

论 著

(重症凝血专题)

大黄素对脓毒症大鼠凝血紊乱治疗的作用

林青伟, 宋景春, 曾庆波, 钟林翠, 宋晓敏, 张 昕

【摘要】 目的 研究大黄素对脓毒症大鼠凝血功能紊乱的治疗作用。 **方法** 将 90 只健康的雌性 SD (Sprague Dawley) 大鼠按照随机数字表法随机分为假手术组、盲肠结扎组和大黄素组。收集盲肠结扎术后 6、12、24 h 的凝血酶原时间 (PT)、部分凝血活酶时间 (APTT)、血栓弹力图 (TEG) 普通杯及功能性纤维蛋白原杯参数, 包括凝血反应时间 (R)、血块形成速率 (K)、血块形成动力学 (Angle)、血块最大强度 (MA)、凝血综合指数 (CI) 以及纤维蛋白原功能 (FLEV)。观察各组大鼠 48 h 的生存率。 **结果** 假手术组、盲肠结扎组和大黄素组的盲肠结扎术后 48 h 生存率依次为 100%、20% 和 40%。术后 6 h, 盲肠结扎组的 APTT 较假手术组均显著延长, 大黄素组 APTT 较盲肠结扎组明显缩短; 术后 6、12、24 h, 盲肠结扎组和大黄素组的 PT 较假手术组均明显延长, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。TEG 普通杯结果显示盲肠结扎组中, K 值在术后 12 h 显著降低 ($P < 0.05$), α 角、MA 值以及 CI 值在术后 12 和 24 h 显著升高 ($P < 0.05$)。大黄素组中, MA 值以及 CI 值在术后 12 和 24 h 均显著升高 ($P < 0.05$)。与假手术组比较, 盲肠结扎组的 α 角在术后 12 h 显著升高 ($P < 0.05$), MA 值与 CI 值在术后 6 h 显著降低 ($P < 0.05$)。TEG 功能性纤维蛋白原杯结果显示盲肠结扎组中, α 角在术后 12 h 显著增大 ($P < 0.05$); MA 值与 FLEV 值均在术后 24 h 显著升高 ($P < 0.05$)。与盲肠结扎组比较, 大黄素组的 α 角在术后 12 和 24 h 显著升高 ($P < 0.05$), FLEV 值及 MA 值在术后 24 h 均显著升高 ($P < 0.05$)。 **结论** 脓毒症大鼠的整体凝血状态表现为低凝倾向, 凝血因子功能减弱, 血小板及纤维蛋白原先减弱后增强。大黄素能够改善脓毒症大鼠内源性凝血因子活性和纤维蛋白原功能, 降低脓毒症大鼠 48 h 病死率。

【关键词】 大黄素; 脓毒症; 凝血; 大鼠

【中图分类号】 R285.5 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2018)05-0464-07

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2018.05.004

Effect of emodin on coagulation disorders of septic rats

LIN Qing-wei, SONG Jing-chun, ZENG Qing-bo, ZHONG Lin-cui, SONG Xiao-min, ZHANG Xin

(Intensive Care Unit, the 94th Hospital of PLA, Nanchang 330002, Jiangxi, China)

【Abstract】 Objective To investigate the therapeutic effects of emodin on coagulation disorders in septic rats. **Methods** Ninety healthy female SD rats were randomly divided into sham operation (SO) group, cecal ligation (CL) group and emodin (Em) group. At 6, 12, 24 and 48 h after SO, prothrombin time (PT), partial thromboplastin time (APTT) live enzymes, thrombosis, TEG and functional parameters were collected, which including coagulation reaction time (R), blood clot formation rate (K), blood clot formation dynamics (Angle), blood clots maximum intensity (MA), coagulation index (CI) and fibrinogen (FLEV) function. Survival rates at 48 h were observed in each group. **Results** Forty-eight hours after cecal ligation, survival rates in the SO, CL and Em group were 100%, 20% and 40%, respectively. At 6, 12 and 24 hours after operation, the APTT was significantly longer in CL group ($P < 0.05$), while at 6 hours, APTT was significantly shorter in Em group than in CL group ($P < 0.05$). At 6, 12, 24 hours after operation, the PT was significantly longer in CL group and Em group than in SO group ($P < 0.05$), however, there was no significant difference between Em group and CL group ($P > 0.05$). At 6, 12, 24 hours after operation, there was no significant difference in the CL

group and Em group as compared with the SO group ($P < 0.05$). EXTEG: The K value decreased significantly at 12 h of CL group. The Angle, MA, and CI significantly increased at 12 h and 24 h after operation. In Em group, and the Angle, MA value, and CI value increased significantly at 12 and 24 hours.

基金项目: 江西省研究生创新专项资金项目 (YC2016-S364)

作者单位: 330002 南昌, 解放军第九四医院重症医学科 (林青伟、宋景春、曾庆波、钟林翠、宋晓敏、张 昕)

通信作者: 宋景春, E-mail: songjingchun@126.com

Compared with the SO group, the angle was significantly increased at 12 hours while MA and CI value were significantly decreased at 6 hours in CL group. FIBTEG; In CL group, the Angle was significantly increased at 12 h. At 12 h after operation, the MA value and FLEV value were significantly increased. Compared with the CL group, the Angle was significantly increased at 12 h, the Angle, FLEV, and MA value were increased significantly at 24 h in the Em group. **Conclusion** The coagulation status of septic rats showed a tendency to hypocoagulability. The specific mechanism were weakened coagulation factor, fibrinogen and platelet function declined first and then increased. Emodin can improve endogenous coagulation factor activity and fibrinogen function in septic rats to reduce 48 h mortality of septic rats.

[Key words] emodin; sepsis; coagulation; rat

0 引言

脓毒症是国际性的医学难题,具有高发病率、高病死率的特点^[1];且目前全球脓毒症的年患病人数仍在增加^[2]。脓毒症患者一旦发展为重症脓毒症和脓毒性休克,病死率可分别高达 25%~30% 和 40%~70%。据统计,脓毒症合并凝血功能障碍的患者占脓毒症总数的 80% 以上,病死率则更高^[3]。

大黄素别名为朱砂莲甲素,主要提取自中药大黄的根茎,化学名为 1,3,8-三羟基-6 甲基蒽醌(1,3,8-trihydroxy-6-methyl-anthraquinone),相对分子质量为 270.23,呈三环平面结构,是分布最广泛的一种羟基蒽醌类化合物。祖国医学认为中药大黄具有泻火、凉血、祛瘀、解毒等功效。现代医学已有研究发现,大黄素可以缓解脓毒症大鼠肺水肿的程度^[4]。血栓弹力图仪(thromboelastography, TEG)能够监测凝血动态的全过程,通过测定血栓形成速度、强度和溶解过程能够真实而全面地反映凝血功能状态。已有文献报道 TEG 可监测脓毒症患者凝血功能变化,识别高凝与低凝状态^[5]。本研究旨在运用 TEG 评价大黄素对脓毒症大鼠凝血功能紊乱的治疗作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 收集 90 只 2 月龄 SD 大鼠[购于南昌大学医学院实验动物部,合格证书:SYXK(赣 2010-0002)],体重(196.0±10.8)g。所有大鼠适应性饲养 3 d,饲养环境温度 19~23℃,空气湿度为 50%~60%,动物自由饮水饮食。

1.2 仪器与试剂 血栓弹力图仪(西芬斯,购于北京乐普医疗科技有限责任公司)及配套试剂(包括高岭土试剂瓶、纤维蛋白原试剂瓶、0.2 mol/L 氯化钙和普通杯等);全自动凝血分析仪(RAC-500)购自雷杜医疗设备有限公司;大黄素(购于南昌乐悠

生物有限公司, A606281-0025)溶液配置:准确称取 1 g NaOH,用蒸馏水定容至 100 mL,配制成 1% NaOH 溶液,准确称取大黄素 100 mg 溶于 20 mL 1% NaOH 溶液中配制成 5 mg/mL 浓度溶液。10% 水合氯醛(中国人民解放军第一七五医院生产)。

1.3 盲肠结扎模型 采用鼠类盲肠结扎穿孔法(cecal ligation and puncture, CLP)建立脓毒症动物模型^[6-7]。术前均禁食不禁水 12 h,盲肠结扎组及大黄素组大鼠以 10% 水合氯醛腹腔麻醉,常规腹部碘伏消毒、备皮和铺无菌纱布洞巾,沿剑突下腹部腹中线切开腹壁皮肤约 1 cm。用无菌镊探查盲肠后,用手术缝合线结扎距离回盲部 1/2 处结扎大部分盲肠,20 G 无菌针头分别于被结扎盲肠头尾端穿孔,然后挤压盲肠,使其内容物沿穿孔部位挤出 0.3 mL。将盲肠和挤出内容物一起送回腹腔,逐层缝合腹壁切口。

1.4 实验分组 大鼠适应性饲养 3 d 后,将 90 只大鼠按随机数字表法分为假手术组、盲肠结扎组和大黄素组。每组随机选取 10 只用于生存分析。假手术组无菌状态下开腹寻找到盲肠后再将其还纳腹腔,然后逐层关腹。假手术组术后灌胃等量等渗盐水[10 mL/(kg·d)],2 次/d,按术后 6、12、24 h 随机处死大鼠并取血标本;盲肠结扎组术后灌胃等量等渗盐水,2 次/d,按术后 6、12、24 h 随机处死大鼠并取血标本;大黄素组在盲肠结扎术后灌喂大黄素[50 mg/(kg·d)],2 次/d,按术后 6、12、24 h 随机处死大鼠并取血标本。

1.5 常规凝血项目检测 静脉采血 2 mL,置于含有 1/10 体积的 0.109 mol/L 枸橼酸抗凝液的试管中,以 3000 r/min 转速离心 10 min,离心半径 13.5 cm。收集上层血浆,采用全自动凝血分析仪检测 PT 和 APTT。

1.6 血栓弹力图检测

1.6.1 普通杯检测 按说明书进行检测。测试完毕后记录 R 值、K 值、α 角、MA 和 CI 参数。其中 R 为凝血反应时间,反映参加凝血启动过程的凝血

因子的综合作用;K 为从 R 时终点到描记幅度达到 20 mm 所需的时间,反映血块形成速率,其中以纤维蛋白原功能为主; α 角为血凝块形成点到描记图最大曲线弧度作切线与水平的夹角;MA 为血凝块最大振幅,主要反映血小板功能;CI 为综合凝血指数,直接反映整个凝血的高凝或低凝状态。

1.6.2 功能性纤维蛋白原检测 在软件界面的测试类型中选择“CFF”;在血栓弹力图仪的通道上装载一套样品杯,取 500 mL 枸橼酸化全血注入纤维蛋白原试剂瓶中,颠倒试剂瓶 5 次使之充分混匀,静置 4 min 激活血液。余操作同普通杯检测。测试完毕后记录 R 值、MA 值以及 FLEV 值。R 时间是凝血蛋白反应时间,表明外源性凝血通路的各血因子的活性及使用抗凝剂效果。MA 值即最大振幅,直接反应纤维蛋白网的交联强度,代表纤维蛋白原在凝血过程中的贡献。FLEV 值为纤维蛋白原活性功能,由最大振幅 MA 值通过公式计算,反映血液中纤维蛋白原的含量。

1.7 统计学分析 采用 SPSS 22.0 对数据进行分析。应用生存分析 Kaplan-Meier 法比较各组小鼠生存率的差异;计量资料采用单样本 K-S 法进行正态分布检验。符合正态分布的数据均采用($\bar{x} \pm s$)表示,非正态分布的数据采用中位数(四分位数间距)表示。进行多组间比较,符合正态分布的数据,通过方差齐性检验的数据采用单因素方差分析 LSD 法;方差不齐的数据采用 ANOVA Tamhane's T2 法;非正态分布的数据采用 Kruskal-Wallis。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 生存率分析 术后 48 h,假手术组大鼠无死亡,生存率为 100%;盲肠结扎组大鼠存活 2 只,生存率为 20%;大黄素组大鼠存活 4 只,生存率为 40%。大黄素组大鼠 48 h 生存率高于盲肠结扎组($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 各组常规凝血项目比较 与假手术组相比,盲肠结扎组的 APTT 均在 CLP 术后 6 h 明显延长,差异有统计学意义($P < 0.05$);在术后 6 h 大黄素组较盲肠结扎组明显缩短,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与假手术组比较,盲肠结扎组和大黄素组大鼠的 PT 均在术后 6 h 显著延长,随后开始回缩,24 h 缩短出现低峰($P < 0.05$);但盲肠结扎组与大黄素组间无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1,图 2。

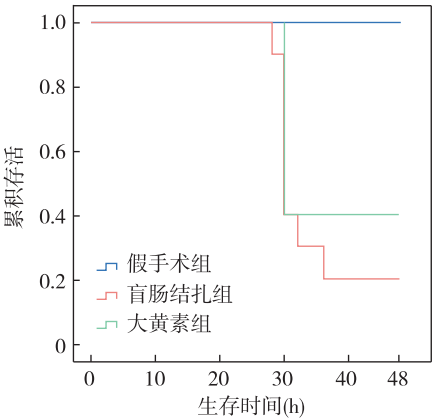


图 1 各组小鼠术后 48 h 生存率比较

表 1 术后不同时间各组大鼠 APTT、PT 的比较[M(Q1~Q3), n=5]

组别	APTT(s)	PT(s)
假手术组		
6 h	16.7(16.2~17.2)	10.6(10.0~11.2)
12 h	15.8(14.6~18.4)	10.2(9.8~11.0)
24 h	15.2(14.6~17.2)	11.0(10.2~11.2)
盲肠结扎组		
6 h	34.6(22.7~34.9) *	24.7(15.3~31.6) *
12 h	20.8(18.0~23.2)	21.8(21.3~25.9) *
24 h	20.4(16.5~21.3)	18.6(17.9~19.0) *
大黄素组		
6 h	15.3(14.9~24.5) #	25.5(22.7~26.1) *
12 h	19.4(16.3~23.4)	18.7(18.6~24.2) *
24 h	16.8(16.4~18.9)	16.4(15.4~17.4) *

与假手术组比较, * $P < 0.05$; 与盲肠结扎组比较, # $P < 0.05$

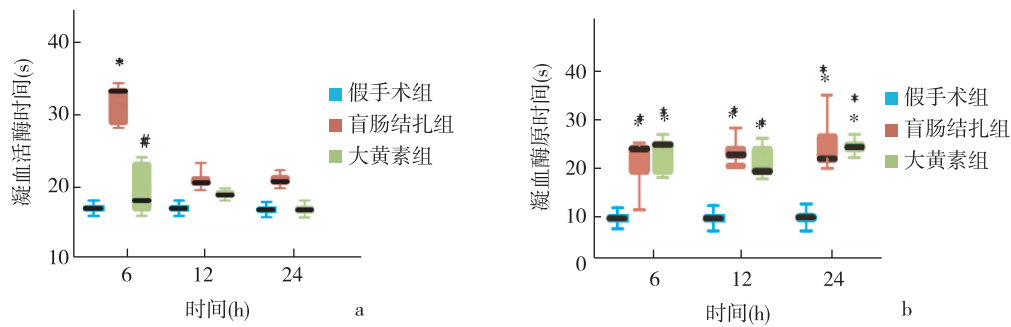
2.3 各组 TEG 普通杯测试参数 假手术组中,R 值、K 值、 α 角、MA 值以及 CI 值在术后 12、24 h 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。盲肠结扎组中,R 值各时间点差异无统计学意义($P > 0.05$);K 值在术后 12 h 明显降低,而后逐渐回升,差异无统计学意义($P > 0.05$); α 角、MA 值以及 CI 值均在术后 12 h 开始显著升高,于 24 h 到达顶点($P < 0.05$)。大黄素组中,R 值、K 值各时间点差异均无统计学意义($P > 0.05$); α 角、MA 值以及 CI 值在均术后 12 h 开始显著升高,于 24 h 到达顶点($P < 0.05$)。与假手术组比较,盲肠结扎组的 R 值、K 值在术后各时间点差异均无统计学意义($P > 0.05$); α 角仅在术后 12 h 显著升高($P < 0.05$),MA 值、CI 值仅在术后 6 h 显著降低($P < 0.05$)。与假手术组比较,大黄素组的 R 值、K 值、 α 角及 CI 值在术后各时间点差异均无统计学

意义 ($P>0.05$) ; MA 值仅在术后 6 h 显著降低 ($P<0.05$) 。与盲肠结扎组比较, 大黄素组的 R 值、K 值、 α 角、MA 值以及 CI 值差异均无统计学意义 ($P>0.05$) 。见表 2, 图 3。

表 2 术后不同时间各组大鼠 TEG 普通杯参数比较 ($n=5$)

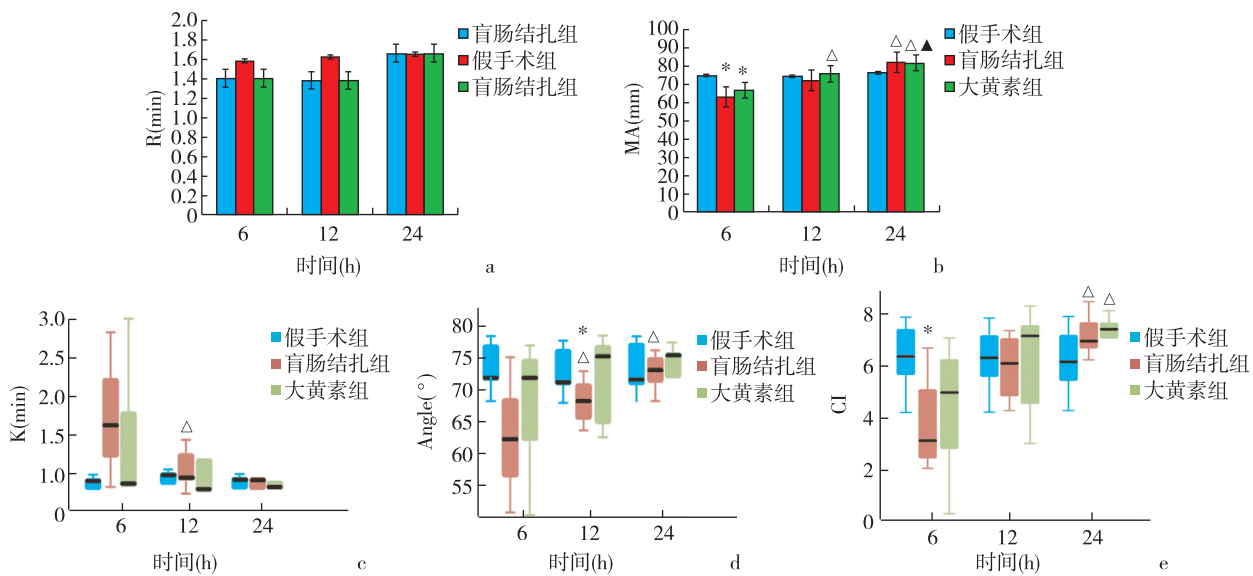
组别	R (min)	K (min)	α 角 ($^{\circ}$)	MA (mm)	CI
假手术组					
6 h	1.6 \pm 0.6	0.9 (0.8~1.0)	76.9 (76.3~82.0)	74.6 \pm 5.8	5.8 (5.2~6.9)
12 h	1.7 \pm 0.5	0.9 (0.8~1.1)	75.9 (76.0~81.4)	74.2 \pm 5.7	5.6 (5.0~6.6)
24 h	1.6 \pm 0.5	1.0 (0.9~1.0)	76.2 (72.3~81.0)	75.9 \pm 3.5	5.4 (5.5~6.0)
盲肠结扎组					
6 h	1.4 \pm 0.5	1.7 (1.0~2.8)	67.2 (58.6~76.9) * Δ	62.8 \pm 9.4 *	2.9 (2.1~5.5) *
12 h	1.3 \pm 0.3	1.2 (1.0~1.5) Δ	73.4 (69.9~77.3)	72.1 \pm 8.0	5.7 (4.2~6.7)
24 h	1.7 \pm 0.2	0.9 (0.8~1.1)	77.7 (74.5~80.3) Δ	82.0 \pm 5.5 Δ	6.5 (6.0~7.5) Δ
大黄素组					
6 h	1.6 \pm 0.3	0.9 (0.8~2.0)	77.4 (64.6~80.9)	66.5 \pm 10.2 *	4.7 (2.2~6.2)
12 h	1.6 \pm 0.5	1.2 (0.8~1.3)	80.1 (69.3~82.3)	75.6 \pm 8.6 Δ \blacktriangle	6.5 (4.2~7.2)
24 h	1.6 \pm 0.2	0.9 (0.8~1.0)	80.0 (75.2~81.0)	81.5 \pm 5.5 Δ \blacktriangle	7.0 (6.3~7.3) Δ

与假手术组比较, * $P<0.05$; 与盲肠结扎组比较, # $P<0.05$; 与同组 6 h 比较, Δ $P<0.05$; 与同组 12 h 比较, \blacktriangle $P<0.05$



a: 部分凝血活酶时间 (APTT); b: 凝血酶原时间 (PT); 与假手术组比较, * $P<0.05$; 与盲肠结扎组比较, # $P<0.05$

图 2 术后不同时间各组大鼠 APTT、PT 的比较



a: 凝血反应时间 (R); b: 血块最大强度 (MA); c: 血块形成速率 (K); d: 血块形成动力学 (Angle); e: 凝血综合指数 (CI); 与假手术组比较, * $P<0.05$; 与盲肠结扎组比较, # $P<0.05$; 与同组 6 h 比较, Δ $P<0.05$; 与同组 12 h 比较, \blacktriangle $P<0.05$

图 3 术后不同时间各组大鼠 TEG (普通杯) 参数比较

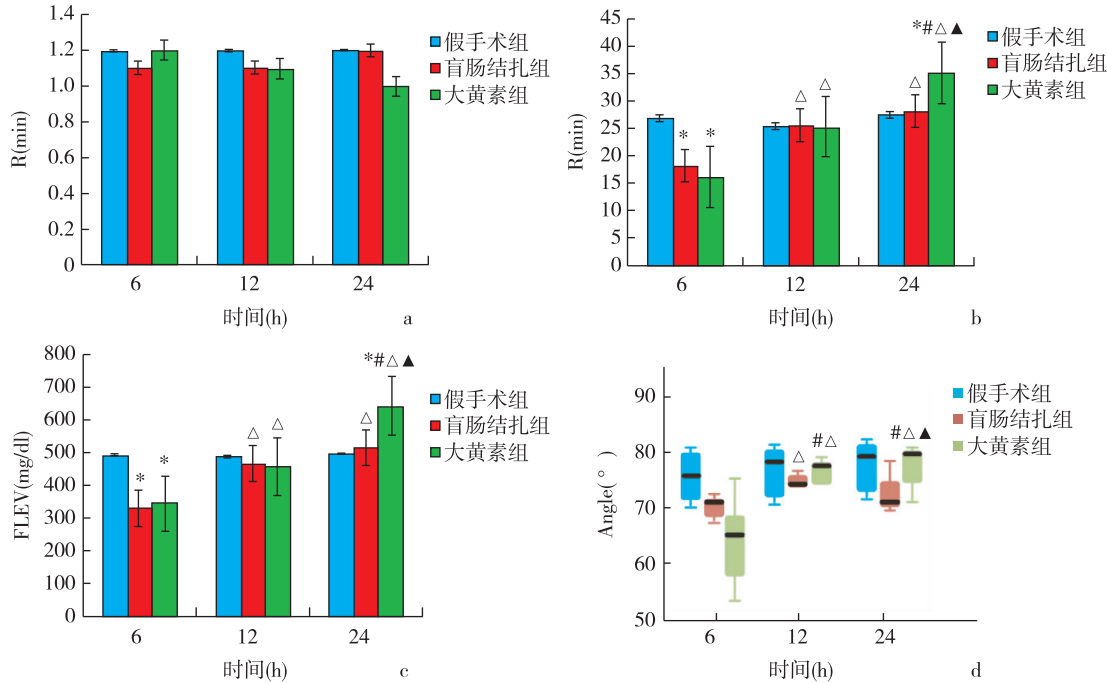
2.4 各组 TEG 功能性蛋白原测试参数比较 假手术组中, R 值、 α 角、FLEV 值及 MA 值在各时间点差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。盲肠结扎组中, R 值各时间点差异无统计学意义; 在术后 12 h α 角开始表现出增大趋势 ($P<0.05$), 24 h 出现下降 ($P>0.05$)。在术后 12 h, MA 值与 FLEV 值均开始表现出升高趋势, 并于 24 h 显著增高 ($P<0.05$)。大黄素组中, R 值各时间差异无统计学意义; 在术后 12 h α 角开始表现出增大趋势 ($P<0.05$), 24 h 出现下降 ($P>0.05$)。术后 12 h MA 值与 FLEV 值均开始表现出升高趋势, 并在 24 h 显著升高 ($P<0.05$)。与假手术组比较, 盲肠结扎组的 R 值与 α 角在术后 6、12、24 h 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 在术后 6 h, 盲

肠结扎组的 MA 值与 FLEV 值均显著降低, 术后 12 h 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 均在 24 h 显著升高 ($P<0.05$)。与假手术组比较, 大黄素组的 R 值、 α 角在术后 6、12、24 h 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。术后 6 h 大黄素组的 MA 值与 FLEV 值均显著降低 ($P<0.05$), 术后 12 h 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 均在 24 h 显著升高 ($P<0.05$)。与盲肠结扎组比较, 大黄素组的 R 值在术后 6、12、24 h 差异均无统计学意义 ($P>0.05$); α 角在术后 6 h 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 在 12、24 h 时显著升高; FLEV 值及 MA 值在术后 6 和 12 h 差异无统计学意义, 在术后 24 h, α 角、FLEV 值及 MA 值均显著升高 ($P<0.05$)。见表 3, 图 4。

表 3 术后不同时间各组大鼠 TEG 纤维蛋白原杯参数比较 ($n=5$)

组别	R(min)	α 角($^{\circ}$)	MA(mm)	FLEV
假手术组				
6 h	1.2 \pm 0.1	74.1(70.4~80.0)	27.0 \pm 4.1	493.1 \pm 74.1
12 h	1.2 \pm 0.1	76.9(75.3~82.0)	25.4 \pm 3.9	476.8 \pm 100.9
24 h	1.1 \pm 0.1	77.9(74.6~81.0)	27.5 \pm 4.2	476.5 \pm 99.8
盲肠结扎组				
6 h	1.1 \pm 0.1	69.5(67.3~70.4)	18.2 \pm 1.3 [*]	331.4 \pm 24.0 [*]
12 h	1.1 \pm 0.3	73.3(73.1~75.7) ^{Δ}	25.6 \pm 3.7 ^{Δ}	466.4 \pm 67.3 ^{Δ}
24 h	1.2 \pm 0.0	70.8(69.2~78.4)	28.2 \pm 4.0 ^{Δ}	515.3 \pm 73.7 ^{Δ}
大黄素组				
6 h	1.2 \pm 0.1	61.9(57.1~74.4)	16.1 \pm 4.5 [*]	343.4 \pm 60.4 [*]
12 h	1.1 \pm 0.1	77.0(74.0~78.5) ^{#Δ}	25.2 \pm 3.9 ^{Δ}	455.9 \pm 71.7 ^{Δ}
24 h	1.2 \pm 0.1	79.3(75.0~80.0) ^{#$\Delta$$\blacktriangle$}	35.2 \pm 4.8 ^{#$\Delta$$\blacktriangle$}	642.3 \pm 87.3 ^{#$\Delta$$\blacktriangle$}

与假手术组比较, $*$ $P<0.05$; 与盲肠结扎组比较, $\#P<0.05$; 与同组 6 h 比较, $\Delta P<0.05$; 与同组 12 h 比较, $\blacktriangle P<0.05$



a: 凝血反应时间 (R); b: 纤维蛋白原血块最大强度 (MA); c: 纤维蛋白原功能 (FLEV); d: 血块形成动力学 (Angle)

与假手术组比较, $*$ $P<0.05$; 与盲肠结扎组比较, $\#P<0.05$; 与同组 6 h 比较, $\Delta P<0.05$; 与同组 12 h 比较, $\blacktriangle P<0.05$

图 4 术后不同时间各组大鼠 TEG (功能性纤维蛋白原杯) 参数比较

3 讨 论

脓毒症是机体对感染的反应失调而导致危及生命的器官功能障碍。该病具有较高的发病率和病死率,严重威胁人类健康^[8]。近年来随着研究的不断深入,中医药治疗脓毒症成为研究的热点。中医药常通过多靶点、多途径、多机制发挥作用,对于综合调控复杂疾病更具优势与特色。因此,探讨中药对脓毒症的治疗作用具有重要意义。已有文献报道大黄素能降低血清 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的表达水平,抑制核转录因子 κ B (NF- κ B) 活性,促进炎症细胞的凋亡,从而起到抗炎的作用^[9-11]。但大黄素对凝血功能的作用尚鲜有报道。

本研究结果显示,脓毒症大鼠血小板及纤维蛋白原功能先减弱而后增强的变化,大黄素能增强脓毒症大鼠内源性凝血因子活性,改善纤维蛋白原功能,降低 48 h 病死率。

APTT 是内源性凝血系统的综合检验指标,PT 反映的是外源性凝血途径的状况,R 反映凝血因子活性。本实验研究结果显示,术后 6h 盲肠结扎组与大黄素组的 APTT、PT 均较假手术组明显延长,这提示早期脓毒症大鼠凝血因子活性减弱;同时大黄素组的 APTT 较盲肠结扎组明显缩短,但 PT 无明显差异;并且 TEG 普通杯检测以及功能性纤维蛋白原检测的结果均显示术后各组 R 值均无显著差异,其中功能性纤维蛋白原检测中 R 值反映的是外源性凝血因子活性,这说明大黄素能增强脓毒症大鼠的内源性凝血因子活性,同时提示 TEG 普通杯测试可能对大鼠凝血因子活性变化不敏感。血栓弹力图普通杯结果显示术后 6h,盲肠结扎组的 MA 较假手术组显著降低,而后呈上升趋势,这提示脓毒症大鼠早期血小板功能减弱,而后出现增强的趋势。但大黄素组的 MA 与盲肠结扎组无显著差异,因此本研究未能证明大黄素对脓毒症大鼠 MA 值有影响。

功能性纤维蛋白原的检测原理是通过组织因子激活外源性凝血通路,并使用血小板抑制剂抑制 GPIIb/IIIa 受体阻止血小板聚集。因此,检测的血块强度仅包含纤维蛋白原的作用。功能性纤维蛋白原检测结果显示术后 6h,盲肠结扎组与大黄素的 FLEV 及 MA 值均较假手术组明显降低,这提示脓毒症大鼠早期纤维蛋白原功能减弱。盲肠结扎组与大黄素组的 α 角、FLEV 值及 MA 值在术后 12 h 均

呈现上升的趋势,24 h 显著升高。这说明随着脓毒症的发展,大鼠纤维蛋白原功能增强。并且 24 h 与盲肠结扎组比较,大黄素组的 FLEV 值及 MA 值有显著差异,故本研究证明大黄素能增强脓毒症大鼠纤维蛋白原功能。

脓毒症发生时,促凝物质如组织因子上调,而抗凝物质如抗凝血酶、血栓调节蛋白、组织因子途径抑制物和蛋白 C 下调,以及纤维蛋白溶解机制受损等,并以促凝物质上调导致高凝状态最为重要^[12-14];同时炎症介质作用于毛细血管内皮,使血管内皮生理性抗凝血物质减少或功能下降,血管内血细胞促凝血机制加强,纤溶系统受损,加剧了凝血过程^[15]。纤维蛋白原即是凝血因子 I,是一种由肝脏合成的可溶性 II 类急性相糖基化蛋白,由 α A、 β B 和 γ 链相互连接。血浆含量 2.0~4.0 g/L,生物学半衰期 96~144 h,存在于吸附血浆中,可被凝血酶和因子 XIII a 作用后转变为纤维蛋白^[16]。在脓毒症高凝状态下,FIB 作为凝血因子 I 参与凝血过程,其活性增强。其次随脓毒症病情发展,血浆中纤溶酶原激活物抑制剂-1 水平不断升高,纤溶活性受到抑制,导致血液凝固性增加,大量纤维蛋白不能被及时降解,从而增加血浆纤维蛋白原^[17]。与此同时,高水平的 FIB 水平又促进与血小板膜糖蛋白 GP II b/III a 结合,介导血小板聚集反应,导致血液黏度增大,损伤血管内皮,进一步促进凝血的过程^[18]。因此随脓毒症发展,大鼠纤维蛋白原功能呈增强趋势,体现为 FLEV 值逐渐升高,这或许能成为评估脓毒症严重程度的指标,可作为进一步研究的方向。

综上所述,盲肠结扎模型中,脓毒症大鼠的整体凝血状态表现为低凝倾向。具体机制为凝血因子功能减弱,血小板功能先增强后减弱,纤维蛋白原功能先减弱后增强。大黄素能够改善脓毒症大鼠内源性凝血因子活性和纤维蛋白原功能,降低脓毒症大鼠 48 h 病死率。

[参考文献]

- [1] Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, *et al.* Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 193(3): 259-272.
- [2] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, *et al.* The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3)[J]. *JAMA*, 2016, 315(8): 801-810.

- [3] Levy MM, Dellinger RP, Townsend SR, *et al.* The Surviving Sepsis Campaign: results of an international guideline-based performance improvement program targeting severe sepsis [J]. *Intensive Care Med*, 2010, 36(2): 222-231.
- [4] Sun YN, Sun LJ, Liu SQ, *et al.* Effect of emodin on Aquaporin 5 expression in rats with sepsis-induced acute lung injury [J]. *J Tradit Chin Med*, 2015, 35(6): 679-684.
- [5] Muzaffar SN, Baronia AK, Azim A, *et al.* Thromboelastography for Evaluation of Coagulopathy in Nonbleeding Patients with Sepsis at Intensive Care Unit Admission [J]. *Indian J Crit Care Med*, 2017, 21(5): 268-273.
- [6] DeJager L, Pinheiro I, Dejonckheere E, *et al.* Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis? [J]. *Trends Microbiol* 2011, 19(4): 198-208.
- [7] Hubbard WJ, Choudhry M, Schwacha MG, *et al.* Cecal ligation and puncture [J]. *Shock*, 2005, 24(1): 52-57.
- [8] Vincent JL, Opal SM, Marshall JC, *et al.* Sepsis definitions: time for change [J]. *Lancet*, 2013, 381(9868): 774-775.
- [9] Ni Q, Sun K, Chen G, *et al.* In vitro effects of emodin on peritoneal macrophages that express membrane-bound CD14 protein in a rat model of severe acute pancreatitis/systemic inflammatory response syndrome [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9(1): 355-359.
- [10] Yang Z, Zhou E, Wei D, *et al.* Emodin inhibits LPS-induced inflammatory response by activating PPAR- γ in mouse mammary epithelial cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 21(2): 354-360.
- [11] Liu B, Yuan B, Zhang L, *et al.* ROS/p38/p53/Puma signaling pathway is involved in emodin-induced apoptosis of human colorectal cancer cells [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9): 15413-15422.
- [12] Iba T, Thachil J. Present and future of anticoagulant therapy using antithrombin and thrombomodulin for sepsis-associated disseminated intravascular coagulation: a perspective from Japan [J]. *Int J Hematol*, 2016, 103(3): 253-261.
- [13] Iba T, Yamada A, Hashiguchi N, *et al.* New therapeutic options for patients with sepsis and disseminated intravascular coagulation [J]. *Pol Arch Med Wewn*, 2014, 124(6): 321-328.
- [14] Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, *et al.* Coagulopathy of Acute Sepsis [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2015, 41(6): 650-658.
- [15] Levi M, van der Poll T. Coagulation and sepsis [J]. *Thromb Res*, 2017, 149: 38-44.
- [16] Moore JX, Zakai NA, Mahalingam M, *et al.* Hemostasis biomarkers and risk of sepsis: the REGARDS cohort [J]. *J Thromb Haemost*, 2016, 14(11): 2169-2176.
- [17] Van De Craen B, Scroyen I, Vranckx C, *et al.* Maximal PAI-1 inhibition in vivo requires neutralizing antibodies that recognize and inhibit glycosylated PAI-1 [J]. *Thromb Res*, 2012, 129(4): e126-133.
- [18] Lominadze D, Dean WL, Tyagi SC, *et al.* Mechanisms of fibrinogen-induced microvascular dysfunction during cardiovascular disease [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2010, 198(1): 1-13.

(收稿日期: 2018-06-12; 修回日期: 2018-08-20)
(责任编辑: 闻 浩; 英文编辑: 吕镫烽)