

血清血管性血友病因子在不同中医证型脓毒症中的变化

许雅萍¹, 杨敏春¹, 张召才², 蔡国龙², 胡才宝², 钱沈京¹, 严 静²

(浙江医院①中医科, ②ICU, 浙江 杭州 310013)

【摘要】 目的 探讨脓毒症内皮细胞功能在中医证型动态整体观察中的意义。方法 将 68 例脓毒症住院患者按中医卫气营血辨证方法分为气分证组(23 例)、营分证组(28 例)、血分证组(17 例);以 26 例非脓毒症患者作为对照组。分别取各组患者空腹股静脉血,用放射免疫法检测血清血管性血友病因子抗原(vWf:Ag)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、IL-2、IL-4 和白细胞计数(WBC)。结果 除 IL-2 外,脓毒症组所有参数值均显著高于对照组(P 均 <0.05)。血分证组 vWf:Ag 水平明显高于营分证组 $[(178.6 \pm 51.8) \%$ 比 $(129.1 \pm 28.7) \%, P < 0.05]$ 。脓毒症各组间,营分证组 IL-4、WBC 均高于气分证组,血分证组 WBC 高于营分证组(P 均 <0.05),而 TNF- α 、IL-6、IL-2 各脓毒症组间比较差异无统计学意义。结论 脓毒症 vWf 水平随着中医证型的变化而变化,动态观察 vWf 水平可作为脓毒症辨证的相关参考指标。

【关键词】 脓毒症; 血管性血友病因子; 辨证论治

中国分类号:R241.3;R365 文献标识码:A DOI:10.3969/j.issn.1008-9691.2009.04.005

Changes of serum von Willebrand factor in septic patients with different traditional Chinese medicine syndromes XU Ya-ping*, YANG Min-chun, ZHANG Zhao-cai, CAI Guo-long, HU Cai-bao, QIAN Shen-jing, YAN Jing. * Department of Traditional Chinese Medicine, Zhejiang Hospital, Hangzhou 310013, Zhejiang, China

【Abstract】 Objective To study the changes and clinical significance of the serum levels of von Willebrand factor (vWF) in septic patients with different traditional Chinese medicine (TCM) syndromes. Methods The femoral fasting blood samples were consecutively collected from 26 non-septic control patients and 68 septic patients. By TCM syndrome differentiation of Wei Qi Ying and Xue (卫气营血), the hospitalized septic patients were divided into Qi-fen group (气分证, 23 cases), Ying-fen group (营分证, 28 cases) and Xue-fen group (血分证, 17 cases). Serum vWf:Ag, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), IL-2, IL-4 and white blood cell count (WBC) were measured by radioimmunoassay. Results The levels of TNF- α and IL-6 in the septic group were significantly higher than those in the control group (all $P < 0.05$). The vWf:Ag level in Xue-fen group was obviously higher than that in Ying-fen group $[(178.6 \pm 51.8) \%$ vs. $(129.1 \pm 28.7) \%, P < 0.05]$. IL-4 and WBC in Ying-fen group were significantly higher than those in Qi-fen group, and WBC in Xue-fen group was obviously higher than that in Ying-fen group (all $P < 0.05$). The TNF- α , IL-6 and IL-2 levels in septic patients with different TCM syndromes had no statistical difference. Conclusion Along with the changes of TCM syndrome, the serum vWf level is also altered in septic patients; dynamic observation of serum vWf level may be a related reference criterion for TCM syndrome differentiation of sepsis.

【Key words】 sepsis; von Willebrand factor; syndrome differentiation and treatment

脓毒症是失控的全身炎症反应,属中医“温病”范畴,气血津液随病程发展变化受到不同程度损伤。血管内皮细胞作为炎症反应中的靶细胞和效应细胞,通过其屏障和分泌功能影响脓毒症的发生发展。但现有的脓毒症分类方法过于粗放,难以准确反映脓毒症各期内皮细胞功能的动态变化。血管性血友病因子抗原(vWf:Ag)主要存在于血管内皮细胞,

当细胞受损时可释放入血引起升高。为研究不同阶段内皮功能的变化及其在脓毒症整个病程中所起的作用,本研究中检测并分析 68 例不同证型脓毒症患者的 vWf:Ag 和相关炎症因子,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料:选择本科 2006—2008 年住院患者 94 例,其中男 71 例,女 23 例;年龄 77~90 岁,平均 77.73 岁;入院诊断:脑血管意外 45 例,慢性阻塞性肺疾病 41 例,肺炎 24 例,胰腺炎 15 例,腹膜炎 15 例,创伤术后 9 例,其他 5 例。94 例患者中有 68 例

基金项目:浙江省中医名科重症感染专科建设项目(22);浙江省中医药科技计划项目(2006C022,2007YB034,2009ZA011)

作者简介:许雅萍(1951-),女(汉族),浙江省人,主任医师。

是因各种病因引发的脓毒症患者,经中医辨证,其中气分证组 23 例,营分证组 28 例,血分证组 17 例;以 26 例非脓毒症患者作为对照组。脓毒症诊断采用 1991 年美国胸科医师协会/危重病医学会(ACCP/SCCM)的标准。排除有血液系统疾病、恶性肿瘤者。各组患者性别、年龄比较差异无统计学意义,有可比性(表 1)。

1.2 脓毒症中医辨证分型方法:中医卫气营血辨证分为卫分证、气分证、营分证、血分证 4 个证型:①卫分证:发热不恶寒,微恶风,舌边尖红,脉浮数。②气分证:发热不恶寒,反恶热,舌红苔黄,脉数有力。③营分证:身热夜甚,心烦神昏,舌红绛,脉细数。④血分证:身热夜甚,昏谵,斑疹紫黑或抽搐、吐血、衄血、便血、尿血等,舌质深绛,脉细数。

1.3 标本采集和检测方法:抽取患者空腹股静脉血 4 ml,离心 20 min 取血清, -30 ℃ 保存待测。vWf 采用酶联免疫吸附双抗体夹心法测定(试剂盒由上海太阳生物技术有限公司提供);肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-6(IL-6)、IL-2、IL-4 测定采用放射免疫法(试剂盒由美国 Peprotech 公司提供),均严格按说明书操作。

1.4 统计学处理:用 SPSS 13.0 软件包进行处理分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析(One-way ANOVA),计数资料采用非参数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

表 2 结果显示,不同证型脓毒症组患者血中 TNF-α、IL-6 均明显高于对照组 (P 均 < 0.05);营分证组及血分证组 IL-4、白细胞计数(WBC)均明显

高于对照组,且以营分证组最为显著 (P 均 < 0.05);血分证组 vWF:Ag 升高程度较营分证组明显 ($P < 0.05$)。而各组间 IL-2 水平比较差异无统计学意义。

3 讨论

卫气营血辨证是由清代叶天士所倡导、用于外感温热病的一种辨证纲领。卫气营血本是中医生理学的名称,将其引申于温病学,既是对温热病 4 类证候的概括,又代表温热病在发展过程中由浅入深、由轻到重的 4 个阶段。本研究的目的是通过对脓毒症不同中医证型的病理生理参数检测,找到可以划分各阶段具有特异性的阳性指标,从而了解脓毒症患者病情转归和预后的个体化特点。

3.1 vWf 与血分证:《温热论》认为:“入血就恐耗血动血,直须凉血散血,如生地、丹皮、阿胶、赤芍等物。”叶天士以互文的修辞格指出血分证的病机和治法,即“耗血动血”与“凉血散血”,凉血散血对应病机为血热血瘀、耗血动血,对应治法为养血宁血,并且病机因血热而来,归于耗血动血。

脓毒症本质上是失控的全身炎症反应,而血管内皮细胞在脓毒症炎症发生发展中起到重要的作用。内皮细胞不仅仅是炎症反应中被动的靶细胞,也是一种效应细胞,通过其屏障和分泌功能,影响脓毒症的发生发展。从脓毒症到多器官功能障碍综合征(MODS)的演变中,人们认为内皮细胞可能经历了活化—损伤的过程。炎症早期,内皮细胞通过表达黏附分子、增加通透性,协助机体的炎症反应,如果炎症反应持续存在,血管活性物质不断释放,激肽系统激活,可导致内皮细胞严重损伤,器官稳态被打破,最终导致器官功能衰竭。

表 1 4 组患者一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	性别		年龄 (岁)	最高体温 (℃)	最快心率 (次/min)	最快呼吸频率 (次/min)	APACHE I 评分 (分)
		男	女					
对照组	26	20	6	67.2 ± 9.4	36.9 ± 2.4	74.2 ± 11.9	17.3 ± 2.8	11.4 ± 1.7
气分证组	23	18	5	71.8 ± 5.4	38.5 ± 3.2	107.3 ± 16.6	26.5 ± 4.1	18.7 ± 3.1
营分证组	28	20	8	68.1 ± 11.7	37.9 ± 2.9	110.2 ± 12.7	29.3 ± 3.2	21.4 ± 1.9
血分证组	17	13	4	68.4 ± 6.2	38.7 ± 1.5	97.4 ± 13.4	26.3 ± 2.7	22.4 ± 2.7
P 值		0.075		0.037	0.009	<0.001	<0.001	<0.001

注:APACHE I 为急性生理学及慢性健康状况评分系统 I

表 2 4 组患者血中炎症因子、vWF:Ag 及 WBC 的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	TNF-α(μg/L)	IL-6(ng/L)	IL-4(ng/L)	IL-2(ng/L)	vWF:Ag(%)	WBC($\times 10^9/L$)
对照组	26	58.3 ± 10.6	35.3 ± 11.8	39.7 ± 13.7	75.0 ± 45.5	125.7 ± 15.7	5.0 ± 6.1
气分证组	23	82.0 ± 20.6 ^a	66.1 ± 36.7 ^a	45.9 ± 15.5	94.7 ± 57.3	134.4 ± 19.6	13.0 ± 4.6
营分证组	28	73.9 ± 26.1 ^a	79.0 ± 39.4 ^a	58.8 ± 22.0 ^{ab}	89.9 ± 51.2	129.1 ± 28.7	16.8 ± 6.0 ^{ab}
血分证组	17	87.0 ± 22.5 ^a	70.7 ± 22.9 ^a	52.6 ± 20.0 ^a	98.3 ± 74.4	178.6 ± 51.8 ^{ac}	12.4 ± 4.6 ^{ac}

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与气分证组比较,^b $P < 0.05$;与营分证组比较,^c $P < 0.05$

目前大多数研究缺少对脓毒症患者内皮细胞功能的动态整体观察,原因在于目前西医对脓毒症的分类型方法过于粗放^[1],难以准确反映脓毒症各时期内皮细胞功能的动态变化。现有的研究多集中于内皮细胞某一功能,从而对内皮细胞功能改变与疾病演变及严重程度关系难以作出客观评价,因此,对内皮细胞整体功能的研究尚需深入探讨。

vWf 存在于血管内皮细胞中,当血管内皮细胞受损时其可释放入血,致使血中 vWf:Ag 升高,故测定血中 vWf:Ag 可反映 vWf 的变化,并以此作为血管内皮受损的标志物^[2]。Mutunga 等^[3]研究证实,感染性休克导致的 MODS 实质上主要由于病原或其毒素启动机体的炎症反应,并最终作用于各器官的血管内皮细胞,使血管内皮细胞受损,导致该器官的实质细胞缺血、坏死,最终发生器官衰竭。单小鹏等^[4]研究显示,与休克存活组比较,儿童感染性休克死亡组血浆 vWf:Ag 显著升高,说明病情越严重的患儿血浆 vWf:Ag 越高,因此,升高的 vWf:Ag 能反映脓毒症患者的内皮受损程度及其危重度,预示着脓毒症患者的预后。王本美等^[5]研究显示,在多种属于中医血瘀证疾病的发展过程中均伴有内皮功能的变化,vWf 含量的显著升高进一步证实了内皮细胞损伤可能为血瘀证的病理基础,中医药可能通过改变内皮的某些功能来达到治疗目的。本组资料显示,血分证组脓毒症患者的 vWf:Ag 水平明显高于对照组,用中西医理论和实验结果相互印证,表明了 vWf:Ag 水平可以作为实验指标用于脓毒症血分证阶段的辨证依据。

3.2 炎症因子与脓毒症:本组资料中各证型患者的 TNF- α 、IL-6 水平均明显高于对照组;脓毒症各证型间,营分证组 IL-4、WBC 均高于气分证组,血分证组 WBC 高于营分证组,而脓毒症各证型间的 TNF- α 、IL-6、IL-2 比较差异无统计学意义。有研究表明,脓毒症患者存在着明显的血管内皮细胞功能障碍,致使体内抗炎/促炎失衡,促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 明显升高,而抗炎因子 IL-4、IL-10 则无明显变化,内皮细胞凋亡率增加,从而严重影响了患者的预后^[6]。TNF- α 是最重要的前炎症细胞因子,为炎症反应启动物质,具有广泛生物学效应,其致病机制是能作用于多种细胞,作为诱导细胞反应中的最初物质,在细胞和亚细胞水平上激发一系列级联反应或“瀑布效应”,诱导 IL-6 等多种炎症因子作用于内皮细胞,增加毛细血管通透性,并造成局部缺血和血栓形成;通过激活炎性细胞,上调黏附分子、一氧化氮(NO)

和氧自由基等损害组织,引起脓毒症,导致 MODS。IL-6 是急性相蛋白反应的主要诱导者,能催化和放大炎症反应和毒性作用,造成组织细胞损害,虽然无疾病的特异性,但能直接反映各种类型损害的严重程度。

Kayal 等^[7]报道的一组研究资料显示,严重感染、感染性休克或死亡患者的 vWf:Ag 显著高于正常对照组,同时,与中性粒细胞活化标志物不同,内皮源性可溶性黏附分子和 vWf:Ag 水平与脓毒症严重程度相关,可考虑将其作为预后指标。活化的中性粒细胞启动了炎症蛋白表达和产生,引起 IL-6、TNF- α 明显升高^[8-9],与本实验的结论相符。

综上所述,我们观察了 68 例脓毒症患者血 vWf 水平显示,血分证组 vWf 水平明显高于营分证组,而各脓毒症组间炎症指标尚无明显变化,说明其无特异性;提示 vWf 水平变化与中医辨证病情危重程度有关,对危重病监测具有预警意义。因此,动态监测血清 vWf 变化,不仅能观察病情发展过程,而且对预后判断有一定参考价值。重视内皮功能的监测,早期发现内皮功能障碍,积极改善内皮功能,对防止危重症进一步发展有重要意义。

参考文献

- [1] 姚咏明,盛志勇,林洪远,等.脓毒症定义及诊断的新认识[J].中国危重病急救医学,2004,16(6):321-324.
- [2] Lip GY,Blann A. von Willebrand factor: a marker of endothelial dysfunction in vascular disorders [J]. Cardiovasc Res, 1997,34(2):255-265.
- [3] Mutunga M,Fulton B,Bullock R, et al. Circulating endothelial cells in patients with septic shock [J]. Am J Respir Crit Care Med,2001,163(1):195-200.
- [4] 单小鹏,陈小芳,何时军,等.血浆 vW 因子抗原检测在儿童感染性休克中的意义[J].中国小儿急救医学,2003,10(1):18-19.
- [5] 王本美,李健.解毒化瘀汤保护血管内皮细胞治疗多脏器功能障碍综合征的临床研究[J].中国中西医结合急救杂志,2002,9(4):202-205.
- [6] 古秀雯,刘伟,王恩强,等.脓毒症患者血管内皮功能的细胞标记物检测[J].中国危重病急救医学,2009,21(1):32-35.
- [7] Kayal S, Jais JP, Aquini N, et al. Elevated circulating E-selectin, intercellular adhesion molecule 1, and von Willebrand factor in patients with severe infection [J]. Am J Respir Crit Care Med, 1998,157(3 Pt 1):776-784.
- [8] 方步武,邱奇,吴威中,等.急腹症并发多器官功能障碍综合征细胞因子及炎症介质与肽类激素的变化[J].中国危重病急救医学,2003,15(1):19-22.
- [9] 王静,乔万海.多器官功能障碍综合征患者血管内皮损伤与炎性相关因子的研究[J].中国危重病急救医学,2006,18(2):82-84.

(收稿日期:2009-04-01 修回日期:2009-05-20)

(本文编辑:李银平)