

目标导向液体治疗对失血性休克犬输血量及肺水通道蛋白 1、5 的影响

陶建平¹⁾, 韩洋²⁾, 黄青青³⁾, 史曼¹⁾, 杨家驹¹⁾, 思永玉¹⁾, 万林骏³⁾, 苏美仙⁴⁾

(1) 昆明医科大学第二附属医院麻醉科, 云南昆明 650101; 2) 山东滕州市中心人民医院麻醉科, 山东滕州 277500; 3) 昆明医科大学第二附属医院 ICU; 4) EICU, 云南昆明 650101)

[摘要] **目的** 探讨目标导向液体治疗(goal-directed fluid therapy, GDFT)对失血性休克犬输血量及肺水通道蛋白(Aquaporins, AQP) 1、5表达的影响。**方法** 32只比格犬随机分为4组(每组8只):假手术组(S组),目标导向液体治疗组(G组),中心静脉压指导输液组(C组)及定量输液组(Q组)。G组、C组和Q组建立失血性休克模型并维持休克状态60 min,随后分别采用GDFT、定量输液和中心静脉压指导的输液方案行液体复苏并观察4h。复苏液体乳酸林格氏液与羟乙基淀粉的输液比例为1:1。实验结束后,记录复苏4h的输血量及尿量;测定肺组织的湿/干重量比(W/D);通过RT-PCR及Western-blot检测肺组织AQP₁和AQP₅的表达。**结果** G组的输血量及尿量多于Q组和C组($P<0.05$);G组肺组织的W/D高于S组、Q组和C组($P<0.05$);G组肺组织AQP₁和AQP₅的表达和S组、Q组及C组比较差异无统计学意义($P<0.05$)。**结论** 目标导向液体治疗会造成失血性休克犬的输血量增加,但不影响肺组织水通道蛋白1、5的表达。

[关键词] 失血性休克;液体治疗;水通道蛋白

[中图分类号] R605.971 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2014)12-0018-06

The Effects of Goal-directed Fluid Therapy on the Amount of Infusion and the Expression of Pulmonary Aquaporin1 and Aquaporin5 in Hemorrhagic Shock Dogs

TAO Jian-ping¹⁾, HAN Yang²⁾, HUANG Qing-qing³⁾, SHI Man¹⁾, YANG Jia-ju¹⁾, SI Yong-yu¹⁾, WAN Lin-jun³⁾, SU Mei-xian⁴⁾

(1) Dept. of Anesthesiology, The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101; 2) Dept. of Anesthesiology, Hospital of Teng Zhou County, Tengzhou Shandong 277500; 3) Dept. of ICU; 4) Dept. of EICU, The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of goal-directed fluid therapy (GDFT) on the amount of infusion and the expression of pulmonary aquaporins (AQP₁ and AQP₅) in hemorrhagic shock dogs. **Methods** Thirty-two beagle dogs were randomly divided into four groups, sham operation group (group S, $n=8$), and three treated groups: GDFT group (group G, $n=8$), central venous pressure-directed fluid therapy group (C group, $n=8$), quantity-directed fluid therapy group (Q group, $n=8$). The hemorrhagic shock model was established with the modified Wigger's method and maintained 60 minutes. Then three strategies of fluid resuscitation was administrated to group G, group C as well as group Q and observation for 4 hours. Stroke volume variation (SVV) below 10% was regared as targeted goal of group G, a fluid each bolus 2ml/kg of lactated Ringer's

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81060033);云南省教育厅科学研究基金资助项目(2010Z030);云南省卫生厅学科带头人培养计划基金资助项目(D-201213)

[作者简介] 陶建平(1967~),男,云南永仁县人,医学硕士,副教授,主要从事休克研究及麻醉临床工作。

[通讯作者] 思永玉. E-mail:siyongyu@vip.sina.com

and hydroxyethyl starch was administered within 10 min when SVV exceed 10%. The resuscitation fluid was infused with lactated Ringer's/ hydroxyethyl starch 1:1 ratio. Autologous blood was infused and maintained the hemoglobin between 100 and 110 g/L. After 4 hours of resuscitation, the fluid volume and the urine output were recorded. Then lung tissue was sampled to detection the expression of AQP₁ and AQP₅ by RT-PCR and Western-blot; measure values of wet-to-dry lung weight ratio (W/D). **Results** Compared with the S group, Q group and C group, the amount of infusion and lung wet-to-dry weight ratio in G group was significantly increased. No difference was found in the expression of the AQP₁ and AQP₅ in all groups. **Conclusion** GDFT may increase the amount of infusion in hemorrhagic shock dogs, but has no effect on the expression of pulmonary AQP₁ and AQP₅.

[**Key words**] Hemorrhagic shock; Fluid therapy; Aquaporins

近年提出将目标导向液体治疗 (goal-directed fluid therapy, GDFT) 用于围术期液体管理^[1], 认为以血液动力学的每搏量或心输出量的最大化为补液目标, 可防止围术期不易识别的血容量不足, 进一步改善术后转归. 水通道蛋白 (aquaporins, AQP) 的主要功能是介导自由水的跨细胞膜转运, 为水的快速转运提供一个主要通路, 参与肺水的分泌、吸收及细胞内外水的平衡. 本研究旨在探讨目标导向液体治疗是否会造成输液量增多和水通道蛋白的变化.

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组

选择健康比格犬 32 只 (由昆明医科大学动物科提供), 体重 10 ~ 12 kg (平均 11.2 kg), 随机将全部实验用犬分为 4 组 (n=8): 假手术 (sham operation) 组 (对照组, S 组), 目标导向液体治疗组 (GDFT 组, G 组), 中心静脉压 (central venous pressure, CVP) 指导输液组 (CVP 组, C 组), 定量输液组 (Quantity 组, Q 组).

1.2 实验步骤

1.2.1 休克前准备 比格犬在饲养室饲养 1 周, 定量进食, 自由饮水. 术前禁食 12 h, 但不禁饮. 入动物手术室后以 3% 戊巴比妥钠 (上海化学试剂厂) 1 mL/kg 桡静脉注射及氯胺酮 (上海第一生化药业公司) 10 mg/kg 肌肉注射. 颈部过伸位固定于手术台上, 行气管内插管 (ID 6.5 mm). 气管导管接麻醉机 (Drager Fabius Tiro, 德国) 机控呼吸. 吸入氧浓度为 40% (FiO₂ = 0.4), 潮气量 (Vt): 10 mL/kg, 呼吸频率 (Rf): 25 ~ 35 次/min, 吸:呼比 (I:E) 为 1:1.5. 持续吸入 1.2% 异氟醚 (Baxter 公司, 美国) 维持麻醉, 吸入异氟醚的麻醉深度维持在 1 MAC (最低肺泡有效浓度). 接麻醉气体监护仪 (Datex-Ohmeda S/5, 芬兰), 实验过程中调整呼吸频率将呼气末二氧化碳 (EtCO₂)

维持在 40 ~ 45 mmHg. 留置尿管 (Buster, 丹麦 Eickemeyer 公司) 记录尿量. 双侧颈部和腹股沟区用电动理发剪备皮并用碘伏消毒. 从右颈外静脉穿刺置入 8Fr 三腔中心静脉导管 (Arrow, 美国), 将导管尖端置入上腔静脉与心房交界处 (置入深度以在监护仪上出现 CVP 波形为准), 建立静脉通道. 肌松剂先静注负荷量的维库溴胺 (浙江仙琚制药有限公司) 0.2 mg/kg, 然后持续泵入维库溴胺 0.2 mg/(kg·h) 维持肌松. 用电热毯 (四川绵阳彩虹电热毯公司) 保温, 体温 (T) 控制在 37 ~ 38 °C. 切开双侧腹股沟区, 显露双侧股动脉, 右侧连接 PiCCO 系统 (Pulsion Medical Systems, 德国) 监测心率 (HR)、平均动脉压 (MAP)、心输出量指数 (CI)、SVV 及 T 等. 左侧股动脉留作放血及采血通道. 假手术组 (S 组), 仅给予插管及观察, 观察期间持续泵乳酸林格氏液和 6% 羟乙基淀粉各 1 mL/(kg·h).

1.2.2 建立失血性休克模型 G 组、C 组和 Q 组的休克模型采用改良的 Wiggers 失血性休克模型^[2]制作: 从比格犬左侧股动脉处以 2 mL/(kg·min) 速度放血并将动脉血引流至含枸橼酸的血液保存袋 (山东威高公司) 中, 在 30 min 内将 MAP 降至基础值的 50%, 并维持休克状态 60 min.

1.2.3 液体复苏 休克 1 h 后行液体复苏. 液体复苏的晶体与胶体的比例为 1:1. 晶体液采用乳酸林格氏液 (广州百特医疗用品有限公司), 胶体液采用 6% 羟乙基淀粉 130/0.4 (北京费森尤斯卡比医药有限公司). 液体复苏开始后即以 30 mL/(kg·h) 的速度输入自体血并维持血红蛋白 (Hb) 在 100 ~ 110 g/L. 复苏开始后每 10 min 用微量血红蛋白检测仪 (HemoCue Hb201, 瑞典) 检测 1 次血红蛋白 (Hemoglobin, Hb) 浓度, 复苏 2 h 后改为每小时测定一次. G 组、C 组和 Q 组的液体复苏方案如下: (1) G 组 (GDFT 组): 液体复苏过程中如 SVV 大于 10%, 则在 10 min 内快速泵 4 mL/kg 液体 (乳酸林格氏液和 6% 羟乙基淀粉各 2 mL/kg);

如未达目标,则重复至达标(SVV 小于 10%)。复苏达标后调整输液速度将 SVV 维持在 8~10%。

(2) Q 组(定量输液组): 输血量^[2]= 麻醉血管扩张量 + 禁饮量 + 生理维持量 + 第三间隙再分布量 + 失血量。①生理需要量为生理盐水 2 mL/(kg·h) (输晶体); ②手术期间体液在第三间隙的再分布量 2 mL/(kg·h) (输晶体); ③麻醉处理后的血管扩张量 6 mL/kg (输胶体); ④失血量: 输入自体血, 维持 Hb 在 100~110 g/L; ⑤复苏达标后尽量将 MAP 维持在基础值水平。(3) C 组(CVP 组): ①液体复苏过程中如 CVP 低于基础值, 10 min 内快速输液 4 mL/kg (乳酸林格氏液和 6% 羟乙基淀粉各 2 mL/kg), 如未达标则重复液体复苏至 CVP 达到基础值; ②复苏达标后尽量将 CVP 维持在基础值水平; ③输入自体血, 维持 Hb 在 100~110 g/L。复苏后观察 4 h。

1.3 观察指标与测定方法

(1) 记录各组放血前基础值 (T_0)、休克后 1 h (T_1)、复苏 2 h (T_2) 及复苏 4 h (T_4) 时的 HR、MAP。(2) 记录 G 组 T_0 、 T_1 、 T_2 及 T_4 时的 SV、CI 及 SVV; 记录 C 组在 T_0 、 T_1 、 T_2 及 T_4 时的 CVP。(3) 实验结束时记录各组的输血量(晶体量 + 胶体量)、放血量、输血量及尿量。(4) 实验结束时抽取静脉血, 用渗透压仪(Loser OM815, 德国)测定四组犬的血浆渗透压。(5) 标本取材: 实验结束后在深麻醉状态下放血处死尚存活的犬。打开胸腔, 取左下肺用于测定湿/干重量比(W/D): 先称湿重量, 然后置烤箱(80 °C, 48 h)烤至恒重, 再称干重量, 计算 W/D。湿/干重量比值 % (W/D) = $100 \times (\text{湿重} - \text{干重}) / \text{湿重}$ 。取出左上肺, 用体积分数为 10% 的多聚甲醛固定, 用以 HE 染色。取出右肺中叶及下叶, 用以检测水通道蛋白 AQP₁ 及 AQP₅。

1.4 AQP₁ 及 AQP₅ 的检测

1.4.1 定量 RT-PCR 检测肺组织 AQP₁ mRNA 及 AQP₅ mRNA 表达 取右肺中叶组织, 采用 Trizol 试剂参照说明书提取总 RNA, 二步法进行 RT-PCR。AQP₁ 引物序列: 上游 5'AGCGAGTTCA-AGAAGAAG 下游 5'GATGAAGACGAAGAGGAT; AQP₅ 引物序列: 上游 5'AACTCGCTCAACAACAA-C, 下游 5'TCGGTGGAAGAGAAGATG; β -肌动蛋白(actin) 引物序列: 上游 5'AAGTCCATCTCCA-TCTTC, 下游 5'ACTCCACAACATACTCAG。PCR 反应条件为: 95 °C 预变性 2 min, 95 °C 变性 15 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 40 个循环。PCR 扩增仪为美国 Bio-Rad 公司。扩增产物经 3% 琼脂

糖凝胶电泳分离成像, 并进行灰度分析。

1.4.2 Western-blot 免疫印迹分析 AQP₁ 及 AQP₅ 蛋白的表达 取右肺下叶组织, 常规提取肺组织蛋白质, BCA 法定量, 取 20 μ g 样品加入等体积的 2 \times SDS-PAGE 样品缓冲液, 沸水煮 5 min, 进行 SDS-PAGE 蛋白电泳。其后转移至 PVDF 膜, 按免疫印迹试剂盒说明步骤操作。一抗: AQP₁ (abcam 公司, 28 kDa), AQP₅ (abcam 公司, 29 kDa), actin (SAB 公司, 45 kDa); 二抗: 山羊抗兔 (abcam 公司)。暗室曝光、显影后用凝胶成像机 (Image Stone 7500M, 英国 UVP 公司) 测灰度, 取均值。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 统计学软件进行分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组内比较采用重复测量设计的方差分析, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

各组间实验动物的体质量、体长及实验时间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 各组输血量(晶体量 + 胶体量)、放血量、输血量及尿量的比较

G 组的输血量(晶体量, 胶体量)及尿量多于 Q 组及 C 组 ($P < 0.05$)。G 组的输血量(晶体量, 胶体量)及尿量多于 S 组 ($P < 0.01$), 见表 1。

2.3 各组各时点 HR、MAP、SV、SVV、CI 及 CVP 的比较

G 组、Q 组和 C 组失血性休克后, T_1 时的 HR 及 MAP 高于 T_0 时 ($P < 0.05$)。G 组失血性休克后, T_1 时的 SV 及 CI 低于 T_0 时 ($P < 0.05$), SVV 高于 T_0 时 ($P < 0.05$)。C 组 T_1 时的 CVP 低于 T_0 时 ($P < 0.05$)。复苏 2 h 后, G 组、Q 组和 C 组在 T_2 时的 HR 及 MAP 逐渐降至基础值; G 组 T_2 时的 SV 及 CI 逐渐升至基础值, SVV 逐渐降至基础值; C 组 T_2 时的 CVP 逐渐升至基础值。G 组在 T_2 和 T_4 时的 SV 及 CI 高于 T_0 时 ($P < 0.05$)。G 组在 T_2 和 T_4 时的 MAP 高于 C 组及 Q 组 ($P < 0.05$), 见表 2。

2.4 各组血浆渗透压的比较

S 组、G 组、Q 组和 C 组的血浆渗透压分别为 (296 \pm 31)、(284 \pm 41)、(291 \pm 37)、(293 \pm 31) mOsm/kg。各组间的血浆渗透压比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.5 各组肺组织湿/干重量比(W/D)的比较

S 组、G 组、Q 组和 C 组肺组织的干 / 湿重比值分别为 4.29 ± 0.17 、 4.82 ± 0.15 、 4.36 ± 0.10 和 4.22 ± 0.12 , G 组高于 S 组、Q 组和 C 组 ($P < 0.05$)。

2.6 肺组织病理变化

光镜下 S 组、Q 组和 C 组肺组织结构完整, 肺泡隔无水肿, 肺泡腔清晰, 有少量炎性细胞浸润。G 组肺泡间隔增宽, 部分肺泡萎陷, 肺泡壁结构破坏, 偶见肺泡内有水肿液, 有中等量炎性细胞浸润。

2.7 各组肺组织水通道蛋白表达的比较

定量 RT-PCR 检测肺组织 AQP1 mRNA 及 AQP5mRNA 表达结果: 定量 RT-PCR 结果表明, 4 组间的 AQP₁ mRNA 及 AQP₅mRNA 水平的比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 1。

各组 Western-blot 免疫印迹分析 AQP₁ 及 AQP₅ 蛋白的积分灰度值比较, 见图 2。

4 组间肺组织 AQP₁ 及 AQP₅ 的 Western-blot 蛋白条带积分灰度值比较差异无统计学意义 ($P >$

0.05), 见图 3。

3 讨论

择期手术围术期传统补液方案的输液量主要根据术前禁食、禁饮的生理需要量、胃肠道准备的丢失量以及术中出血、蒸发量等计算而得, 主要以维持围术期血压、心率以及尿量等的稳定为目的。其补液量多为预先确定量, 未考虑手术患者的个体差异, 如性别、年龄、并发疾病及循环功能状态等。而血压、心率以及尿量等由于受麻醉、手术应激等众多因素影响, 不能反映围术期轻度的容量不足。因此传统的补液方案往往不能使机体达到理想的容量状态。随着近年“目标导向输液”概念的提出, 个体化的输液策略成为了关注的焦点。目标导向输液通过液体负荷使围术期血流动力学指标 (如每搏量、心输出量) 的最大化为治疗目标, 代替以往维持术中心输出量或氧供达固定超常值的目标。该方案强调补液方案的个体化, 根据围术期不断变化的

表 1 各组输液量 (晶体量 + 胶体量)、放血量、输血量及尿量的比较 [$n = 8, (\bar{x} \pm s)$]

Tab. 1 Comparison of total amount of fluid resuscitation (crystalloid amount plus colloid amount), total amount of blood withdrawn, re-transfused blood amount and urinary output [$n = 8, (\bar{x} \pm s)$]

组 别	输液量 (mL)	晶体量 (mL)	胶体量 (mL)	放血量 (mL)	输血量 (mL)	尿量 (mL)
S 组	$165 \pm 23^{**}$	$84 \pm 13^{**}$	$81 \pm 11^{**}$	0	0	$71 \pm 36^{**}$
G 组	964 ± 189	483 ± 95	481 ± 94	372 ± 47	312 ± 38	216 ± 34
C 组	$669 \pm 135^*$	$334 \pm 68^*$	$335 \pm 67^*$	336 ± 28	305 ± 17	$104 \pm 21^*$
Q 组	$591 \pm 152^*$	$295 \pm 78^*$	$296 \pm 74^*$	351 ± 35	298 ± 23	$127 \pm 25^*$

与 G 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

表 2 各组各时点 HR、MAP、SV、SVV、CI 及 CVP 的比较 [$n = 8, (\bar{x} \pm s)$]

Tab. 2 Comparison of HR, MAP, SV, SVV, CI and CVP at different time points [$n = 8, (\bar{x} \pm s)$]

项 目	组 别	基础值 (T_0)	休克后 1 h (T_1)	复苏 2 h (T_2)	复苏 4 h (T_4)
HR (bpm)	S 组	145 ± 14	$148 \pm 23^{\#}$	143 ± 21	139 ± 19
	G 组	143 ± 18	$170 \pm 30^{*\Delta}$	146 ± 19	135 ± 15
	C 组	141 ± 15	$178 \pm 27^{*\Delta}$	142 ± 23.1	144 ± 17
	Q 组	139 ± 16	$176 \pm 25^{*\Delta}$	145 ± 22	146 ± 17
MAP (mmHg)	S 组	115 ± 11	117 ± 6	$117 \pm 8^{\#}$	$116 \pm 8^{\#}$
	G 组	117 ± 11	$60 \pm 7^{*\Delta}$	$130 \pm 11^{\Delta}$	$132 \pm 14^{\Delta}$
	C 组	112 ± 11	$57 \pm 6^{*\Delta}$	$113 \pm 8^{\#}$	$113 \pm 8^{\#}$
	Q 组	116 ± 7	$59 \pm 7^{*\Delta}$	$119 \pm 8^{\#}$	$117 \pm 9^{\#}$
SV (mL)	G 组	13.5 ± 3.8	$7.6 \pm 3.5^*$	$15.7 \pm 3.5^*$	$16.5 \pm 3.5^*$
SVV (%)	G 组	9.2 ± 1.8	$28.7 \pm 3.6^*$	9.7 ± 2.1	9.5 ± 1.1
CI ($L/(\min \cdot m^2)$)	G 组	1.85 ± 0.3	$1.21 \pm 0.4^*$	$2.08 \pm 0.6^*$	$2.13 \pm 0.3^*$
CVP (cmH_2O)	C 组	6.83 ± 0.27	$4.33 \pm 0.41^*$	6.91 ± 0.45	6.95 ± 0.34

组内比较: 与 T_0 比较, * $P < 0.05$; 组间比较: 与 S 组比较, $\Delta P < 0.05$; 与 G 组比较, $\#P < 0.05$ 。

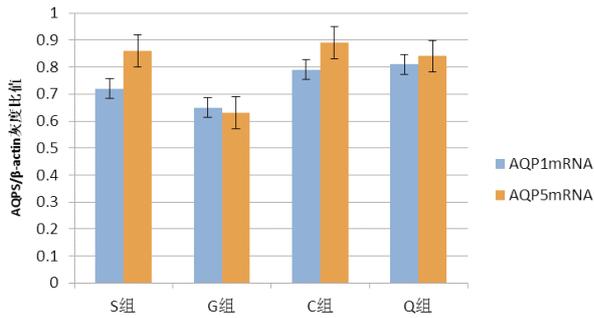


图 1 肺组织 AQP1mRNA 和 AQP₅mRNA 的 RT-PCR 分析

Fig. 1 Comparison of expression of AQP1 mRNA and AQP5mRNA detected by RT-PCR

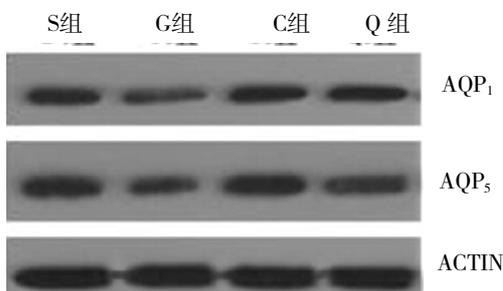


图 2 肺组织 AQP1 及 AQP5 的 Western-blot 免疫印迹分析

Fig. 2 Expression of AQP1 and AQP5 detected by Western-blot

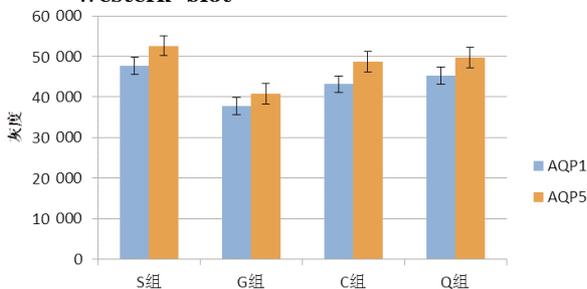


图 3 肺组织 AQP1 及 AQP5 表达的 Western-blot 蛋白条带积分灰度的比较

Fig. 3 Comparison of expression of AQP1 and AQP5 detected by Western-blot

液体需求进行个体化补液，而不是预先确定补液量。故既可防止围术期容量不足。Westphal M 等^[3]认为，目标导向液体治疗方案是个体化的输液方案，具有成为围手术期最优化输液策略的前景，有助于提高高危手术患者的预后。

每搏量变异度 (Stroke volume variance, SVV) 反映的是某一段时间内每搏量的变异程度。它指的是在控制性机械通气情况下，在一个呼吸周期中每搏量的最大值 (SV_{max}) 与最小值 (SV_{min}) 的差值除以每搏量的平均值 (SV_{mean})，即 SVV=

(SV_{max} - SV_{min}) / SV_{mean} × 100%。每搏量的变异程度越大表明有效血容量不足就越明显，给予容量负荷后心输出量就会增加。因而，SVV 作为功能性血流动力学指标之一，具有预测心脏对容量负荷反应的能力^[6]。常被用来预测液体治疗的反应性，以指导围术期的液体治疗。SVV 是 Frank-Starling 曲线上的位置标志。SVV 高时，病人的心脏工作在曲线的陡峭部分；SVV 低时，到达曲线的平台位置。在本实验中，如 PiCCO 系统的监测结果所示，G 组在失血休克后 1 h 时处于明显的低血容量状态，SVV 升至最高值；而液体复苏开始后，SVV 逐渐下降；随着输入量的增加，心室的容量负荷也随之增加，每搏量的变异程度由大到小，SVV 数值也在复苏 2 h 内逐渐降至正常；液体复苏 2 h 到液体复苏 4 h 期间，SVV 数值保持正常，说明容量已经达到饱和状态，血压也处于稳定状态。因此当血容量不足时，SVV 较高，左心室处于 Frank-Starling 曲线的上升段，说明机械通气导致的每搏量变化较血容量正常时更显著；而当血容量补足时，左心室处于 Frank-Starling 曲线的平台段，每搏量变化不明显。本研究发现：G 组的输液量 (964 ± 189) 多于 Q 组 (669 ± 135) 及 C 组 (591 ± 152)，原因可能在于目标导向液体治疗为追求每搏量的最大化，输入了较中心静脉压指导的输液治疗及定量输液治疗更多的液体，故 G 组在复苏 2 h 及 4 h 的 SV 和 CI 均超过术前，MAP 恢复得更高，肾灌注更好，尿量也更多。但由于输入了较多的液体，G 组肺组织的湿 / 干重量比 (4.82 ± 0.15) 高于 S 组 (4.29 ± 0.17)、Q 组 (4.36 ± 0.10) 和 C 组 (4.22 ± 0.12) (P < 0.05)，这说明 G 组肺组织的含水量高于 S 组、Q 组和 C 组。G 组肺组织的含水量增高，结合病理检查发现肺泡间隔增宽、偶见肺泡内有水肿液，这说明将目标导向液体治疗用于失血性休克犬的液体复苏有可能增加肺水肿的风险。

Benes J 等^[4]将 SVV 作为目标导向应用到高危手术患者的容量管理中发现：与对照组相比，目标导向治疗组输入了更多的胶体 (1425 mL [1000-1500] vs. 1000 mL [540-1250], P = 0.0028)，但围手术期低血压事件发生较低。

本研究采用“急性失血性休克”动物模型，然后进行输血输液复苏，其优点是和临床十分接近。

失血性休克后有 40% 的鼠会发生肺微血管通透性增高、血管内液向肺间质渗漏^[5]。对此以往研究一直关注肺血管通透性的改变，而对水通道蛋白 (aquaporins, AQP) 的液体转运功能在肺损伤和肺水肿形成中的作用尚缺乏认识。本研究旨在观察目

标导向液体治疗是否会影响失血性休克犬肺的水通道蛋白的表达。

自 1988 年 Peter 在红细胞膜上发现第一个水通道蛋白, 揭开了水跨膜快速转运的神秘面纱以来, 至今人类已在哺乳动物体内发现了 11 种水通道蛋白, 即 AQP₀₋₁₀。AQP₁ 主要在气道周围毛细血管、淋巴管及肺泡毛细血管内皮细胞上表达, AQP₅ 则定位于肺泡 I 型上皮细胞的肺泡腔面。AQP₁ 的主要功能是清除支气管和血管周围组织的水份, AQP₅ 则主要清除肺泡腔内水份。有学者研究表明, 肺泡上皮细胞除了完成气体交换外, 还具有主动转运液体的功能, 主动转运是肺泡内液体清除的方式^[6,7]。肺泡上皮液体主动转运系统由钠通道 (EnaC)、钠钾 ATP 酶 (Na⁺/K⁺-ATPase, NKA) 和水通道蛋白 (AQP) 组成, Na⁺ 经肺泡上皮 II 型细胞腔侧的 ENaC 进入细胞内, 然后由基底侧表面的 NKA 将 Na⁺ 泵至肺间质, 由于 NKA 将 Na⁺ 排除在细胞外, 在细胞内造成了显著的电化学梯度, 利于 Na⁺ 通过细胞膜; 在 Na⁺ 转运的同时, Cl⁻ 则经上皮细胞之间紧密连接被动进入细胞间隙, 再进入间质, 由主动转运引起的上皮与间质之间渗透压差则是水经肺泡上皮进入间质的动力。肺泡上皮的液体主动转运功能能保持肺泡相对干燥。一些实验证实^[8,9], 在多种原因导致的急性肺损伤中, 都存在肺泡上皮细胞和毛细血管内皮细胞 AQP 表达量减少和活性降低。且近年的研究表明 AQP₁ 及 AQP₅ 参与了多种肺损伤后肺水肿的病理过程^[10,11]。

研究表明, 调节水通道蛋白的因素包括激素、神经递质及细胞因子等。Hoffert^[12]首次报道在高渗透压环境下可诱导 AQP₅ 表达, 该过程需要细胞外信号调节激酶 ERK (extracellular signal-regulated kinase) 的活化。本研究采用的羟乙基淀粉渗透压为 308 mOsmol/L, 而乳酸林格氏液渗透压为 272 mOsmol/L。为了在同等条件下比较失血性休克犬的输血量及水通道蛋白, 本研究采用的乳酸林格氏液与羟乙基淀粉的比例都固定为 1:1, 这造成了 3 组间的血浆渗透压在复苏 4 h 时的差异无统计学意义, 这可能是目标导向治疗组的 AQP₁ 和 AQP₅ 表达与假手术组、定量输液组及 CVP 输液组差异无统计学意义的原因。

本研究的不足之处在于只做了乳酸林格氏液与羟乙基淀粉的复苏比例为 1:1 的研究, 尚缺乏其它输液比例对失血性休克犬肺水通道蛋白的影响。

综上所述, 目标导向液体治疗会造成失血性休

克犬的输血量及肺含水量增加, 但不影响肺组织水通道蛋白的表达。

[参考文献]

- [1] BUNDCAARD-NIELSON, HOLTE, SECHE, et al. Monitoring of perioperative fluid administration by individualized goal-directed therapy [J]. *Acta Anesthesiol Scand*, 2007, 51 (3):331 - 340.
- [2] RONALD D, MILLER 主编. 米勒麻醉学 [M]. 第 6 版. 北京: 北京大学医学出版社, 2006: 1 801 - 1 802.
- [3] WESTPHAL M, SCHOLZ J, VAN AKEN H, et al. Infusion therapy in anaesthesia and intensive care: let's stop talking about 'wet' and 'dry' [J]. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 2009, 23(2):7 - 10.
- [4] BENES J, CHYTRA I, ALTMANN P, et al. Intraoperative fluid optimization using stroke volume variation in high risk surgical patients: results of prospective randomized study [J]. *Crit Care*, 2010, 14(4):R118 - 126.
- [5] MAESHIMA K, TAKAHASHI T, UEHARA K, et al. Prevention of hemorrhagic shock-induced lung injury by heme-arginate treatment in rats [J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 69(11):1 667 - 1 680.
- [6] CANNESON M, MUSARD H, DESEBBE O, et al. The ability of stroke volume variations obtained with Vigileo/FloTrac System to monitor fluid responsiveness in mechanically ventilated patients [J]. *Anesth Analg*, 2009, 108(2): 513 - 517.
- [7] KUBITZ J C, ANNECKE T, KEMMING G I, et al. The influence of positive end-expiratory conditions [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2006, 30(1):90 - 95.
- [8] LI J, XU M, FAN Q, et al. Tanshinone II A ameliorates seawater exposure-induced lung injury by inhibiting aquaporins (AQP)1 and AQP5 expression in lung [J]. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 2011, 176 (1-2): 39 - 49.
- [9] 李波, 陈东, 王桂芳, 等. 水通道蛋白 1、3、4、5 在内毒素性急性肺损伤小鼠肺组织中的表达 [J]. *第二军医大学学报*, 2008, 29(1):131 - 135.
- [10] GAO J, ZHOU L, GE Y, et al. Effects of different resuscitation fluids on pulmonary expression of aquaporin 1 and aquaporin 5 in a rat model of uncontrolled hemorrhagic shock and infection [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5):e64 390.
- [11] SINGHA O, KENGKOO M, CHAIMONGKOLNUKUL K, et al. Pulmonary edema due to oral gavage in a toxicological study related to aquaporin-1, -4 and -5 expression [J]. *Toxicol Pathol*, 2013, 26(3):283 - 291.
- [12] HOFFERT J D, LEITCH V, AGE P, et al. Hypertonic induction of aquaporin-5 expression through an ERK-dependent pathway [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275 (12):9 070 - 9 077.

(2014 - 11 - 02 收稿)