

香丹注射液对家兔内毒素性肾脏 DIC 的影响

王 华, 周孝琼

(龙岩学院 生命科学学院, 福建 龙岩 364000)

摘要:旨在研究香丹注射液对家兔内毒素性肾脏 DIC 的防护作用及其作用机理. 静脉注射大肠埃希菌 O₁₁₁B₄ 内毒素生理盐水溶液制作 DIC 肾脏模型, 注射香丹注射液观察其对 DIC 家兔肾脏的防护作用, 及其对内毒素的体内、外降解作用. 病理组织学观察结果表明, 香丹注射液能够明显减轻内毒素所致肾脏的损伤, 和对照组相比, 香丹组家兔的 DIC 肾小球的检出率、肾小球纤维素密度指数、上皮细胞变性坏死以及管型形成肾小管的检出率均显著或极显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$). 鲎试验的结果显示香丹注射液对内毒素具有微弱的降解作用, 表明香丹注射液对家兔内毒素性肾脏 DIC 有良好防治效应, 机理可能是香丹注射液通过改善肾小球毛细血管血流, 对抗血栓的形成, 进而减轻肾小管上皮细胞变性、坏死和管型的形成, 达到维护肾小管的功能.

关键词:香丹注射液; 内毒素; DIC; 防护作用; 机理; 家兔
中图分类号:S853.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2013)02-0258-04

The Effect of Injectio Xiangdan on Endotoxin-Induced Renal DIC in Rabbits

WANG Hua, ZHOU Xiaoqiong

(College of Life Science, Longyan University, Longyan 364000, China)

Abstract: The aim of this research was to study the treatment function and mechanisms of injectio Xiangdan (XD) on endotoxin-induced DIC kidney of rabbits. The DIC kidney model was attained injecting intravenous of *Escherichia coli* O₁₁₁B₄ endotoxin (ET) solution into the rabbits, then injectio XD to observe its effects on the kidney of rabbits and degradation effects on ET *in vivo* and *in vitro*. The results of histopathology showed that the incidence and severity of glomerular microthrombosis, the degeneration and necrosis of epithelia, the formation of tube cast were significantly reduced ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) compared to the corresponding model rabbits. The results of limulus agglutination test indicated that injection XD destroyed ET slightly. All above indicated that injectio XD had good prevention effects on endotoxin-induced DIC kidney of rabbits, which improved the renal glomerulus capillary blood stream effectively, decreasing the incidence and severity of glomerular thrombosis. Therefore, treatment of the rabbits with XD lessens the degeneration and necrosis of epithelia, the formation of tube cas, maintaining the renal tubules.

Key words: injectio Xiangdan; endotoxin; DIC; treatment function; mechanism; rabbit

弥漫性血管内凝血 (Disseminated intravascular coagulation, DIC) 是一种由多种基础病变所致的临床综合征, 以全身凝血系统的激活、纤溶系统的紊乱、纤维蛋白沉积及多器官内微血栓形成等为特征, 最终可出现广泛的 DIC 和多器官功能衰竭 (Multiple organ dysfunction syndrome, MODS). 肿瘤、创伤、病理产科、严重肝病等是其常见的病因, 该病愈后差, 死亡率高, 属临床重症^[1-3]. DIC 的治疗大多集中在补

充凝血因子和肝素的应用等方面^[4]. 中西医结合治疗重症 DIC 也取得了一定的效果, 邢迎红^[5]研究发现常规西药治疗的基础上加用中药“血必净”注射液, 可以显著提高整体治疗效果. 中医根据该综合征的临床表现, 将其归于“瘀血证”、“血证”、“厥脱”等范畴^[6], 中医对于“瘀血证”的治疗大多采用活血化瘀法. 丹参是传统的活血化瘀中药, 具有活血通络、祛瘀止痛、凉血消痈、清心除烦等功效^[7], 临床上主要用于心血管疾病的治疗, 但其如何对肾脏 DIC 产生影响则少有报道. 本研究采用大肠埃希菌 *Escherichia coli* 内毒素制作弥漫性血管内凝血 (DIC) 动物模型^[8], 研究香丹注射液对内毒素导致的家兔肾脏 DIC 的防治作用及其作用机理, 为 DIC 的中药防治提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

- 1.1.1 试验动物 随机挑选 60 日龄健康的普通级哈尔滨白兔 24 只, 体质量为 (1.75 ± 0.25) kg, 雌雄各半.
- 1.1.2 试剂 香丹注射液: 开开援生物制药股份有限公司提供, 批号 10112405; 鲎试剂 (TAL): 湛江海洋生物制品厂产品, 批号 100329, 灵敏度: $0.05 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$; 细菌内毒素检查用水 (BET 用水): 湛江海洋生物制品厂产品, 批号 100329; 细菌内毒素工作标准品: 中国药品生物制品检定所产品, 批号: 2010-3.

1.2 方法

1.2.1 试验动物分组及处理 24 只健康哈尔滨白兔, 随机分为阴性对照组、模型组和香丹组, 每组 8 只. 模型组和香丹组家兔一次性静脉注射大肠埃希菌 $O_{111} B_4$ 内毒素生理盐水溶液, 剂量为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$). 注射内毒素后模型组注射剂量为 $7.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的生理盐水, 香丹组家兔注射香丹注射液和生理盐水各 $3.75 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$. 阴性对照组家兔静注与上述各组静注液体量同容积的生理盐水. 6 h 后心脏采血分离血浆和血清, 随后破坏延脑处死并采集肾脏用 φ 为 10% 中性福尔马林固定.

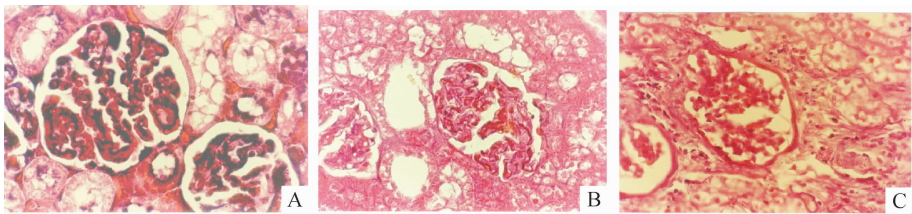
1.2.2 肾脏病理变化观察 各组家兔肾脏用中性福尔马林固定, 常规石蜡切片, HE 染色和甲基紫染色 (MV)^[9], 观察肾小球毛细血管微血栓的发生情况, 并计算出各组家兔肾小球微血栓的发生率. 每只家兔随机观察 50 个肾小球, 统计具有微血栓肾小球的检出率, 并按高永林等^[10]的方法对肾小球毛细血管内纤维素密度进行观察并计算出纤维素密度指数. 观察肾小管上皮细胞变性、坏死情况和管型形成情况. 每只家兔随机观察 50 个近曲小管上皮细胞的变性、坏死情况和 50 个远曲小管管型形成情况, 并根据文献^[11]中的方法计算上皮细胞变性、坏死和管型形成肾小管的检出率. 同时对近曲小管上皮细胞坏死的百分率进行统计, 方法同肾小球纤维素密度指数的计算.

- 1.2.3 香丹注射液对内毒素的体内、外破坏作用 采用鲎试验^[12-13]观察香丹注射液对内毒素的体内、外降解作用.
- 1.2.4 试验数据分析方法 数据采用 SPSS 10.0 统计软件处理, 并采用 t 检验对数据进行统计学处理, 结果以平均值 $\pm$ 标准误表示, 其中 $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著.

2 结果与分析

2.1 香丹注射液对家兔内毒素性肾脏病理变化的影响

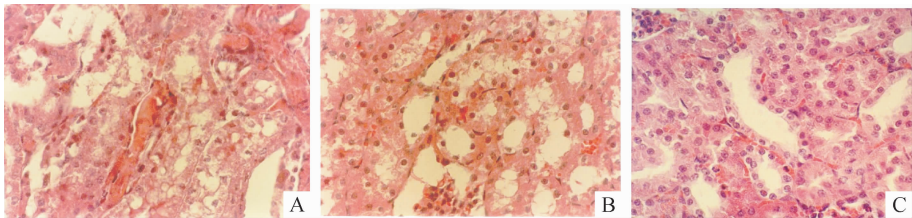
- 2.1.1 各组家兔肾小球毛细血管的病理变化 模型组大多数家兔 (6/8) 肾小球毛细血管中发现了大量微血栓, 香丹组家兔 (3/8) 肾小球也可见少量微血栓, 而阴性对照组则未见任何微血栓 (图 1).
- 2.1.2 各组家兔肾小管的病理变化 模型组肾小管上皮细胞广泛性变性、坏死、脱落, 基底膜裸露并可见断裂, 在远曲小管和集合管管腔中有大量由脱落的上皮细胞碎片等形成的管型; 香丹组肾小管也可见类似变化, 但肾小管上皮细胞变性、坏死和管型形成情况也均较模型组极显著减轻; 阴性对照组家兔均未出现上述病变 (图 2).



A: 模型组; B: 香丹组; C: 对照组.

图 1 各组家兔肾小球微血栓 (MV, $\times 200$)

Fig. 1 Glomerular thrombosis in each group rabbits (MV, $\times 200$)



A:模型组; B:香丹组; C:对照组.

图 2 各组家兔肾小管病变(HE, ×200)

Fig. 2 Pathological changes of renal tubules in each group rabbits(HE, ×200)

2.1.3 各组家兔肾脏病理变化 各组家兔肾小球 微血栓发生率、具有微血栓肾小球检出率、肾小球纤维 维素密度指数、肾小管上皮细胞变性、坏死和管型形成情况见表 1.

表 1 各组家兔肾脏病理变化情况¹⁾

Tab. 1 Renal pathologic changes in each group rabbits

组别	肾小球			肾小管	
	肾小球 DIC 的发生率	具有微血栓肾小球检出率/%	肾小球纤维素密度指数/%	上皮细胞变性坏死肾小管检出率/%	管型形成肾小管检出率/%
阴性对照组	0/8	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
模型组	6/8 **	57.00 ± 39.40 **	31.70 ± 25.23 **	90.25 ± 5.60 **	85.50 ± 5.83 **
香丹组	3/8 **	8.75 ± 12.65 ** ΔΔ	2.53 ± 4.19 ** ΔΔ	65.75 ± 6.09 ** ΔΔ	62.75 ± 9.19 ** ΔΔ

1) 与阴性对照组比较, * 表示差异显著, ** 表示差异极显著; 与模型组比较, Δ 表示差异显著, ΔΔ 表示差异极显著.

2.2 香丹注射液的体内、外抗内毒素作用

2.2.1 体内抗内毒素作用 阴性对照组家兔血浆 鲎试验结果为阴性. 模型组家兔血浆鲎试验成阳性 结果的稀释倍数为 1/32 ~ 1/128. 香丹组家兔血浆鲎 试验呈阳性结果, 呈阳性结果的血浆稀释倍数为 1/8 ~ 1/64. 血浆鲎试验的结果表明, 香丹注射液也

有一定的抗内毒素作用(表 2).

2.2.2 体外抗内毒素作用 阴性对照组各管鲎试 验结果均为阴性, 阳性对照组各管鲎试验结果均为 阳性. 香丹注射液体外鲎试验呈阳性反应的最大稀 释倍数为 1/2, 表明香丹注射液体外抗内毒素作用较 弱(表 3).

表 2 香丹注射液在家兔血浆不同稀释倍数下对内毒素的体内降解作用¹⁾

Tab. 2 The destructive effect of Xiangdan on endotoxin under different dilution mutiple plasma of rabbits in vivo

组别	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
阴性对照组	-	-	-	-	-	-	-	-	-
模型组	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	6/8	3/8	-
香丹组	8/8	8/8	8/8	8/8	7/8	4/8	1/8	-	-

1): 表中分数的分母表示试验样本数, 分子为发生阳性反应的家兔个数. “-”表示鲎试验结果为阴性.

表 3 不同稀释倍数香丹注射液对内毒素的体外降解作用¹⁾

Tab. 3 The destructive effect of Xiangdan of different dilution multiple on endotoxin in vitro

组别	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
阴性对照	-	-	-	-	-	-	-
阳性对照	+	+	+	+	+	+	+
香丹注射液	-	-	+	+	+	+	+

1): “+”表示鲎试验结果为阳性, “-”表示为阴性.

3 讨论

本试验病理组织学观察的结果显示, 内毒素的

作用使模型组大多数家兔肾小球毛细血管中形成大量的微血栓, 肾小管上皮细胞严重变性、坏死并有管型形成. 香丹组家兔具有的微血栓肾小球的检出率和肾小球纤维素密度指数均极显著低于模型组, 肾小管上皮细胞变性、坏死和管型形成情况也均较模型组极显著减轻. 以上结果均表明静脉注射香丹注射液能够有效地减轻内毒素引起的 DIC 效应, 改善肾小球毛细血管血流. 鲎试验的结果表明, 香丹注射液的抗内毒素作用较弱, 然而, 香丹组家兔其多数肾脏 DIC 也较模型组显著或极显著改善, 即香丹注射液表现出对内毒素性 DIC 较好的防治作用, 其作用

机理可能与丹参的抗凝血作用有关,丹参所含的丹参酮、丹参素和原儿茶醛可抑制血小板聚集、改善微循环、对抗血栓形成^[14-15]。可能正是丹参的这种抗凝血作用弥补了其抗内毒素作用的不足,从而使香丹组家兔的微血栓肾小球的检出率和肾小球纤维素密度指数极显著的低于模型组。

大量研究表明中医药对治疗 DIC 有确实的效果,张守琳^[16]研究发现清开灵注射液静滴和西医治疗 DIC 的效果无显著差异;李信平^[17]研究表明清解蛇毒汤可以有效保护凝血机制,起到预防 DIC 的作用;梁勇^[18]临床应用加味凉隔散治疗 DIC 起到良好的作用。本研究表明,香丹注射液作为活血化瘀类的中药代表在 DIC 防护过程中也能起到一定的作用。不过,中医药在治疗 DIC 中发挥的作用要得到更多的认可,还需在应用范围和深度方面进行探索,特别是其防治机理的研究,从而为中医药的发展提供相关理论依据。

参考文献:

- [1] LEVI M, DE JONGE E, VAN DER POLL T, et al. Disseminated intravascular coagulation[J]. *Thromb Haemost*, 1999, 82(2): 695-705.
- [2] GANDO S. Disseminated intravascular coagulation in trauma patients[J]. *Semin Thromb Emost*, 2001, 27(6): 585-592.
- [3] 张焜. 感染性 DIC 研究进展[J]. *血栓与止血学*, 2006, 12(3): 140-142.
- [4] 刘伟, 柴家科. 弥漫性血管内凝血研究现状[J]. *中华损伤与修复杂志*, 2011, 6(3): 66-69.
- [5] 刑迎红. 中西医结合治疗弥漫性血管内凝血 68 例[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2007, 9(4): 128.
- [6] 冯靖涵, 李沐涵. 中医药治疗弥漫性血管内凝血研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2011, 13(5): 266-268.
- [7] 张萃, 王培训, 周联, 等. 活血化癥中药对内毒素诱导 THP-1 细胞增殖及蛋白质组的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2006, 22: 662-665.
- [8] 沈洪, 汪君梅, 祁月琴. 凉血化癥法对内毒素性 DIC 家兔红细胞免疫功能的影响[J]. *江苏中医*, 2000, 21(6): 43-44.
- [9] 王伯云, 李玉松. 病理学技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 157.
- [10] 高永林, 吴立夫. 中药热毒清注射液对内毒素性肾功能衰竭的预防作用及其机理[J]. *畜牧兽医学报*, 2004, 35(3): 295-300.
- [11] 李仕梅, 叶任高, 李幼姬, 等. 药物防治初发期急性肾小管坏死的实验研究[J]. *中华肾脏病杂志*, 1985, 1(3): 2-7.
- [12] VERHOEF J, HUSTINX W M, FRASA H, et al. Issues in the adjunct therapy of severe sepsis[J]. *J Antimicrob Chemother*, 1996, 38(2): 167-182.
- [13] 邓文龙. 中医解毒法实质的研究及内毒素性疾病的防治[J]. *中药药理学与临床*, 1992, 8(4): 40.
- [14] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编: 上册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 221-222, 288-289.
- [15] 王浴生, 邓文龙, 薛春生. 中药药理与应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 190-200, 1081-1082.
- [16] 张守琳, 黄涛. 清开灵治疗重度感染合并 DIC 28 例临床分析[J]. *中国社区医师*, 2005, 21(9): 38.
- [17] 李信平, 林谋清, 徐发彬, 等. 清解蛇毒汤治疗五步蛇毒致弥漫性血管内凝血兔模型的实验研究[J]. *新中医*, 2005, 37(6): 623.
- [18] 梁勇, 曹书华, 王勇强, 等. 加味凉隔散对脓毒症患者血小板活化及凝血功能影响的临床研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2010, 37(7): 1289.

【责任编辑 霍 欢】