



SOD与NaHCO₃对重症失血性休克低血管反应性的影响

失血性休克是临床上较常见的危重症之一。重症低血容量休克晚期血管反应性明显降低，是重症休克患者血压难以回升和导致死亡的重要原因[1]。本室既往实验发现，重症休克大鼠细胞内酸中毒可引起细动脉平滑肌ATP敏感K通道(K_{ATP})开放，使得平滑肌细胞膜超极化，这是血管反应性降低的重要原因[2][3]。进一步研究发现，休克晚期大量的NO与超氧阴离子O₂·⁻形成过氧化亚硝酸根(ONOO⁻)，它引起平滑肌细胞膜超极化，带来平滑肌细胞内钙离子浓度下降，使血管反应性降低[4][5]。本实验通过对重症失血性休克大鼠给予O₂·⁻特异歧化酶(SOD)和NaHCO₃进行全身治疗，观察了其对血管反应性的影响。

1 材料和方法

1.1 主要试剂

SOD(上海宝安生物技术公司)以生理盐水配成5 mg/ml；去甲肾上腺素(NE)：取重酒石酸去甲肾上腺素(2 mg×1 ml)，用Kreb's液倍比稀释成以下10个浓度：100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.56、0.78、0.39、0.195 μg/ml。Kreb's液：NaCl 30.8 g、KCl 1.4 g、CaCl₂·2H₂O 1.16 g、MgSO₄ 1.2 g，溶于4 000 ml双蒸水，37 °C下用NaHCO₃调节pH至7.4。

1.2 动物分组

健康成年SD大鼠28只，体质量(190±10) g，雌雄不限，随机均分为4组：生理盐水对照组、NaHCO₃组、SOD组、SOD+ NaHCO₃组。

1.3 重症失血性休克模型复制

动物肌肉注射13.3%乌拉坦+0.5%氯醛糖(6 ml/kg·b.w.)麻醉，双侧股动脉插管，分别通过三通管连接液晶血压显示器和玻璃注射器。观察血压和放血。放血前插管注射0.1 ml肝素钠生理盐水，5 min后打开股动脉三通管，让血液流入注射器内，直至大鼠平均动脉压降至5.07~5.33 kPa(1 kPa=7.5 mmHg)。在实验过程中通过间断放血、输血，以维持平均动脉压5.07~5.33 kPa。一侧股静脉插管用于回输血液及药物。

1.4 血管反应性测定

于插管后复制休克前，按照Gray[6]法制作大鼠左侧脊斜肌活体微循环观察标本，用37 °C Kreb's液恒定灌注维持标本恒定。放大4 000倍Hitachi显微电视装置下用电视测微计(日本ForA公司)观察微动脉口径r的变化，用红细胞跟踪相关仪(美国IPM公司)测定细动脉红细胞流速(V_{rbc})，用于计算微动脉血流量。用NE阈值作为血管反应性指标：脊斜肌活体微循环观察标本局部滴不同稀释浓度的NE，由低逐渐升高至微动脉刚好发生收缩的NE浓度为引起血管收缩反应的NE阈值。阈值越高，血管反应性越低。

1.5 治疗措施

动物失血性休克至2 h后，对照组经股静脉缓慢回输全部失血和生理盐水，给升压药物多巴胺(1 mg/kg·b.w.)，其余组剂量同上[7]。SOD组：给予SOD 5 mg/kg·b.w.(其余组剂量同上[8])，再给多巴胺。SOD+NaHCO₃：给SOD +NaHCO₃(按公式计算)，再给予多巴胺。NaHCO₃组：给计算所得5% NaHCO₃，再给多巴

胺。

所需NaHCO₃的计算方法：由血气分析所测的CO₂结合力计算所需补碱量(mmol)=(20-CO₂结合力)×0.25 kg·b.w.，换算成5% NaHCO₃(ml)=所需补碱量(mmol)/595×1 000。

1.6 观察指标

分别记录休克前、休克、休克后60、120 min以及药物治疗后5 min，输血后5、60、120 min动物血压、微动脉血管口径、血流速度、微动脉对NE的阈值。根据血管口径和血流速度记算血流量 $Q=(V_{rbc}/1.6) \cdot \pi \cdot D^2/4$ pl/min[9]。于治疗后5 min后给与多巴胺(1 mg/kg·b.w.)记录前后血压。实验过程进出量恒定0.25 ml/kg·b.w.。实验结束后结扎血管，缝合手术切口，将动物放回笼中，记录动物存活时间。

1.7 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，在SPSS10.0软件上用完全随机设计方差分析和重复测量设计方差分析，P<0.05为差异有显著性。体质量、放血量、存活时间用相关性分析，P<0.01为有显著性差异。

2 结果

2.1 微动脉血管反应性

失血性休克2 h后，各组大鼠微动脉对NE的反应性均明显下降，引起A3微动脉收缩的NE阈值与休克前比增高24~27倍(P<0.01)。给SOD、NaHCO₃和SOD+NaHCO₃治疗后血管对NE的反应阈值下降，血管反应性部分恢复。尤其是二者联合应用，在治疗后5 min，NE阈值下降50%，在治疗后2 h微动脉对NE的反应性持续恢复到接近正常水平(表1)。

表 1 药物对失血性休克大鼠血管反应性的影响(μg/ml, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effect of drugs on vasoreactivity of rat after hemorrhagic shock

(μg/ml, Mean±SD)

Group	Threshold of norepinephrine(μg/ml)			
	Pre-shock	2 h post-shock	5 min post-therapy	2 h post-therapy
Control	0.17±0.05	4.02±1.53*	4.02±1.52	4.24±1.96
NaHCO ₃	0.16±0.04	4.46±1.67*	3.12±1.56	2.68±0.76 [†]
SOD	0.18±0.13	4.46±1.67*	2.23±0.84**	1.56±0.78 [‡]
SOD+ NaHCO ₃	0.18±0.03	4.89±1.65*	2.45±0.84**	0.86±0.39 ^Δ

*P<0.01 vs before shock; **P<0.05 vs 2 h post- shock; [†]P<0.05 vs control group;

[‡]P<0.01 vs control or NaHCO₃ group; ^ΔP<0.01 vs control group

2.2 对多巴胺的升压反应效果

对照组注射多巴胺前血压为(6.48±0.87) kPa，注射后为(8.1±1.1) kPa，差值为(1.65±0.48) kPa；NaHCO₃组由(6.89±1.16) kPa上升到(8.52±1.05) kPa，差值(1.63 ±1.05) kPa；SOD组由(6.89±1.28) kPa上升到(8.95±1.51) kPa为差值(2.05±0.69) kPa；SOD+ NaHCO₃组由(8.81±0.73) kPa上升到(11.97±0.8) kPa，差值为(3.17±0.52) kPa。与其余3组相比，SOD+ NaHCO₃组联合治疗后，大鼠对多巴胺的升压作用有显著性意义(P<0.05)。

2.3 平均动脉压的变化

对照组经回输失血和生理盐水处理后5 min，血压明显回升，但治疗60 min后血压进行性下降，为失血前

的58%，而NaHCO₃组血压变化与对照组比有所提高，但无统计学差异。SOD组和SOD+ NaHCO₃组经给药和回输失血后血压显著回升，分别达到(11.2±1.32) kPa和(11.8±0.81) kPa (P<0.05)，120 min血压仍维持(12.8±0.98) kPa和(13.8±1.14) kPa。

2.4 微动脉血流量

动物休克2 h后，脊斜肌微动脉血流量急剧减少。对照组经回输失血和生理盐水后有所提高，但随后进行性下降，120 min后较正常减少84.4%；NaHCO₃组与对照组无统计学差异；SOD组120 min后较正常减少78.2%；SOD+ NaHCO₃组微动脉血流量较正常减少60.3%，是对照组的2.54倍、NaHCO₃组的2.65倍、SOD组的1.71倍(P<0.05)。

2.5 动物存活时间

各组动物之间体质量与失血量无明显差异(P>0.05)。SOD+ NaHCO₃组的平均存活时间较对照组增高约2倍(P<0.01)，且24 h存活率为6/7比0/7(P<0.01)，明显优于SOD组和NaHCO₃组。SOD组和NaHCO₃组平均存活时间比对照组高，但24 h存活率无统计学意义(表2)。

表 2 失血性休克大鼠生存情况($\bar{x}\pm s$)

Tab.2 Survival profile of the rats after hemorrhagic shock (Mean±SD)

Group	Weight(g)	Volume of blood loss (ml/100 g·b.w.)	Survival time(h)	Survival rate in 24 h
Control	194.57±5.16	2.76±0.25	11.69±2.82	0/7
NaHCO ₃	192.71±4.42	2.68±0.22	16.21±4.05*	0/7
SOD	192.00±5.07	2.71±0.16	19.87±4.48*	2/7
SOD+NaHCO ₃	193.71±6.34	2.72±0.18	34.02±7.34***	6/7***

*P<0.05, **P<0.01 vs control group ; *P<0.01 vs NaHCO₃ or SOD group

3 讨论

大鼠失血性休克2 h后，微动脉平滑肌细胞对NE反应阈值明显升高，这说明重症休克时血管反应性确实下降。当单独给予SOD治疗后，血管反应性虽只得到部分恢复，血压却有一定程度稳定回升，说明O₂·⁻可能直接参与了低血管反应性的发生。这可能是因为SOD解除了超氧化物对儿茶酚胺的抑制作用，因而能稳定提升血压。Macarehur等[10]研究表明，O₂·⁻在体外能够灭活儿茶酚胺类，从而引起血管对儿茶酚胺的低反应性。SOD拟似剂(SODm)给药能够恢复感染性休克大鼠体内NE的血管升压效应，从而逆转低血压发生。本室既往研究也发现，失血性休克发展至血管反应性降低时，大量的O₂·⁻与一氧化氮(NO)形成ONOO⁻引起血管平滑肌细胞膜超极化，带来平滑肌细胞内钙离子浓度下降，是休克血管低反应性的重要原因，用泰隆(tiron)清除O₂·⁻可以防止休克时ONOO⁻形成和平滑肌超极化，使血管适应性部份恢复[11][12]。不过，泰隆是一种化学制剂，用于休克治疗尚有较远的距离，因此本研究选用了已用于临床的SOD作为研究目标。

本研究发现，NaHCO₃治疗失血性休克，虽然动物存活时间有所延长，有一定治疗作用，但24 h存活率与对照组无明显差异，说明重症休克的低血管反应性的发生机制是有多种因素参与的[13]。SOD+ NaHCO₃联合应用时，微动脉对NE的反应性恢复几乎接近正常，并且能稳定提升动物血压，保持微动脉血流量，提高动物存活率，二者的协同作用明显。不仅NaHCO₃可改善机体内的酸中毒，更重要的原因可能是因为SOD作为一种生物蛋白酶，它的活性要求在正常的pH范围内发挥效应。有文献报道，Cu-ZnSOD(SOD1)在pH较高(pH>9)和有H₂O₂

存在的情况下可发挥过氧化物酶的功能[14]。在正常pH条件下,必须有碳酸氢根(HCO_3^-),SOD才能起过氧化物酶的作用, HCO_3^- 可以结合于SOD的阴离子结合部位(Arg141),结合于Arg 141部位的 HCO_3^- 把 H_2O_2 分子锚定于Cu离子的活性部位,使其裂解;而在缺血、脓毒症、休克时pH的变化使 HCO_3^- 减少从而影响了SOD的功能。

因此不难理解,单用SOD或 NaHCO_3 治疗测定血管对NE反应性和多巴胺的升压效应均不太理想,只有在SOD和 NaHCO_3 合用时,才能充分发挥SOD生物学效应。随着血管反应性和对升压药效应的恢复,动物在回输血液后,血压稳定,微动脉血流量和组织供氧量有所恢复,从而存活时间显著延长。

综上所述, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 可能直接参与了重症失血性休克低血管反应性的发生,SOD作为重症休克血管低反应性的恢复剂有显著作用。先以SOD+ NaHCO_3 作为血管反应性恢复剂处理,再给升压药物(多巴胺)可明显提升和保持动物血压并提高动物存活率,提示SOD和 NaHCO_3 联合应用可能是治疗重症休克血管反应性低下的新途径。

(责任编辑:段咏慧)

参考文献:

- [1] Zhao KS, Junker D, Delano FA, et al. Microvascular adjustments during irreversible hemorrhagic shock in rat skeletal muscle[J]. *Microvasc Res*, 1985, 30(2): 143-53.
- [2] 刘杰, 赵克森. 重症休克大鼠平滑肌膜电位变化在血管反应性降低中的作用[J]. *中国病理生理学杂志*, 1998, 14(1): 39-42.
- Liu J, Zhao KS. The role of arteriolar membrane potential in the pathogenesis of vascular hyporeactivity during severe hemorrhagic shock[J]. *Chin J Pathophysiol*, 1998, 14(1): 39-42.
- [3] 刘杰, 赵克森, 金春华. 重症休克时细动脉平滑肌细胞膜ATP敏感钾通道的变化[J]. *中华创伤杂志*, 1998, 14(suppl): 10-2.
- Liu J, Zhao KS, Jin CH. Characteristic changes of ATP-sensitive potassium channels in arteriolar smooth muscle cells during severe hemorrhagic shock[J]. *Chin J Traumatol*, 1998, 14(suppl): 10-2.
- [4] 杨贵远, 赵克森, 姜勇. 一氧化氮参与失血性休克后期血管反应性下降的发生[J]. *第一军医大学学报*, 1999, 19(1): 36-8.
- Yang GY, Zhao KS, Jiang Y. Mechanism of vascular hyporeactivity induced by NO in hemorrhagic shock[J]. *J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 1999, 19(1): 36-8.
- [5] Zhao KS, Liu J, Yang GY, et al. Peroxynitrite leads to arteriolar smooth muscle cell membrane hyperpolarization and low vasoreactivity in severe shock[J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2000, 23: 259-67
- [6] Gray SD. Rat spinotrapezius muscle preparation for microscopic observation of the terminal vascular bed[J]. *Microvasc Res*, 1973, 5(3): 395-400.
- [7] Zhao KS, Huang XL, Liu J, et al. New approach to treatment of shock-restitution of vasoreactivity shock[J]. *Shock*, 2002, 18(2): 189-92.
- [8] Leskova GF. Protective effect of various forms of superoxide dismutase on phospholipid composition of hepatocyte and adipocyte plasma membranes and blood lipoprotein spectrum during hemorrhagic shock on cats[J]. *Vopr Med Khim*, 1999, 45(5): 389-97.
- [9] Wiedeman MP, Tuma RF, Mayrovitz HN. Quantitative techniques for measurement of velocity and pressure of blood[M]. In: Wiedemann MP. *An Introduction to Microcirculation* [A]. New York: Academic Press, 1981. 157-76.
- [10] Macarthur H, Westfall TC, Riley DP, et al. Inactivation of catecholamines by superoxide gives new insights on the pathogenesis of septic shock[J]. *PNAS*, 2000, 97(17): 9753-8.
- [11] 杨贵远, 赵克森, 刘杰, 等. 过氧亚硝酸根 ONOO^- 参与重症休克血管反应性低下的发生[J]. *中华*

创伤杂志, 2000, 16(5): 293-6.

Yang GY, Zhao KS, Liu J, et al. Peroxynitrite involves in the pathogenesis of vascular hyporeactivity during severe shock[J]. Chin J Traumatol, 2000, 16(5): 293-6.

[12]黄绪亮, 金建秋, 刘杰, 等. 优降糖和泰隆联合治疗恢复失血性休克大鼠血管反应性的研究[J]. 中华创伤杂志, 2002, 18(10): 620-23.

Huang XL, Jin JQ, Liu J, et al. A study on therapeutic effect of glybenclamide and tiron recovering vasoreactivity in severe hemorrhagic shock rats[J]. Chin J Traumatol, 2002, 18(10): 620-23.

[13]赵克森. 重症难治性休克的机制和治疗[J]. 中华创伤杂志 (Chin J Traumatol), 2003, 19(6): 325-8.

[14]Sankarapandi S, Zweier JL. Bicarbonate is required for the peroxidase function of Cu, Zn-superoxide dismutase at physiological pH[J]. J Biol Chem, 1999, 274(3): 1226-32.

参考文献:

[1]Zhao KS, Junker D, Delano FA, et al. Microvascular adjustments during irreversible hemorrhagic shock in rat skeletal muscle[J]. Microvasc Res, 1985, 30(2): 143-53.

[2]刘杰, 赵克森. 重症休克大鼠平滑肌膜电位变化在血管反应性降低中的作用[J]. 中国病理生理学杂志, 1998, 14(1): 39-42.

Liu J, Zhao KS. The role of arteriolar membrane potential in the pathogenesis of vascular hyporeactivity during severe hemorrhagic shock[J]. Chin J Pathophysiol, 1998, 14(1): 39-42.

[3]刘杰, 赵克森, 金春华. 重症休克时细动脉平滑肌细胞膜ATP敏感钾通道的变化[J]. 中华创伤杂志, 1998, 14(suppl): 10-2.

Liu J, Zhao KS, Jin CH. Characteristic changes of ATP-sensitive potassium channels in arteriolar smooth muscle cells during severe hemorrhagic shock[J]. Chin J Traumatol, 1998, 14(suppl): 10-2.

[4]杨贵远, 赵克森, 姜勇. 一氧化氮参与失血性休克后期血管反应性下降的发生[J]. 第一军医大学学报, 1999, 19(1): 36-8.

Yang GY, Zhao KS, Jiang Y. Mechanism of vascular hyporeactivity induced by NO in hemorrhagic shock[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 1999, 19(1): 36-8.

[5]Zhao KS, Liu J, Yang GY, et al. Peroxynitrite leads to arteriolar smooth muscle cell membrane hyperpolarization and low vasoreactivity in severe shock[J]. Clin Hemorheol Microcir, 2000, 23: 259-67

[6]Gray SD. Rat spinotrapezius muscle preparation for microscopic observation of the terminal vascular bed[J]. Microvasc Res, 1973, 5(3): 395-400.

[7]Zhao KS, Huang XL, Liu J, et al. New approach to treatment of shock-restitution of vasoreactivity shock[J]. Shock, 2002, 18(2): 189-92.

[8]Leskova GF. Protective effect of various forms of superoxide dismutase on phospholipid composition of hepatocyte and adipocyte plasma membranes and blood lipoprotein spectrum during hemorrhagic shock on cats[J]. Vopr Med Khim, 1999, 45(5): 389-97.

[9]Wiedeman MP, Tuma RF, Mayrovitz HN. Quantitative techniques for measurement of velocity and pressure of blood[M]. In: Wiedemann MP. An Introduction to Microcirculation [A]. New York: Academic Press, 1981. 157-76.

[10]Macarthur H, Westfall TC, Riley DP, et al. Inactivation of catecholamines by superoxide gives new insights on the pathogenesis of septic shock[J]. PNAS, 2000, 97(17): 9753-8.

[11]杨贵远, 赵克森, 刘杰, 等. 过氧亚硝酸根 $ONOO^-$ 参与重症休克血管反应性低下的发生[J]. 中华创伤杂志, 2000, 16(5): 293-6.

Yang GY, Zhao KS, Liu J, et al. Peroxynitrite involves in the pathogenesis of vascular hyporeactivity during severe shock[J]. Chin J Traumatol, 2000, 16(5): 293-6.

[12]黄绪亮, 金建秋, 刘杰, 等. 优降糖和泰隆联合治疗恢复失血性休克大鼠血管反应性的研究[J]. 中华创伤杂志, 2002, 18(10): 620-23.

Huang XL, Jin JQ, Liu J, et al. A study on therapeutic effect of glybenclamide and tiron recovering vasoreactivity in severe hemorrhagic shock rats[J]. Chin J Traumatol, 2002, 18(10): 620-23.

[13]赵克森. 重症难治性休克的机制和治疗[J]. 中华创伤杂志 (Chin J Traumatol), 2003, 19(6): 325-8.

[14]Sankarapandi S, Zweier JL. Bicarbonate is required for the peroxidase function of Cu, Zn-superoxide dismutase at physiological pH[J]. J Biol Chem, 1999, 274(3): 1226-32.

[回结果列表](#)