

参麦注射液对内毒素所致小鼠全身炎症反应综合征和多器官功能失常综合征保护作用的实验研究*

魏育林¹ 李亚俊¹ 刘 轩¹ 仇文颖² 戴书静³ 罗乃丹¹ 刘东玉¹ 王伟钢¹ 金恩源¹

内容提要 目的:应用内毒素(LPS)所致小鼠全身炎症反应综合征(SIRS)、多器官功能失常综合征(MODS)动物模型,研究参麦注射液对SIRS、MODS的保护作用。方法:将雄性5~7周龄BALB/c小鼠随机分为正常组、LPS模型组和参麦注射液加LPS组。根据SIRS和MODS临床诊断标准,检查小鼠肛温、外周血白细胞计数、血液生化及肺脏和肝脏病理学,并测定血浆内毒素和血清肿瘤坏死因子(TNF α)水平。结果:腹腔注射LPS可致内毒素血症和高TNF α 血症;可使小鼠体温明显降低,外周血白细胞数减少;能明显降低血糖水平,增加血清甘油三酯和胆固醇水平。病理结果显示,LPS可致肺和肝脏毛细血管扩张、充血、水肿和炎细胞浸润。参麦注射液可明显升高LPS所致小鼠的低体温和低外周血白细胞数;可改善内毒素所致小鼠低血糖状态和减轻LPS所致的各脏器病理改变;可明显降低血浆内毒素和TNF α 水平。结论:参麦注射液对LPS所致小鼠SIRS和MODS具有显著的保护作用。其保护机制可能与降低内毒素水平和减少TNF α 分泌有关。

关键词 参麦注射液 全身炎症反应综合征 多器官功能失常综合征 内毒素

Experimental Study of Protective Effect of Shenmai Injection on Endotoxin Induced Systemic Inflammatory Reaction Syndrome and Multiple Organ Dysfunction Syndrome WEI Yu-lin, LI Ya-jun, LIU Xuan, et al *Beijing China-Japan Friendship Hospital, Beijing (100029)*

Objective: To study the protective effect of Shenmai injection (SMI) on systemic inflammatory reaction syndrome (SIRS) and multiple organ dysfunction syndrome (MODS) in animal model of SIRS, MODS induced by lipopolysaccharide (LPS). **Methods:** Male BALB/c mice, 5~7 weeks old were randomly divided into 3 groups, the normal control group, the LPS model group and the LPS + SMI group. The rectal temperature, peripheral white blood cell count (WBC), blood biochemical examination, histopathologic changes of lung and liver as well as the blood levels of endotoxin and tumor necrosis factor α (TNF α) were determined before and after treatment. **Results:** LPS could induce endotoxemia and high serum level of TNF α , decrease the rectal temperature and WBC, reduce blood glucose and increase serum triglyceride and cholesterol levels. Pathological examination showed that LPS could cause pulmonary alveolar congestion, edema, exudation, capillary dilation and inflammatory cell infiltration in liver and lung tissue. SMI could significantly raise the low body temperature caused by LPS and reduction of WBC, improve the hypoglycemia and high plasma TNF α level, alleviate the pathologic changes in organs and reduce the plasma level of LPS (endotoxin). **Conclusion:** SMI has marked effect in protecting LPS caused SIRS, MODS, the mechanism might be related with the lowering of LPS (endotoxin) level and reducing of TNF α secretion.

Key words Shenmai injection, systemic inflammatory reaction syndrome, multiple organ dysfunction syndrome, endotoxin

* 国家中医药管理局课题(No.97L028)

1. 北京中日友好医院(北京 100029); 2. 首都医科大学; 3. 北京中

医药大学

临床重度感染患者可并发免疫功能失调、全身炎症反应综合征(SIRS)、多器官功能失常综合征

(MODS)、甚至导致多器官功能衰竭(MOF)和死亡^[1]。中医学认为临床重度感染属厥脱证。参麦注射液具有大补元气,益气固脱,养阴生津之功效。近年发现,参麦注射液对于感染患者和厥脱证有较好疗效。其机理尚不明了。本研究应用内毒素(LPS)所致小鼠SIRS、MODS动物模型,研究参麦注射液对LPS所致小鼠SIRS、MODS保护作用,并探讨其作用机制。

材料和方法

1 动物及分组 雄性BALB/c小鼠,5~7周龄,体重16~18g,共200只,购自中国医学科学院实验动物研究所,微生物控制等级为二级。每项实验重复2~3次,每次实验随机分组,每组5~8只。

2 药物 参麦注射液(简称参麦)的主要药物是人参和麦冬(每毫升含生药1g),由正大青春宝药业有限公司提供(批号971206-3)。

3 试剂及仪器 内毒素(LPS E.Coli 0111:B4)购自美国Sigma公司,用无菌生理盐水溶解成10g/L, -20℃保存。使用前无菌生理盐水稀释成所需浓度。内毒素测定所用试剂盒购自上海伊华临床医学科技公司。肿瘤坏死因子(TNFα)标准品为英国Pepro Tech ECLTD产品。光镜观察使用Olympus显微镜。

4 实验方法 正常对照组腹腔注射生理盐水;LPS组腹腔注射LPS(6.0mg/kg体重);参麦加LPS组于LPS(6.0mg/kg体重)注射前1h,腹腔注射参麦注射液5.0ml/kg(约为成人每次用量的10倍)。以上各组在LPS注射后不同时相,进行以下各项指标的检测。

5 观察指标及检测方法

5.1 一般状态 观察小鼠在LPS注射前和注射后15min直至18h时的行为活动、精神状态、食欲、皮毛、呼吸、大小便及死亡情况。

5.2 直肠温度 LPS注射前和注射后2、4、7.5h,用温度传感器(Thermitor thermometer MGA III 219,日本产品)测定各组小鼠直肠温度。

5.3 外周血白细胞计数及分类 LPS注射后18h,眼眶采血,用全自动血球计数仪(6108型,日本产品)测定。

5.4 血液生化分析 LPS注射后18h,眼眶采血,每2~3只小鼠血液混合为一个标本,分离血清,用全自动血液生化分析仪测定。

5.5 血浆内毒素水平测定 LPS注射后1h,眼眶采血,每2~3只小鼠血液混合为一个标本,分离血浆,用定量鲎试剂测定法检测血浆内毒素水平。

5.6 血清TNFα水平测定 LPS注射后2h,眼眶采血,每组小鼠血液混合为一个标本,分离血清,用对TNFα敏感的L-929细胞株进行细胞毒生物测定法测定。

5.7 形态学观察 LPS注射后18h,取肺和肝脏,4%多聚甲醛固定,制成石蜡切片,HE染色,光镜观察。

6 统计学处理 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用组间t检验进行统计学分析。

结 果

1 参麦注射液对LPS所致小鼠一般状态变化的影响 正常组小鼠活泼好动,皮毛洁白、细密有光泽,呼吸均匀,双目有神,大便棕黑色、成形。LPS组小鼠在LPS腹腔注射15min后至18h,蜷缩少动、毛竖少泽、双目微闭、呼吸急促和大便不成形。采血时见血液粘稠,量少。参麦加LPS组小鼠的一般状态明显好于LPS组。

2 参麦注射液对LPS所致小鼠体温变化的影响 见表1。LPS注射前各组体温差异无显著性,有可比性。LPS组小鼠腹腔注射LPS(6.0mg/kg体重)后2、4、7.5h,直肠温度较正常组小鼠明显降低($P < 0.01$)。参麦(5ml/kg体重)加LPS(6.0mg/kg体重)组小鼠直肠温度明显高于LPS组($P < 0.01$),接近正常组体温值。提示,参麦注射液可明显改善LPS所致的小鼠低体温状态。

表1 参麦注射液对LPS所致小鼠体温下降的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	直肠温度(℃)			
		注射前	注射后2h	4h	7.5h
正常	5	36.50 ± 0.50	35.68 ± 0.48	36.05 ± 0.38	36.67 ± 0.25
LPS	5	36.40 ± 0.55	34.52 ± 0.50 [*]	34.53 ± 0.73 [*]	35.34 ± 0.43 [*]
参麦加LPS	5	36.50 ± 0.54	35.90 ± 0.66 [△]	35.24 ± 1.00 [△]	36.22 ± 0.68 [△]

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.01$;与LPS组比较,[△] $P < 0.01$

3 参麦注射液对LPS所致小鼠外周血白细胞数、血糖、甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)和总蛋白变化的影响 见表2。LPS注射后18h,LPS组小鼠外周血白细胞数较正常组明显降低($P < 0.01$),参麦注射液可明显改善LPS所致的外周血低白细胞数的状态(参麦加LPS组与LPS组比较, $P < 0.05$)。LPS能明显降低血糖水平($P < 0.01$),可增加血清TG和TC水平($P < 0.01$),对总蛋白水平无明显影响。参麦注射液可改善LPS所致小鼠低血糖状态($P < 0.05$),但对TG和TC血症无明显改善作用。

4 参麦注射液对LPS所致小鼠内毒素血症和血

表 2 参麦注射液对 LPS 所致小鼠外周血白细胞数、血糖、TG、TC 和总蛋白变化的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	白细胞数	总蛋白	血糖	TG	TC
		($\times 10^9/L$)	(g/L)		(mmol/L)	
正常	8	7.68 $\pm$ 2.88	50.55 $\pm$ 2.70	9.25 $\pm$ 0.83	3.14 $\pm$ 1.63	3.53 $\pm$ 0.49
LPS	8	3.83 $\pm$ 1.39 [*]	60.30 $\pm$ 13.10	1.78 $\pm$ 0.75 [*]	15.04 $\pm$ 7.04 [*]	5.44 $\pm$ 1.25 [*]
参麦加 LPS	8	6.17 $\pm$ 4.19 [△]	55.20 $\pm$ 7.40	2.56 $\pm$ 1.04 [△]	12.68 $\pm$ 5.62	5.16 $\pm$ 0.69

注：与正常组比较，^{*} $P < 0.01$ ；与 LPS 组比较，[△] $P < 0.05$

清 TNFα 水平的影响 见表 3。LPS 注射后 1h 时，LPS 组血浆内毒素水平明显高于正常组 ($P < 0.01$)；参麦注射液可明显降低 LPS 所致高血浆内毒素水平

表 3 参麦注射液对 LPS 所致小鼠内毒素血症和血清 TNFα 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	内毒素	TNFα
		(ng/L)	(μg/L)
正常	8	3.60 $\pm$ 1.10	0
LPS	8	51.30 $\pm$ 10.10 [*]	21.10 $\pm$ 0.87 [*]
参麦加 LPS	8	6.60 $\pm$ 2.70 [△]	1.68 $\pm$ 1.50 [△]

注：与正常组比较，^{*} $P < 0.01$ ；与 LPS 组比较，[△] $P < 0.01$

($P < 0.01$)。TNFα 生物测定结果表明，正常组小鼠血清中未检测出 TNFα 活性；LPS 组小鼠血清 TNFα 水平增高；参麦注射液可降低 LPS 所致小鼠血清高 TNFα 水平 ($P < 0.01$)。

5 参麦注射液对 LPS 所致小鼠肺及肝脏组织病理学影响 见图 1。正常组小鼠肺泡壁薄，无间质水肿及炎性细胞浸润。LPS 组小鼠肺组织中大量肺泡间隔显著增厚，有明显的肺泡出血、渗出和中性粒细胞浸润；支气管内有出血和炎性细胞聚集；小支气管周围的肺小动脉血管周围间质水肿、出血，形成水肿袖套，严

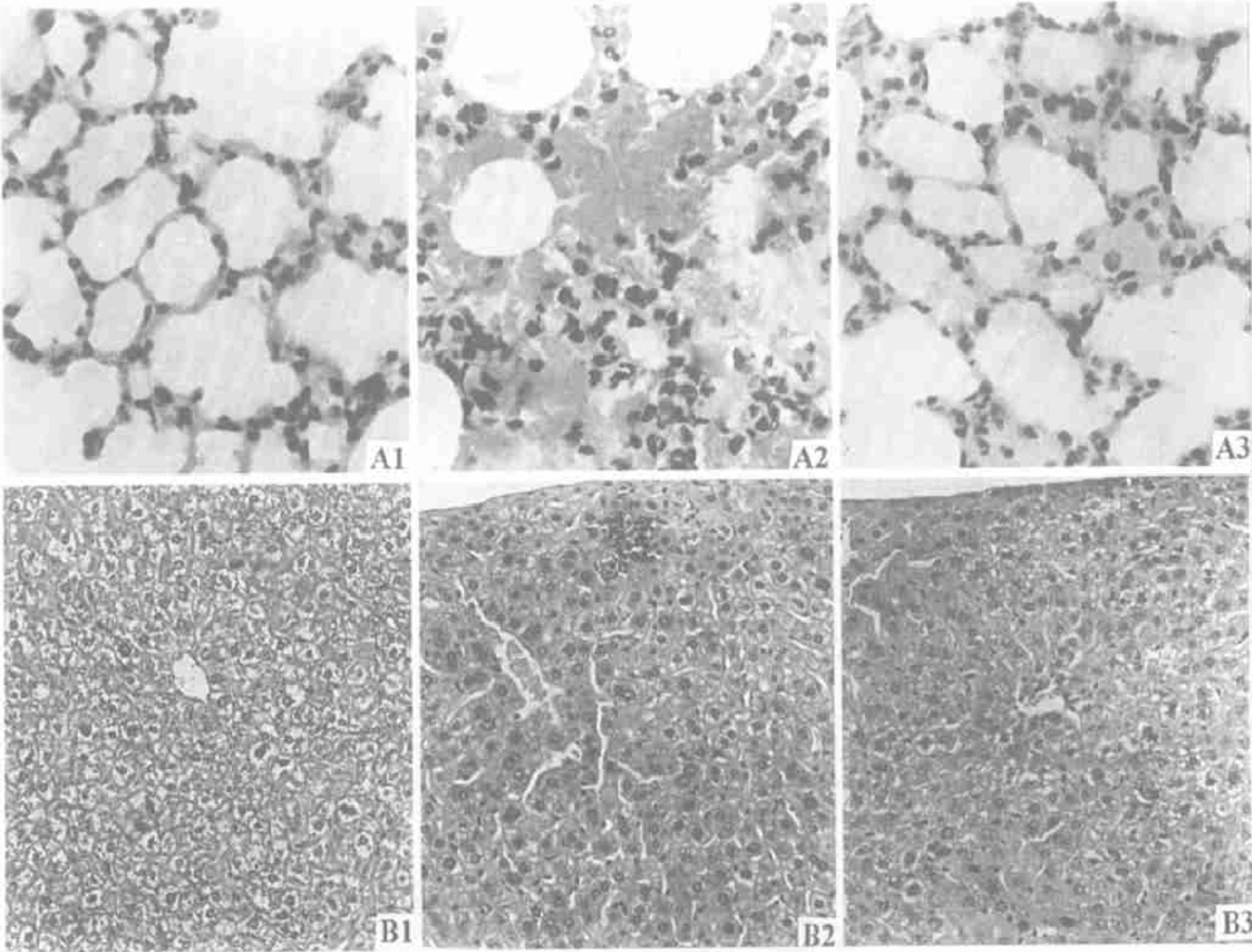


图 1 A:肺脏组织($\times 140$),其中 A1:正常;A2:LPS 腹腔注射后 18h,肺泡间隔弥漫性增厚、水肿、毛细血管扩张和炎细胞浸润;A3:参麦注射液加 LPS 注射后 18h,病变区域减少,病变程度减轻。B:肝脏组织($\times 140$),其中 B1:正常;B2:LPS 腹腔注射后 18h,肝窦扩张、充血,毛细胆管扩张,局灶性肝细胞坏死;B3:参麦加 LPS 注射后 18h,病变程度减轻

重者为血球袖套。参麦加 LPS 组小鼠仅部分肺泡间隔增厚,少量炎性细胞浸润,偶见散在的肺泡内出血、渗出;肺小动脉周围水肿袖套和血球袖套明显减少。表明参麦注射液可明显减轻 LPS 所致肺损伤。

肝脏形态学观察结果显示,LPS 可致肝窦扩张、充血、细胆管扩张、少量炎性细胞浸润并可见局灶性肝细胞坏死。参麦注射液可明显减轻 LPS 所致肝损伤。

讨 论

迄今为止,临床治疗感染所致的多脏器功能衰竭(MOF)尚无满意疗效。临床研究结果表明,在 SIRS、MODS 阶段进行早期治疗能有效降低 MOF 发生率和病死率。近年发现,中药可有效防治 SIRS、MODS。我们的实验研究结果证实,人参有预防 LPS 所致 SIRS、MODS 和急性肺损伤及抑制胸腺细胞凋亡的作用⁽²⁻⁴⁾。参麦注射液也可抑制 LPS 所致小鼠胸腺、脾和肠系膜淋巴结细胞凋亡。本实验结果表明,参麦注射液可有效预防 LPS 所致低体温、外周血白细胞数状态;可显著改善 LPS 所致小鼠低血糖和减轻肺脏和肝脏损伤。其作用机制可能与降低血浆 LPS 水平和减少 TNF α 等炎症因子过量分泌有关。

LPS 是暴露于革兰氏阴性杆菌细胞壁外膜表面的由 O 特异链、核心多糖和类脂 A 三部分组成的分子⁽⁵⁾。在革兰氏阴性杆菌感染性休克中起着重要的作

用。LPS 所引起的多种生物学效应通常首先与机体内的单核巨噬细胞膜 LPS 受体结合,通过激活核转移因子(NF- κ B),诱导细胞过量表达和分泌 TNF α 等炎症因子。超高浓度的炎症因子在局部或随血液播散至机体其他部位,导致和加重 SIRS、MODS。最近,笔者发现人参皂甙 Rb1 和 Rg1 体外能抑制 LPS 与肺泡巨噬细胞膜结合,阻断细胞浆 NF- κ B 的活化,从而抑制肺泡巨噬细胞过度分泌 TNF α 。提示参麦注射液也可能通过阻碍 LPS 与肺泡巨噬细胞结合,达到减少血浆 TNF α 水平和预防 SIRS、MODS 的作用。

参 考 文 献

1. Takashi Yokoyama, Yuji Imamura, Yoshiaki Murakami, et al. Sepsis and SIRS. 急救医学(日) 1996;20(9):1029.
2. Yulin Wei, Enyuan Jin, Shujin Dai, et al. Preventive effect of ginseng on SIRS and MODS induced by LPS. The Ginseng Review 1998;25:94.
3. Yulin Wei, Enyuan Jin, Wei Cao, et al. Inhibitory effect of ginseng on apoptosis in mouse thymus by administration of lipopolysaccharide (LPS). The Ginseng Review 1996;22:43.
4. Yulin Wei, Enyuan Jin, Xiang Liu, et al. Effect of korea red ginseng on acute lung injury of mice induced by LPS. The Ginseng Review 1999;27:79.
5. 雷祚荣.细胞毒素分子生物学.北京:中国科学技术出版社,1998:1—6.

(收稿:2000-01-19 修回:2000-08-01)

穴位注射治疗肝癌介入术后呃逆 33 例

韩照予 马显振 张耀勇

呃逆是肝癌介入治疗后临床上常见症状,尤其是生长位置接近于膈肌的肝癌患者,在介入治疗后,常出现呃逆现象,影响休息、饮食、睡眠,甚至导致患者烦躁不安,病情加重。临床常用 654-2、胃复安、氯丙嗪等药物治疗,但效果常不理想。近年来,笔者采用穴位注射治疗肝癌介入术后呃逆 33 例,疗效满意,现报告如下。

临床资料 33 例肝癌患者中,男 27 例,女 6 例,年龄 38~78 岁。均行肝动脉栓塞化疗。术后 24h 内出现呃逆者 30 例,24~48h 出现者 2 例,48h 以上出现者 1 例。

治疗方法 取穴:双侧内关穴。用药:氯丙嗪注射液;规格:25 mg/ml,上海禾丰制药有限公司生产。

操作 取 1 ml 注射器抽取氯丙嗪 1 ml,常规消毒双侧内关穴,针刺得气后,每穴注入药液 0.3~0.5 ml。每日 1 次,5 次为 1 个疗程。1 个疗程后评定疗效。

结 果 痊愈 31 例(治疗 1 个疗程,症状消失),有效 1 例(呃逆次数减少,但未完全停止),无效 1 例(治疗 1 个疗程,仍呃逆不止)。总有效率为 97%。

讨 论 呃逆现代医学称为膈肌痉挛。肝癌介入治疗后引起膈肌痉挛,考虑为膈下动脉常做为肝脏的一个侧支参与肝脏供血,尤其是接近膈肌生长的肝癌,膈下动脉常参与肿瘤供血并与瘤血管形成吻合支,在进行肝癌栓塞化疗过程中,碘油化疗药混合物可能经吻合支血管逆流入膈下动脉,形成一种刺激,引起膈神经兴奋导致膈肌痉挛,或间歇为患,亦可持续不已。内关穴通于阴维,能宽胸利膈,氯丙嗪抑制延脑呕吐中枢。因此,内关穴注射氯丙嗪能有效解除膈肌痉挛,是治疗肝癌介入术后呃逆行之有效的方法。本法疗效肯定,费用低廉,值得推广。

(收稿:2000-06-05)