

血必净注射液联合乌司他丁对脓毒症患者血清因子、T细胞亚群及D-二聚体的影响

魏 军, 王艳红, 蒋金辉, 冯冬青

秦皇岛市第二医院, 河北 秦皇岛 066600

摘要:目的 观察并探讨血必净注射液联合乌司他丁对重症脓毒症患者血清因子、T细胞亚群及D-二聚体的影响。方法 入选2014年1月—2016年3月收治的150例脓毒症患者为研究对象, 随机分为研究组和对照组各75例, 对照组在抗感染、抗凝、氧疗等综合治疗基础上使用乌司他丁注射液, 研究组在对照组基础上联合静滴血必净注射液, 7d为1疗程, 记录并比较两组治疗前与治疗7d后血清因子、T细胞亚群及D-二聚体水平变化与多器官功能障碍综合征(MODS)发生率及7d病死率。结果 研究组治疗7d后肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6 (IL-6)、C反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)水平均显著低于对照组($P < 0.05$)。研究组治疗后 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 均显著高于对照组($P < 0.05$)。研究组治疗后D-dimer、APACHEII评分均显著低于对照组水平($P < 0.05$); 研究组7d内MODS发生率(13.3% vs 20.0%)与病死率(10.7% vs 13.3%)低于对照组, 但差异均无统计学意义。结论 乌司他丁治疗重症脓毒症基础上联合使用血必净注射液能进一步抑制炎症反应, 调节细胞免疫功能, 减轻高凝状态。

关键词: 脓毒症; 血必净注射液; 乌司他丁; 炎性介质; T细胞亚群; D-二聚体

中图分类号: R969.4 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2018)06-1077-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.06.025

Xuebijing injection combined with ulinastatin in the treatment of severe sepsis patients and its influence on serum factors, T cell subgroup and D-dimer

WEI Jun, WANG Yanhong, JIANG Jinhui, FENG Dongqing

The Second Hospital of Qinhuangdao, Qinghangdao 066600, China

Abstract: Objective To observe the influences of Xuebijing injection combined with UTI on variations of serum factor, T cell subsets and D-dimer for severe sepsis patients. **Methods** 150 severe sepsis patients from January 2014 to March 2016 were selected and randomly divided into study group and control group, each with 75 cases, based on conventional therapy control group added with UTI injection for 7d, observation group jointly added with Xuebijing injection, variations of inflammatory factor, T cell subsets and D-dimer levels before and 7d after treatment were noted, and MODS incidence and 7d mortality ratio of the two groups were compared. **Results** The study group after treatment with TNF- α , IL-6, CRP, PCT were significantly lower than the control group ($P < 0.05$). $CD3^+$, $CD4^+$, $CD4^+/CD8^+$ of study group after treatment were significantly higher than the control group ($P < 0.05$). D-dimer and APACHEII score of study group after treatment were significantly lower than the control group ($P < 0.05$). MODS incidence rate (13.3% vs. 20.0%) and mortality ratio (10.7% vs. 13.3%) of study group within 7d were both lower than the control group, but the difference were not significant. **Conclusion** Based on UTI treatment for severe sepsis, Xuebijing injection added can further suppress inflammatory response, regulate cell immune function, alleviate the hypercoagulable state.

Key words: Sepsis; Xuebijing Injection; Ulinastatin; Inflammatory Mediators; T cell subsets; D-dimer

脓毒症是对感染失控宿主反应所致的危及生命的器官功能障碍。免疫炎性反应是脓毒症发生、发展的重要环节, 脓毒症早期, 免疫细胞过度激活,

释放大量炎症介质和细胞因子, 导致微血管内微血栓形成和凝血功能障碍, 后期则出现抗炎反应失衡和免疫功能紊乱。病原体与机体炎性反应、免疫系统、

收稿日期: 2017-11-01

基金项目: 秦皇岛市科技支撑计划项目(201401A197)

第一作者: 魏 军 E-mail: weijunjz@126.com

凝血反应之间相互作用, 极易发生弥散性血管内凝血 (disseminated intravascular coagulation, DIC) 及多器官功能障碍综合征 (multiple organ dysfunction syndrome, MODS)^[1], 危及患者生命。乌司他丁注射液是从人尿液中提取出的广谱蛋白酶抑制剂, 具有清除氧自由基及抑制炎症介质释放的作用, 乌司他丁辅助治疗脓毒症患者能显著降低炎症反应及 28 d 病死率^[2]。血必净是由红花、赤芍、丹参、当归、川芎等提炼而成的纯中药注射液, 既往研究表明, 血必净注射液有助于阻断细菌内毒素 (LPS) 的释放, 抑制脓毒症患者炎症反应水平, 增强机体免疫功能, 缩短机械通气时间, 改善患者预后^[3-4]。笔者将二者联合用于重症脓毒症的临床治疗, 并对联合用药后患者炎症因子、T 细胞亚群及 D-二聚体的变化进行对比分析。

1 资料与方法

1.1 病例纳入与排除标准

入组标准: 18 岁 < 年龄 < 70 岁, 符合 2016 年

国际重症脓毒症与脓毒症休克管理指南标准^[5], 急性生理和慢性健康评分 (acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II 评分) ≥ 12 分。排除标准: 甲状腺功能亢进、脑动脉瘤患、半年内有脑出血史、近期使用糖皮质激素及免疫抑制剂、对研究药物过敏、入院伴 MODS 患者。剔除标准: 入组 7 d 内死亡或出院者。

1.2 临床资料与分组

研究设计经医院医学伦理委员会批准, 入选 2014 年 1 月—2016 年 3 月符合上述标准的 150 例重症脓毒症患者为研究对象。男 89 例, 女 61 例, 年龄 44~68 岁, 平均 (57.5 \pm 6.2) 岁; 严重肺部感染 63 例、重症胰腺炎 32 例、腹膜炎 33 例、颅内感染 22 例; 入院 APACHEII 评分 19~33 分, 平均 (25.6 \pm 4.8) 分。两组患者入组后根据随机数字表分为研究组和对照组, 每组各 75 例, 两组患者基础临床特征经比较未见差异有统计学意义。见表 1。

表 1 两组患者基础资料比较

Table 1 Comparison on basic data between two groups

组别	性别		年龄/岁			基础疾病/例				BMI/(kg·m ⁻²)		合并糖尿病/例	APACHEII 评分
	男	女	40~	50~	60~	肺部感染	重症胰腺炎	腹膜炎	颅内感染	<25	≥ 25		
对照	41	34	11	47	17	34	15	17	9	31	44	19	25.2 \pm 4.8
研究	48	27	17	38	20	29	17	16	13	23	52	14	26.0 \pm 5.2

1.3 治疗方案

基础方案: 积极处理基础疾病, 控制感染与血糖、保护胃黏膜, 给予脏器支持等基础治疗; 给予容量复苏、抗凝、营养支持、维持电解质及酸碱平衡等常规综合治疗。对照组在上述基础上加用乌司他丁注射液 (规格 5 万 U/mL, 广东天普生化医药股份有限公司, 国药准字 H20040505), 剂量为 20 万 U 乌司他丁注射液加 100 mL 5% 葡萄糖溶液于 60 min 滴完, 每日 2 次, 7 d 为 1 疗程。研究组在对照组基础上联合静脉滴注血必净注射液 (10 mL/支, 天津红日药业有限公司, 国药准字 Z20040033), 剂量为 100 mL 血必净注射液加 100 mL 生理盐水于 90 min 滴完, 每日 2 次, 7 d 为 1 疗程。

1.4 观察指标

治疗前与治疗 7 d 后采集外周静脉血, 测定血清炎症因子 [肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6 (IL-6)、C 反应蛋白 (CRP)、降钙素原 (PCT)]、T 细胞亚群 (CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺)、D-二聚体 (D-dimer) 水平, 评估急性生理和慢性健

康评分 (acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II 评分), 比较两组 MODS 发生率及病死率。

1.5 检测方法

采用双抗体夹心酶联免疫试验测定 TNF- α 、IL-6 (试剂盒购自上海信裕生物科技有限公司), 采用 Array360 特定蛋白分析系统测定 CRP 水平 (散射比浊法, 试剂盒购自浙江世纪康大医疗科技有限公司), 采用罗氏 e601 全自动电化学发光免疫检测仪测定 PCT 水平 (定量电化学发光法, 试剂盒购自罗氏公司), 采用 SysmexCA-1500 血凝仪测定 D-dimer 水平 (免疫比浊法, 试剂盒购自北京世纪沃德生物科技有限公司), 采用贝克曼 DxFLEx 流式细胞仪 (间接免疫荧光法) 测定 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞亚群构成。

1.6 统计学方法

数据录用 Microsoft-Excel 建数据库并采用 SPSS 19.0 软件包进行统计学处理, 炎症因子、T 细胞亚群、D-dimer、APACHEII 评分等定量数据比较

采用两独立样本 t 检验, 基础特征构成、MODS 发生率及病死率比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 血清炎症因子水平比较

治疗期间, 研究组、对照组分别死亡 8 例、10 例。治疗 7 d 后, 两组外周血炎症因子数值均显著低于治疗前水平 ($P < 0.05$); 研究组治疗 7 d 后炎症因子数值均显著低于对照组 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.2 T 细胞亚群变化比较

两组治疗 7 d 后, $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 均较治疗前有所提高, 其中 $CD3^+$ 、 $CD4^+$

治疗前后差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。研究组治疗后 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 D-dimer 与 APACHEII 评分比较

治疗 7 d 后, 两组 D -dimer、APACHEII 评分均较治疗前显著下降 ($P < 0.05$), 研究组治疗后 D -dimer、APACHEII 评分均显著低于对照组水平 ($P < 0.05$)。7 d 内, 研究组与对照组发展为 MODS 例数分别为 10 例 (13.3%)、15 例 (20.0%), 病死数分别为 8 例 (10.7%)、10 例 (13.3%), 两组 7 d MODS 发生率与病死率差异均无统计学意义。

表 2 两组患者治疗前后血清炎症因子比较

Table 2 Comparison on serum inflammatory factors before and after treatment between two groups

组别	n/例	时间	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	PCT/(pg·mL ⁻¹)	CRP/(mg·L ⁻¹)
对照	65	治疗前	95.9±21.3	116.8±25.2	522.5±73.4	71.5±16.4
		治疗 7 d 后	39.2±11.2*	61.4±18.3*	280.7±57.9*	38.2±10.7*
研究	67	治疗前	98.2±25.7	109.3±22.6	542.3±85.1	74.1±15.2
		治疗 7 d 后	27.4±8.2*#	45.5±13.1*#	237.5±48.5*#	30.1±9.4*#

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs same group before treatment; # $P < 0.05$ vs control group after treatment

表 3 两组患者治疗前后 T 细胞亚群变化比较

Table 3 Comparison on changes in T cell subsets before and after treatment between two groups

组别	n/例	时间	$CD3^+$	$CD4^+$	$CD8^+$	$CD4^+/CD8^+$
对照	65	治疗前	58.1±7.9	31.9±6.3	26.4±5.9	1.21±0.30
		治疗 7 d 后	65.2±7.2*	36.1±6.7*	28.5±6.7	1.27±0.35
研究	67	治疗前	58.4±6.2	31.5±5.9	26.9±5.7	1.19±0.27
		治疗 7 d 后	68.1±7.5*#	39.3±6.5*#	28.3±7.1	1.40±0.38#

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs same group before treatment; # $P < 0.05$ vs control group after treatment

表 4 两组患者治疗前后 D -dimer、APACHEII 评分比较

Table 4 Comparison on D -dimer and APACHEII scores before and after treatment between two groups

组别	n/例	D -dimer/(ng·mL ⁻¹)		APACHEII 评分	
		治疗前	治疗 7 d 后	治疗前	治疗 7 d 后
对照	65	1072.3±296.2	630.3±174.5*	24.7±4.7	17.6±4.3*
研究	67	1140.4±238.6	513.4±142.3*#	25.5±5.0	14.4±3.3*#

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs same group before treatment; # $P < 0.05$ vs control group after treatment

3 讨论

脓毒症本质为炎症因子的“瀑布样”释放, 过度的炎症反应能够导致多种免疫细胞凋亡和“促炎-抑炎”细胞因子失衡, 继而出现全身性炎症反应^[6]; 过度炎症反应会损伤血管内膜, 激活外源性与内源性凝血系统, 促使微血管内微血栓形成, 使机体处

于高凝状态, 被激活的凝血系统又可激活纤溶系统, 加剧炎症反应^[7]。炎症反应、凝血活化、免疫与纤溶失衡相互影响, 累及心脏、肾脏、肺脏等重要脏器易发展为 MODS, 严重影响患者预后。

乌司他丁注射液是从人尿液中分离纯化提取的一种含 143 个氨基酸的广谱胰蛋白酶抑制剂, 能增

强超氧化物歧化酶的活性, 稳定溶酶体膜抑制溶酶体酶和炎性介质的释放, 减轻炎症反应和病理性高凝状态, 改善血管通透性, 保护内皮细胞, 一定程度上阻断凝血-炎症反应相互促发的恶性循环^[8]; 临床报道, 乌司他丁能显著下调脓毒症患者 TNF- α 水平^[9], 显著降低重症肺炎患者 D-dimer 水平并减少体内微血栓形成^[10]。血必净注射液由红花、赤芍、川芎、丹参、当归等 5 味组方中提取而成, 有效成分能拮抗单核、巨噬细胞产生内源性炎症介质的失控性释放^[11]; 抑制纤维母细胞胶原合成和血小板聚集, 降低炎症损伤导致的毛细血管通透性的改变, 改善组织灌注, 减轻凝血功能障碍^[12]。动物实验表明^[13], 血必净注射液能降低 LPS 水平并拮抗 LPS 攻击小鼠引发的 TNF- α 水平升高, 提高超氧化物歧化酶活性, 减轻细胞的过氧化损伤。另有研究表明, 血必净注射液能上调抑炎因子 IL-10 的表达和 CD4⁺/CD8⁺ 比值及 NK 细胞相对活性, 辅助调节机体免疫状态^[14]。

Meta 分析表明^[15], 相对于乌司他丁治疗脓毒症, 血必净联合乌司他丁能进一步下调 IL-6、PCT 水平, 降低平均机械通气时间与住院时间。脓毒症患者同时伴发全身性炎症反应、纤溶亢进和免疫功能损害, 外周血检测通常表现为 TNF- α 、IL-6、CRP、PCT、D-dimer 水平增高^[16-17], 免疫功能损害表现为 CD3⁺、CD4⁺ 及 CD4⁺/CD8⁺ 下降^[18]。本研究中, 用药 7 d 后两组炎症因子、D-dimer 水平均显著降低, 而 APACHEII 评分、CD4⁺/CD8⁺ 比值显著提高, 说明单用乌司他丁方案及联合用药方案均能改善脓毒症全身性炎症反应、继发性纤溶亢进和免疫功能损伤, 而研究组上述指标改善更为显著, 说明加用血必净后患者的炎症反应水平得以进一步抑制, 机体高凝状态与免疫抑制得到一定程度改善, 可推测这与血必净注射液能发挥清除内毒素和自由基、减少细胞因子介质释放、上调特异性免疫功能等功效有关, 进而研究组 7 d 内 MODS 发生率和病死率表现出低于对照组的趋势。相似研究报道, 血必净治疗脓毒症基础上联合使用乌司他丁注射液亦表现出改善机体氧合与降低毛细血管通透性的疗效^[19]。

综上所述, 乌司他丁与血必净注射液均能通过不同途径降低脓毒症患者免疫炎症反应, 纠正免疫抑制, 改善机体高凝状态, 二者联合使用具备叠加效应, 能进一步阻断脓毒症的病理进展, 保护脏器

功能。

参考文献

- [1] 徐敏, 乔鲁军. 不同剂量乌司他丁对严重脓毒症患者降钙素原、白介素-10 及 28 d 死亡率的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(12): 7166-7168.
- [2] Karnad D R, Bhadade R, Verma P K, et al. Intravenous administration of ulinastatin (human urinary trypsin inhibitor) in severe epsis: a multicenter randomized controlled study [J]. Intensive Care Med, 2014, 40(6): 830-838. doi: 10.1007/s00134-014-3278-8
- [3] 季明霞. 血必净注射液对重症肺炎患者外周血 T 淋巴细胞变化的临床观察 [J]. 海峡药学, 2010, 22(2): 74-75.
- [4] 宋元林, 宋振举, 蒋进军, 等. 血必净治疗重症肺炎的临床疗效和安全性评价 [J]. 国际呼吸杂志, 2012, 32(22): 1692-1695.
- [5] Shrestha G S, Kwizera A, Lundeg G, et al. International Surviving Sepsis Campaign Guidelines 2016: the perspective from low-income and middle-income countries [J]. Lancet Infect Dis, 2017, 17(9): 893-895. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30453-X
- [6] 吴铁军, 张丽娜, 亢翠翠. 乌司他丁对严重脓毒症患者炎症免疫失衡的调理作用 [J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25(4): 2219-2223.
- [7] Eguchi Y, Gando S, Ishikura H, et al. Post-marketing surveillance data of thrombomodulin alfa: sub-analysis in patients with sepsis-induced disseminated intravascular coagulation [J]. J Intensive Care, 2014, 2(1): 30. doi: 10.1186/2052-0492-2-30
- [8] 唐虹. 乌司他丁、血必净联合治疗对烧伤后脓毒症凝血功能及全身炎症反应影响的临床研究 [J]. 中国医科大学学报, 2015, 44(12): 1132-1135.
- [9] Chen X, Wang Y, Luo H, et al. Ulinastatin reduces urinary sepsis-related inflammation by upregulating IL-10 and downregulating TNF- α levels [J]. Mol Med Rep, 2013, 8(1): 29-34. doi: 10.3892/mmr.2013.1480
- [10] 张小芳. 乌司他丁对重症肺炎患者血乳酸~中心静脉血氧饱和度及 D-二聚体的影响 [J]. 四川医学, 2012, 33(7): 1247-1249.
- [11] 冀兰盒, 黄浩, 姜民, 等. HPLC 测定血必净注射液内 11 种主要成分 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(18): 2395-2398.
- [12] Gong P, Lu Z, Xing J, et al. Traditional chinese medicine Xuebijing treatment is associated with decreased mortality risk of patients with moderate paraquat poisoning [J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0123504. doi: 10.1371/journal.pone.0123504

- [13] Xu Q, Liu J, Guo X, et al. Xuebijing injection reduces organ injuries and improves survival by attenuating inflammatory responses and endothelial injury in heatstroke mice [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 15: 4. doi: 10.1186/s12906-015-0519-5.
- [14] 滕寅, 肖家荣, 林鹏. 血必净注射液对重症肺炎患者细胞免疫及炎症因子的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(17): 295-297.
- [15] 李倩, 任杰, 刘国恩, 等. 血必净联合乌司他丁与单用乌司他丁治疗脓毒症的 Meta 分析 [J]. *中国药物经济学*, 2014, 10: 9-14.
- [16] 邓银灿. 降钙素原、C 反应蛋白及 D-二聚体在预测重症肺炎患者预后中的作用 [D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [17] 潘丽萍, 慈光胜, 邵振华, 等. 乌司他丁联合常规集束化治疗对重症脓毒症患者细胞免疫功能的影响 [J]. *医学综述*, 2016, 22(2): 344-346.
- [18] Kim J S, Kim S J, Lee S M. Genipin attenuates sepsis-induced immunosuppression through inhibition of T lymphocyte apoptosis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 27(1): 15-23. doi: 10.1016/j.intimp.2015.04.034
- [19] 方志成, 周昌娥, 郑翔, 等. 血必净联合乌司他丁治疗重症肺炎的临床研究 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2013, 12(4): 268-270.