

◆实验研究论著◆

醒脑静注射液对严重脓毒症大鼠血清细胞因子的影响

王金华¹, 车颀¹, 陈东², 曾其毅¹

1. 南方医科大学附属珠江医院儿科, 广东 广州 510282
2. 南方医科大学附属南方医院, 广东 广州 510515

[摘要] 目的: 观察醒脑静注射液对严重脓毒症大鼠血清细胞因子即肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6 (IL-6) 的影响。方法: 按照随机数字表法将 90 只 SD 大鼠随机分为 9 组, 每组各 10 只: 脂多糖 (LPS) 6 h 组、LPS 24 h 组、LPS 48 h 组、XNJ 6 h 组、XNJ 24 h 组、XNJ 48 h 组、对照 6 h 组、对照 24 h 组、对照 48 h 组。各 LPS 组、各 XNJ 组以腹腔注射 LPS 建立严重脓毒症模型, 各 XNJ 组尾静脉注入醒脑静注射液。用酶联免疫吸附 (ELISA) 法检测 9 组大鼠血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6 (IL-6) 水平。结果: 各 LPS 组和各 XNJ 组不同时间点的 CRP 浓度随时间延长呈上升趋势, 在 48 h 达到高峰, 与各对照组大鼠比较, 各 LPS 组和各 XNJ 组血清 CRP 水平升高显著 ($P < 0.05$)。各 XNJ 组不同时间血清 CRP 浓度较各 LPS 组为低 ($P < 0.05$)。与对照组大鼠比较, 各 LPS 组和各 XNJ 组血清 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平升高显著 ($P < 0.05$), 6 h 达高峰, 6 h 后开始下降。各 XNJ 组各时间点 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平与各 LPS 组比较, 有显著降低 ($P < 0.05$)。结论: 醒脑静注射液可显著降低严重脓毒症大鼠部分促炎因子的水平并在早期即开始起抑制作用, 从而可能起到减轻严重脓毒症炎症反应的作用。

[关键词] 严重脓毒症; 醒脑静注射液; 肿瘤坏死因子- α (TNF- α); 白细胞介素-1 β (IL-1 β); 白细胞介素-6 (IL-6)

[中图分类号] R631 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2015) 07-0267-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.07.119

脓毒症是由感染引起的全身炎症反应综合征, 其本质是机体对病原体和免疫原性物质的免疫应答反应, 是一种机体自身免疫性损伤的病理生理过程^[1]。严重脓毒症为脓毒症合并脏器功能不全和组织低灌注, 进一步发展可引起脓毒症休克和多器官功能障碍综合征, 而严重脓毒症所致多器官功能障碍综合征是导致脓毒症患者死亡的主要原因^[2]。醒脑静注射液在治疗脓毒症相关性脑病方面有较好的临床效果, 研究也发现醒脑静注射液可改善内毒素所致的大鼠全身炎症反应综合征^[3], 并能改善脓毒症心肌损伤^[4]。因此醒脑静注射液对脓毒症有一定作用, 但详细的机制未明。国内外也缺少关于醒脑静注射液对严重脓毒症的作用机制研究。本研究以腹腔注射脂多糖(LPS)建立严重脓毒症模型, 了解醒脑静注射液对严重脓毒症大鼠血清细胞因子的影响, 初步探讨醒脑静注射液对严重脓毒症的作用机制, 为醒脑静注射液应用于严重脓毒症患者提供一定的实验基础。

1 材料与方法

1.1 动物分组及处理 雄性 SD 大鼠, 清洁级, 220~250 g, 购自广东省动物实验中心。适应性喂养一周, 造模前禁食 6 h, 自由饮水。90 只 SD 大鼠随机分为 9 组, 每组各 10 只, LPS 6 h 组、LPS 24 h 组、LPS 48 h 组、XNJ 6 h 组、XNJ 24 h 组、XNJ 48 h 组、对照 6 h 组、对照 24 h 组、对照 48 h 组。各 LPS 组: 腹腔注射 LPS 20 mg/kg^[5]。XNJ 组: 醒脑静注射液临床人用药量为每天 10~20 mL, 按照每天 20 mL/人换算成大鼠剂量, 即醒脑静注射液静脉给药量为 1.68 mL/kg, 注射 LPS 1 h 后从尾静脉注入。对照组: 腹腔注射等同 LPS 液体量的生理盐水。

1.2 血标本采集与检测 在各个时间点腹部注射水合氯醛进行麻醉, 从心尖部采血, 1000×g, 离心 10 min, 留取血清分装 -80℃保存进行相关检测。采用 ELISA 法对血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素

[收稿日期] 2015-01-01

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (81272070)。

[作者简介] 王金华 (1983-), 男, 主治医师, 研究方向: 儿童呼吸系统疾病和危重疾病。

[通讯作者] 曾其毅, Email: zqy_88@163.com。

-6(IL-6)水平进行检测。一部份血送南方医院检验科进行C-反应蛋白(CRP)水平检测。

1.3 药物与试剂 LPS 购自美国 sigma 公司, 无菌注射用水配制成 1 mg/mL LPS 溶液。醒脑静注射液购自无锡济民可信山禾药业股份有限公司(批号: 国药准字 Z32020563)。TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 ELISA 试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司。

1.4 统计学方法 使用 SPSS16.0 统计软件进行分析。数据采用($\bar{x} \pm s$)的形式来表示, 经过正态性检验和方差齐性检验后, 2 组资料间均数比较采用两独立样本的 *t* 检验, 多组资料间均数比较采用方差分析。

2 实验结果

2.1 大鼠的一般状况 LPS 腹腔注射 1 h 内, 所有造模大鼠均出现心率、呼吸频率加快, 体温明显上升或下降, 精神反应差, 嗜睡, 拒食与拒饮, 活动减少, 竖毛等脓毒症状态。对照组大鼠未有上述情况出现。

2.2 各组大鼠血清 CRP 水平比较 见表 1。各 LPS 组和各 XNJ 组不同时间点的 CRP 浓度随时间延长呈上升趋势, 在 48 h 达到高峰, 与各对照组大鼠比较, 各 LPS 组和各 XNJ 组血清 CRP 水平升高显著($P < 0.05$)。各 XNJ 组不同时间血清 CRP 浓度较各 LPS 组降低显著($P < 0.05$)。

组别	时间点	CRP
对照组	6 h	357.65 \pm 35.07
	24 h	368.24 \pm 32.16
	48 h	394.12 \pm 41.57
LPS 组	6 h	612.34 \pm 52.53 ^①
	24 h	981.26 \pm 172.14 ^①
	48 h	1240.22 \pm 237.65 ^①
XNJ 组	6 h	458.92 \pm 67.35 ^{①②}
	24 h	675.48 \pm 79.43 ^{①②}
	48 h	1027.48 \pm 341.75 ^{①②}
F 值		7.32
P 值		0.004

与同时时间点对照组比较, ① $P < 0.05$; 与同时时间点 LPS 组比较, ② $P < 0.05$

2.3 各组大鼠血清 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平比较 见表 2。与各对照组大鼠比较, 各 LPS 组和各 XNJ 组血清 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平升高显著($P < 0.05$), 6h 达高峰, 6h 后开始下降。各 XNJ 组各时间点 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平与各 LPS 组比较, 有显著降低($P < 0.05$)。

3 讨论

据美国危重病医学会报道, 美国每年约有 75 万例脓毒症患者, 其中 21.5 万例死于脓毒症相关的器官功能障碍, 脓毒

表2 各组大鼠血清 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平比较($\bar{x} \pm s$) pg/mL

组别	时间点	TNF- α	IL-6	IL-1 β
对照组	6 h	6.94 \pm 1.39	2.39 \pm 0.78	3.39 \pm 0.57
	24 h	5.34 \pm 1.52	3.19 \pm 1.15	3.54 \pm 1.05
	48 h	6.28 \pm 1.03	1.82 \pm 0.98	4.27 \pm 1.37
LPS 组	6 h	47.27 \pm 4.94 ^①	39.63 \pm 2.94 ^①	64.53 \pm 2.89 ^①
	24 h	34.26 \pm 6.52 ^①	29.35 \pm 2.51 ^①	43.05 \pm 3.53 ^①
	48 h	20.93 \pm 3.76 ^①	18.36 \pm 2.36 ^①	26.79 \pm 2.56 ^①
XNJ 组	6 h	39.82 \pm 7.28 ^{①②}	30.12 \pm 1.85 ^{①②}	52.37 \pm 2.04 ^{①②}
	24 h	16.24 \pm 5.82 ^{①②}	17.25 \pm 2.10 ^{①②}	28.14 \pm 1.79 ^{①②}
	48 h	9.37 \pm 2.13 ^{①②}	5.42 \pm 1.46 ^{①②}	10.72 \pm 2.34 ^{①②}
F 值		13.48	18.23	11.96
P 值		0.000	0.000	0.000

与同时时间点对照组比较, ① $P < 0.05$; 与同时时间点 LPS 组比较, ② $P < 0.05$

症引发的多器官功能障碍综合征被认为是良性疾病的第一死因^②。严重脓毒症和脓毒症休克患者住院 30 天的死亡率为 36%, 而 1 年的死亡率高达 57%^③。脓毒症发病机制十分复杂, 主要的发病机制包括: 炎症因子瀑布、肠道细菌移位和肠源性内毒素血症、凝血系统和炎症系统的交互作用以及微循环和线粒体功能障碍等^④。

脓毒症的感染早期常表现为促炎症反应, 主要的促炎因子有 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等。TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 主要由单核巨噬细胞、淋巴细胞和血管内皮细胞产生, TNF- α 和 IL-1 β 均可诱导脓毒性炎症反应, 两者有协同作用, 可诱导其他炎症因子如 IL-6、趋化因子和血小板活化因子等的级联释放^⑤。本研究也发现, 严重脓毒症大鼠的血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平较对照组是明显升高的, 并且在造模后 6h 升高最明显, 之后呈下降趋势。从而也证实了在严重脓毒症早期就有 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等促炎因子的大量释放, 并最终引起机体的损伤。研究也表明, 脓毒症病人血循环 IL-6 浓度与器官功能障碍的严重程度及预后密切相关^⑥。也有研究发现, 在脓毒症患者中, TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等促炎因子会抑制心脏的收缩和舒张功能^⑦。本研究还发现严重脓毒症大鼠的 CRP 水平较对照组是明显升高的, 并且随时间延长呈上升趋势。

醒脑静注射液是由中医学传统名方“安宫牛黄丸”经科学提取精制而成的新型水溶性静脉注射液, 是一种复方中药制剂, 主要由麝香、冰片、郁金、山栀等组成, 冰片辛香走窜, 助麝香通诸窍, 并因其性凉, 长于泻火毒, 散热结, 具有清热解毒之功; 郁金性苦寒, 能清热泻火, 凉血解毒, 化痰开郁, 并能协同二药开窍通络; 山栀性味苦寒, 芳香开窍, 清热解毒, 清理三焦、痰瘀热邪。诸药合用, 具有清热解毒、凉血活血、开窍醒脑之功^⑧。醒脑静注射液在清除自由基、降低脑脊

液中内源性致热原、抑制缺血再灌注诱导的脑神经细胞凋亡、减轻脑水肿、改善脑循环、保护脑细胞、降低中风面积、缩短昏迷时间及退热等方面有显著作用。临床主要用于脑血管病、急性中毒、颅脑损伤、血管性痴呆、病毒性脑炎、癫痫、肺性脑病、肝性脑病等疾病。脓毒症相关性脑病是脓毒症患者最常见的神经系统并发症，严重威胁着患者的生命安全，并常使幸存者遗留不同程度的脑功能障碍，包括意识和认知的改变，如定向力障碍、幻觉、注意力受损等。而醒脑静注射液在治疗脓毒症相关性脑病方面有较好的临床效果，可改善脓毒症相关性脑病患者的脑功能障碍，基础研究也发现醒脑静注射液可改善内毒素所致的大鼠全身炎症反应综合征，并对脓毒症大鼠的心肌有保护作用，但具体的机制未明。本研究发现醒脑静注射液可明显降低重度脓毒症大鼠血清促炎因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平，并且发现在严重脓毒症成功造模后 6h 时其已明显降低重度脓毒症大鼠血清促炎因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平，推测醒脑静注射液在严重脓毒症早期已开始作用，从而起到早期抑制炎症反应的作用，同时观察到在 48 h 时，醒脑静注射液仍有药物治疗作用。

综上所述，严重脓毒症早期即有大量促炎因子释放，醒脑静注射液可显著降低严重脓毒症大鼠部分促炎因子的水平并在早期即开始起抑制作用。但本研究只是对醒脑静注射液对重度脓毒症的作用机制作初步的探讨，未具体到相关脏器功能的保护机制研究，在以后的实验中会再作进一步的探讨。

[参考文献]

- [1] Carvalho PR, Trotta Ede A. Advances in sepsis diagnosis and treatment [J]. J Pediatr (Rio J), 2003, 79 (S2): 195-204.
- [2] Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care [J]. Crit Care Med, 2001, 29: 1303-1310.
- [3] 杨光田, 王进. 醒脑静对内毒素致大鼠全身炎症反应综合征的影响 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41(8): 1142-1144.
- [4] 胡丹丹, 陈伟, 孙鑫. 醒脑静注射液调控 NF- κ B 信号通路对脓毒症心肌损伤的影响 [J]. 中国中医急症, 2012, 21(8): 1260-1262.
- [5] Ling Liu, Ping Wang, Canxin Liang, et al. Distinct effects of Nampt inhibition on mild and severe models of lipopolysaccharide-induced myocardial impairment [J]. International Immunopharmacology, 2013, 6: 1-8.
- [6] Juan N. Pulido, Bekele Afessa, Mitsuru Masaki, et al. Clinical Spectrum, Frequency, and Significance of Myocardial Dysfunction in Severe Sepsis and Septic Shock [J]. Mayo Clin Proc, 2012, 87(7): 620-628.
- [7] Ince C. The microcirculation is the motor of sepsis [J]. Crit Care, 2005, 9(S4): 13-19.
- [8] Tsiotou AG, Sakorafas GH, Anagnostopoulos G, et al. Septic shock; current pathogenetic concepts from a clinical perspective [J]. Med Sci Monit, 2005, 11(3): 76-85.
- [9] Reinhart K, Meisner M, Brunckhorst FM. Markers for Sepsis Diagnosis: What is useful? [J]. Crit Care Clin, 2006, 22: 503-519.
- [10] Joseph E. Parrillo, Cynthia Burch, James H. Shelhamer, et al. A Circulating Myocardial Depressant Substance in Humans with Septic Shock [J]. Clinical Investigation, 1985, 76(4): 1539-1553.
- [11] 华承磊, 叶建新. 醒脑静注射液的临床治疗现状 [J]. 中国中医急症, 2011, 20(4): 626-627.

(责任编辑: 骆欢欢)

诚招疼痛门诊加盟 (免费索取样品 试后满意订货)

北京郎郎康打造品质贴剂市场, 铸造诚信膏药品牌, 巨大的利润空间, 让您销售无忧! 郎郎康全国独家乡镇加盟火热招募中! 率先加盟, 抢占先机! 部分县镇已有独家加盟, 详情请来电咨询! 如果您是基层大夫, 请将您的详细地址、姓名和邮编及联系方式发送到 13720052966, 注明“索取样品”或拨打电话: 010-51289113、51289114, 欢迎您的来信来电! 北京郎郎康生物技术有限公司, 地址: 北京市昌平区北郊农场办公楼 729 室, 电话: 010-51289113、51289114; 手机: 13720052966、13520031196。邮局账号: 6221881000060968005, 户名: 黄艳红。网址: <http://www.langlangkang.com>。