

血必净注射液对脓毒症大鼠器官功能及死亡率的影响*

武子霞,李银平,乔佑杰,姚咏明,于燕,吴瑶

摘要: [目的] 观察血必净注射液对脓毒症大鼠多器官功能及死亡率的影响。[方法] 采用大鼠盲肠结扎穿孔 (CLP) 模型。雄性 Wistar 大鼠 96 只按随机数字表法分为正常对照组 (n=8)、假手术组 (n=8)、模型对照组 (n=40)、血必净治疗组 (n=40) 后两组按观察时间点分为 2、8、24、48 和 72 h 亚组。另设实验观察血必净注射液对脓毒症大鼠的治疗效果, 观察 CLP 术后 7 d 存活率。[结果] 血必净治疗组血清丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr)、肌酸激酶 (CK) 及心肌型肌酸激酶同工酶 (CK-MB) 水平呈不同程度降低, 与模型未治疗组比较, 血必净治疗组及联合治疗组动物死亡率显著降低。[结论] 血必净注射液能够明显降低脓毒症大鼠的死亡率, 并对重要器官功能具有保护作用。

关键词: 血必净注射液, 脓毒症, 盲肠结扎穿孔, 器官功能, 死亡率

中图分类号 R285.5 文献标识码 A 文章编号: 1673-904X(2007)02-0068-03

Effects of xuebijing injection on organ function and mortality in rats with sepsis

WU Zi-xia¹, LI Yin-ping², QIAO Youg-jie³, et al

(1. Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China;

2. Tianjin Tianhe Hospital, Tianjin 300050, China)

Abstract: [Objective] To investigate the effects of Xuebijing (cleaning the blood) injection on the multiple organ function and mortality in rats with sepsis. [Methods] Sepsis was reproduced in rats with cecum ligation and puncture (CLP). Ninety-six male Wistar rats were randomly divided into normal control group (n=8), sham-operation group (n=8), CLP model group (n=40), Xuebijing-treated group (n=40). The two latter groups were further divided into five groups of 2, 8, 24, 48, and 72-hour subgroups with 8 rats in each. In addition, another experiments were performed to observe the effect of treatment of Xuebijing on the survival rate. [Results] Serum levels of ALT, AST, blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr), creatine kinase (CK) and MB isoenzyme of creatine kinase (CK-MB) were significantly increased with certain extent at different intervals. Early treatment with Xuebijing could markedly improved serum biochemical parameters partly. Treatment with Xuebijing or/and antibiotic could significantly improve the survival rates in septic rats. [Conclusion] These findings indicates that Xuebijing injection can obviously decline the mortality of septic rats, and has played an important role in protecting against the multiple organ dysfunction.

Key words: Xuebijing injection; sepsis; cecum ligation and puncture; organ function; mortality

严重创伤、感染及大手术等均可诱发和/或加重脓毒症^[1]。过去的数十年中, 脓毒症和继而发

生的多器官功能障碍综合征 (MODS) 成为危重症患者死亡的主要原因, 虽然近年来采取综合治疗手段, 但脓毒症及 MODS 的发生率和病死率仍居高不下^[2]。而中国临床工作者将中医学理论运用于脓毒症及 MODS 的治疗, 取得了一些令人瞩目的成绩。血必净注射液为我们中西医结合急救医学创始人王今达教授创制的, 其组方以菌毒并治、活血通络立法, 临床治疗脓毒症取得了良好的疗效。为了解其作用机制, 本研究采用盲肠结扎穿孔术 (CLP) 制

* 基金项目: 天津市卫生局中西医结合科研资助项目 (2005088)。

作者单位: 300193 天津中医药大学 (武子霞)

300050 天津市天和医院 (李银平, 乔佑杰)

100037 解放军总医院第一附属医院 (原解放军第三四医院) 全军烧伤研究所 (姚咏明, 于燕, 吴瑶)

作者简介: 武子霞 (1980-), 女, 医学硕士, 医师, 主要从事脓毒症的治疗工作。

备大鼠脓毒症模型,观察血必净注射液对脓毒症大鼠多器官功能损害和死亡率的影响。

1 材料与方法

1.1 动物模型制备 清洁级雄性 Wistar 大鼠, 体重 220~250 g, 购自中国医学科学院实验动物中心。按照 Chaudry 等^[3]报道的方法行 CLP, 复制严重腹腔感染脓毒症模型。术前称质量, 编号, 并禁食 12 h, 自由饮水。大鼠麻醉后固定, 消毒, 铺无菌巾。沿腹正中线切口, 暴露盲肠并于根部结扎, 用 16 号穿刺针贯通穿刺盲肠 3 次形成肠瘘, 并留置一条宽 2.0 mm 的橡皮片。将盲肠还纳腹腔, 逐层缝合切口, 术毕皮下注射 10 mL 生理盐水, 术后自由饮水。

1.2 动物分组及给药

1.2.1 实验 1 96 只大鼠随机分为正常对照组 (n=8)、假手术组 (n=8)、模型组 (n=40) 和血必净治疗组 (n=40), 血必净治疗组分别于 CLP 后 0.5、12、24、36、48 和 60 h 经静脉注射血必净注射液 (天津红日药业股份有限公司生产), 每次 4 mL/kg, 按照时间点再分为 CLP 后 2、8、24、48 和 72 h 组, 每组 8 只动物; 模型组同法分组并平行注射等量生理盐水。各组活杀, 检测血清器官功能指标的变化。

1.2.2 实验 2 将 120 只大鼠随机分为模型未治疗组 (n=30)、抗生素治疗组 (n=30)、血必净治疗组 (n=30) 和联合治疗组 (n=30), 各组动物给药时间同上。给药方式: 血必净治疗组经静脉注射血必净注射液, 抗生素治疗组分别经肌肉注射氨苄青霉素 150 mg/kg、庆大霉素 8 mg/kg、甲硝唑 25 mg/kg, 联合治疗组分别肌肉注射氨苄青霉素 150 mg/kg、庆大霉素 8 mg/kg、甲硝唑 25 mg/kg, 静脉注射血必净注射液 4 mL/kg。

模型组同法注射等量生理盐水作为对照。观察记录 7 d 死亡率。

1.3 血标本的采集与处理 腹主动脉无菌采血, 离心 (2 000 r/min, 4 °C, 7 min) 后于 -80 °C 保存。

1.4 生化指标检测 血清丙氨酸转氨酶 (ALT)、天门冬氨酸转氨酶 (AST)、尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr)、肌酸激酶 (CK) 及肌酸激酶同工酶 (CK-MB) 水平用 7170 自动生化分析仪测定。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 12.0 统计软件包, 结果以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 计量资料进行 t 检验和方差分析, 计数资料进行 χ^2 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血必净对脓毒症大鼠肝、肾功能及心肌酶变化的影响 CLP 术后, 大鼠血清 ALT、Cr 于 2 h 开始升高 (P < 0.01), 8 h 回落, 至 24 h 再次升高。血清 AST、BUN 于伤后 2~48 h 不同程度升高, 与正常组相比有显著差异。伤后 2 h CK、CK-MB 急剧升高 (P < 0.01), 于 8 h 迅速下降, 但仍高于伤前水平, 血清 CK 于 24 h 恢复至正常水平, 而 CK-MB 持续至 48 h, 与伤前相比仍有显著性差异。血必净治疗组动物肝、肾功能及心肌酶水平明显降低。其中 AST 于术后 48 h 降低至正常水平, ALT 与正常组相比均无显著性差异, 其余各项指标于术后 8 h 恢复至伤前水平, 见表 1。

2.2 血必净对脓毒症大鼠生存率的影响 与模型未治疗组相比, 各治疗组动物术后 7 d 死亡率显著降低, 其中联合治疗组大鼠术后 7 d 生存率明显高于其余各组, 血必净治疗组动物术后 7 d 总死亡率与抗生素治疗组无明显差异, 见表 2。

表 1 血必净注射液治疗脓毒症大鼠器官功能指标的影响

组别	ALT(U/L)	AST(U/L)	BUN(mmol/L)	Cr(μ mol/L)	CK(U/L)	CK-MB(U/L)
正常对照组	27.166 ± 2.137	77.333 ± 9.647	4.861 ± 0.850	19.000 ± 1.414	321.833 ± 39.670	323.000 ± 50.485
假手术组	30.666 ± 4.179	85.166 ± 16.363	4.793 ± 0.291	21.000 ± 3.162	414.500 ± 99.101	302.666 ± 97.974
模型组	48.333 ± 5.125**	199.666 ± 35.629**	9.368 ± 2.743**	24.333 ± 3.932*	2.335.166 ± 635.341**	2.248.500 ± 857.832**
2 h 血必净组	28.333 ± 2.582**	159.500 ± 17.329**	6.325 ± 0.704**	21.833 ± 0.408**	1.438.000 ± 19.433**	1.340.333 ± 343.486**
模型组	31.000 ± 5.865	146.666 ± 23.295**	7.063 ± 2.245*	17.166 ± 3.188	436.833 ± 100.628*	410.166 ± 70.439*
8 h 血必净组	23.666 ± 5.316*	94.333 ± 10.782**	6.471 ± 2.196	18.000 ± 2.000	271.666 ± 67.182**	319.666 ± 45.798*
模型组	38.666 ± 10.726*	199.166 ± 32.884**	11.686 ± 2.591**	27.166 ± 4.750**	461.000 ± 200.205	433.500 ± 84.892*
24 h 血必净组	31.500 ± 10.348	156.666 ± 25.382**	5.325 ± 2.246*	20.666 ± 2.943*	371.666 ± 19.633	252.166 ± 79.035**
模型组	22.166 ± 4.916*	105.000 ± 18.198**	7.866 ± 2.302*	19.000 ± 0.632	243.333 ± 13.337	414.333 ± 82.802*
48 h 血必净组	23.166 ± 4.215	69.833 ± 13.166**	5.255 ± 0.955*	21.166 ± 3.125	326.333 ± 13.526	305.000 ± 71.777*
模型组	19.500 ± 8.735	77.500 ± 20.236	5.248 ± 1.131	22.833 ± 1.602**	336.000 ± 61.656	341.000 ± 48.102
72 h 血必净组	22.500 ± 6.892	76.333 ± 13.063	5.883 ± 1.600	20.500 ± 3.563	322.000 ± 32.473	289.000 ± 62.533

注: 与正常对照组比较, *P < 0.05, **P < 0.01; 与模型组相应时间点比较, #P < 0.05, ##P < 0.01。

表 2 血必净注射液对脓毒症大鼠死亡率的影响

组别	死亡数(只)	死亡率(%)
模型未治疗组	28	93.3
抗生素治疗组	22	66.7*
血必净治疗组	21	73.3*
联合治疗组	13	43.3**#

注:与模型未治疗组比较,*P<0.05,**P<0.01。与抗生素治疗组比较,#P<0.05。与血必净治疗组比较,P<0.05。

3 讨论

脓毒症由于发病机制复杂,临床救治十分困难^[1],已成为基础及临床医学工作者关注的热点之一。尽管现代医学对脓毒症及 MODS 发生机制的认识已有长足进步,但临床仍缺乏有效的治疗方法。而中医药在此方面取得的成绩,使越来越多的有识之士认为,中医药防治脓毒症及 MODS 可能是今后的一个重要发展方向^[2]。

在活血化瘀理论上结合脓毒症发病过程的病理生理变化特点,研制成功的血必净注射液是目前临床治疗脓毒症及 MODS 的有效药物。业已明确,血必净注射液可显著提高内毒素血症小鼠的存活率^[3]。本实验观察到,大鼠 CLP 术后反映肝、肾、心功能的指标均有不同程度升高,而应用血必净注射液治疗能有效地改善多脏器功能异常,并显著降低动物死亡率。

血必净注射液具有对抗细菌毒素、降低内毒素水平,调节免疫及炎性介质,改善微循环及保护血管内皮细胞的作用。对内毒素诱发的脓毒症、MODS 大鼠组织及内皮损伤具有明显保护作用。药效学观察结果表明,于内毒素攻击前后给药,可明显提高内毒素诱发 MODS 模型动物的存活率。随后证实,用血必净注射液加泰能治疗大肠杆菌攻击所致重症脓毒症小鼠,存活率显著高于盐水加泰能组^[4]。本组资料进一步证实,血必净注射液能提高 CLP 脓毒症大鼠的存活率,减轻器官损害。并且实验数据显示,血必净注射液合用抗生素较其单独使用对实验动物具有更显著的保护作用,这为临床防治腹腔感染后脓毒症及 MODS 的发生、发展提供新思路。

大量研究表明,失控性炎症反应是脓毒症发生、发展的重要因素。目前,肿瘤坏死因子(TNF- α)以及高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)作为重要炎症介质参与失控性炎症反应发病过程已得到广泛认可^[5]。在前期实验中观察到 CLP 术后脓毒症大鼠局部组织 TNF- α 及 HMGB1 mRNA 表达呈不同特征、不同程

度的上调,同时其组织和血中蛋白含量相应增加,血必净治疗可有效降低两者基因及蛋白水平的变化。本实验中发现,血必净或抗生素单独使用或两者合用,可不同程度的提高实验动物 CLP 术后 7 d 生存率;血必净注射液可能通过降低炎症介质的过渡生成及释放改善脓毒症预后;该结果进一步提示,血必净对脓毒症的治疗功效并非仅通过炎症因子途径实现。业已明确,脓毒症的发生不是某一种或几种细胞因子的增高或下降所能解释的,也不会由于某个炎症介质的阻断或补充而完全得以纠正^[6]。20 世纪 90 年代,28 项国际多中心脓毒症和 MODS 抗炎炎症介质临床试验性治疗的失败,揭示了长期以来人们对脓毒症认识及防治措施方面的局限性和片面性,而中医学立足于整体观,综合考虑脓毒症的全身病理生理学状态,在积极应用现代医学治疗的基础上辨证应用中医中药,取得了较为满意的疗效。

作为活血化瘀中药的代表制剂,血必净注射液作用较广泛^[7],充分体现了中药多层次、多环节、多靶点的作用特点,其作用机制有待深入探讨。

参考文献:

- [1] Tadros T, Traber DL, Hegggers JP, et al. Effects of interleukin- α administration on intestinal ischemia and reperfusion injury, mucosal permeability, and bacterial translocation in burn and sepsis[J]. Ann-Surg, 2003, 237: 101-109.
- [2] 盛志勇,姚咏明.脓毒症与多器官功能障碍综合征[J].中华急诊医学杂志,2003,12(10):653-654.
- [3] Chaudry IH, W ichterman KA, Baue AE. Effect of sepsis on tissue adenine nucleotide levels[J]. Surgery, 1979, 85: 205-211.
- [4] 姚咏明,盛志勇.重视对脓毒症本质的探讨[J].中华急诊医学杂志,2005,14(3):185-186.
- [5] 姚咏明,盛志勇.MODS 抗炎治疗研究的反思[J].中国危重病急救医学,1999,11(8):456-458.
- [6] 雪琳.SIRS 和 MODS 防治新对策的实验研究血必净的药效学观察[J].中国危重病急救医学,1997,9(12):720-722.
- [7] 姚咏明,柴家科,林洪远.现代脓毒症理论与实践[M].北京:科学出版社,2003:171-173.
- [8] Wang H, Yang H, Tracey KJ. Extracellular role of HMGB1 in inflammation and sepsis[J]. J Intern Med, 2004, 255: 320-331.
- [9] 张畔,曹书华,崔克亮,等.血必净对多脏器功能障碍综合征单核细胞 HLADR 表达影响的研究[J].中国中西医结合急救杂志,2002,9(1):21-23.

(收稿日期 2007-02-02)