

## 血必净注射液防治家兔应激性脏器损伤的研究

李志军 孙元莹 吴云良 李银平 张万祥 刘红栓 王今达

**【摘要】** 目的 探讨血必净注射液对家兔应激性脏器损伤的保护作用及其机制。方法 40 只大耳白兔随机分为正常对照组、实验对照组、西药治疗组和血必净组。以浸水方法制成应激模型,制模后西药治疗组和血必净组分别注射冬眠合剂和血必净注射液,观察各组家兔给药后不同时间血清皮质醇(Cor)、血栓素 A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>)、内皮素(ET)以及一氧化氮合酶(NOS)含量变化;并观察胃黏膜、肾上腺以及心肌细胞的病理变化。结果 制模后家兔 Cor 含量显著升高( $P < 0.01$ );西药治疗组和血必净组含量均有所降低,两组间比较差异无显著性( $P > 0.05$ );西药治疗组和血必净组 ET 和 TXA<sub>2</sub> 含量均明显降低,NOS 含量均明显升高,两组间比较差异具有显著性( $P$  均  $< 0.05$ )。血必净组胃黏膜、肾上腺以及心肌的病理学变化改善明显优于西药治疗组。结论 血必净注射液对于应激性脏器损伤具有良好的保护作用。

**【关键词】** 损伤,应激性; 血必净注射液; 皮质醇; 细胞因子

**Experimental study of protective effects of Xuebijing injection (血必净注射液) on stress-induced organ damage in rabbit** LI Zhi-jun\*, SUN Yuan-ying, WU Yun-liang, LI Yin-ping, ZHANG Wan-xiang, LIU Hong-shuan, WANG Chin-ta. \* Emergency Medicine Research Institute, Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the protective effects of the integrated traditional Chinese and western medicine Xuebijing injection (血必净注射液) on stress-induced organ damage in rabbits. **Methods** Forty rabbits were randomly divided into four groups; the control group, the model group, the western medicine group, and the Xuebijing group. The stress-induced organ damage model was replicated by soak the rabbits in water, the animals in the western medicine group and Xuebijing group received injection of lytic cocktail and Xuebijing, respectively. The changes in cortisol (Cor), thromboxane A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>), endothelin (ET), nitric oxide synthase (NOS) were determined at different time points in all the groups. The pathologic changes of the gastric mucosa, the adrenal gland and the cardiac muscle cell were observed. **Results** The content of Cor increased significantly in model group ( $P < 0.01$ ). The content of Cor decreased in the western medicine group and Xuebijing group, the changes showed no significant difference between two groups ( $P > 0.05$ ). The contents of ET, TXA<sub>2</sub> decreased and NOS increased in Xuebijing group compared with the western medicine group, the differences were significant (all  $P < 0.05$ ). The pathological changes of the gastric mucosa, the adrenal gland and the cardiac myocyte were less marked in Xuebijing group, compared with the western medicine group, the difference was significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Xuebijing has better protective effects on stress-induced organ damage.

**【Key words】** stress-induced damage; Xuebijing injection; cortisol; cytokine

应激是机体在受到刺激时出现的全身性非特异性适应反应,达到一定强度可导致病理性损伤,其中应激性溃疡(急性胃黏膜损伤)的发生率高达 20% 左右,可造成一定的病死率;同时,应激对多器官功能不全的发展起恶化性的促进作用<sup>[1]</sup>。中医中药防治应激性脏器损伤的作用日益明显,我们用血必净注射液防治应激性脏器损伤,效果满意。本研究拟以

家兔为动物模型,探讨血必净注射液防治应激性脏器损伤的作用机制,报告如下。

### 1 材料与方法

**1.1 实验动物及材料:** 4~5 月龄雄性健康大耳白兔 40 只,体重 2.1~2.5 kg,由天津中医学院动物室提供。冬眠合剂由氯丙嗪 50 mg、异丙嗪 50 mg 及哌替啶 100 mg 组成。血必净注射液(天津红日药业有限公司生产),主要成分为红花、川芎、赤芍、丹参、当归等,每支 10 ml。一氧化氮合酶(NOS)试剂盒购自南京建成生物工程研究所;血栓素 A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>)和内皮素(ET)放射免疫试剂盒以及皮质醇(Cor)试剂盒均购自天津联星生物技术有限公司。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 动物模型制备:** 40 只家兔按随机数字表法

基金项目:天津市卫生局中医、中西医结合科研基金资助项目(02003)

作者单位:300192 天津市第一中心医院急救医学研究所(李志军,孙元莹,张万祥,王今达);311500 浙江省桐庐市第一人民医院 ICU(吴云良);300050 天津市天和医院(李银平);300193 天津中医药大学(刘红栓)

作者简介:李志军(1957-),男(汉族),天津人,硕士研究生导师,主任医师。

分为正常对照组、实验对照组、西药治疗组和血必净组 4 组, 每组 10 只。家兔以质量分数为 3% 的戊巴比妥钠 30 mg/kg 耳缘静脉注射麻醉, 清醒后, 西药治疗组经耳缘静脉注射冬眠合剂 12 mg/kg, 血必净组则注射血必净注射液 10 mg/kg, 其余两组各注射 2.5 ml 生理盐水。15 min 后, 除正常对照组外, 其余 3 组家兔置于应激池内, 水温 20 °C, 水面与剑突平齐。于应激前(0 h)及应激后 6、12 和 24 h 分别取各组动物静脉血待测。

**1.2.2 检测指标:**①血浆 ET 和 TXA<sub>2</sub> 含量采用放射免疫分析法检测, 按试剂盒说明书操作, 用  $\gamma$  计数器测定沉淀中<sup>125</sup>I 的放射性活度, 再根据标准曲线测出样品中 ET 和 TXA<sub>2</sub> 含量。②血浆 NOS 活性采用分光光度法测定, 按试剂盒说明书操作, 使用 721 分光光度计, 在 530 nm 波长处测定吸光度(A)值, 然后计算出各管的 NOS 活性。③血浆 Cor 含量采用放射免疫分析法检测, 按试剂盒说明书操作, 用  $\gamma$  计数器测定沉淀中<sup>125</sup>I 的放射性活度, 再根据标准曲线测出样品中 Cor 含量。

**1.2.3 脏器损伤的观察:**应激 24 h 后将家兔取出麻醉, 切开腹壁, 游离胃体, 将胃取下切开漂洗, 甲醛固定、展开, 观察胃黏膜皱襞改变、胃壁厚薄以及黏膜表面溃疡、糜烂、出血点等, 记录发生部位、大小、形状, 然后镜下观察胃黏膜损伤情况, 测量损伤直径, 计算损伤数目, 并参照 Guth 标准<sup>[2]</sup>分别计分相

加, 即为其溃疡指数, 同时计算溃疡抑制率。在损伤明显处切取组织, 固定染色, 观察组织学改变; 同时取心脏、肾上腺固定染色, 观察其组织学改变。

**1.3 统计学分析:**计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 样本均数比较用 *t* 检验; 计数资料中两样本比较用  $\chi^2$  检验, 半定量分析采用秩和检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组应激前后血浆 Cor、ET、NOS、ET/NOS 和 TXA<sub>2</sub> 含量变化见表 1。**

**2.2 应激性胃溃疡的发生情况见表 2。**

表 2 各组胃溃疡指数和溃疡抑制率比较(*n* = 10)

Table 2 Comparison of stress ulcer and inhibitory rate of stress ulcer in each group(*n* = 10)

组别	溃疡指数( $\bar{x} \pm s$ , 分)	溃疡抑制率(%)
正常对照组	0	...
实验对照组	40.65 ± 3.62	...
西药治疗组	25.43 ± 3.54 <sup>△</sup>	37.44
血必净组	18.89 ± 1.96 <sup>△▲</sup>	52.37 <sup>▲</sup>

注: 与实验对照组比较, <sup>△</sup>*P* < 0.05; 与西药治疗组比较, <sup>▲</sup>*P* < 0.05

## 2.3 病理形态学变化

**2.3.1 胃:**实验对照组多数可见黏膜间灶性或点状出血, 部分可见黏膜表面上皮变性、坏死和剥脱, 并有充血和水肿(图 1A); 西药治疗组可见黏膜间灶性或点状出血, 但较轻微, 无表皮剥脱现象(图 1B); 血必净组仅见黏膜水肿充血, 未见表皮剥脱及黏膜

表 1 各组应激前后血浆 Cor、ET、NOS、ET/NOS 和 TXA<sub>2</sub> 含量变化( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Change of Cor, ET, NOS, ET/NOS and TXA<sub>2</sub> content at different time in each group( $\bar{x} \pm s$ )

指标	组别	动物数(只)	0 h	6 h	12 h	24 h
Cor( $\mu$ g/L)	正常对照组	10	80.80 ± 4.30	81.90 ± 5.20	80.40 ± 4.50	80.10 ± 4.90
	实验对照组	10	80.60 ± 5.40	126.80 ± 5.20*	169.70 ± 9.60*	189.20 ± 6.40*
	西药治疗组	10	79.90 ± 5.20	98.50 ± 7.60 <sup>△</sup>	129.30 ± 5.70 <sup>△</sup>	153.40 ± 7.20 <sup>△</sup>
	血必净组	10	80.50 ± 4.90	96.30 ± 7.90 <sup>▲</sup>	122.90 ± 6.80 <sup>▲</sup>	154.70 ± 7.20 <sup>▲</sup>
ET(ng/L)	正常对照组	10	43.80 ± 3.70	42.90 ± 3.80	43.40 ± 3.50	45.10 ± 2.90
	实验对照组	10	43.60 ± 3.40	107.80 ± 8.50*	163.40 ± 7.60*	207.80 ± 7.60*
	西药治疗组	10	43.70 ± 3.20	88.40 ± 7.30 <sup>△</sup>	126.60 ± 6.30 <sup>△</sup>	153.60 ± 7.20 <sup>△</sup>
	血必净组	10	43.50 ± 3.80	86.30 ± 5.80 <sup>▲</sup>	116.70 ± 6.40 <sup>▲</sup>	133.40 ± 7.40 <sup>▲</sup>
NOS(ng/L)	正常对照组	10	13.38 ± 5.37	12.69 ± 6.68	12.44 ± 7.56	14.01 ± 5.19
	实验对照组	10	13.71 ± 3.94	18.65 ± 5.80*	21.47 ± 6.40*	24.36 ± 7.30*
	西药治疗组	10	13.67 ± 5.12	19.82 ± 5.60 <sup>△</sup>	25.26 ± 4.90 <sup>△</sup>	30.97 ± 3.90 <sup>△</sup>
	血必净组	10	13.93 ± 4.94	23.57 ± 3.70 <sup>▲</sup>	28.72 ± 4.85 <sup>▲</sup>	35.59 ± 4.31 <sup>▲</sup>
ET/NOS	正常对照组	10	3.27 ± 0.16	3.38 ± 0.13	3.48 ± 0.14	3.22 ± 0.11
	实验对照组	10	3.18 ± 0.22	5.78 ± 0.15*	7.61 ± 0.20*	8.53 ± 0.16*
	西药治疗组	10	3.19 ± 0.20	4.46 ± 0.17 <sup>△</sup>	5.01 ± 0.13 <sup>△</sup>	4.96 ± 0.32 <sup>△</sup>
	血必净组	10	3.24 ± 0.19	3.98 ± 0.12 <sup>▲</sup>	4.06 ± 0.17 <sup>▲</sup>	3.86 ± 0.27 <sup>▲</sup>
TXA <sub>2</sub> (ng/L)	正常对照组	10	118.08 ± 7.05	117.67 ± 6.93	119.64 ± 5.89	117.01 ± 5.97
	实验对照组	10	117.16 ± 6.86	167.74 ± 8.03*	207.37 ± 6.16*	286.53 ± 9.08*
	西药治疗组	10	116.34 ± 7.02	134.76 ± 8.45 <sup>△</sup>	168.42 ± 7.29 <sup>△</sup>	195.24 ± 8.21 <sup>△</sup>
	血必净组	10	117.94 ± 7.75	125.14 ± 6.98 <sup>▲</sup>	145.26 ± 4.93 <sup>▲</sup>	158.36 ± 5.92 <sup>▲</sup>

注: 与正常对照组比较: \**P* < 0.05, 与实验对照组比较: <sup>△</sup>*P* < 0.05; 与西药治疗组比较: <sup>▲</sup>*P* < 0.05

出血(图 1C)。

**2.3.2 心脏:**实验对照组表现为心肌萎缩,染色不均匀,心肌间水肿,可见片状、多灶性出血(图 2A);西药治疗组可见广泛的心肌细胞浊肿、空泡变性,心肌横纹模糊(图 2B);血必净组虽然也可见到心肌细胞浊肿和空泡变性,但与西药治疗组比较则病变相对轻微(图 2C)。

**2.3.3 肾上腺:**实验对照组表现为束状带广泛的脱脂现象,出现束状带细胞体积减小,由大亮细胞变为胞浆暗淡的细胞,皮质可见灶性出血(图 3A);西药治疗组肾上腺局部可见脱脂现象,皮质无明显病理变化(图 3B);血必净组束状带脱脂现象不明显,皮质未见病理变化(图 3C)。

### 3 讨论

机体受到强烈刺激时,神经-体液-内分泌系统

的主要变化为蓝斑-交感-肾上腺髓质系统及下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的强烈兴奋,并伴有其他多种内分泌激素的改变,而血中 Cor 是最经典的应激反应指标之一<sup>[3]</sup>。本研究表明,应激后 6 h 血浆中 Cor 的水平即显著上升,而应用冬眠合剂的西药组及血必净组升高的幅度不大,其心、胃、肾上腺的病理变化亦较轻微。这可能是由于冬眠合剂中的氯丙嗪、异丙嗪为中枢多巴胺受体阻滞剂,可阻断应激原对蓝斑-交感-肾上腺髓质系统及下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的兴奋作用,其外周效应表现为血浆中 Cor 增加的幅度较小,即减少了应激的强烈程度。

研究发现,ET 和 NO 通过调节胃黏膜微循环血流量及冠状动脉(冠脉)血流量而在胃黏膜及心肌细胞的损伤与保护中起重要作用<sup>[4-6]</sup>。ET 是目前已知最强的缩血管因子。内源性 NO 是血管内皮细胞



A: 实验对照组; B: 西药治疗组; C: 血必净组

图 1 实验家兔胃黏膜病理学变化(HE, ×400)

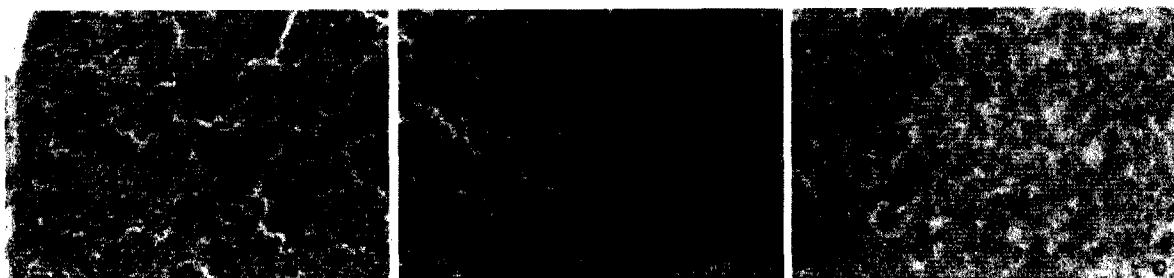
Figure 1 Pathological changes of stomach mucosa in rabbits(HE, ×400)



A: 实验对照组; B: 西药治疗组; C: 血必净组

图 2 实验家兔心肌病理学变化(HE, ×400)

Figure 2 Pathological changes of myocardium in rabbits(HE, ×400)



A: 实验对照组; B: 西药治疗组; C: 血必净组

图 3 实验家兔肾上腺病理学变化(HE, ×400)

Figure 3 Pathological changes of adrenal gland in rabbits(HE, ×400)

产生并释放的舒血管物质,生理情况下,内皮细胞释放 NO 可抵消 ET 的缩血管作用,ET 升高使 NO 合成增多,NO 增多又可抑制 ET 合成<sup>[7,8]</sup>,两者相互制约,维持动态平衡,以保护各脏器功能的正常。本实验中采用应激导致家兔血浆 ET 和 NOS 浓度明显升高,ET/NOS 比值增大,提示应激后 ET/NOS 失衡以 ET 增高更为突出。表明 ET 的缩血管作用是应激后诱发一系列病理变化的基础。ET 升高导致胃黏膜血流量急剧下降,血管及平滑肌收缩,使胃黏膜缺血、缺氧,诱发或加重了胃黏膜损伤,同时导致冠脉强烈收缩,诱发心肌细胞损伤<sup>[9-11]</sup>。

本研究表明,应激后血浆中 TXA<sub>2</sub> 明显升高,其增高水平与胃黏膜、心肌细胞损伤程度一致,推测 TXA<sub>2</sub> 的变化与血浆中 ET 和 NOS 的变化相关。应激刺激首先引起持久的交感兴奋,造成 ET/NOS 失衡,ET 作用占优势,小动脉持续痉挛;NO 的扩血管、抗氧化、抗氧自由基作用被抑制,血管壁严重损伤,TXA<sub>2</sub> 代谢活性增高,导致大量血小板聚集与血循环内 TXA<sub>2</sub> 急性释放<sup>[11]</sup>。TXA<sub>2</sub> 急剧升高使胃黏膜血流量及冠脉血流量进一步减少,血管更加收缩,形成恶性循环,最终导致应激性脏器损伤的发生。

中医认为“寒性收引”、“惊则气乱”,浸水应激方法从寒冷和惊恐两方面导致家兔气机失调、血行瘀滞。我们以前的实验验证在应激性损伤中微循环障碍发挥了重要作用<sup>[12]</sup>。血必净注射液是王今达教授以古方血府逐瘀汤为基础,反复精炼筛选出的静脉制剂,前身为“神农 33”<sup>[13]</sup>,主要成分为赤芍、川芎、丹参、红花、当归等活血化瘀药。现代药理研究证明,活血化瘀药能改善微循环,增加血流量,减少血小板的黏附和聚集,抑制纤维母细胞合成胶原,使肥大细胞增多,减少急性炎症时毛细血管的通透性,减少炎症渗出,改善局部血液循环,促进炎症吸收,并使炎症病灶局限化,抑制炎性肉芽肿的形成,同时能增强网状内皮细胞的吞噬功能和吸附能力,使血肿和其他坏死组织易被吞噬吸收,从而促进病变的修复和治愈<sup>[14]</sup>。同时川芎嗪还可以使组织缺氧时钙离子内流,产生扩血管作用。研究证明,血必净注射液具有强效抗内毒素作用,也有强效拮抗内毒素诱导单核/巨噬细胞产生的内源性炎性介质失控性释放作用,增加血小板、纤维蛋白原含量和血小板聚集力,改善弥散性血管内凝血(DIC)的凝血机制异常,提高超氧化物歧化酶活性,同时能够调节过高或过低的免疫反应,保护和修复应激状态下受损的脏器<sup>[13,15]</sup>。

本研究结果发现,血必净组 ET、NOS 及 TXB<sub>2</sub>

升高的幅度明显低于实验对照组和西药治疗组,ET/NOS 更接近于正常对照组,胃黏膜、心肌细胞的病理变化较实验对照组和西药治疗组均轻。我们认为血必净注射液的抗应激损伤作用在于可以降低血浆中 ET、TXB<sub>2</sub> 的异常升高,同时降低 NOS 水平,使 ET/NOS 接近正常,从而改善胃黏膜、冠脉血流量,发挥对胃黏膜及心肌细胞的保护作用。

#### 参考文献:

- 1 崔乃杰,刘兵.实用危重病急救医学[M].天津:天津科技翻译出版公司,1993:540-545.
- 2 Guth P H, Aures D, Paulson G. Topical aspirin plus HCL gastric lesions in the rat[J]. Gastroenterology, 1979, 76: 88-93.
- 3 刘雁峰,王天芳,杨维益,等.复合应激因素致大鼠促肾上腺皮质激素和皮质酮含量变化的研究[J].中国医药学报,2000,15:72-73.
- 4 张国锋,陈易人,张明激,等.一氧化氮、内皮素与胃黏膜损伤[J].胃肠病学和肝病杂志,1999,8:293-296.
- 5 崔志敏,李兆申,许国铭,等.一氧化氮胃黏膜细胞保护作用实验研究进展[J].解放军医学杂志,1999,24:472-474.
- 6 Anggard E E. The endothelium - body's largest endocrin gland [J]. Endocrinol, 1990, 127: 371-375.
- 7 Mccall T, Vallance P. Nitric oxide takes center - stage with newly defined roles [J]. Trends Pharmacol Sci, 1992, 13: 1.
- 8 Lipton S A, Choi Y B, Pan Z H, et al. A redox - based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso - compounds [J]. Nature, 1993, 12: 626-632.
- 9 Koo M W L, Cho C H, Ogle C W. Verapamil worsens ethanol - induced gastric ulcers in rats [J]. Eur J Pharmacol, 1986, 120: 355-358.
- 10 聂时南,李兆申,许国铭,等.急性实验性应激状态下大鼠胃黏膜 NOS 变化及胃黏膜损伤的关系[J].中国临床心理学杂志,2000, 8: 221-224.
- 11 Mehat J, Metha P, Horalek C, et al. The significance of platelet vessel wall prostag - landin equilibrium during exercise - induced stress [J]. Am Heart, 1983, 105: 895.
- 12 李志军,吴胜群,宗玉彬,等.血栓素 A<sub>2</sub> 与微循环障碍在实验性应激性溃疡中的作用及其防治[J].微循环学杂志,1996, 6: 3-5.
- 13 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 HLA - DR 表达影响的研究[J].中国中西医结合急救杂志, 2002, 9: 21-23.
- 14 王筠默,主编.中药药理学[M].上海:上海科学技术出版社, 1985: 73-75.
- 15 王学谦,胡晓翌,李瑾,等.血浆血小板激活因子与急性肺损伤相关性及其“神农 33”注射液对其影响的观察[J].中国危重病急救医学, 1999, 11: 105-108.

(收稿日期:2005-10-10 修回日期:2006-01-10)

(本文编辑:郭方)

#### • 广告目次 •

- ① 珠海丽珠:免疫吸附柱和血液灌流器 ..... (封二)
- ② 廊坊爱尔:炭肾 ..... (插页)
- ③ 恩华药业:力月西 ..... (插页)
- ④ 天津红日:血必净 ..... (封三)
- ⑤ 索诺声有限公司:便携式彩超 ..... (封底)