

· 论著 ·

血必净注射液对烧伤延迟复苏大鼠器官功能及死亡率的影响

王文江 姚咏明 咸力明 董宁 孟海东 雪琳 王今达

【摘要】 目的 观察血必净注射液对烧伤延迟复苏大鼠多器官功能损害和死亡率的影响。方法 采用大鼠 30% 总体表面积Ⅲ度烫伤模型。130 只雄性 Wistar 大鼠按随机数字表法分为假伤组 ($n=10$)、烫伤组 ($n=60$, 伤后 6 h 腹腔内注射 40 ml/kg 生理盐水) 和血必净组 ($n=60$, 血必净注射液 4 ml/kg, 每日 2 次)。除假伤组外, 各组再根据不同给药时间点分为伤前 2 h ($n=20$)、伤后 2 h ($n=20$) 和伤后 12 h ($n=20$) 给药组。分别观察不同时间点各组动物 7 d 的死亡率及伤后 12 h 多器官功能改变。结果 与烫伤组相比, 伤后 12 h 血必净组动物死亡率显著降低 (75.0% 比 40.0%, $P<0.05$); 同时, 血必净组伤后 12 h 血清丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr) 及肌酸激酶 (CK) 水平均明显降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 血必净注射液能够明显降低严重烧伤延迟复苏大鼠的死亡率, 并对重要器官具有保护作用。

【关键词】 血必净注射液; 烧伤; 延迟复苏; 器官功能; 死亡率

Effects of Xuebijing injection (血必净注射液) on multiple organ dysfunction and mortality in rats with delayed resuscitation for scald injury WANG Wen-jiang*, YAO Yong-ming, XIAN Li-ming, DONG Ning, MENG Hai-dong, XUE Lin, WANG Chin-ta. * Burns Institute, First Affiliated Hospital of General Hospital of PLA (Formerly 304th Hospital), Beijing 100037, China (WANG Wen-jiang works at Armed-force Police Corps of Beijing, Beijing 100027, China)

Corresponding author: YAO Yong-ming (Email: c_yff@sina.com)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of Xuebijing injection (血必净注射液) on multiple organ dysfunction and mortality in rats with delayed resuscitation after scald injury. **Methods** Wistar rats were subjected to a 30% total body surface area (TBSA) full-thickness scald injury in the experimental groups. One hundred and thirty male Wistar rats were randomly divided into sham scald group ($n=10$), thermal injury group ($n=60$, 40 ml/kg normal saline was infused peritoneally 6 hours postburn), and Xuebijing treatment group ($n=60$, 4 ml/kg Xuebijing injection was injected twice a day in addition to delayed resuscitation). Animals of the thermal injury group and Xuebijing treatment group were redivided into three subgroups according to the different time points of treatment; 2 hours before scald ($n=20$), 2 hours after scald ($n=20$), and 12 hours after scald ($n=20$). Multiple organ function parameters and 7-day mortality were determined in all the groups. **Results** The mortality of animals with Xuebijing treatment at 12 hours postburn was significantly lower than that of scald controls (75.0% vs. 40.0%, $P<0.05$). In comparison with scald group, the animals in Xuebijing treatment group were found to have significantly decreased values of organ functional parameters at 12 hours postburn, including serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr) and creatine kinase (CK, $P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** These findings indicate that Xuebijing injection could obviously lower the mortality of rats with delayed resuscitation after burn injury, and it markedly protects against multiple organ dysfunction secondary to severe burns.

【Key words】 Xuebijing injection; burn; delayed resuscitation; organ function; mortality

现代医学对脓毒症及多器官功能障碍综合征 (MODS) 发生机制的认识已有长足进步, 相对而言,

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目 (G1999054203); 国家杰出青年基金资助项目 (30125020); 首都医学发展科研基金重点项目 (2003-2023); 军队“十五”医药卫生科研基金 (01MA207)

作者单位: 100037 北京, 解放军总医院第一附属医院 (原解放军第三〇四医院) 全军烧伤研究所基础部 (王文江, 姚咏明, 咸力明, 董宁, 孟海东 (王文江现在武警北京总队医院普外科工作)); 300192 天津市第一中心医院急救医学研究所 (雪琳, 王今达)

通讯作者: 姚咏明, 教授, 研究员, 博士研究生导师 (Email: c_yff@sina.com)

作者简介: 王文江 (1968-), 男 (汉族), 天津人, 医学硕士, 主治医师。

其临床疗效方面尚不太令人满意。尽管采取了积极复苏、器官支持、抗感染、介质拮抗等手段, 脓毒症及 MODS 的发生率和病死率仍居高不下^[1]。因此, 越来越多的有识之士认为, 运用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]。本研究中采用大鼠 30% 总体表面积 (TBSA) Ⅲ度烫伤模型, 初步观察了血必净注射液对烧伤延迟复苏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: 130 只雄性清洁级 Wistar 大鼠 (北京维通利华实验动物有限公司提供), 平均体

重(250±15)g。大鼠称重、编号,禁食 12 h,盐酸氯胺酮注射液与速眠新 2:1 混合液 0.1 ml 肌肉注射麻醉,刮除背部及侧胸部毛,浸于(99.0±0.5)℃沸水中 12 s,造成 30%TBSA III 度烫伤,背部创面每日 2 次涂以质量分数为 2%的碘酒抗感染,伤后 6 h 给予补液抗休克,麻醉苏醒后单笼饲养。假伤动物浸于 37℃温水中 12 s,余处理同上。

1.2 药物干预:①中药血必净注射液(天津红日药业股份有限公司产品);②给药途径:大鼠阴茎背静脉;③给药剂量:4 ml/kg,每日 2 次,间隔 12 h;④给药时间:各组动物分别按相应时间点给药,共 3 d,每只动物给药 6 次。

1.3 动物分组:130 只动物按随机数字表法分为 3 组:①烫伤组($n=60$,伤后 6 h 腹腔内注射生理盐水 40 ml/kg 进行复苏);②血必净组($n=60$,伤后 6 h 腹腔内注射 40 ml/kg 生理盐水进行复苏,再按不同时间点注射血必净注射液 4 ml/kg);③假伤组($n=10$)。除假伤组外,烫伤组和血必净组根据给药时间不同再各分成伤前 2 h 给药组、伤后 2 h 给药组、伤后 12 h 给药组 3 个亚组。每个时间点动物均为 20 只,记录伤后 7 d 内存活情况。另取 20 只动物随机分为血必净组($n=10$,伤后 2 h 给药)和烫伤组($n=10$),动物给药方法同上述相应各组,均于伤后 12 h 活杀,检测血清器官功能指标的变化。

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

1.5 统计学方法:实验数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 SPSS12.0 统计软件进行 χ^2 检验、 t 检验及相关分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同时间点给予血必净注射液对烧伤延迟复苏大鼠预后的影响(表 1):假伤组 10 只动物全部存活。烫伤前 2 h 及烫伤后 2 h 血必净组动物死亡率与烫伤组比较差异均无显著性(P 均 >0.05);烫伤后 12 h 血必净给药组动物的死亡率显著低于烫伤

组($P<0.05$)。

2.2 血必净组与烫伤组动物总死亡率比较(表 1):与烫伤组比较,血必净组动物的总死亡率显著降低(75.0%与 56.7%, $P<0.05$)。

表 1 血必净注射液对烧伤延迟复苏大鼠死亡率的影响

组别	after scald injury			% (例/例)
	死亡率			
	伤前 2 h 给药	伤后 2 h 给药	伤后 12 h 给药	
血必净组	75.0(15/20)	55.0(11/20)	40.0(8/20)	56.7(34/60)
烫伤组	70.0(14/20)	80.0(16/20)	75.0(15/20)	75.0(45/60)
χ^2 值	0.126	2.905	5.134	3.690
P 值	>0.05	>0.05	0.027	0.042

2.3 血必净注射液治疗对烧伤延迟复苏大鼠器官功能指标的影响(表 2):与烫伤组比较,伤后 2 h 给予中药血必净注射液治疗能显著降低血清 ALT、AST、BUN、Cr 及 CK 水平($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3 讨论

近年来,国内已研制成功既有拮抗内毒素作用又有拮抗早期炎性介质肿瘤坏死因子- α (TNF- α)作用的中药针剂血必净注射液,抗生素并用血必净注射液治疗脓毒症小鼠能显著提高动物的存活率^[3]。本实验中初步观察到,大鼠烫伤延迟复苏后反映心、肝、肾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,从而降低动物死亡率。

血必净注射液由赤芍、红花等 5 味中药组成,是从 32 组中药处方中筛选出的具有对抗细菌毒素、降低内毒素水平,调节免疫及炎性介质,改善微循环、保护血管内皮细胞的有效药物。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,高剂量的作用更强,可以起到早期保护组织、防治 MODS 的作用。雪琳等^[3]对该制剂进行了拮抗炎性介质的药效学观察,结果表明,于内毒素攻击前后给药,血必净注射液对 TNF- α 释放有强效的抑制作用,可明显提高内毒素诱发 MODS 模型动物的存

表 2 血必净注射液治疗对烧伤延迟复苏大鼠器官功能指标的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Effect of Xuebijing injection on serum ALT,AST,BUN,Cr and CK levels in rat following delayed resuscitation after burn injury($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	ALT(U/L)	AST(U/L)	BUN(mmol/L)	Cr(μ mol/L)	CK(U/L)
血必净组	10	79.67±9.71	274.00±33.94	26.03±2.97	21.10±3.87	3 299.67±1 133.43
烫伤组	10	143.67±17.61	541.67±101.94	30.51±1.01	42.50±26.13	8 773.32±5 737.79
t 值		6.411	6.267	3.869	2.565	3.104
P 值		0.001	0.002	0.012	0.030	0.015

活率;根据“细菌、内毒素、炎性介质并治”^[4]的设想,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,存活率达 95%,显著高于盐水加泰能组(10%)。本组资料进一步证实,延迟应用血必净注射液治疗仍能显著提高严重烧伤动物存活率,减轻器官损害,这为防止烧伤后 MODS 的发生与发展开辟了新途径。

业已明确,在炎性反应过程中,早期细胞因子 TNF- α 和白细胞介素-1 具有重要作用;近年来的资料提示,高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)作为新的晚期炎性介质也参与了失控性炎症反应的发病过程^[5]。研究表明,血必净注射液可有效拮抗内毒素血症,并阻断 TNF- α 的失控性释放,从而改善动物的预后^[4]。然而,血必净注射液的作用机制是否与晚期炎性介质有关,目前尚不清楚。我们既往的资料显示,严重烫伤和腹腔感染后 6~24 h,肝、肺及小肠组织 HMGB1 基因表达显著增多,且一直持续至烫伤后 72 h,局部组织 HMGB1 诱生与内毒素介导器官功能损害关系密切^[6,7]。本实验中发现,烫伤前 2 h 及烫伤后 2 h 给药,中药血必净组与烫伤组的动物死亡率比较差异无显著性;而烫伤后 12 h 给药,中药血必净组动物的死亡率显著降低;同时血必净组动物总体死亡率也明显下降。上述结果一方面证实了血必净注射液对烧伤延迟复苏大鼠具有保护作用;另一方面也提出了一个疑问,为什么伤后 12 h 给药,血必净组动物的预后改善更明显?初步分析可以发现,血必净注射液的药理作用与晚期炎性介质 HMGB1 的致炎效应在时间点上恰恰吻合,且我们的预实验结果提示血必净注射液可下调 HMGB1 的表达,说明血必净注射液的作用机制可能与其减轻严重烧伤后早期及晚期炎性细胞因子的双重效应有关。当然,血必净注射液对 HMGB1 的确切作用机制尚有待进一步探讨。

据报道,血必净注射液的作用较广泛,除拮抗内毒素及其诱生多种介质外,它还能促进人类白细胞抗原 DR 位点(HLA-DR)表达,使受抑制的免疫应

答反应恢复^[8]。临床实践证实,血必净注射液还可通过防止血小板及白细胞的中毒性损害,部分抑制血栓素的爆发释放,保护血管内皮正常释放前列环素,减轻细胞超微结构损伤,从而防止了凝血机制紊乱和微循环障碍的发生^[9,10]。作为活血化瘀中药的代表制剂,血必净注射液能明显提高实验性脓毒症和 MODS 模型动物的存活率,可达到细菌、内毒素、炎性介质并治的效果^[4]。

本实验证实,血必净能有效降低烧伤延迟复苏大鼠的死亡率并保护重要器官的功能。临床试验也表明血必净注射液具有活血化瘀、疏通脉络、溃散毒邪的作用,可以拮抗内毒素血症,抑制炎性介质失控性释放。有鉴于此,在积极处理原发病的基础上,血必净注射液可以辅助治疗由创伤、感染、烧伤等引起的脓毒症及 MODS,具有良好的应用前景。

参考文献:

- 1 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,2003,12:653-654.
- 2 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,1999,11:456-458.
- 3 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,1997,9:720-722.
- 4 王今达,雪琳.细菌、内毒素、炎性介质并治——治疗重症脓毒症的新对策[J].中国危重病急救医学,1998,10:323-325.
- 5 Wang H, Yang H, Tracey K J. Extracellular role of HMGB1 in inflammation and sepsis[J]. J Intern Med, 2004, 255:320-331.
- 6 姚咏明,盛志勇.高迁移率族蛋白-1 在脓毒症发病中的作用与意义[J].解放军医学杂志,2002,27:753-756.
- 7 Fang W H, Yao Y M, Shi Z G, et al. The significance of changes in high mobility group-1 protein mRNA expression in rats after thermal injury[J]. Shock, 2002, 17:329-333.
- 8 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.
- 9 曹书华,高红梅,王勇强,等.肝移植术后多器官功能障碍综合征中西医结合治疗的临床研究[J].中国中西医结合急救杂志,2002,9:263-266.
- 10 曹书华,王今达.血必净对感染性多器官功能障碍综合征大鼠组织及内皮损伤保护作用的研究[J].中国危重病急救医学,2002,14:489-491.

(收稿日期:2005-09-14 修回日期:2005-12-30)

(本文编辑:李银平)

· 启事 ·

爱尔血液灌流学术研讨会暨第 10 届全国学习班会议通知

爱尔血液灌流研讨会暨学习班在北京、天津、扬州、长沙等地已成功举办了 9 届,学员反映良好。为进一步提高血液灌流整体水平,我厂将于 2006 年 7 或 8 月与哈尔滨医科大学附属第一医院在哈尔滨联合举办第 10 届全国学习班,届时将邀请王质刚、段仲平等京、津著名血液净化专家进行学术研讨。学习期间理论与实践相结合,安排见习,会期 5 d。欢迎大家索取学习班邀请函。联系人:徐飞;手机:13082070760;联系电话:(0316)2021113-6304;联系地址:河北省廊坊市建国道 158 号;邮编:065000;网址:www.aier-hp.com。

(河北省廊坊市爱尔血液净化器材厂)