

文章编号: 1674-8115(2010)09-1125-04

· 论著 ·

等容血液稀释对家兔大出血时凝血功能的影响

高敏, 张富军, 于布为, 陆志俊

(上海交通大学医学院附属瑞金医院麻醉科, 上海 200025)

摘要: 目的 研究等容血液稀释和肝出血自体血复苏中不同溶液对凝血功能的影响。方法 将 18 只新西兰家兔建立等容血液稀释和肝出血自体血复苏模型, 根据手术中输注的不同等容血液稀释溶液随机分为羟乙基淀粉 130/0.4 组(H 组)、琥珀酰明胶组(G 组)和乳酸钠林格液组(RL), 每组 6 只。于家兔麻醉后血液稀释前(T_0)、等容血液稀释后 10 min(T_1)、肝出血自体血复苏后 60 min(T_2)抽取动脉血样, 行常规凝血功能和凝血弹性描记仪(TEG)指标检测; 并观察肝出血自体血复苏 120 min 内各组家兔的生存情况和失血量。结果 与 T_0 时间点比较, H 组 T_1 、 T_2 时间点各项凝血功能指标均有统计学差异($P < 0.05$); 与 T_1 时间点比较, H 组 T_2 时间点 TEG 各项指标也有统计学差异($P < 0.05$)。H 组家兔的生存时间更短, 失血量更多。肝出血自体血回输期间, H 组的平均动脉压(MAP)呈下降趋势, 与 G 组和 RL 组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 羟乙基淀粉 130/0.4 较琥珀酰明胶和乳酸钠林格溶液的凝血抑制作用更强。

关键词: 等容血液稀释; 复苏; 肝出血自体血回输

DOI: 10.3969/j.issn.1674-8115.2010.09.025

中图分类号: R614.1; R-332

文献标志码: A

Effects of normovolemic dilution on coagulation function of hemorrhage in rabbits

GAO Min, ZHANG Fu-jun, YU Bu-wei, LU Zhi-jun

(Department of Anesthesiology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of different resuscitation fluids on coagulation function of normovolemic hemodilution and autologous blood transfusion after hepatic hemorrhage. **Methods** Models of normovolemic hemodilution and autologous blood resuscitation after hepatic hemorrhage were established in 18 New Zealand rabbits, and were randomly divided into H group (Hydroxyethyl starch 130/0.4), G group (Gelofusine) and RL group (Ringer lactate) according to different resuscitation fluids ($n = 6$ in each group). Blood samples were collected from femoral arteries after anesthesia and before hemodilution (T_0), 10 min after normovolemic dilution (T_1) and 60 min after autologous blood resuscitation after hepatic hemorrhage (T_2). Coagulation function was tested, and thromboelastograph (TEG) measurements were conducted. Besides, time of survival and volumes of blood loss were monitored in each group within 120 min of resuscitation after hepatic hemorrhage. **Results** Parameters of coagulation function at T_1 and T_2 time points were significantly different from those at T_0 time point in H group ($P < 0.05$). There were also significant differences in TEG measurements between T_1 time point and T_2 time point in H group ($P < 0.05$). Time of survival was shorter, and volume of blood loss was larger in H group. There was a decrease tendency of mean artery pressure (MAP) during autologous blood transfusion after hepatic hemorrhage in H group, and was significantly different from those of G group and RL group ($P < 0.05$). **Conclusion** Hydroxyethyl starch 130/0.4 has a greater inhibitive effect on coagulation function than Gelofusine and Ringer lactate.

Key words: normovolemic hemodilution; resuscitation; autologous blood transfusion after hepatic hemorrhage

术前自体采血是临幊上进行输血复苏治疗的一种方法, 一般采用晶体或胶体等容血液稀释, 而稀释溶液种类和稀释程度可能会干扰凝血功能, 从而影响患者的预后。然而, 对于选择何种溶液更为理想, 目前仍存在很多争议^[1]。本研究通过建立新西兰家

兔急性等容血液稀释(acute normovolemic hemodilution, ANH)模型和肝出血自体血复苏模型, 观察不同溶液在两种模型中对凝血功能的影响及机体对出血的耐受程度, 旨在获得一种较为理想的等容血液稀释溶液。

作者简介: 高敏(1969—), 女, 回族, 副主任医师, 学士; 电子信箱: douglas9188@126.com; 现在上海交通大学医学院附属瑞金医院卢湾分院麻醉科工作(200025)。

通讯作者: 张富军, 电子信箱: fujunzhang1964@yahoo.com.cn。

1 材料与方法

1.1 动物和分组

选择 18 只成年雄性新西兰家兔, 体质量 1.87~2.05 kg。动物生产许可证号: SCXK(沪)2007-0004; 使用许可证号: SYXK(沪)2008-0050。手术当天家兔禁水、禁食。根据手术中输注的不同等容血液稀释溶液将家兔随机分为 3 组, 每组 6 只。H 组: 输注溶液为羟乙基淀粉 130/0.4(北京费森尤斯卡比医药有限公司); G 组: 输注溶液为琥珀酰明胶(沈阳贝朗公司); RL 组: 输注溶液为乳酸钠林格液(广东大冢制药有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 麻醉诱导 给家兔肌肉注射芬太尼 0.05 mg/kg 和氯胺酮 15 mg/kg; 10 min 后开放右股静脉和两侧股动脉, 使家兔保持自主呼吸。手术期间如果家兔出现肢动倾向, 静脉推注氯胺酮 10 mg/kg 维持麻醉。

1.2.2 ANH 模型的建立 从家兔的右股动脉抽取 40% 的血量, 抽血速度为 5 mL/min; 同时, 右股静脉以相同的速度回注等容血液稀释溶液。抽取的动脉血置于含枸橼酸钠保养液袋中。由于抽取血液和液体输注同时完成, 抽取 40% 的血液量相当于家兔实际循环血液量的 30%^[2]。

1.2.3 肝出血和自体血复苏模型的建立 在家兔上腹行正中切口, 长约 3 cm; 在肝膜上行一长 1.5 cm、深 2.0 cm 的切口, 迅速关闭腹腔。随即在右股静脉输注自体血, 速度为 1 mL/min。如果平均动脉压 (mean arterial pressure, MAP) < 60 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa), 可以输注相同的稀释液; 输注速度为 1 mL/min, 限量为 25 mL/kg。观察各组家兔肝出血自体复苏后的生存情况和失血量; 通过左股动脉持续监测 MAP, 并在 0、30、60、90 和 120 min 时作记录。

1.2.4 血样采集 分别于麻醉后血液稀释前 (T_0)、中度等容血液稀释后 10 min (T_1)、肝出血自体血复苏后 60 min (T_2) 从右股动脉抽取动脉血样。检测常规凝血功能指标: 活化部分凝血活酶时间 (activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶原时间 (prothrombin time, PT)、纤维蛋白原 (fibrinogen, Fib); 凝血弹性描记仪 (thromboelastograph, TEG; 5000 型, Haemoscop Corp, USA) 测定反应时间 (reaction time, R)、血凝块形成凝血时间 (coagulation time, K)、 α 角以及最大振幅 (maximum amplitude, MA)。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组内比较采用单因素方差分析, 组间比较采用 SNK 法。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组家兔的基本生理资料比较 三组家兔的体质量、抽血量及麻醉用药量比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 1)。

表 1 三组家兔的基本生理资料比较 ($\bar{x} \pm s$, n=6)

Tab 1 Basic physiological characteristics of three groups of rabbits
($\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	体质量(kg)	抽血量(mL)	麻醉药用量(mg)	
			芬太尼(mg)	氯胺酮(mg)
H 组	2.00 ± 0.1	55.3 ± 1.9	0.1 ± 0.0	29.8 ± 0.4
G 组	2.01 ± 0.1	56.2 ± 1.0	0.1 ± 0.0	30.2 ± 1.0
RL 组	1.93 ± 7.5	54.5 ± 1.5	0.1 ± 0.0	29.3 ± 0.8

2.2 三组家兔各时间点凝血功能和 TEG 指标比较

2.2.1 T_0 时间点 在 T_0 时间点, 三组家兔各项凝血指标比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 2)。

2.2.2 T_1 和 T_2 时间点 与 T_0 时间点相比, H 组在 T_1 、 T_2 时间点各项凝血指标均有显著变化 ($P < 0.05$); G 组在 T_1 、 T_2 时间点 Fib、 α 角和 MA 均明显下降或缩小 ($P < 0.05$); RL 组在 T_2 时间点 α 角和 MA 显著缩小 ($P < 0.05$)。和 T_1 时间点相比, H 组在 T_2 时间点的 TEG 各项指标均有显著变化 ($P < 0.05$); G 组在 T_2 时间点 α 角明显增大 ($P < 0.05$); RL 组在 T_2 时间点 K 明显延长, α 角显著缩小 ($P < 0.05$)。与 H 组相比, G 组和 RL 组的 APTT 和 R 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。在 T_1 时间点, G 组的 K 值以及 RL 组的 α 角、MA 与 H 组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。在 T_2 时间点, G 组和 RL 组的 α 角和 MA 与 H 组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 而 RL 组的 α 角和 MA 与 G 组比较, 差异也有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 2)。

2.3 三组家兔术后生存时间和失血量比较

与 G 组和 RL 组比较, H 组术后生存时间更短, 失血量更多, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 3)。

2.4 三组家兔肝出血自体血回输后 MAP 比较

肝出血自体血回输期间, H 组的 MAP 呈下降趋势, 均显著低于 G 组和 RL 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 4)。

表 2 三组家兔 T_0 、 T_1 、 T_2 时间点凝血功能和 TEG 指标比较 ($\bar{x} \pm s$, n=6)Tab 2 Coagulation function and TEG measurements of three groups of rabbits at T_0 , T_1 and T_2 time points ($\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	凝血功能指标			TEG 指标			
	APTT(s)	PT(s)	Fib(g/L)	R(min)	K(min)	α 角(度)	MA(mm)
H 组							
T_0	23.5 ± 1.6	8.4 ± 0.9	2.2 ± 0.3	18.8 ± 1.9	5.5 ± 0.8	41.5 ± 8.8	70.1 ± 3.3
T_1	51.6 ± 16.9 ^①	9.6 ± 0.5 ^①	1.2 ± 0.2 ^①	32.0 ± 6.8 ^①	7.5 ± 1.7 ^①	26.4 ± 6.9 ^①	43.3 ± 2.2 ^①
T_2	43.6 ± 7.2 ^①	10.5 ± 1.0 ^①	1.1 ± 0.1 ^①	50.8 ± 6.2 ^{①②}	19.5 ± 3.9 ^{①②}	11.1 ± 2.9 ^{①②}	20.0 ± 3.8 ^{①②}
G 组							
T_0	23.8 ± 1.1	8.2 ± 0.8	2.4 ± 0.7	20.2 ± 3.6	7.4 ± 3.4	33.6 ± 8.7	65.7 ± 2.7
T_1	31.0 ± 9.8 ^③	10.3 ± 2.9	1.2 ± 0.5 ^①	26.9 ± 7.7	12.3 ± 6.3 ^③	19.8 ± 7.4 ^①	42.0 ± 7.8 ^①
T_2	24.8 ± 4.6 ^③	11.3 ± 4.9	1.4 ± 0.7 ^①	22.6 ± 3.7 ^③	10.3 ± 5.3	26.2 ± 9.5 ^{①②③}	48.6 ± 4.9 ^{①③}
RL 组							
T_0	23.2 ± 1.8	7.9 ± 0.2	2.8 ± 0.9	17.6 ± 1.9	7.0 ± 1.0	36.4 ± 4.8	69.3 ± 4.2
T_1	24.1 ± 3.4 ^③	8.2 ± 0.4	2.2 ± 0.7 ^③	19.4 ± 5.6 ^③	5.9 ± 1.8	38.6 ± 11.1 ^③	62.6 ± 7.4 ^③
T_2	22.5 ± 1.8 ^③	8.5 ± 0.7	2.5 ± 0.6 ^③	22.0 ± 6.2 ^{③④}	11.0 ± 4.7 ^②	20.9 ± 9.3 ^{①②③④}	62.2 ± 6.8 ^{①③④}

^①P < 0.05 与组内 T_0 时间点比较; ^②P < 0.05 与组内 T_1 时间点比较; ^③P < 0.05 与 H 组同一时间点比较; ^④P < 0.05 与 G 组同一时间点比较

表 3 三组家兔术后生存时间和失血量比较 ($\bar{x} \pm s$, n=6)Tab 3 Time of survival and volumes of blood loss in three groups of rabbits ($\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	生存时间(min)	失血量(mL)
H 组	93.3 ± 7.5	84.3 ± 5.3
G 组	>120 ^①	60.9 ± 4.0 ^①
RL 组	>120 ^①	56.9 ± 5.2 ^①

^①P < 0.05 与 H 组比较

表 4 肝出血自体血回输后三组家兔的 MAP 比较 ($\bar{x} \pm s$, n=6)Tab 4 MAP of three groups of rabbits during autologous blood transfusion after hepatic hemorrhage ($\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
H 组	66.0 ± 1.7	53.0 ± 5.0	36.8 ± 5.8	15.3 ± 10.0	0
G 组	64.7 ± 3.1	72.8 ± 4.4 ^①	80.2 ± 2.2 ^①	80.7 ± 3.1 ^①	83.0 ± 2.9 ^①
RL 组	61.0 ± 1.1	70.7 ± 4.9 ^①	77.8 ± 3.5 ^①	84.8 ± 1.0 ^①	87.8 ± 1.7 ^①

^①P < 0.05 与 H 组比较

3 讨 论

等容血液稀释是抽取全血的同时给予等量晶/胶体液,以保证血容量不变;同时使术中丢失的不是全血而是稀释血,并可在出血后输回预存的自体血,从而达到减少自体血丢失、提高机体失血耐受性的目的。然而,自体采血无论是选用晶体或胶体进行等容血液稀释,其稀释程度和稀释液种类都可能干扰凝血功能,从而进一步影响患者的预后^[3]。

本研究显示,与稀释前的基础值相比,在等容血液稀释点,羟乙基淀粉 130/0.4 的 Fib 形成时间明显延长,血凝速度和强度显著减弱,而且 APTT 和 PT 均显著延长,显示其凝血功能受到全面抑制,包括内外

源性凝血途径。羟乙基淀粉 130/0.4 分子可能通过阻断血小板膜糖蛋白 (glucoprotein IIb/IIIa, GP II b/III a) 受体与配基结合,或使 GP II b/III a 发生构型变化,导致血小板活性受抑制^[4];另一机制可能是羟乙基淀粉 130/0.4 与 FVII/vWF 复合体结合^[5-6],导致该复合体在体内被加速清除,从而影响了 V 因子的促凝血作用^[7]及 vWF 的抗原活性^[8],使凝血功能受到抑制。出血后自体血回输的复苏点,其凝血功能继续下降,这可能与实验设计有关。在建立肝出血模型后,H 组均出现 MAP < 60 mmHg 的情况,由于组复苏是自体血与羟乙基淀粉 130/0.4 同时输注,因此我们认为在等容血液稀释后发生大出血时,输注羟乙基淀粉 130/0.4 会进一步加重凝血异常,此时回输的自体血已不能改善 TEG 指标;但常规凝血指标却与等容血液稀释时无差异,这一方面可能与自体血的输注有关,另一方面一些细胞介导的过程和血小板活化等不能被常规凝血指标所反映,但却可以在 TEG 结果中体现。因此在本质上,TEG 指标与常规凝血指标的结果并不矛盾,只不过反映了凝血功能的不同方面及凝血的不同阶段,从而也证明 TEG 参数更敏感,这也是本研究设计从多重指标、多方面反映凝血状况的原因。

G 组在等容血液稀释点与基础值相比,主要变化在于血凝速度和强度呈显著减弱,Fib 质量浓度明显降低。这是由于明胶与纤维连接蛋白结合,降低了血浆中纤维连接蛋白的含量^[9],而且明胶与纤维连接蛋白结合后仍然和纤维蛋白单体进行聚合,破坏了血栓结构,从而降低了 Fib 含量,影响了血凝块的

速度与强度^[9-11]。在自体血回输后,凝血速度与等容血液稀释点比较,显著增快,显示琥珀酰明胶在等容血液稀释后回输自体血可以部分改善机体的凝血功能。

以往的研究^[12]表明,晶体液行中度等容血液稀释时可导致明显的高凝状态,并认为出现这一现象的原因可能是稀释导致抗凝血酶Ⅲ降低与活化的促凝因子失衡所致。在本实验中,RL组在等容血液稀释点与基础值比较,各项凝血指标虽无显著变化,但K值缩短、α角增大,表明晶体液在等容血液稀释后有高凝的趋势。但出血性休克后,自体血回输的复苏点与等容血液稀释点相比,TEG的K值明显延长,α角却显著变小,似乎与自体血输注存在矛盾。我们推测,在复苏点自体血的回输和晶体渗透至组织间隙使血液的稀释程度发生变化,引发抗凝血酶Ⅲ浓度改变,从而影响抗凝系统和凝血系统的平衡,导致凝血过程的复杂性。

综上所述,通过常规凝血功能和TEG指标的分析,我们认为羟乙基淀粉130/0.4对凝血的抑制作用较琥珀酰明胶和晶体强,这与实验中H组在肝出血后MAP持续减弱、生存率下降的现象相吻合。结合临床实践中,加强对羟乙基淀粉130/0.4特性的重视,可减少因凝血异常风险引发的不必要并发症。另一方面,对某些特定的患者如冠心病或因手术等强烈应激所引发的血液高凝状态,合理使用羟乙基淀粉130/0.4进行等容血液稀释可改善血液高凝状态,降低术后深静脉血栓发生的风险。

总之,人体的凝血应激系统和生理内环境的调节是一个复杂多变、多种因子互相关联的动态反馈系统。等容血液稀释后,自体输血复苏对机体凝血功能的影响在此复杂系统的基础上因本身理化性质和时机选择的不同,也会带来不同的作用效果。在临床工作中,必须考虑影响凝血系统的各种因素,明确等容血液稀释治疗的目标,严格控制血液稀释的标准,对不同患者选择合适的稀释液及进行适度的血液稀释。

参考文献:

- [1] Mittermayr M, Streif W, Haas T, et al. Effects of colloid and crystalloid solutions on endogenous activation of fibrinolysis and resistance of polymerized fibrin to recombinant tissue plasminogen activator added *ex vivo* [J]. Br J Anaesth, 2008, 100(3): 307-314.
- [2] Kherabadi BS, Crissey JM, Deguzman R, et al. Effects of synthetic versus natural colloid resuscitation on inducing dilutional coagulopathy and increasing hemorrhage in rabbits [J]. Trauma, 2008, 64(5): 1218-1229.
- [3] Van der Linden P, Ickx BE. The effects of colloid solutions on hemostasis [J]. Can J Anaesth, 2006, 53(6 Suppl): S30-S39.
- [4] 游玉媛, 杨承祥, 李艳萍, 等. 羟乙基淀粉130/0.4体外不同程度血液稀释对凝血功能的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2008, 28(4): 421-423.
- [5] Mittermayr M, Streif W, Haas T, et al. Hemostatic changes after crystalloid or colloid fluid administration during major orthopedic surgery: the role of fibrinogen administration [J]. Anesth Analg, 2007, 105(4): 905-917.
- [6] Kozek-Langenecker SA. Effects of hydroxyethyl starch solutions on hemostasis [J]. Anesthesiology, 2005, 103(3): 654-660.
- [7] Cabrales P, Tsai AG, Intaglietta M. Resuscitation from hemorrhagic shock with hydroxyethyl starch and coagulation changes [J]. Shock, 2007, 28(4): 461-467.
- [8] Sibylle A, Kozek-Langenecker. Effects of hydroxyethyl starch solutions on hemostasis [J]. Anesthesiology, 2005, 103(3): 654-660.
- [9] Kherabadi BS, Crissey JM, Deguzman R, et al. Effects of synthetic versus natural colloid resuscitation on inducing dilutional coagulopathy and increasing hemorrhage in rabbits [J]. J Trauma, 2008, 64(5): 1218-1228; discussion 1228-1229.
- [10] Li LY, Xu X. Effect of acute progressive normovolemic hemodilution with lactated Ringer's, gelatin and hydroxyethyl starch on coagulation and survival rate in rabbits [J]. Beijing Da Xue Xue Bao, 2008, 40(3): 292-300.
- [11] Van der Linden P, Ickx BE. The effects of colloid solutions on hemostasis [J]. Can J Anaesth, 2006, 53(6 Suppl): S30-S39.
- [12] Ruttman TG, James MF, Finlayson J. Effects on coagulation of intravenous crystalloid or colloid in patients undergoing peripheral vascular surgery [J]. Br J Anaesth, 2002, 89(2): 226-230.

收稿日期: 2010-04-13

本文编辑: 周珠凤