

## 温阳败毒饮对脓毒症大鼠肝肾功能的影响

张铄 梁静 王素娟

030013 山西太原, 山西省中西医结合医院 ICU

通信作者: 梁静, Email: liangjing829@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2018.06.018

**【摘要】目的** 观察温阳败毒饮对脓毒症大鼠血清肝脏 DeRitis 比值〔即天冬氨酸转氨酶/丙氨酸转氨酶 (AST/ALT) 比值〕和肾脏中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (NGAL) 水平的影响。**方法** 选择 120 只 SD 大鼠,按随机数字表法将大鼠分为正常对照组、模型组、西药治疗组、中药治疗组、联合用药组,每组 24 只。采用腹腔内注射大肠杆菌内毒素的方法制备大鼠脓毒症模型;制模后 2 h 西药治疗组给予地塞米松 2.5 mg/kg 灌胃;中药治疗组给予温阳败毒饮(金银花 30 g、蒲公英 30 g、附子 30 g,水煎 2 次,所得药液浓缩制成干膏备用,使用时用温水溶化,每日 2 次)8 g/kg 灌胃;联合用药组给予温阳败毒饮 + 地塞米松灌胃;正常对照组、模型组给予生理盐水灌胃。比较制模后 24、48、72 h 各组 DeRitis 比值及 NGAL 水平的差异。**结果** 模型组制模后 24、48、72 h DeRitis 比值和 NGAL 水平均较正常对照明显升高〔DeRitis 比值分别为  $4.14 \pm 0.53$  比  $2.08 \pm 0.37$ 、 $4.78 \pm 0.07$  比  $1.73 \pm 0.61$ 、 $4.83 \pm 0.31$  比  $1.05 \pm 0.20$ , NGAL (ng/L) 分别为  $2\ 412.73 \pm 368.03$  比  $837.52 \pm 142.98$ 、 $1\ 735.16 \pm 290.76$  比  $817.38 \pm 102.08$ 、 $1\ 838.43 \pm 295.44$  比  $847.82 \pm 140.14$ , 均  $P < 0.05$ 〕。西药治疗组、中药治疗组和联合用药组各时间点 DeRitis 比值和 NGAL 均较模型组明显降低,且以联合用药组的降低程度更显著,制模后 48 h 联合用药组与西药治疗组、中药治疗组比较出现统计学差异〔DeRitis 比值:  $3.09 \pm 0.15$  比  $3.68 \pm 0.44$ 、 $3.27 \pm 0.62$ , NGAL (ng/L):  $1\ 105.32 \pm 270.27$  比  $1\ 206.35 \pm 143.82$ 、 $1\ 526.53 \pm 289.02$ 〕,持续到 72 h 达到最低水平〔DeRitis 比值:  $2.27 \pm 0.26$  比  $2.93 \pm 0.38$ 、 $2.61 \pm 0.54$ , NGAL (ng/L):  $903.47 \pm 105.37$  比  $9\ 316.05 \pm 116.23$ 、 $1\ 025.14 \pm 152.68$ , 均  $P < 0.05$ 〕。联合用药组在改善脓毒症大鼠 DeRitis 比值和 NGAL 方面较单用西药或单用中药具有明显优势。**结论** 温阳败毒饮具有有效降低内毒素诱导的脓毒症大鼠肝脏 DeRitis 比值、肾脏 NGAL 水平的作用。

**【关键词】** 温阳败毒饮; 脓毒症; DeRitis 比值; 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白

**基金项目:** 山西省医药卫生科研课题 (2014106)

**A study on effects of Wenyang Baidu Yin on liver and kidney function of septic rats** Zhang Shuo, Liang Jing, Wang Sujuan

Department of Intensive Care Unit, Shanxi Provincial Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Taiyuan 030013, Shanxi, China

Corresponding author: Liang Jing, Email: liangjing829@163.com

**【Abstract】Objective** To observe the effects of Wenyang Baidu Yin on the serum liver DeRitis ratio [aspartate aminotransferase/alanine aminotransferase (AST/ALT) ratio] and the level of renal neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in septic rats. **Methods** One hundred and twenty healthy male sprague-dawley (SD) rats were divided into normal control group, model group, western medicine treatment group, traditional Chinese medicine (TCM) treatment group and combined medicine group by random number table method, with 24 rats in each group. Rat sepsis model was established by intra-peritoneal injection of *E.coli* endotoxin; after modeling for 2 hours, normal control group and model group were given normal saline intragastric administration, western medicine treatment group was given dexamethasone 2.5 mg/kg intra-gastric administration, TCM treatment group was given Wenyang Baidu Yin intragastric administration (honeysuckle 30 g, dandelion 30 g, aconite 30 g, mixed with water and after two times of boiling, the obtained liquid was concentrated and made into dry ointment for reserve, when the ointment was used, it was dissolved in warm water to 8 g/kg, administered by gavage, twice a day), the combined medicine group was given both the above TCM decoction and dexamethasone dosages by gavage. After modeling for 24, 48 and 72 hours, the differences of DeRitis ratio and NGAL levels were compared among various groups. **Results** The DeRitis ratio and NGAL level in the model group were significantly higher than those in the normal control group at 24, 48, 72 hours after modeling (DeRitis ratio:  $4.14 \pm 0.53$  vs.  $2.08 \pm 0.37$ ,  $4.78 \pm 0.07$  vs.  $1.73 \pm 0.61$ ,  $4.83 \pm 0.31$  vs.  $1.05 \pm 0.20$  respectively, NGAL was  $2\ 412.73 \pm 368.03$  vs.  $837.52 \pm 142.98$ ,  $1\ 735.16 \pm 290.76$  vs.  $817.38 \pm 102.08$ ,  $1\ 838.43 \pm 295.44$  vs.  $847.82 \pm 140.14$  respectively, all  $P < 0.05$ ). The DeRitis ratios and NGAL levels of western medicine treatment group, TCM treatment group and combined medicine group were significantly lower than those of model group at each time point, and the decrease degree of combined medicine group was more significant, there were statistical differences 48 hours after modeling between combined medicine group and Western medicine treatment group and between combined group and TCM treatment group [DeRitis ratio:  $3.09 \pm 0.15$  vs.  $3.68 \pm 0.44$ ,  $3.27 \pm 0.62$ , NGAL (ng/L):  $1\ 105.32 \pm 270.27$  vs.  $1\ 206.35 \pm 143.82$ ,  $1\ 526.53 \pm 289.02$ ], and reached the lowest level until 72 hours [DeRitis ratio:

2.27±0.26 vs. 2.93±0.38, 2.61±0.54, NGAL (ng/L): 903.47±105.37 vs. 9 316.05±116.23, 1 025.14±152.68, all  $P < 0.05$ ], showing the usage of combined therapeutic method in the aspect of improving DeRitis ratio and NGAL of septic rats was prominently superior than using either western medicine or TCM decoction alone. **Conclusion** Wenyang Baidu Yin can effectively reduce the liver DeRitis ratio and the kidney NGAL level in endotoxin-induced septic rats.

**【Key words】** Wenyang Baidu Yin; Sepsis; DeRitis ratio; Neutrophil gelatinase-associated lipocalin

**Fund program:** Scientific Research Project of Shanxi Health and Family Planning Commission (2014106)

脓毒症是指因感染而诱发宿主反应失调导致危及生命的器官功能障碍<sup>[1]</sup>。肾脏中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)是一种相对分子量较小的分泌蛋白,显著表达于受损的上皮细胞中,近年来研究表明,血清和尿液中 NGAL 水平可作为评价肾功能的指标<sup>[2]</sup>。肝脏 DeRitis 比值即天冬氨酸转氨酶/丙氨酸转氨酶(AST/ALT)比值,其升高程度与肝细胞受损程度有关,是最常用的反映肝功能损伤程度的指标<sup>[3]</sup>。脓毒症可导致肝脏和肾脏的损伤。近年来中医药研究在治疗脓毒症方面取得较多成果,主要表现在抑制炎症因子、调节免疫、改善微循环等方面。本研究从扶正固本立意观察温阳败毒饮对脓毒症大鼠肝肾功能的影响,从而为临床预防脓毒症多器官功能损伤提供理论基础。

## 1 材料与方法

**1.1 主要实验设备:** ① 美国博腾 Senergy IV 型多功能微孔板检测仪; ② 德国赛多利斯电子天平; ③ DK-80 型恒温水浴槽; ④ 德国艾本德精密移液器; ⑤ 全自动生化分析仪。

**1.2 实验动物及分组:** 选择 120 只清洁级 SD 大鼠, 体质量 180~220 g, 雌雄各半, 由山西医科大学动物实验室提供, 动物生产许可证号: 20124014。按随机数字表法将大鼠分为正常对照组、模型组、西药治疗组、中药治疗组和中西联合用药组, 每组 24 只。

**1.3 脓毒症大鼠模型的复制:** 采用向大鼠腹腔内注射大肠杆菌内毒素脂多糖(LPS, 美国 Sigma 公司) 10 mg/kg 的方法制备脓毒症大鼠模型。

本实验中实验动物处置符合动物伦理学标准。

**1.4 给药方法:** 根据人与大鼠体表面积折算系数换算灌胃量。制模后 2 h, 西药治疗组给予地塞米松(由天津金耀药业有限公司生产, 规格 5 mg/mL, 生产批号: 201606262) 2.5 mg/kg 灌胃, 每日 2 次; 中药治疗组给予温阳败毒饮(金银花 30 g、蒲公英 30 g、附子 30 g, 饮片由本院中药房提供的同一批次产品, 水煎 2 次, 所得药液浓缩制成干膏备用, 使用时用温水溶化) 8 g/kg 灌胃, 每日 2 次; 联合用药组同时给予给予温阳败毒饮和地塞米松, 用药方法同前; 正常对照组、模型组给予等量生理盐水灌胃。

## 1.5 检测指标及方法

**1.5.1 NGAL 含量的测定:** 于制模后 24、48、72 h 3 个时间点每组各取 8 只大鼠, 麻醉后经膀胱穿刺收集尿液, 离心取上清液置于 -20 °C 冰箱待测。用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定各组 NGAL 含量, 严格按试验盒说明书操作。

**1.5.2 DeRitis 比值测定:** 于制模后 24、48、72 h 3 个时间点每组各取 8 只大鼠, 麻醉后打开腹腔, 腹主动脉取血, 静置 20 min 后离心取上清液置于 -20 °C 冰箱待测。取备好的血清 0.5 mL, 采用全自动生化分析仪检测各组大鼠不同时间点血清 ALT、AST 水平, 计算 DeRitis 比值。

**1.6 统计学方法:** 使用 SPSS 19.0 统计软件分析数据, 符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 两组间均数比较采用  $t$  检验, 多组间均数比较采用单因素方差分析;  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般资料:** 到制模后 72 h, 模型组剩余 5 只大鼠, 西药治疗组、中药治疗组各剩余 6 只大鼠, 正常对照组和联合用药组各剩余 8 只大鼠。

**2.2 各组大鼠不同时间点肝肾功能急性损伤水平变化的比较(表 1~2):** 制模后不同时间点模型组 DeRitis 比值、NGAL 水平均较正常对照组明显升高; 西药治疗组、中药治疗组和联合用药组均较模型组明显降低, 且以联合用药组的降低程度更显著, 制模后 72 h 达到最低水平; 制模后 48 h 联合用药组与西药治疗组、中药治疗组出现统计学差异, 持续到制模后 72 h (均  $P < 0.05$ )。

表 1 各组大鼠不同时间点 DeRitis 水平的变化比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	DeRitis 比值		
	制模后 24 h	制模后 48 h	制模后 72 h
正常对照组	2.08±0.37(8)	1.73±0.61(8)	1.05±0.20(8)
模型组	4.14±0.53(8) <sup>a</sup>	4.78±0.07(8) <sup>a</sup>	4.83±0.31(5) <sup>a</sup>
西药治疗组	3.01±0.23(8) <sup>ab</sup>	3.68±0.44(8) <sup>ab</sup>	2.93±0.38(6) <sup>ab</sup>
中药治疗组	2.94±0.98(8) <sup>ab</sup>	3.27±0.62(8) <sup>ab</sup>	2.61±0.54(6) <sup>ab</sup>
联合用药组	2.63±0.79(8) <sup>ab</sup>	3.09±0.15(8) <sup>abc</sup>	2.27±0.26(8) <sup>abc</sup>

注: 与正常对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与西药治疗组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 括号内为动物数

表 2 各组大鼠不同时间点 NGAL 的变化比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	NGAL (ng/L)		
	制模后 24 h	制模后 48 h	制模后 72 h
正常对照组	837.52 ± 142.98 (8)	817.38 ± 102.08 (8)	847.82 ± 140.14 (8)
模型组	2 412.73 ± 368.03 (8) <sup>a</sup>	1 735.16 ± 290.76 (8) <sup>a</sup>	1 838.43 ± 295.44 (5) <sup>a</sup>
西药治疗组	1 523.61 ± 208.33 (8) <sup>ab</sup>	1 206.35 ± 143.82 (8) <sup>ab</sup>	9 316.05 ± 116.23 (6) <sup>ab</sup>
中药治疗组	1 782.66 ± 309.62 (8) <sup>ab</sup>	1 526.53 ± 289.02 (8) <sup>ab</sup>	1 025.14 ± 152.68 (6) <sup>ab</sup>
联合用药组	1 659.72 ± 184.77 (8) <sup>ab</sup>	1 105.32 ± 270.27 (8) <sup>abc</sup>	903.47 ± 105.37 (8) <sup>abc</sup>

注:与正常对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与西药治疗组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;括号内为动物数

### 3 讨论

脓毒症是由感染引起的全身炎症反应,病情转变快、发展迅速,目前脓毒症及其引发的器官功能损伤是重症医学科(ICU)的常见疾病。近年来,随着对脓毒症病理研究的深入及医学治疗技术的提高,脓毒症患者的病死率明显下降,但脓毒症仍是 ICU 患者死亡的主要原因<sup>[3]</sup>。其中免疫系统过度激活,炎症介质大量释放加剧了器官功能的损伤。

肝脏 DeRitis 比值即 AST/ALT 比值。ALT、AST 主要分布在肝细胞内,其升高程度与肝细胞受损程度相关,DeRitis 比值的变化可以反映肝脏的损伤程度。ALT 主要分布在肝细胞胞质内,AST 主要分布在肝细胞胞质和线粒体中。肝细胞发生炎症病变时水肿和坏死,细胞膜通透性增加,ALT 释放进入血液循环,使血清 ALT 升高;当肝脏发生严重坏死或破坏时,才出现 AST 升高<sup>[4]</sup>。

NGAL 是一种相对分子质量较小的分泌蛋白,可与中性粒细胞明胶酶形成共价结合,在人体肾脏、肺、胃和大肠组织中表达较少,但在受损的上皮细胞中表达显著升高,检测血清和尿液中的 NGAL 对评价肾功能方面可能优于传统指标。在缺血引起的肾损伤中,受损的肾小管上皮细胞能产生大量 NGAL,NGAL 一方面能诱导肾小管间质中浸润的中性粒细胞发生凋亡以保护肾组织免受炎症细胞的侵害,另一方面还可诱导肾间质细胞向肾小管上皮细胞转化,从而诱导肾小管上皮细胞的再生<sup>[5-6]</sup>。

现代药理学研究显示,中药金银花、蒲公英等清热解毒类药有抗内毒素、减轻炎症反应的作用<sup>[7]</sup>,附子可益气回阳救逆,有助于改善心功能和微循环<sup>[8]</sup>。温阳败毒饮选用金银花、附子、蒲公英为主药,以清热解毒、温阳救逆为主要功效,对脓毒症引起的严重感染、发热、休克等器官功能障碍有积极的治疗作用。本课题组前期研究表明,温阳败毒饮能有效降低脓毒症大鼠血清心肌肌钙蛋白 I (cTnI) 和支气管肺泡灌液液 (BALF) 中肺表面活性

蛋白 A (SP-A) 水平<sup>[9]</sup>。本研究表明,温阳败毒饮对脓毒症大鼠肝脏及肾脏损伤具有保护作用,且中西医结合治疗有助于改善预后。本研究为脓毒症中医治疗提供了新的思路,但温阳败毒饮的作用机制仍需进一步研究,以期为临床应用提供更有力的支持。

### 参考文献

- [1] 谢剑锋,邱海波. 拯救脓毒症运动: 脓毒症与感染性休克治疗国际指南(2016)的进展与评论 [J/OL]. 中华重症医学电子杂志(网络版), 2017, 3 (1): 18-25.  
Xie JF, Qiu HB. Surviving sepsis campaign: international guideline for management of sepsis and septic shock (2016): progress and comments [J/OL]. Chin J Crit Care Intensive Care Med (Electronic Edition), 2017, 3 (1): 18-25.
- [2] 冯玉玺,李爱丽. “三证三法”治疗脓毒症心肌抑制的研究进展 [J]. 医学综述, 2013, 19 (15): 2775-2777. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2013.15.029.  
Feng YX, Li AL. Research progress in three syndrome patterns and three treatments for myocardial depression in sepsis [J]. Med Recapitol, 2013, 19 (15): 2775-2777. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2013.15.029.
- [3] Rudiger A, Singer M. The heart in sepsis: from basic mechanisms to clinical management [J]. Curr Vasc Pharmacol, 2013, 11 (2): 187-195.
- [4] 刘大为. 实用重症医学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 387-399.  
Liu DW. Practical critical care [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2012: 387-399.
- [5] 李锦艳,刘虹,辛小梅. 内毒素致大鼠急性肾损伤早期 NGAL 和 KIM-1 的变化 [J]. 中国医疗前沿(上半月), 2011, 6 (9): 18-19. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5552.2011.09.0009.  
Li JY, Liu H, Xin XM. Change of NGAL and KIM-1 in the early period of acute kidney injury by lipopolysaccharide-induced in rats [J]. Natl Med Front China, 2011, 6 (9): 18-19. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5552.2011.09.0009.
- [6] 臧秀娟,安淑娴,郑峰,等. NGAL 对大鼠肾脏缺血再灌注损伤作用机制的体内研究 [J]. 实用医学杂志, 2013, 29 (7): 1060-1063. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2013.07.011.  
Zang XJ, An SX, Zheng F, et al. Effects of NGAL on renal ischemia reperfusion injury in rats *in vivo* [J]. J Pract Med, 2013, 29 (7): 1060-1063. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2013.07.011.
- [7] 沈自尹. 清热解药对感染性炎症作用原理的新认识 [J]. 中国中西医结合杂志, 1997, 17 (10): 628-629.  
Shen ZY. A new understanding of the mechanism of action of antipyretic drugs on infectious inflammation [J]. CJITWM, 1997, 17 (10): 628-629.
- [8] 王鄂友,胡刚,刘先义,等. 参附注射液对缺血再灌注大鼠肠黏膜 NF- $\kappa$ B 和 TNF- $\alpha$  表达的影响 [J]. 中国中医急症, 2005, 14 (3): 252-253. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2005.03.036.  
Wang EY, Hu G, Liu XY, et al. The effect of Shenfu injection on the expression of NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$  during intestinal ischemia-reperfusion in rats [J]. J Emerg Tradit Chin Med, 2005, 14 (3): 252-253. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2005.03.036.
- [9] 梁静,张钰,赵杰. 温阳败毒饮对脓毒症大鼠心肌肌钙蛋白 I 及肺表面活性蛋白 A 水平的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2018, 25 (5): 526-528. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2018.05.019.  
Liang J, Zhang S, Zhao J. Effect of Wenyang Baidu Yin on myocardial troponin I and pulmonary surfactant protein A levels in sepsis rats [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2018, 25 (5): 526-528. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2018.05.019.

(收稿日期: 2018-05-07)