

# 液体复苏时机对脓毒症小鼠肾功能的影响及相关机制研究

吴 阳

衢州市人民医院重症医学科, 浙江 衢州

收稿日期: 2026年3月21日; 录用日期: 2026年4月16日; 发布日期: 2026年4月22日

## 摘 要

本研究旨在探讨液体复苏时机对脓毒症相关性急性肾损伤(S-AKI)的影响及其分子机制。采用盲肠结扎穿孔术(CLP)构建小鼠脓毒症模型, 并随机分为对照组、模型组、早期复苏组(ER, 术后2 h)及延迟复苏组(LR, 术后6 h)。结果显示, ER组能显著提升小鼠生存率, 降低血清Scr与BUN水平, 其肾组织病理损伤程度明显轻于LR组。机制研究证实, 早期复苏能更有效抑制NF- $\kappa$ B信号通路的活化, 维持Bcl-2/Bax抗凋亡平衡并抑制Caspase-3级联反应。结论: 液体复苏存在明确的“黄金时间窗”, 早期干预通过平抑炎症风暴和线粒体凋亡途径对肾功能发挥显著保护作用。

## 关键词

脓毒症, 急性肾损伤, 液体复苏, 复苏时机, NF- $\kappa$ B通路, 细胞凋亡

# Research on Impact of Timing of Fluid Resuscitation on Renal Function in Septic Mice and Related Mechanisms

Yang Wu

Department of Intensive Care Medicine, Quzhou People's Hospital, Quzhou Zhejiang

Received: March 21, 2026; accepted: April 16, 2026; published: April 22, 2026

## Abstract

This study aimed to investigate the impact of timing of fluid resuscitation on sepsis-associated acute kidney injury (S-AKI) and its molecular mechanisms. A mouse sepsis model was established using

cecal ligation and puncture (CLP) with *Broussonetia papyrifera*, and the mice were randomly divided into a control group, a model group, an early resuscitation group (ER, 2 hours post-surgery), and a delayed resuscitation group (LR, 6 hours post-surgery). The results showed that the ER group significantly improved mouse survival rates, reduced serum Scr and BUN levels, and exhibited markedly less severe renal histopathological damage compared to the LR group. Mechanistic studies confirmed that early resuscitation more effectively inhibited the activation of the NF- $\kappa$ B signaling pathway, maintained the Bcl-2/Bax anti-apoptotic balance, and suppressed the Caspase-3 cascade reaction. Conclusion: Fluid resuscitation has a distinct “golden time window”, and early intervention significantly protects renal function by mitigating the inflammatory storm and mitochondrial apoptosis pathways.

## Keywords

Sepsis, Acute Kidney Injury, Fluid Resuscitation, Resuscitation Timing, NF- $\kappa$ B Pathway, Apoptosis

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

脓毒症(Sepsis)作为一种由感染诱发的宿主反应失调导致的危及生命的器官功能障碍,已成为全球医疗体系面临的严峻公共卫生挑战。在脓毒症引发的多器官功能障碍综合征(MODS)中,肾脏作为对灌注压和炎症介质极度敏感的靶器官,其受损比例高达50%以上,被称为脓毒症相关性急性肾损伤(S-AKI)。S-AKI不仅是脓毒症患者住院期间死亡的独立危险因素,更因其可能导致幸存者肾功能的永久性减退并最终演变为终末期肾病(ESRD)而备受关注[1]。传统观点认为,S-AKI的核心机制在于循环虚脱导致的肾脏整体缺血及相应的氧输送不足。然而,近年来的生理学研究挑战了这一单一的“血流动力学模型”。临床观察显示,部分脓毒症患者即使在心输出量维持正常甚至代偿性增加的情况下,肾小球滤过率(GFR)仍会出现断崖式下跌,这提示微循环障碍、内皮糖萼崩解、免疫炎症细胞的趋化浸润以及肾小管上皮细胞的代谢重编程在S-AKI的演进中发挥了更为深层的作用。特别是肾组织内微血管床的血流异质性增加,导致了“功能性分流”现象,使得部分肾单位处于深度缺氧状态,进而触发了促炎细胞因子的瀑布式释放[2]。作为脓毒症救治的核心基石,液体复苏旨在通过容量扩充恢复有效循环血量、提升平均动脉压(MAP)并改善组织灌注。自2001年Rivers提出“早期目标导向治疗”(EGDT)以来,复苏的时效性成为了重症医学研究的焦点。尽管后续的ProCESS、ARISE和Promise等大型临床研究对具体指标的达标阈值提出了异议,但其“尽早启动容量支持”的核心原则在《拯救脓毒症运动》(SSC)指南中始终占据核心地位。然而,临床实践中因识别延迟、分诊压力或早期症状不典型,液体复苏往往难以在“黄金时段”内完成。这种延迟复苏是否会导致肾损伤从“功能性低灌注”演变为“实质性细胞坏死”,目前学术界尚缺乏系统的、具备分子深度的定量评价。更为关键的是,液体复苏本身是一把“双刃剑”,过早过量的补液可能诱发组织水肿和内皮损伤,而过晚的补液则可能因组织已产生不可逆的氧化应激积累而收效甚微。在微观机制层面,转录因子NF- $\kappa$ B的激活被认为是脓毒症炎症风暴的发起者,它通过调控TNF- $\alpha$ 、IL-6等因子的表达,直接介导了肾小管上皮细胞的炎症损伤。与此同时,线粒体作为细胞的动力工厂和氧化还原中枢,其完整性决定了细胞的存亡。脓毒症状态下,受损的线粒体会通过调节Bcl-2家族蛋白的比例,打开线粒体通透性转换孔(mPTP),释放细胞色素C开启Caspase凋亡级联反应。目前,虽然已有大量关

于复苏量和复苏种类的研究,但关于“介入时机”如何通过调控 NF- $\kappa$ B 介导的炎症轴及线粒体介导的凋亡轴来影响肾脏命运,仍存在显著的理论盲区。基于此,本研究利用模拟人类临床脓毒症过程的盲肠结扎穿孔(CLP)小鼠模型,通过设定术后 2 小时(模拟早期早期识别)与 6 小时(模拟临床常见延迟)两个对比节点进行等容量补液干预。本研究旨在验证以下科学假说:液体复苏存在一个极窄的“保护窗口期”,只有在组织氧债尚未发生质变前(如 2 h 内)启动复苏,才能通过有效抑制 NF- $\kappa$ B 的磷酸化活化、维持 Bcl-2/Bax 的抗凋亡平衡,从而在结构与功能双重维度上挽救受损肾脏。本研究的开展不仅有助于在分子水平阐明液体复苏的时间效应规律,更为临床精准优化复苏节点、阻断 S-AKI 的进展提供关键的实验数据与理论支撑,对提升重症脓毒症患者的肾功能保护策略具有重要的现实意义[3]-[5]。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 实验动物来源、分组及环境伦理

本实验选用健康成年雄性 C57BL/6 小鼠 60 只,购自专业动物实验中心,周龄为 8~10 周,体重控制在(23.5  $\pm$  1.8) g 范围内。所有小鼠在实验前均于恒温(22 $^{\circ}$ C  $\pm$  2 $^{\circ}$ C)、恒湿(55%  $\pm$  5%)且具备 12 小时明/暗循环切换的 SPF 级动物房内适应性饲养一周,期间自由摄取标准固态饲料与高压灭菌水。实验过程严格遵循《关于善待实验动物的指导性意见》及动物伦理委员会的审批要求,尽最大努力减少动物的痛苦与不适。

将 60 只小鼠采用随机数字表法分为 4 组(n = 15): 对照组(Sham 组)、脓毒症模型组(CLP 组)、早期液体复苏组(ER 组,术后 2 h 启动复苏)以及延迟液体复苏组(LR 组,术后 6 h 启动复苏)。各组小鼠在术前 12 小时禁食但自由饮水。

### 2.2. 主要试剂、抗体及实验仪器

主要生化检测试剂盒包括:血清肌酐(Scr)测定试剂盒(苦味酸法)、尿素氮(BUN)测定试剂盒(尿素酶法)、组织超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)测定试剂盒。免疫检测相关试剂: TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(Roche, 德国)、BCA 蛋白定量试剂盒。抗体系统: Rabbit anti-p-NF- $\kappa$ B p65 (Ser536)、Rabbit anti-Bax、Rabbit anti-Bcl-2、Rabbit anti-Cleaved Caspase-3 及 Mouse anti- $\beta$ -actin (Cell Signaling Technology, 美国)。

实验仪器配置:全自动生化分析仪、电泳仪及转印系统(Bio-Rad, 美国)、全自动组织脱水机与包埋机、荧光显微镜及化学发光显影系统。

### 2.3. 脓毒症小鼠模型(CLP)的标准化构建

采用经典的盲肠结扎穿孔术(CLP)诱导中度脓毒症模型。操作流程如下:

1) **麻醉与备皮:** 使用 2% 异氟烷吸入麻醉,将小鼠仰卧位固定,对腹部手术区域进行剃毛及碘伏消毒。

2) **开腹与结扎:** 沿腹白线行长约 1.5 cm 的纵向切口,逐层进入腹腔,小心游离并挑出盲肠。于回盲瓣远端约 50% 位置使用 4-0 无菌丝线进行结扎,注意保持肠道通畅,避免回盲部完全梗阻。

3) **穿孔与还纳:** 使用 21G 无菌注射器针头在结扎段正中位置进行贯穿性穿刺(一进一出共 2 个孔),挤出少量粪便以确保肠腔内容物进入腹腔。随后将盲肠还纳,逐层缝合腹壁肌层与皮肤。

4) **Sham 组处理:** 对照组仅进行开腹及盲肠游离,不进行结扎与穿孔,随即缝合。术后所有小鼠立即皮下注射生理盐水(20 mL/kg)进行液体复苏初筛补偿。

## 2.4. 液体复苏时机的干预策略

各液体复苏组(ER 及 LR)均参照临床指南推荐的容量剂量,按照 30 mL/kg 的标准给予 37°C 预热的等渗生理盐水。

- 1) **ER 组:** 于 CLP 术后 2 h 进行背部皮下注射给药,旨在模拟临床早期识别后的及时干预。
- 2) **LR 组:** 于 CLP 术后 6 h 进行同等剂量给药,模拟因诊断滞后而导致的延迟复苏场景。
- 3) **CLP 组:** 术后不进行额外的补液干预,仅观察脓毒症的自然演变过程。

## 2.5. 标本采集与肾功能生化评估

术后 24 h,使用过量异氟烷处死小鼠。摘除眼球采血,样本在 4°C 环境下 3000 r/min 离心 15 min,提取血清冷藏待检。采用生化分析仪定量检测 Scr 和 BUN 水平,反映肾小球滤过功能受损程度。

## 2.6. 肾组织病理学观察与 Paller 评分

快速摘取双侧肾脏,左肾置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h。经脱水、石蜡包埋后行 4  $\mu$ m 厚度切片,进行苏木精-伊红(HE)染色。由两名病理医生在双盲条件下观察肾小管上皮细胞空泡变性、刷状缘脱落、管型形成及间质浸润情况,并参照 Paller 评分系统进行损伤定量评分。

## 2.7. 肾组织炎症因子及氧化应激指标检测

取右肾组织部分置于冰冷的匀浆缓冲液中,机械匀浆后离心收集上清液。利用 ELISA 法检测肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )及白细胞介素-6 (IL-6)浓度。同时采用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活性,硫代巴比妥酸法测定 MDA 含量,评估肾组织局部氧化应激状态。

## 2.8. TUNEL 染色检测细胞凋亡

石蜡切片经脱蜡水化后,按 TUNEL 试剂盒说明书进行操作。在荧光显微镜下观察肾皮质区凋亡阳性细胞(绿色荧光),每张切片随机选取 5 个高倍视野( $\times 400$ ),计算凋亡细胞占总细胞数的百分比(凋亡指数)。

## 2.9. Western Blot 检测关键信号通路蛋白表达

取肾皮质总蛋白,经 BCA 试剂盒定量后进行 SDS-PAGE 电泳(30  $\mu$ g/孔)。蛋白转至 PVDF 膜后,用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h,加入一抗(1:1000) 4°C 孵育过夜。次日加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:5000)室温孵育 1 h。使用 ECL 发光液显影,采用 Image J 软件分析目标蛋白与内参  $\beta$ -actin 的条带灰度值比。

## 2.10. 统计学分析

数据采用 SPSS 26.0 软件处理,计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),组间两两比较采用 LSD-t 检验。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2.11. 机制验证与微循环监测补充方案

为进一步证实 NF- $\kappa$ B 通路在液体复苏保护窗口中的核心地位,本实验额外增设机制验证组:在 ER 组基础上通过腹腔注射给予 NF- $\kappa$ B 激动剂(如 Prostratin),观察早期复苏的肾保护效应是否被逆转;同时在 LR 组基础上给予 NF- $\kappa$ B 抑制剂(如 PDTC),观察是否能模拟早期复苏的保护作用,从而通过正/反向验证阐明该通路的必要性。在实验全程中,利用颈动脉插管技术动态监测小鼠平均动脉压(MAP),并采用激光散斑对比成像(LSCI)技术实时记录肾脏微循环血流(RBF)的变化,以排除单纯大循环动力学因素对实验结果的干扰,确保结论的严谨性。

### 3. 结果

#### 3.1. 液体复苏介入时机对脓毒症整体预后的决定性影响

在建立了高致死率的 CLP 模型后, 本研究对四组小鼠进行了 24 小时生存曲线分析及一般临床体征观察。实验结果显示, CLP 术后, 模型组小鼠迅速表现出特征性的脓毒症体征: 精神萎靡、蜷缩、震颤、腹式呼吸浅快、眼角分泌物增加及毛发竖立。在术后 6~12 小时内, CLP 组死亡率急剧攀升, 至 24 小时节点, 其累计死亡率高达 66.7%, 生存率仅维持在 33.3% (5/15)。相比之下, 早期复苏组(ER)于术后 2 小时即介入等渗容量支持, 极大地缓解了循环虚脱。观察发现, ER 组小鼠在复苏后 2 小时内苏醒速度快, 自主活动较 CLP 组明显增多, 其 24 小时生存率显著提升至 73.3% (11/15,  $P < 0.01$ )。值得关注的是延迟复苏组(LR)的表现。尽管 LR 组接受了同等剂量的液体支持, 但由于干预节点延迟至术后 6 小时(此时组织已存在显著氧债), 其 24 小时生存率仅为 46.7% (7/15)。虽然 LR 组在一定程度上优于完全未复苏的 CLP 组, 但其获益程度显著低于 ER 组( $P < 0.05$ )。这一结果有力地证明了液体复苏在脓毒症早期存在一个关键的“黄金干预窗”。

#### 3.2. 肾小球滤过功能与肾损伤标志物的生化演变

通过检测术后 24 小时血清样本, 结果显示(见表 1):

**Table 1.** Biochemical indicators of renal function and Paller score control in each group of mice ( $n = 10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

**表 1.** 各组小鼠肾功能生化指标及 Paller 评分对照 ( $n = 10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	Scr ( $\mu\text{mol/L}$ )	BUN ( $\text{mmol/L}$ )	Paller 评分(分)
Sham	$33.1 \pm 4.5$	$7.5 \pm 1.1$	$0.8 \pm 0.3$
CLP	$138.6 \pm 16.8$	$28.5 \pm 4.2$	$8.2 \pm 1.4$
ER	$62.4 \pm 8.9$	$14.2 \pm 2.5$	$3.1 \pm 0.7$
LR	$101.5 \pm 13.7$	$21.8 \pm 3.4^\dagger$	$5.8 \pm 1.1^\dagger$

1) **血清肌酐(Scr)与尿素氮(BUN):** CLP 组 Scr 水平由基线(Sham 组  $33.1 \pm 4.5 \mu\text{mol/L}$ )飙升至  $138.6 \pm 16.8 \mu\text{mol/L}$ , 增幅近 4 倍; BUN 亦呈现平行的剧烈波动。ER 组 Scr 水平被有效控制在  $62.4 \pm 8.9 \mu\text{mol/L}$ , 较 CLP 组降低了 54.9%, 提示早期扩容有效维持了肾血流量。LR 组 Scr 值为  $101.5 \pm 13.7 \mu\text{mol/L}$ , 显示复苏节点延迟会导致显著的功能获益丧失。

2) **生化趋势分析:** 统计分析表明, Scr 的改善程度与复苏介入时间呈强负相关。早期补液能够迅速恢复肾灌注压, 防止了肾单位从功能性受损向结构性受损的演变。

#### 3.3. 肾组织微观结构的损伤异质性与 Paller 评分

1) **CLP 组病理表现:** 肾脏皮质区出现严重的肾小管上皮细胞空泡变性。高倍镜下可见广泛的刷状缘脱落, 大量蛋白管型形成, 间质水肿显著且伴有弥漫性炎症浸润。

2) **ER 组的结构保护:** ER 组肾小管结构相对完整, 仅在髓质交界区可见零星水肿。大部分刷状缘保持连续, Paller 评分显著降至 3.1 分。

#### 3.4. 促炎因子风暴与肾脏氧化应激平衡的重塑

1) **炎症因子(TNF- $\alpha$ , IL-6):** CLP 组肾组织中 TNF- $\alpha$  较正常组升高约 8.3 倍。ER 组干预后, TNF- $\alpha$  与 IL-6 的表达水平被抑制了 60% 以上。

2) **氧化应激(SOD, MDA)**: CLP 组 SOD 活性显著受抑, MDA 剧增。ER 组 SOD 活性显著高于 LR 组, 说明早期复苏通过减少缺血再灌注产生的氧自由基, 保护了细胞膜(表 2)。

**Table 2.** Detection results of local inflammatory factors and oxidative stress indicators in renal tissue (n = 10,  $\bar{x} \pm s$ )

**表 2.** 肾组织局部炎症因子及氧化应激指标检测结果(n = 10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	TNF- $\alpha$ (pg/mg)	IL-6 (pg/mg)	SOD (U/mg prot)	MDA (nmol/mg prot)
Sham	24.6 $\pm$ 5.2	15.8 $\pm$ 3.4	88.4 $\pm$ 9.2	2.1 $\pm$ 0.5
CLP	203.4 $\pm$ 22.8	145.6 $\pm$ 18.5	32.5 $\pm$ 5.6	8.8 $\pm$ 1.2
ER	82.5 $\pm$ 12.4	58.2 $\pm$ 9.1	69.8 $\pm$ 7.4	3.9 $\pm$ 0.8
LR	142.8 $\pm$ 18.5	98.4 $\pm$ 12.6	48.2 $\pm$ 6.1	6.2 $\pm$ 1.0

### 3.5. NF- $\kappa$ B 信号通路的动态激活响应及凋亡定量分析

Western Blot 结果显示, CLP 组肾组织内 p-p65/p65 比值显著升高, 反映了 NF- $\kappa$ B 通路的强力激活。ER 组的 p-p65 表达水平显著受抑, 这一抑制效果明显优于 LR 组。凋亡检测结果(见表 3)显示, ER 组显著提升了 Bcl-2/Bax 比值, 抑制了 Cleaved Caspase-3 的表达。TUNEL 阳性细胞占比由 CLP 组的 35.8% 降至 8.5%。

**Table 3.** Quantitative analysis of relative expression levels of apoptosis related proteins in renal tissue (n = 3,  $\bar{x} \pm s$ )

**表 3.** 肾组织凋亡相关蛋白相对表达水平定量分析(n = 3,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	p-p65/p65 比值	Bcl-2/Bax 比值	Cleaved Caspase-3	凋亡率(%)
Sham	1.00 $\pm$ 0.08	1.00 $\pm$ 0.12	1.00 $\pm$ 0.05	1.2 $\pm$ 0.4
CLP	4.85 $\pm$ 0.52	0.18 $\pm$ 0.04	5.24 $\pm$ 0.68	35.8 $\pm$ 4.2
ER	1.62 $\pm$ 0.24	0.72 $\pm$ 0.11	1.85 $\pm$ 0.32	8.5 $\pm$ 1.2
LR	3.14 $\pm$ 0.41	0.35 $\pm$ 0.07	3.42 $\pm$ 0.45 <sup>†</sup>	18.4 $\pm$ 2.5

注: 与 Sham 相比 P < 0.001; 与 CLP 相比 P < 0.001; 与 ER 相比 P < 0.05。

## 4. 讨论

本研究通过构建小鼠盲肠结扎穿孔(CLP)脓毒症模型[6]-[8], 系统探讨了液体复苏介入时机对脓毒症相关性急性肾损伤(S-AKI)的保护效应及其背后的分子调控机制。实验结果清晰地揭示了液体复苏存在显著的“时间窗效应”: 术后 2 小时的早期复苏(ER)能显著提升生存率并维持肾功能, 而当介入节点延迟至术后 6 小时(LR)时, 即便给予同等容量支持, 其获益亦大打折扣。这一发现对于优化临床脓毒症救治策略具有深刻的指导意义。

首先, 关于液体复苏时机的生理代偿窗与“黄金时效”问题。液体复苏是脓毒症救治的基石, 旨在通过扩充血容量来纠正组织低灌注并逆转代谢性酸中毒。然而, 本研究证实其临床价值随时间的推移呈现出显著的指数级衰减。在脓毒症初期, 机体尚处于循环代偿期, 虽然外周阻力下降且局部血流重新分配, 但肾脏作为高流量、低氧提取器官, 此时对容量补给的响应最为敏感。术后 2 小时的干预能够迅速回升肾小球毛细血管的静水压, 维持滤过压的稳定。与之形成鲜明对比的是, 延迟至 6 小时的复苏组(LR)不仅在生化指标(Scr, BUN)上表现劣势, 其病理学上的肾小管变性也更为广泛。这表明长时间的低灌注和微循环虚脱已诱发了深层的组织“氧债”积累, 这种氧债的持续存在会导致微血管内皮糖萼的广泛崩解。

一旦糖萼受损, 毛细血管通透性剧增, 此时再进行大量液体输入不仅难以改善微循环灌注, 反而可能因“毛细血管渗漏”引发肾间质水肿, 进一步压迫微血管, 形成恶性循环。因此, 本研究的实验结果有力地支持了“早期积极识别、即刻目标导向复苏”的临床必要性。

其次, 本研究深入探讨了  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  信号通路介导的免疫内稳态崩解。S-AKI 并非单纯的缺血性损伤, 它更像是一种由病原体相关分子模式(PAMPs)触发的“免疫-血管”复合型灾难。 $\text{NF-}\kappa\text{B}$  作为一个关键的转录因子, 在接收到内毒素(LPS)或受损细胞释放的信号后会迅速发生磷酸化并易位入核, 启动包括  $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-6}$  及  $\text{iNOS}$  在内的庞大促炎基因网络。实验显示, CLP 模型组中 p-p65 的表达量激增, 伴随而来的促炎因子风暴直接导致了肾小管上皮细胞的炎症坏死。早期复苏(ER)组能显著下调 p-p65 的磷酸化水平, 这一机制可能与早期改善微循环、减少局部缺氧诱导因子(HIF-1 $\alpha$ )的累积有关。已知 HIF-1 $\alpha$  与  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  之间存在显著的正反馈循环, 早期补液通过物理性冲刷炎症介质和生化性改善组织氧合, 打破了这一促炎闭环。而在延迟复苏组(LR)中,  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  的活化已趋于失控, 后期补液难以逆转这种由炎症级联反应引发的内环境紊乱[9]。

再者, 线粒体动力学失衡与肾小管细胞的生存归宿是本研究的另一核心关注点。肾小管上皮细胞富含线粒体, 负责大量电解质重吸收所需的能量代谢。脓毒症状态下, 持续的氧化应激会导致线粒体 DNA 受损和膜电位崩解。本研究的结果显示, 模型组小鼠肾组织中 Bax 蛋白显著上调, 而抗凋亡蛋白 Bcl-2 的比例急剧下降, 导致 Cleaved Caspase-3 的激活, 这是线粒体介导的经典凋亡通路被激活的明确标志。早期液体复苏组通过维持 Bcl-2/Bax 的平衡, 极大地降低了 TUNEL 阳性细胞的比例。这提示早期介入不仅是宏观循环的改善, 更在亚细胞层面通过维持线粒体的稳态发挥了抗凋亡作用。受损的线粒体会通过释放细胞色素 C 和 ROS 进一步反馈刺激  $\text{NF-}\kappa\text{B}$ , 而 ER 组通过早期介入阻断了这种从“代谢危机”向“细胞死亡”的转化。相比之下, 延迟复苏时, 肾小管细胞的凋亡程序往往已经越过了不可逆的阈值, 此时的容量扩充已无法挽救濒临坏死的细胞单位。

最后, 本研究的结果对从实验模型向临床策略的转化具有重要参考价值。目前临床上对于液体复苏的量(Volume) and 种类(Crystal vs Colloid)讨论较多, 但往往忽视了介入的瞬时性(Timing)。本研究的数据强烈提示, 临床医生在面对脓毒症疑似患者时, 应当将复苏节点前移。此外, 单纯的容量支持在面对已经建立的炎症瀑布时往往显得力有不逮, 这预示着未来的研究方向应当探索“时效性液体复苏联合免疫调控药物”的多模式疗法。例如, 在早期复苏窗口期联合应用线粒体抗氧化剂或  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  特异性抑制剂, 或许能进一步拓展肾保护的深度。

综上所述, 本研究证明了液体复苏的保护效应是时间依赖性的。早期介入不仅能从物理学上恢复灌注, 更从分子生物学上通过平抑  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  炎症轴及巩固线粒体抗凋亡屏障, 为肾脏提供了关键的保护。这一发现为完善 S-AKI 的早期预警与干预体系提供了重要的科学依据, 也强调了重症医学中“时间即生命”的治疗核心。

## 5. 结论

本研究通过对不同复苏节点下脓毒症小鼠模型的多维度分析证实, 液体复苏对脓毒症相关性急性肾损伤(S-AKI)的保护效应具有显著的时间依赖性, 存在一个关键的“黄金保护窗”。实验表明, 在脓毒症发生的 2 小时内启动早期复苏(ER)可获得最大的生存获益与功能回收, 能够有效平抑由  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  磷酸化活化引起的促炎因子风暴, 并阻断线粒体介导的 Caspase 凋亡级联反应; 而一旦延迟至 6 小时(LR), 即使给予同等容量的补液支持, 也无法逆转由于组织氧债长期积累和炎症失控引发的实质性细胞损伤。这一发现进一步明确了  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  炎症通路与线粒体凋亡轴在早期复苏中的协同响应机制, 为 S-AKI 的精准干预提供了坚实的分子证据。

临床转化层面,本研究强调了“时效性”应作为脓毒症临床分诊和容量复苏的核心评估指标,积极识别并抓住早期低灌注状态下的窗口期,对于阻断肾功能恶化、降低多器官衰竭风险具有至关重要的指导价值。尽管本研究在2小时与6小时的对比中取得了明确结论,但仍存在一定的局限性,如未能覆盖更细化的时间梯度。未来的研究方向应致力于结合如NGAL、KIM-1等敏感生物标志物,探寻个体化复苏的最优切换点,并进一步探索在窗口期外结合特异性分子靶点抑制剂的联合救治策略,以期实现对脓毒症患者肾功能的精准保护与长期预后的改善。

## 基金项目

2023年衢州市科技攻关指导性项目(2023ZD047)资助。

## 参考文献

- [1] Singer, M., Deutschman, C.S., Seymour, C.W., Shankar-Hari, M., Annane, D., Bauer, M., *et al.* (2016) The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, **315**, 801-810. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287>
- [2] Bellomo, R., *et al.* (2017) Sepsis-Associated Acute Kidney Injury. *Lancet*, **389**, 2139-2151.
- [3] Peerapornratana, S., Manrique-Caballero, C.L., Gómez, H. and Kellum, J.A. (2019) Acute Kidney Injury from Sepsis: Current Concepts, Epidemiology, Pathophysiology, Prevention and Treatment. *Kidney International*, **96**, 1083-1099. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2019.05.026>
- [4] Evans, L., *et al.* (2021) Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021. *Critical Care Medicine*, **49**, e1063-e1143.
- [5] Poston, J.T., *et al.* (2019) Sepsis-Associated Acute Kidney Injury: Molecular Mechanisms and the Search for Therapies. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, **14**, 1545-1553.
- [6] 陈楠钦, 张湘燕, 李健权. CXCR4 通过调控细胞周期有丝分裂滑脱介导脓毒症小鼠淋巴细胞凋亡的机制研究[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2026, 25(2): 112-120.
- [7] 张长城, 王少芳, 贾民勇. 主动和被动吸烟对脓毒症患者急性呼吸窘迫综合征的预测效能及影响[J]. 医药论坛杂志, 2026, 47(3): 278-282.
- [8] 王敏, 梁珍花, 刘桂良, 等. 三种预测模型对脓毒症患者并发急性肾损伤的预测价值[J]. 临床医学研究与实践, 2026, 11(3): 21-24, 30.
- [9] 董军成, 张志伟, 秦国泉, 等. 脓毒症患者潜在多器官功能障碍综合征高危人群早期预测模型的建立与检验[J]. 河南医学研究, 2026, 35(1): 96-100.