

· 研究报告 ·

血必净口服泡腾片对内毒素损伤大鼠器官的保护作用

姚小青 张韻慧 孙长海 祖广影 胡金芳 张金晓 程晓翔 申秀萍

【关键词】 血必净口服泡腾片； 内毒素； 中毒性损伤； 血生化指标； 器官保护

血必净是由我国中西医结合急救医学奠基人王今达教授以王清任血府逐瘀汤组方为基础,根据“三证三法”辨证原则及“菌毒并治”理论,自行研制的中药制剂,后经天津红日药业开发为中药注射液,属国家中药保密品种。血必净从 36 组中药复方中筛选组方而成,其有效成分从红花、赤芍、川芎、丹参、当归中提取,包括红花黄色素 A、川芎嗪、丹参素、阿魏酸、芍药苷、原儿茶醛等,具有活血化瘀、扶正固本、清热解毒、菌毒并治等功效,在临床上与抗菌药物联合用于脓毒症和多器官功能障碍综合征(MODS)的治疗,是我国应用于此类疾病的惟一中药注射剂。

血必净口服泡腾片为血必净注射液的改进剂型,增加口服剂型的研究,以便于临床及不同人群的使用。本研究中采用血必净口服泡腾片进行了相关动物实验,观察其拮抗内毒素、保护生命器官中毒性损伤的作用,以期为血必净口服泡腾片的临床使用提供科学的实验依据。

1 材料与方

1.1 药品及主要试剂:受试药血必净口服泡腾片原料药(浸膏片)由天津市红日药业股份有限公司提供,批号 061028。阳性对照药:①血必净注射液由天津市红日药业股份有限公司提供,批号 070201;②地塞米松磷酸钠注射液由天津金耀氨基酸有限公司提供,批号 0608201;③肝素钠注射液由天津市生物

化学制药厂提供,批号 20070105。主要试剂:大肠杆菌内毒素脂多糖(LPS, O55B5)为美国 Sigma 公司产品,批号 066K4039;生理盐水由天津市津兰药业有限公司生产,批号 06022203。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.2 实验分组及药物剂量设置:雄性 Wistar 大鼠,体重 200~225 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号:SCXK(京)2007-0001。将大鼠按随机数字表法分为正常对照组(蒸馏水 4 ml/kg,灌胃)、内毒素血症模型组(蒸馏水 4 ml/kg,灌胃)、阳性药物对照组[肝素 100 U+地塞米松 1 mg/kg,4 ml/kg 静脉滴注(静滴)]、血必净原剂型对照组(注射液 3.6 ml/kg 静滴)和血必净口服泡腾片 17.00、8.50、4.25 和 2.13 g/kg 4 个剂量组(配制成含上述生药量的水溶液,以 4 ml/kg 灌胃),每组 10 只。

1.3 制模方法:各组动物按上述剂量和给药途径每日给予 1 次相应的受试药物,连续给药 5 d。末次给药后,正常对照组立刻注射生理盐水 4 ml/kg;其他各组动物于尾静脉注射 LPS 1.5 mg/kg 制模;制模后 2 h 再次按上述剂量和给药途径给予相应受试药物 1 次。制模后 4 h 腹腔注射 20%乌拉坦麻醉大鼠,腹主动脉采血备测各项指标,然后处死大鼠取组织标本备用。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 血生化指标检测:将血标本离心取血清,用日立 7080 全自动血液生化分析仪测定丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、总胆红素(TBil)、甘油三酯(TG)、白蛋白(ALB)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)等肝、肾、心功能指标。

1.4.2 肝、肾组织中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)水平检测:取肝、肾组织制备成 10%的组织匀浆,测定匀

浆中 SOD、MDA 水平,按照试剂盒(南京建成生物工程研究所提供)说明书操作。

1.5 统计学处理:计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,使用 SPSS 13.0 软件对两组间均数进行 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血生化指标比较(表 1):内毒素血症模型组 ALT、AST、TBil、TG、BUN、Cr 和 CK 水平均显著高于正常对照组,ALB 显著低于正常对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),表明动物心、肝、肾功能受到明显损害。与内毒素血症模型组比较:阳性药物对照组 ALB 显著升高,BUN、Cr 显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);原剂型对照组 TG、BUN、Cr、CK、LDH 显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);血必净口服泡腾片 17.00 g/kg 组 TG、BUN、8.50 g/kg 组和 4.25 g/kg 组 BUN、Cr、CK、8.50 g/kg 组 TG 及 2.13 g/kg 组 BUN、Cr 均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);同时各给药组 ALT、AST、TBil 和 LDH 也有不同程度的降低,但由于标准差较大,差异无统计学意义。表明血必净口服泡腾片对内毒素损伤大鼠肝、肾、心脏有明显的保护作用,与注射液的作用基本一致。

2.2 各组肝、肾组织中 SOD 活性和 MDA 水平比较(表 2):内毒素血症模型组肝、肾 SOD 活性较正常对照组显著降低,肝 MDA 含量显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与内毒素血症模型组比较,各给药组均能显著升高肝组织 SOD 活性,其中血必净口服泡腾片 17.00 g/kg 组能显著升高肾组织 SOD 活性,17.00 g/kg 组和 8.50 g/kg 组能显著降低肝组织 MDA 含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。表明血必净口服泡腾片能通过增加受损组织中 SOD 活性,降低 MDA 含量,减轻自由基对组织的损伤而起到保护器官组织的作用。

3 讨论

多项药理学研究证实,血必净通过

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2012.06.013

基金项目:天津市科技创新专项基金资助项目(06F22DSH00403)

作者单位:300072 天津大学药物科学与技术学院(姚小青、张韻慧);天津红日药业有限公司(姚小青、张长海、祖广影);天津药物研究院(胡金芳、张金晓、程晓翔、申秀萍)

通信作者:张韻慧,Email:yunhuiz1186@yahoo.com.cn

表 1 血必净口服泡腾片对内毒素损伤大鼠血生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	药物剂量	动物数	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBil(μ mol/L)	TG(mmol/L)	ALB(g/L)
正常对照组	蒸馏水 4 ml/kg	10	57.7 \pm 11.7	159.1 \pm 27.5	2.50 \pm 1.41	0.62 \pm 0.26	33.9 \pm 1.6
内毒素血症模型组	蒸馏水 4 ml/kg	10	404.8 \pm 497.8 ^a	502.4 \pm 328.4 ^b	34.47 \pm 44.24 ^a	2.42 \pm 0.55 ^b	31.8 \pm 2.3 ^a
阳性药物对照组	肝素 100 U+ 地塞米松 1 mg/kg	10	406.5 \pm 661.3	454.1 \pm 168.3	7.12 \pm 8.58	1.88 \pm 0.82	36.0 \pm 1.1 ^d
血必净原剂型对照组	注射液 3.6 ml/kg	10	186.7 \pm 133.0	372.5 \pm 185.3	7.12 \pm 7.82	1.67 \pm 0.76 ^c	32.7 \pm 2.1
血必净口服泡腾片组	含生药 17.00 g/kg	10	408.6 \pm 636.3	541.1 \pm 443.6	10.46 \pm 10.28	1.73 \pm 0.78 ^c	33.5 \pm 2.9
	含生药 8.50 g/kg	10	360.8 \pm 332.8	677.8 \pm 549.1	10.23 \pm 13.43	1.78 \pm 0.56 ^c	32.4 \pm 1.6
	含生药 4.25 g/kg	10	304.8 \pm 283.1	396.4 \pm 213.9	13.36 \pm 35.20	1.70 \pm 1.05	32.1 \pm 0.6
	含生药 2.13 g/kg	10	210.2 \pm 215.1	445.5 \pm 358.9	7.55 \pm 7.22	2.27 \pm 0.87	31.7 \pm 1.5

组别	药物剂量	动物数	BUN(mmol/L)	Cr(μ mol/L)	CK(U/L)	LDH(U/L)
正常对照组	蒸馏水 4 ml/kg	10	7.96 \pm 1.19	65.7 \pm 3.1	878.5 \pm 307.0	1185.4 \pm 518.9
内毒素血症模型组	蒸馏水 4 ml/kg	10	19.35 \pm 2.65 ^b	88.4 \pm 19.5 ^b	2292.7 \pm 1243.6 ^b	2200.6 \pm 2518.5
阳性药物对照组	肝素 100 U+ 地塞米松 1 mg/kg	10	11.96 \pm 3.42 ^d	77.4 \pm 9.0 ^c	1172.2 \pm 479.5	1261.6 \pm 898.4
血必净原剂型对照组	注射液 3.6 ml/kg	10	12.92 \pm 1.92 ^d	70.5 \pm 5.0 ^c	967.3 \pm 506.2 ^d	1046.9 \pm 696.9 ^d
血必净口服泡腾片组	含生药 17.00 g/kg	10	16.22 \pm 2.08 ^d	84.1 \pm 18.7	1671.0 \pm 558.0	1993.3 \pm 2230.4
	含生药 8.50 g/kg	10	14.86 \pm 1.41 ^d	71.2 \pm 10.7 ^c	1141.6 \pm 549.2 ^c	1606.9 \pm 1549.4
	含生药 4.25 g/kg	10	13.09 \pm 5.34 ^d	71.9 \pm 8.6 ^c	1267.3 \pm 669.6 ^c	2188.8 \pm 2493.0
	含生药 2.13 g/kg	10	14.94 \pm 2.14 ^d	71.2 \pm 6.8 ^c	1395.9 \pm 809.8	973.5 \pm 704.1

注:ALT:丙氨酸转氨酶,AST:天冬氨酸转氨酶,TBil:总胆红素,TG:甘油三酯,ALB:白蛋白,BUN:尿素氮,Cr:肌酐,CK:肌酸激酶,LDH:

乳酸脱氢酶;与正常对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与内毒素血症模型组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

表 2 血必净口服泡腾片对内毒素损伤大鼠肝、肾组织 SOD、MDA 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	药物剂量	动物数	肾 SOD(U/mg)	肝 SOD(U/mg)	肾 MDA(A 值)	肝 MDA(A 值)
正常对照组	蒸馏水 4 ml/kg	10	10.858 \pm 2.247	10.782 \pm 0.967	0.227 \pm 0.028	0.192 \pm 0.028
内毒素血症模型组	蒸馏水 4 ml/kg	10	6.870 \pm 3.914 ^a	7.990 \pm 1.474 ^b	0.212 \pm 0.019	0.235 \pm 0.037 ^b
阳性药物对照组	肝素 100 U+ 地塞米松 1 mg/kg	10	9.601 \pm 2.680	10.169 \pm 1.458 ^d	0.251 \pm 0.054	0.250 \pm 0.072
血必净原剂型对照组	注射液 3.6 ml/kg	10	8.231 \pm 3.308	10.516 \pm 1.668 ^d	0.222 \pm 0.043	0.218 \pm 0.013
血必净口服泡腾片组	含生药 17.00 g/kg	10	10.008 \pm 1.681 ^c	10.105 \pm 1.263 ^d	0.223 \pm 0.035	0.200 \pm 0.038 ^c
	含生药 8.50 g/kg	10	9.565 \pm 2.368	9.799 \pm 1.296 ^d	0.250 \pm 0.056	0.196 \pm 0.027 ^c
	含生药 4.25 g/kg	10	8.078 \pm 2.628	10.343 \pm 1.124 ^d	0.239 \pm 0.032	0.239 \pm 0.067
	含生药 2.13 g/kg	10	7.873 \pm 2.565	9.827 \pm 1.353 ^d	0.243 \pm 0.046	0.227 \pm 0.022

注:SOD:超氧化物歧化酶,MDA:丙二醛;与正常对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与内毒素血症模型组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

抑菌^[1-2]、抗炎^[3-4]、抗内毒素^[5-6]对脓毒症和 MODS 发病的多个层次、多个环节发挥作用,阻断脓毒症和 MODS 的发生发展,降低病死率,提高存活率^[3,6-8],体现了中药多成分、多途径、多环节、多靶点和“菌、毒、炎”并治的特色和优势^[9]。最近的实验结果显示,血必净注射液能有效降低脓毒症患者辅助性 T 细胞 17 (Th17)和 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的异常表达,降低脓毒症的病死率^[10]。近年来的研究发现,血必净不仅对脓毒症具有治疗作用,其应用已经扩展到其他危重病的防治领域。李鑫和马晓春^[11]发现血必净注射液对肾脏微血管内皮细胞具有保护作用,其机制可能与降低活性氧(ROS)的表达,减弱核转录因子 κ B (NF- κ B)的活化有关。白云莘等^[12]对血必净注射液治疗急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的疗效和安全性进行了系统评价;郑瑞强等^[13]则发现血必净注射液对

ARDS 的改善可能与机体免疫状态的调节相关。王生级等^[14]和张彧等^[15]的临床观察表明,血必净注射液或联合其他治疗手段对急性百草枯中毒具有显著效果。王静等^[16]的研究结果表明早期应用血必净注射液能有效抑制重症创伤患者的炎症反应。

本实验中采用了 SOD 和 MDA 两个指标对大鼠器官损伤进行了评价。

SOD 和 MDA 水平测定是器官组织损伤的重要检测指标。SOD 是主要的抗氧化酶之一,可通过催化超氧阴离子自由基发生歧化反应,从而阻断自由基的毒性反应,清除超氧阴离子自由基,保护细胞免受损伤。氧自由基损伤细胞膜结构,生成大量脂质过氧化物,MDA 作为氧自由基与生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的最终代谢产物,间接反映了机体自由基产生的量和体内脂质过氧化反应的程度,而测定 MDA 含量可反

映机体内脂质过氧化程度,间接反映组织细胞氧化性损伤的程度。

血必净口服泡腾片作为血必净注射液的改进剂型,有利于血必净临床使用范畴的扩大,同时也增加了不同人群的剂型使用选择。本研究结果显示,血必净口服泡腾片能使内毒素中毒大鼠血清 BUN、Cr 含量显著降低,肾组织 SOD 活性显著增加,表明对肾脏具有明显的保护作用;还能显著降低血清 CK 水平,并对 AST、LDH 有降低趋势,表明对心脏的保护作用也很明显;同时可降低血中 AST、ALT、TG、TBil 含量,升高 ALB 含量,并能显著增加肝组织 SOD 活性,降低肝组织 MDA 含量,表明对肝脏也有明显的保护作用。综上所述,证实血必净口服泡腾片对内毒素损伤大鼠有明显的器官保护作用。

参考文献

[1] 雪琳. SIRS 和 MODS 防治新对策的实

- 验研究——血必净的药效学观察. 中国危重病急救医学, 1997, 9: 720-722.
- [2] 王今达, 雪琳. 细菌、内毒素、炎性介质并治——治疗重症脓毒病的新对策. 中国危重病急救医学, 1998, 10: 323-325.
- [3] 明自强, 俞林明, 吕银祥, 等. 血必净注射液治疗脓毒症患者抗炎作用观察. 现代中西医结合杂志, 2007, 16: 731-732.
- [4] 单智勇. 血必净治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期合并全身炎症反应综合征. 中原医刊, 2008, 35: 18-19.
- [5] 孟惠茹, 张玉想, 姜玲玲. 血必净对内毒素血症小鼠血浆内皮素-1 及肾损害的影响. 河北医科大学学报, 2008, 29: 353-356, 373.
- [6] 吴允孚, 陈刚, 席与斌. 血必净注射液对内毒素性肺损伤治疗作用的实验研究. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15: 181-182.
- [7] 高红梅, 常文秀, 曹书华. “血必净”注射液对内毒素刺激的内皮细胞的影响. 中国急救医学, 2005, 25: 437-438.
- [8] 张淑文, 孙成栋, 文燕, 等. 血必净注射液对脓毒症大鼠血清内毒素及脾脏特异性免疫功能的影响. 中国中西医结合急救杂志, 2007, 14: 91-94.
- [9] 马世堂, 刘培勋, 龙伟, 等. 血必净抗炎作用药效物质基础和多靶点作用效应. 物理化学学报, 2009, 25: 2080-2086.
- [10] 邵敏, 刘宝, 王锦权, 等. 脓毒症患者辅助性 T 细胞 17 和 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞表达及血必净注射液的干预作用. 中国危重病急救医学, 2011, 23: 430-434.
- [11] 李鑫, 马晓春. 血必净注射液对肾脏微血管内皮细胞发挥保护作用的机制探讨. 中国中西医结合急救杂志, 2012, 19: 94-97.
- [12] 白云苹, 王明航, 王海峰, 等. 血必净注射液治疗急性呼吸窘迫综合征随机对照试验的系统评价. 中国中西医结合急救杂志, 2011, 18: 69-74.
- [13] 郑瑞强, 陈齐红, 林华, 等. 血必净注射液对急性呼吸窘迫综合征患者免疫功能及预后影响的多中心随机对照临床研究. 中国中西医结合急救杂志, 2012, 19: 21-23.
- [14] 王生级, 范晓婷, 王伟. 血必净注射液对百草枯中毒短期预后影响的 Meta 分析. 中国中西医结合急救杂志, 2011, 18: 222-224.
- [15] 张彧, 龚平, 芦志丹. 血必净注射液联合血液滤过治疗急性百草枯中毒. 中国中西医结合急救杂志, 2011, 18: 231-234.
- [16] 王静, 高燕, 赵雪生, 等. 血必净注射液对重症创伤患者炎症反应的抑制作用. 中国中西医结合急救杂志, 2011, 18: 203-205.

(收稿日期: 2012-02-16)

(本文编辑: 李银平)

·读者·作者·编者·

本刊对计量单位及数字的要求

本刊执行 GB 3100 ~ 3102-1993《量和单位》中有关量、单位和符号的规定及其书写规则, 具体写作方法可参照中华医学会杂志社编写的《法定计量单位在医学上的应用》。注意单位名称与单位符号不可混用。组合单位符号中表示相除的斜线多于 1 条时应采用负数幂的形式表示, 组合单位中斜线和负数幂亦不可混用, 例如: ng/kg/min 应采用 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的形式, 不宜采用 $\text{ng} / \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的形式。在叙述中应先列出法定计量单位数值, 括号内写旧制单位数值; 如果同一计量单位反复出现, 可在首次出现时注出法定与旧制单位换算系数, 然后只列法定计量单位数值。参量及其公差均需附单位, 当参量与其公差的单位相同时, 单位可只写 1 次, 即加圆括号将数值组合, 置共同单位符号于全部数值之后。例如: “ $75.4 \text{ ng/L} \pm 18.2 \text{ ng/L}$ ” 可以表示为 “ $(75.4 \pm 18.2) \text{ ng/L}$ ”。量的符号一律用斜体字, 如吸光度(旧称光密度)的符号 “A”。

根据国家质量监督局和卫生部联合发出的质技监局函 [1998]126 号文件《关于血压计量单位使用规定的补充通知》, 凡是涉及人体及动物体内的压力测定, 可以使用 mm Hg 或 $\text{cm H}_2\text{O}$ 为计量单位, 但首次出现时应注明 mm Hg 或 $\text{cm H}_2\text{O}$ 与 kPa 的换算系数 ($1 \text{ mm Hg} = 0.133 \text{ kPa}$, $1 \text{ cm H}_2\text{O} = 0.098 \text{ kPa}$)。

对于数字的表示, 本刊执行 GB/T 15835-1995《出版物上数字用法的规定》。公历世纪、年代、年、月、日、时刻和计数、计量均用阿拉伯数字。百分数的范围和偏差, 前一个数字的百分符号不能省略, 例如: $5\% \sim 95\%$ 不能写成 $5 \sim 95\%$, $(50.2 \pm 0.6)\%$ 不能写成 $50.2 \pm 0.6\%$ 。附带尺寸单位的数值相乘, 按下列方式书写: $4 \text{ cm} \times 3 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$, 不能写成 $4 \times 3 \times 5 \text{ cm}^3$ 。

本刊对医学名词及术语的一般要求

医学名词应使用全国科学技术名词审定委员会公布的名词。尚未通过审定的学科名词, 可选用最新版《医学主题词表 (MeSH)》、《医学主题词注释字顺表》、《中医药主题词表》中的主题词。对于没有通用译名的名词术语, 在文内第一次出现时应注明原词。中西药名以最新版《中华人民共和国药典》和《中国药品通用名称》(均由中国药典委员会编写) 为准。英文药物名称则采用国际非专利药名。在题名及正文中, 药名一般不得使用商品名, 确需使用商品名时应先注明其通用名称。中医名词术语按 GB/T 16751.1-1997《中医临床诊疗术语疾病部分、证候部分、治法部分》执行, 经络针灸学名词术语按 GB/T 16751.2-1997《经穴部位》和 GB/T 16751.3-1997《耳穴名称与部位》执行。中药应采用正名, 药典未收录者应附注拉丁文。冠以外国人名的人名、病名、试验、综合征等, 人名可以用中译文, 但人名后不加“氏”(单字名除外, 例如福氏杆菌); 也可以用外文, 但人名后不加“s”。文中应尽量少用缩略语。已被公知公认的缩略语可以不加注释直接使用, 例如: DNA、RNA、HBsAg、CT、MRI 等。不常用的、尚未被公知公认的缩略语以及原词过长在文中多次出现者, 若为中文可于文中第一次出现时写出全称, 在圆括号内写出缩略语; 若为外文可于文中第一次出现时写出中文全称, 在圆括号内写出外文全称及其缩略语。不超过 4 个汉字的名词不宜使用缩略语, 以免影响论文的可读性。