

中药注射液预防脓毒症大鼠急性肾损伤的研究观察

苗友 李家瑞 曹书华

300100, 天津市南开医院急诊科(苗友, 现为天津中医药大学中西医结合临床专业博士), 重症医学科(李家瑞); 300192, 天津市第一中心医院重症医学科(曹书华)

通讯作者: 苗友, Email: nankaimiaoyou@126.com

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2018.04.005

【摘要】 目的 探讨中药注射液对脓毒症大鼠发生急性肾损伤(AKI)的影响。方法 选择 56 只 SD 大鼠,按随机数字表法分为假手术组(Sham 组, $n=8$)、模型组($n=16$)、血必净组($n=16$)、黄芪加柴胡组($n=16$)。采用盲肠结扎穿孔术(CLP)复制脓毒症大鼠模型, Sham 组仅开腹找到盲肠,血管钳拨弄数次后关闭腹腔。血必净组术后经尾静脉注射血必净注射液 4 mL/kg, 每 12 h 1 次,腹腔注射生理盐水 13 mL/kg, 每日 1 次, 联用 7 d;黄芪加柴胡组腹腔注射黄芪注射液 8 mL/kg 和柴胡注射液 5 mL/kg, 每日 1 次,经尾静脉注射生理盐水 4 mL/kg, 每 12 h 1 次,连用 72 h。观察各组大鼠死亡率和 AKI 发生率。结果 血必净组和黄芪加柴胡组大鼠死亡率和 24 h 内 AKI 发生率明显低于模型组[死亡率:25.0%(4/16)、12.5%(2/16)比 100.0%(16/16), AKI 发生率:43.8%(7/16)、6.2%(1/16)比 62.5%(10/16), 均 $P<0.05$], 且黄芪加柴胡组 24 h 内 AKI 发生率低于血必净组[6.2%(1/16)比 43.8%(7/16), $P<0.05$]。结论 血必净、黄芪与柴胡注射液对脓毒症导致的 AKI 都有一定的预防作用,黄芪注射液合用柴胡注射液的作用比单用血必净注射液的效果更好。

【关键词】 中药注射液; 脓毒症; 肾损伤, 急性

基金项目: 天津市医药卫生重点学科攻关项目(10KG118)

Effect of traditional Chinese medicine injection on preventing acute renal injury in rats with sepsis Miao You, Li Jiarui, Cao Shuhua

Department of Emergency, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China (Miao Y, Miao You is now a doctor of Clinical Medicine in Integrative Medicine of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine); Department of Critical Care Medicine, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China (Li JR); Department of Critical Care Medicine, Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192, China (Cao SH)

Corresponding author: Miao You, Email: nankaimiaoyou@126.com

【Abstract】 **Objective** To discuss the effect of traditional Chinese medicine (TCM) injection on the occurrence of acute kidney injury (AKI) in septic rats. **Methods** Fifty-six Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into Sham group ($n=8$), model group ($n=16$), Xuebijing group ($n=16$) and Astragalus combined with Bupleurum group ($n=16$). The sepsis model was established by cecal ligation and perforation (CLP), in the Sham group, only the caecum was found by laparotomy, and the abdominal cavity was closed after blood vessel forceps were plucked several times around the caecum. In the Xuebijing injection group, after modeling 4 mL/kg of Xuebijing was injected via tail vein once every 12 hours, and 13 mL/kg of normal saline was injected intraperitoneally once a day for consecutive 7 days. In Astragalus combined with Bupleurum group, Astragalus injection 8 mL/kg and Bupleurum injection 5 mL/kg were intraperitoneally injected once a day, and 4 mL/kg saline was injected via tail vein once every 12 hours for 72 hours. The mortality and incidence of AKI were observed in each group. **Results** The mortality and incidence of AKI in 24 hours in Xuebijing group and Astragalus combined with Bupleurum group were significantly lower than those in model group [mortality rate: 25.0% (4/16), 12.5% (2/16) vs. 100.0% (16/16), AKI incidence: 43.8% (7/16), 6.2% (1/16) vs. 62.5% (10/16), all $P<0.05$], while the incidence of AKI within 24 hours in Astragalus combined with Bupleurum group was lower than that in Xuebijing group [6.2% (1/16) vs. 43.8% (7/16), $P<0.05$]. **Conclusion** Xuebijing injection, as well as Astragalus combined with Bupleurum injection have a certain preventive effect on AKI caused by sepsis, and the effect of Astragalus combined with Bupleurum injection is better than that of Xuebijing injection alone.

【Key words】 Traditional Chinese medicine injection; Sepsis; Acute kidney injury

Fund program: Key Discipline Projects of Medicine and Health in Tianjin (10KG118)

脓毒症是宿主对感染的应答失调所致的威胁生命的器官功能障碍^[1],是急诊科、重症医学科等常见的急危重症。急性肾损伤(AKI)是指各种原因引起肾脏功能损害,以致肾小球滤过率在短时间迅速下降,引起氮质代谢产物积聚,水、电解质和酸碱平衡失调及全身并发症的一种严重临床综合征,是重症患者较严重的并发症之一^[2],也是导致患者死亡

的独立危险因素^[3]。肌酐(Scr)、中性粒细胞明胶相关脂质运载蛋白(NGAL)、肝型脂肪结合蛋白(L-FABP)是诊断 AKI 的生物标志物^[4]。脓毒症是导致 AKI 的重要危险因素^[5]。脓毒症如果病情进展,可进一步发展为严重脓毒症,并发 AKI 和多器官功能衰竭。现代医学对于脓毒症导致的 AKI 仍以肾脏替代治疗为主,有些药物的研制还处在动物

实验阶段^[6]。现代医学对于脓毒症和由脓毒症导致 AKI 的治疗取得了显著进展,但病死率仍然较高,预后差^[7]。

中医药学是个巨大的宝库,现代研究认为中医药在急危重症患者的治疗中有重要作用。因此,通过实验、临床等方法不断研究和总结出中医药治疗包括 AKI 在内的急危重症的经验,对于降低患者病死率,提高近期和远期存活率,减少医疗费用都有极其重要的意义。本研究通过动物实验观察中药血必净注射液及柴胡和黄芪注射液联合应用对脓毒症大鼠 AKI 的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物:选择 8~10 周龄清洁级雄性 SD 大鼠 56 只,体质量 200~250 g,购自北京大学医学部实验动物中心,动物许可证号:SCXK(京)2011-0012。购入后于天津市动物实验中心饲养 3 d 以适应环境。

1.2 动物分组及处理:将大鼠按随机数字表法分为假手术组(Sham 组, $n=8$)、模型组($n=16$)、血必净组($n=16$)、黄芪加柴胡组($n=16$)。采用盲肠结扎穿孔术(CLP)复制脓毒症动物模型,Sham 组仅开腹找到盲肠、血管钳拨弄数次后即关闭腹腔。Sham 组和模型组术后经尾静脉注射生理盐水 4 mL/kg、每 12 h 1 次,腹腔注射生理盐水 13 mL/kg、每日 1 次;血必净组经尾静脉注射血必净 4 mL/kg、每 12 h 1 次,腹腔注射生理盐水 13 mL/kg、每日 1 次;黄芪加柴胡组经尾静脉注射生理盐水 4 mL/kg、每 12 h 1 次,腹腔注射黄芪注射液 8 mL/kg 和柴胡注射液 5 mL/kg、每日 1 次;各组动物均治疗 72 h。

1.3 伦理学:本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.4 AKI 诊断标准:采用改善全球肾脏病预后组织(KDIGO)提出的 AKI 诊断和分级标准^[7]。KDIGO 的 AKI 诊断标准为:患者血清肌酐(SCr)在 48 h 内升高 $\geq 26.5 \mu\text{mol/L}$ 或 SCr \geq 基础值的 1.5 倍(基础值为此前 7 d 内已知或推测的 SCr 值);或尿量 $< 0.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 持续 6 h。由于模型组大鼠于 24 h 后死亡较多,并且 24 h 前已发生较多 AKI,为保证指标分析时的统计效能,故将大鼠诊断为 AKI 的时间缩短为 24 h,即大鼠术后 24 h 内 SCr 超过基线值的 50% 即认为发生 AKI。

1.5 观察指标:观察各组大鼠术后即刻和术后 6、12、18、24、36、48、72 h 的死亡率及 AKI 发生率。

1.6 统计学分析:使用 SPSS 20.0 统计软件分析数据,符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用重复测量的方差分析;计数资料以率表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠死亡情况比较(表 1):实验期间死亡大鼠 22 只,其中模型组均未能完成实验,血必净组有 4 只大鼠未能完成实验,黄芪加柴胡组有 2 只未能完成实验。模型组死亡率较 Sham 组明显升高,血必净组、黄芪加柴胡组死亡率较模型组明显降低($P < 0.05$)。

2.2 AKI 发生率(表 2):实验期间除未发生 AKI 即死亡动物,共发生 AKI 动物数为 41 只,发生 AKI 动物多集中在术后 12~18 h 和 24~36 h,两个时间段

表 1 各组大鼠预后情况比较

组别	动物数(只)	生存时间(h, $\bar{x} \pm s$)	存活动物数(只)							死亡率 [% (只)]
			术后 6 h	术后 12 h	术后 18 h	术后 24 h	术后 36 h	术后 48 h	术后 72 h	
Sham 组	8	72.00 \pm 0.00	8	8	8	8	8	8	8	0 (0)
模型组	16	23.63 \pm 11.89 ^a	16	16	13	6	2	0	0	100.0(16) ^a
血必净组	16	64.13 \pm 17.90 ^b	16	16	16	15	14	14	12	25.0(4) ^b
黄芪加柴胡组	16	66.75 \pm 15.80 ^b	16	16	15	15	15	15	14	12.5(2) ^b

注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$

表 2 各组大鼠 AKI 发生情况比较

组别	动物数(只)	AKI 发生情况(只)							24 h 内 AKI 发生率 [% (只)]
		术后 6 h	术后 12 h	术后 18 h	术后 24 h	术后 36 h	术后 48 h	术后 72 h	
Sham 组	8	0	0	0	0	0	0	0	0 (0)
模型组	16	0	2	7	1	0	0	0	62.5(10) ^a
血必净组	16	0	1	2	4	4	2	3	43.8(7) ^b
黄芪加柴胡组	16	0	0	0	1	5	5	4	6.2(1) ^{bc}

注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与血必净组比较,^c $P < 0.05$

各死亡 12 只和 15 只;模型组和血必净组最早发生 AKI,分别为 2 只和 1 只,发生时间为 6~12 h。至术后 24 h,模型组 AKI 发生率明显高于血必净组和黄芪加柴胡组,血必净组明显高于黄芪加柴胡组(均 $P<0.05$)。

3 讨论

现代医学发展迅速,在各领域不断取得成就,但对于脓毒症和 AKI 在内的各种急危重症的疗效并不理想。尽管如此,临床上对于急危重症的治疗现代医学仍具有明显的优势,中医处于劣势地位,中医药参与率不高^[8]。因此,发掘中医药治疗急危重症、提高脓毒症 AKI 临床疗效的药物具有十分重要的意义。

中医学并没有 AKI 的病名,根据 AKI 的主要临床表现为水肿、少尿、无尿等,可将其归属于中医“关格”“癃闭”“水肿”等病的范畴。《证治汇补》《景岳全书》《伤寒论》《金匱要略》等中医古籍对 AKI 的症状、体征、发病过程、预后判断等均进行了描述^[9]。

中医学认为 AKI 的病因为内因、外因、非内外因。内因强调机体自身体质虚弱,外因为感受六淫邪气,非内外因为机体受到药物、虫蛇咬伤等损害。机体在体质虚弱情况下,复感六淫邪气或受药物等损害,肺、脾、肾功能障碍,导致三焦气化不利,水液停滞,发为少尿、水肿等。AKI 发病机制为虚实夹杂,久病入络,瘀血内生,病情危重难愈,其中瘀血阻络和正气不足为两个关键环节。因此本研究选用具有活血化瘀功效的血必净注射液和具有补气功效的黄芪及柴胡注射液作为研究用药,观察其对脓毒症大鼠 AKI 的预防效果。血必净源于中药名方血府逐瘀汤,为活血化瘀通络的代表方剂,可通过改善微循环、调节免疫等作用保护器官功能,进而降低脓毒症患者的病死率、改善预后^[10-12]。黄芪为常用补气中药,主要成分为黄芪总黄酮、黄芪总皂苷和黄芪多糖,柴胡为中医治疗热证等疾病的常用药,其中药制品黄芪注射液、柴胡注射液在临床应用广泛,并取得显著疗效,但其对于 AKI 的研究相对较少。本研究结果显示,中药注射液均有明显预防 AKI 的作用,且黄芪加柴胡的作用优于单用血必净注射液。对于这个结果我们考虑,瘀血阻络和正气不足为 AKI 发病过程中两个关键环节,而正气不足应该更为重要。正如《素问·刺法论》曰“正气存内,邪不可干”。如果机体正气充足,足以抵抗外邪,不致发病。这为临床预防和治疗脓毒症引发的 AKI 提供

了一定思路,即在防治脓毒症伴 AKI 时更应该重视扶助机体正气。当然,其结果仅限于实验研究,缺少临床研究的支持,今后应进一步深入开展相关临床研究加以证实。

参考文献

- [1] Kaukonen KM, Bailey M, Pilcher D, et al. Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372 (17): 1629-1638. DOI: 10.1056/NEJMoa1415236.
- [2] 陈灏珠. 实用内科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013. Chen HZ. *Practical Internal Medicine* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2013.
- [3] 韩静, 邱俏檬, 吴斌, 等. 脓毒症并发急性肾损伤患者临床特点及预后因素分析 [J]. *中华危重症医学杂志(电子版)*, 2014, 7 (1): 30-34. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6880.2014.01.007. Han J, Qiu QM, Wu B, et al. Clinical characteristics and prognostic factors of sepsis-induced acute kidney injury [J]. *Chin J Crit Care Med (Electronic Edition)*, 2014, 7 (1): 30-34. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6880.2014.01.007.
- [4] 李永姝, 贾克刚. 急性肾损伤标志物及其在心血管相关肾病中应用的研究进展 [J]. *实用检验医师杂志*, 2015, 7 (2): 115-118. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.02.013. Li YS, Jia KG. Research progress on markers of acute renal injury and its application in cardiovascular related nephropathy [J]. *Chin J Clin Pathol*, 2015, 7 (2): 115-118. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.02.013.
- [5] Tao Li PK, Burdmann EA, Mehta RL. Acute kidney injury: global health alert [J]. *Int J Organ Transplant Med*, 2013, 4 (1): 1-8.
- [6] 严文艳, 毛慧娟. 脓毒症性急性肾损伤的诊疗进展 [J]. *临床肾脏病杂志*, 2016, 16 (2): 120-123. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2016.02.13. Yan WY, Mao HJ. Progress in diagnosis and treatment of septic acute renal injury [J]. *J Clin Nephrol*, 2016, 16 (2): 120-123. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2016.02.13.
- [7] Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury [J]. *Kidney Int*, 2012, 2 (Sup 1): 1-138. DOI: 10.1038/kisup.2012.1.
- [8] 王今达. 开展中西医结合治疗急性危重病的思路和方法 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2000, 7 (6): 323. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.2000.06.001. Wang JD. Thoughts and methods of developing integrated traditional Chinese and western medicine in the treatment of acute critical diseases [J]. *Chin J TCM WM Crit Care*, 2000, 7 (6): 323. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.2000.06.001.
- [9] 王骞, 龚学忠. 急性肾损伤中医病因病机及治疗的探讨 [J]. *成都中医药大学学报*, 2013, 36 (4): 107-109, 111. Wang Q, Gong XZ. Discussion on traditional chinese medicine pathogenesis and treatment of acute kidney injury [J]. *J Chengdu Univ TCM*, 2013, 36 (4): 107-109, 111.
- [10] 张继翔, 李家瑞, 乔佑杰, 等. 血必净注射液治疗脓毒症急性肾损伤的临床疗效及对炎症因子的影响 [J]. *天津中医药*, 2016, 33 (1): 13-17. DOI: 10.11656/j.issn.1672-1519.2016.01.04. Zhang JA, Li JR, Qiao YJ, et al. Clinical efficacy of Xuebijing injection on acute kidney injury induced by sepsis and its effects on inflammatory cytokines [J]. *Tianjin J Tradit Chin Med*, 2016, 33 (1): 13-17. DOI: 10.11656/j.issn.1672-1519.2016.01.04.
- [11] 张荣, 张高峰, 陈洁. 血必净注射液对严重脓毒症患者凝血功能及预后的影响 [J]. *成都医学院学报*, 2016, 11 (1): 48-51. DOI: 10.3969/j.issn.1674-2257.2016.01.011. Zhang R, Zhang GF, Chen J. Impact of Xuebijing injection on coagulation function and prognosis of patients with severe sepsis [J]. *J Chengdu Med Coll*, 2016, 11 (1): 48-51. DOI: 10.3969/j.issn.1674-2257.2016.01.011.
- [12] 陈云霞, 李春盛. 血必净治疗脓毒症的随机对照多中心临床研究 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2013, 22 (2): 130-135. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2013.02.006. Chen YX, Li CS. The effectiveness of Xuebijing injection in therapy of sepsis: a multicenter clinical study [J]. *Chin J Emerg Med*, 2013, 22 (2): 130-135. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2013.02.006.

(收稿日期: 2018-01-30)