conclusion** Norepinephrine, compared with lactated Ringer's solution alone, can attenuate renal injury and improve the survival rate of rat models of uncontrolled hemorrhagic shock and resuscitation.

[Key words] uncontrolled hemorrhagic shock; norepinephrine; renal injury; resuscitation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(3): 282-285]

非控制性失血性休克(uncontrolled hemorrhagic shock)属低血容量性休克(hypovolemia shock)的一种, 由急性血液或血浆的大量丢失导致循环血量骤减引起, 是导致死亡的重要原因之一。去甲肾上腺素(NE)是一种强效缩血管药, 具有良好的血流动力学效应, 可有效升高动脉血压; 但其具有

过度的 α 受体兴奋作用, 在升高血压的同时会增加血管阻力, 可能减少组织器官血流量, 导致重要脏器(特别是肾脏)缺血可能^[1]。失血性休克状态下应用 NE 对肾功能的确切影响目前仍存争议。本研究以大鼠非控制性失血性休克模型为基础, 观察 NE 对非控制性失血性休克复苏大鼠肾脏功能的影响, 为

[收稿日期] 2010-12-28

[接受日期] 2011-02-14

[基金项目] 国家自然科学基金(30872454). Supported by National Natural Science Foundation of China (30872454).

[作者简介] 陈震, 硕士生. E-mail: czhen0423@163.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81873484, E-mail: xmdeng@anesthesia.org.cn

失血性休克救治中 NE 的应用提供理论指导及实验依据。

1 材料和方法

1.1 主要试剂及仪器 重酒石酸去甲肾上腺素(上海禾丰制药有限公司,批号 091103,1 ml,2 mg),乳酸林格液(LR,广东大冢制药有限公司,批号 1006122,500 ml),血尿素氮(BUN)检测试剂盒(上海生物制品研究所),血肌酐(Cr)检测试剂盒(北京北控生物科技股份有限公司),戊巴比妥钠、氯胺酮(北京化学试剂公司),肝素钠(国药集团化学试剂有限公司),MP100 多导生理仪(美国 Biopac 公司),血气分析仪(美国雅培血气分析仪),自动生化分析仪(日本 Olympus 公司)。

1.2 动物模型的建立及分组 清洁级雄性 Sprague-Dawley 大鼠 30 只,10 周龄,体质量 250~350 g,由第二军医大学实验动物中心提供。按照随机数字表法将大鼠分为假手术(Sham)组、LR 组和 NE 组,每组 10 只。实验前禁食 12 h、自由饮水。用 2% 戊巴比妥钠(35 mg/kg)腹腔注射和氯胺酮(60 mg/kg)肌肉注射,麻醉大鼠。麻醉稳定后,将大鼠固定于手术台上,消毒,仔细解剖出左股动脉、左股静脉。将 PE100 套管插入股动脉,连接三通后,分别与 MP100 多导生理仪(记录平均动脉压,MAP)和 10 ml 无菌注射器(以备放血、取血标本)相连。股静脉插管用于输注复苏液体及回输失血,用 1 kU/kg 肝素钠静脉输注致全血肝素化,温度传感器插入肛门约 5 cm 以记录直肠温度,用手术灯给动物保温。上述操作在 20 min 内完成,创面小于 0.5 cm²。操作完毕,记为 T₀,LR 组和 NE 组以每 5 min 10 ml/kg 的速度从股动脉放血,持续 15 min(总量为 30 ml/kg, T₁₅),平稳 15 min 后(T₃₀),截断大鼠尾部长度的 75%,并用离心管收集断尾失血,并维持 180 min(T₂₁₀)休克期,建立非控制性失血性休克大鼠模型。

LR 组和 NE 组大鼠于休克 180 min(T₂₁₀)时,烧灼并结扎断尾,两组均给予 LR(40 ml·kg⁻¹·h⁻¹),持续 60 min(T₂₇₀),同时 NE 组泵注 NE[10 μg/(kg·min)],100 μg/ml, T₂₁₀~T₂₇₀;LR 组泵注等容量的 LR(T₂₇₀)。在 LR 液复苏完成后,两组均于 10 min 内回输一半失血量(T₂₈₀),观察 20 min(T₃₀₀),取血液标本,离心取血清检测。然后拔管并结扎,缝合伤口,记录大鼠 24 h 存活时间,并在复苏 24 h 后取左肾作病理学检测。Sham 组仅给予麻醉、

动静脉插管,不进行休克、复苏,插管后 300 min(T₃₀₀)取标本检测,24 h 后取左肾作病理学检测(图 1)。

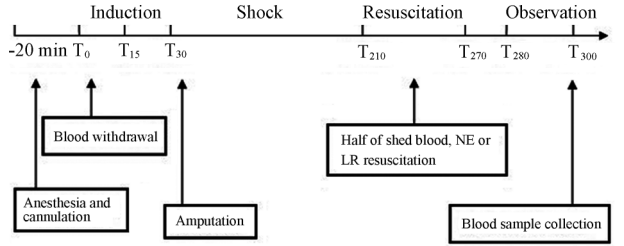


图 1 实验流程图

Fig 1 Experimental protocol

The experiment was composed of four steps: induction period, shock period, resuscitation period, and observation period. NE: Norepinephrine; LR: Lactated Ringer's solution

1.3 观察指标 动脉血气:3 组分别在 T₀、T₂₁₀取动脉血约 0.3 ml,即刻做血气分析。血压记录:3 组分别在 T₀、T₃₀、T₆₀、T₉₀、T₁₂₀、T₁₅₀、T₁₈₀、T₂₁₀、T₂₄₀、T₂₇₀、T₃₀₀ 记录 MAP 的动态变化。肾功能检测:Sham 组、LR 组和 NE 组均在 T₃₀₀ 分别取动脉血标本约 0.8 ml,离心取血清,存储于-80℃冰箱,用 AU800 全自动生化分析仪集中检测 BUN、Cr 水平。BUN 检测采用二乙酰肟法、Cr 检测采用酶法分析。肾组织形态学观察:Sham 组、LR 组和 NE 组在复苏 24 h 后腹腔麻醉取左肾,4%多聚甲醛中固定,石蜡包埋切片,苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining, H-E)染色后光镜下观察,作病理学检测。生存率:T₃₀₀起,记录 3 组大鼠失血性休克复苏后 24 h 的生存率。

1.4 统计学处理 采用 SAS 9.1 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,血气分析、BUN 及 Cr 比较首先行正态性及方差齐性检验,若满足正态性和方差齐性则采用方差分析,两两比较采用 SNK 法;若不满足正态性或方差齐性则采用 Kruskal-Wallis 秩和检验,两两比较采用 Nemenyi 法。生存率分析采用 Log rank 检验。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 各组大鼠体质量比较及血气分析 Sham 组、LR 组和 NE 组大鼠体质量差异无统计学意义。血气分析结果表明:T₀各组血气分析差异无统计学意义;LR 组和 NE 组在 T₂₁₀均表现为代谢性酸中毒,两组间比较差异无统计学意义。

详见表 1、表 2。

表 1 各组休克前(T₀)体质量及动脉血气分析的比较

Tab 1 Body mass and blood gas analysis before shock induction (T₀)

(n=10, $\bar{x}\pm s$)				
Index	Sham	LR	NE	P value*
Body mass <i>m</i> /g	303.11±10.28	301.40±8.01	301.90±9.38	0.918 8
pH	7.39±0.03	7.36±0.07	7.35±0.06	0.353 1
PCO ₂ <i>p</i> /mmHg	39.24±5.89	39.60±4.00	39.67±4.41	0.978 9
PO ₂ <i>p</i> /mmHg	76.31±6.24	75.60±7.06	75.63±5.31	0.962 2
HCO ₃ ⁻ <i>c</i> _B /(mmol·L ⁻¹)	19.02±2.92	17.82±2.29	17.84±2.59	0.530 3
Base excess <i>c</i> _B /(mmol·L ⁻¹)	-4.35±3.20	-5.78±0.99	-5.66±1.35	0.475 8

* No significant difference among three groups. LR: Lactated Ringer's solution; NE: Norepinephrine. 1 mmHg=0.133 kPa

表 2 各组休克期末(T₂₁₀)动脉血气分析的比较

Tab 2 Blood gas analysis at the end of shock period (T₂₁₀)

(n=10, $\bar{x}\pm s$)				
Index	Sham	LR	NE	P value
pH	7.36±0.13	7.21±0.07	7.15±0.05	<0.001*, >0.05 [#]
PCO ₂ <i>p</i> /mmHg	37.64±5.76	43.60±3.16	44.47±4.12	<0.001*, >0.05 [#]
PO ₂ <i>p</i> /mmHg	74.45±6.21	84.50±4.45	84.24±4.46	<0.001*, >0.05 [#]
HCO ₃ ⁻ <i>c</i> _B /(mmol·L ⁻¹)	18.94±2.82	12.94±1.45	13.04±1.49	<0.001*, >0.05 [#]
Base excess <i>c</i> _B /(mmol·L ⁻¹)	-4.32±3.18	-15.88±0.91	-15.66±1.35	<0.001*, >0.05 [#]

* Significant difference among three groups. [#] No significant difference between LR group and NE group. LR: Lactated Ringer's solution; NE: Norepinephrine. 1 mmHg=0.133 kPa

2.2 各组大鼠 MAP 的变化 结果(图 2)表明:LR 组和 NE 组大鼠休克时 MAP 维持在 40 mmHg 左右,总失血量分别为(9.26±0.28) ml 和(9.35±0.32) ml,回输失血量分别为(4.63±0.14) ml 和(4.68±0.16) ml。复苏期间(T₂₄₀、T₂₇₀、T₃₀₀),NE 组比 LR 组 MAP 升高($P<0.05$)。

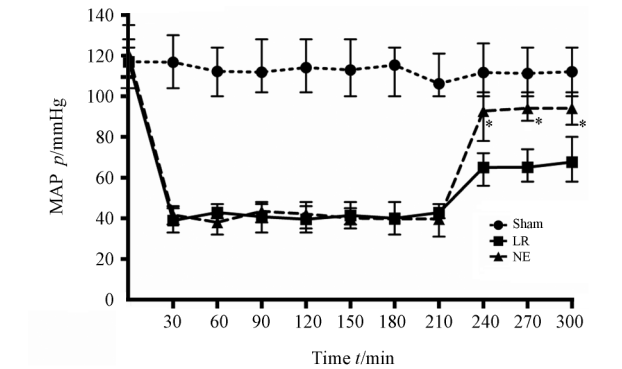


图 2 各组大鼠 MAP 的变化

Fig 2 Mean arterial pressure values in sham group, LR group and NE group

LR: Lactated Ringer's solution; NE: Norepinephrine. 1 mmHg=0.133 kPa. * $P<0.05$ vs LR group; $n=10$, $\bar{x}\pm s$

2.3 各组大鼠肾功能的比较 Sham 组、LR 组、NE 组血清 BUN 值分别为(6.34±1.75)、(12.04±2.11)、(10.19±1.08) mmol/L,血 Cr 值分别为

(39.00±5.29)、(74.20±4.73)、(60.80±5.37) μ mol/L。与 Sham 组相比,LR 组和 NE 组血清 BUN、Cr 值升高,差异具有统计学意义($P<0.05$),但 NE 组血清 BUN 和 Cr 值均低于 LR 组($P<0.05$)。

2.4 各组大鼠肾组织病理学改变 光镜下可见,LR 组大鼠肾组织病变明显,镜下见大片出血,大量肾小管管腔内可见管型。NE 组大鼠肾脏的病变轻于 LR 组(图 3)。

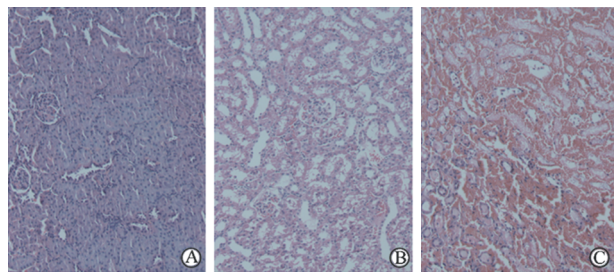


图 3 肾脏组织病理

Fig 3 Histological evaluation of renal tissue(H-E staining)

A: Sham group; B: Norepinephrine group; C: Lactated Ringer's solution group. Original magnification: $\times 200$

2.5 各组大鼠生存率的比较 结果(图 4)表明:NE 组和 LR 组大鼠在复苏后 24 h 内,生存率差异有统计学意义(60% vs 30%, $P<0.05$)。

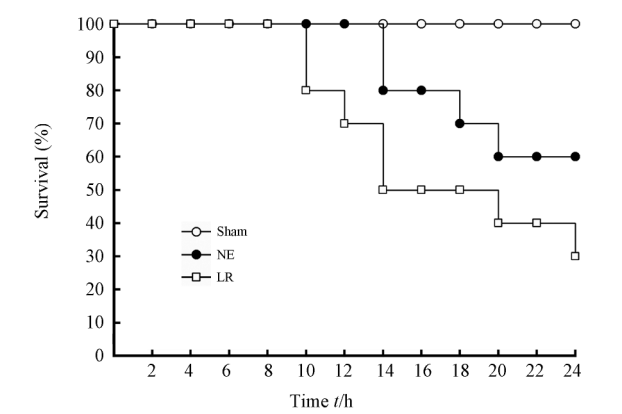


图 4 各组生存率的比较

Fig 4 Kaplan-Meier 24-hour survival analysis after resuscitation

Survival rate of NE group was significantly higher than that in the LR group 24 h after resuscitation ($P<0.05$). NE: Norepinephrine; LR: Lactated Ringer's solution

3 讨论

NE 是一种强效血管收缩药,为内源性交感神经系统节后神经递质,是 α 受体和 β 受体激动剂,属短效类药物,半衰期为 1~2 min,进入体内后可迅速被肾上腺素能神经元摄取或进一步被肝脏代谢,停药后作用迅速消失,需持续微量泵入^[2]。但有研究表明,在非控制性失血性休克大鼠模型中 NE 可以暂时提升血压,保证心脑的供血,延缓心跳骤停的发生^[3],提高大鼠的生存率^[4],为液体复苏赢得时间。本研究也证实:NE 组和 LR 组大鼠在非控制性失血性休克复苏后 24 h 内,生存率差异有统计学意义 (60% vs 30%, $P<0.05$)。

肾脏血流量具有自身调节能力,稳定的肾血流量是维护肾脏功能的重要因素,表现为动脉血压在一定范围波动时,肾血流量仍保持相对稳定,这是低血压时使用血管收缩药的理论基础^[1]。本研究发现,大鼠失血性休克 180 min 后,分别泵注 NE 和 LR 60 min,NE 组 BUN、Cr、肾组织病理损伤及生存率较 LR 组改善,与 Di Giantomasso 等^[5]研究结果基本一致。此外,NE 增加肾内环氧合酶-2 同种异构体的表达,增加环氧合酶-2 衍生物前列腺素 (PGE_2 、 PGI_2) 的表达,从而减弱 NE 引起的肾血管收缩^[1]。外源性 NE 进入人体后,直接激动 α 受体,但对 α_1 和 α_2 受体作用无选择性,其对 β_1 受体的作用较弱,对 β_2 受体几乎无激动作用。本实验中 NE 对非控制性失血性休克大鼠复苏后肾功能的保护作用可能主要通过 2 个方面的影响来实现:对 MAP 的影响和对肾血管的收缩作用。其中,MAP 的升高有

赖于 β_1 受体介导的心输出量的增加和 α_1 受体介导的全身血管阻力的增高,同时 β_1 受体介导的肾素释放也有一定的作用^[6]。动物实验^[7]表明,NE 对肾血流量的影响主要是引起入球小动脉和出球小动脉收缩,而对后者的影响大于前者,因此使囊内压增高,从而增加滤过压致尿量增加^[8],改善肾脏功能。此外,在应用 NE 期间由于肾灌注压的增加,减除了因灌注压不足对压力感受器的刺激,而使抗利尿激素减少,亦产生利尿作用^[9],从而利于缓解肾功能损害。

LR 组的大部分液体因细胞功能的变化和血管通透性的增加而漏出血管进入组织间隙,不能达到改善微循环,使组织细胞得到有效血流灌注的目的。而应用具有血管收缩作用的 NE,可暂时提升血压,也增加了肾脏血流,对肾脏功能可能起到了缓解和改善的作用。De Backer 等^[10]进行的一项多中心、随机试验的结果显示:多巴胺和 NE 在作为休克治疗一线用药时,对死亡率无明显影响,但多巴胺的运用可使不良事件增加。这也表明在失血性休克中,应用 NE 治疗是更好的选择。

[参考文献]

[1] 覃兆军,雷志礼. 去甲肾上腺素与肾功能[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志,2007,7:440-442.

[2] Martin C, Viviani X, Leone M, Thirion X. Effect of norepinephrine on the outcome of septic shock[J]. Crit Care Med, 2000,28:2758-2765.

[3] Lee J H, Kim K, Jo Y H, Kim K S, Lee C C, Kwon W Y, et al. Early norepinephrine infusion delays cardiac arrest after hemorrhagic shock in rats[J]. J Emerg Med, 2009,37:376-382.

[4] Poloujadoff M P, Borron S W, Amathieu R, Favret F, Camara M S, Lapostolle F, et al. Improved survival after resuscitation with norepinephrine in a murine model of uncontrolled hemorrhagic shock[J]. Anesthesiology, 2007,107:591-596.

[5] Di Giantomasso D, Morimatsu H, May C N, Bellomo R. Increasing renal blood flow: low-dose dopamine or medium-dose norepinephrine[J]. Chest, 2004,125:2260-2267.

[6] Anderson W P, Korner P I, Selig S E. Mechanisms involved in the renal responses to intravenous and renal artery infusions of noradrenaline in conscious dogs[J]. J Physiol, 1981,321:21-30.

[7] Cain S M, Curtis S E. Experimental models of pathologic oxygen supply dependency[J]. Crit Care Med, 1991,19:603-612.

[8] Bersten A D, Hersch M, Cheung H, Rutledge F S, Sibbald W J. The effect of various sympathomimetics on the regional circulations in hyperdynamic sepsis[J]. Surgery, 1992,112:549-561.

[9] Gutierrez G, Palizas F, Doglio G, Wainsztein N, Galesio A, Pacin J, et al. Gastric intramucosal pH as a therapeutic index of tissue oxygenation in critically ill patients[J]. Lancet, 1992,339:195-199.

[10] De Backer D, Biston P, Devriendt J, Madl C, Chochrad D, Aldecoa C, et al. Comparison of dopamine and norepinephrine in the treatment of shock[J]. N Engl J Med, 2010,362:779-789.