

牛角地黄冲剂对大鼠内毒素休克的保护作用

邓常青 蒋文明 肖苏红* 贺 蓉* 陈筱春
陈大舜 贺石林* (湖南中医学院 长沙 410007)

摘要 灌胃牛角地黄冲剂,可明显抑制静注内毒素引起的动脉血压的降低,抑制血浆肿瘤坏死因子(TNF)和组织因子(TF)含量的升高,提高其血浆组织因子途径抑制物(TFPI)/组织因子(TF)比值,并防止休克后血小板数和血浆抗凝血酶Ⅲ(AT-Ⅲ)活性的降低。

关键词 牛角地黄冲剂 内毒素休克 肿瘤坏死因子 组织因子 组织因子途径抑制物

Protective Effect of Niujaodihuang Granule on Endotoxic Shock in Rats

*Deng Changqing, Jiang Wenming, Xiao Suhong, He Rong, Cheng Xiaochun,
Cheng Dashun, He Shilin (Hunan College of TCM, Hunan, 410007)*

Abstract: Anti-shock of Niujaodihuang granule was investigated by using *E. coli* endotoxic shock model in rats. Niujaodihuang granule could markedly inhibited arterial pressure fall induced by injecting endotoxic intravenously in rats ($P < 0.01$), antagonize contents increase of plasma tumor necrosis factor (TNF) and tissue factor (TF) ($P < 0.05$), enhance tissue factor pathway inhibitor (TFPI)/tissue factor (TF) ratio ($P < 0.05$), and prevented decrease of platelet count and plasma anti-thrombin Ⅲ (AT-Ⅲ) activity ($P < 0.05$) in shock rats.

Key words: Niujaodihuang granule, endotoxic shock, tumor necrosis factor (TNF), tissue factor (TF), tissue factor pathway inhibitor (TFPI)

* 湖南医科大学 长沙 410078

在内毒素休克时,大量内毒素入血,促发单核-巨噬细胞等释放多种生物活性物质,引起或加重组织损伤。尤其是肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF),是病理发展过程中重要的炎性介质,通过作用于靶细胞-血管内皮细胞(VEC),触发细胞损伤,导致凝血紊乱,在休克和播散性血管内凝血(DIC)的发生发展中具有重要作用^[1,2]。VEC受损后,表达和释放组织因子(tissue factor, TF),TF为体内凝血系统的始动因子。故抗TNF和TF治疗已成为防治休克和DIC的有效措施之一^[3]。牛角地黄冲剂是从传统的凉血活血中药复方——唐代孙思邈《备急千金要方》中的犀角地黄汤加减变化而来。由于犀角地黄汤为治疗热入营血的方剂,而感染性休克的病理与之很相似,为此,本文研究了该药对大鼠内毒素休克的影响,并从TNF、TF和组织因子途径抑制物(tissue factor pathway inhibitor, TFPI)等环节研究了其防治休克的可能机理。

1 材料与方方法

1.1 药物 牛角地黄冲剂由水牛角、生地、丹皮、赤芍、茯苓、阿胶、麦冬、黄芪等药组成,由本院附属药厂加工成不含糖的混悬型冲剂。临用前加水适量,煎煮两次,每次30分钟,过滤浓缩为0.5g/ml生药含量药液备用。

1.2 主要试剂及仪器 内毒素(Lipopolysaccharide, LPS, from E. Coli O₁₁₁:B₄)购自sigma公司,用时以无菌生理盐水配成2mg/ml溶液。TNF检测药盒购自军事医学科学院基础所;TF和TFPI药盒购自美国ADI公司;抗凝血酶Ⅲ(AT-Ⅲ)活性药盒由上海生物制品研究所提供。EL-37型酶标仪为美国Bio-Tek产品;LMS-2A型二道生理记录仪为成都仪器厂产品。

1.3 实验方法 体重250~300g雄性SD大鼠24只,由湖南医科大学实验动物中心提供。随机分为生理盐水对照组(NC)、内毒素

组(LPS)和牛角地黄冲剂+内毒素组(NJDH+LPS),每组8只大鼠。NJDH+LPS组于实验前24小时和实验前1小时分别灌胃牛角地黄冲剂药液(5g生药/10ml/kg体重),其它两组分别灌等量蒸馏水。在戊巴比妥钠(40mg/kg, ip.)麻醉下,作颈部正中切口,常规气管插管,左颈总动脉插管连接二道生理记录仪监测平均动脉压(MAP),右颈外静脉插管备注药用。术后15分钟,LPS组和NJDH+LPS组分别静注LPS(3mg/kg),对照组注入等量盐水。分别于注LPS前(0min),注后30、60、90和120min记录MAP,于注LPS后60和150min取血作白细胞和血小板计数,并分别以2%EDTA和3.8%枸橼酸钠抗凝(1:9),分离血浆于一30℃保存,供测定其它指标用。

1.4 测定方法 TNF、TF和TFPI检测均为酶联免疫吸附法(ELISA);AT-Ⅲ活性测定为生色底物法,以上操作按说明书。

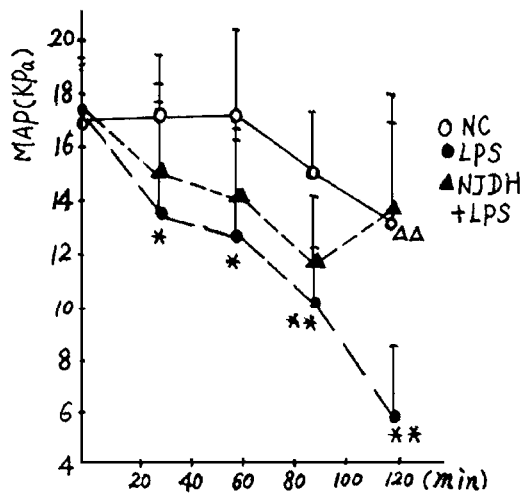
1.5 统计处理 数据均输入微机处理,作方差分析或组间t检验。

2 结果

2.1 对动脉血压的影响 LPS组大鼠的MAP呈进行性下降,在注LPS后30分钟即明显低于注LPS前($P < 0.05$),120min后已降至 5.8 ± 2.5 KPa(1KPa = 7.5mmHg),与NC组相比差异有显著性意义($P < 0.01$)。表明内毒素休克的模型复制是成功的。NJDH+LPS组在注LPS后30和60min MAP下降不太大,至90min MAP明显下降至低于对照组($P < 0.05$),但在120min后,MAP有所回升,明显高于LPS组($P < 0.01$)。见下页附图。

2.2 对白细胞(WBC)和血小板(pt)的影响

注LPS后60min和150min,LPS组WBC均明显低于NC组(均为 $P < 0.01$);NJDH+LPS组在注LPS后60和150min WBC也明显低于NC组($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$),与LPS组相比差异无显著性意义($P > 0.05$)。



附图 三组 MAP 比较
与 NC 比 * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$
与 LPS 比 $\triangle\triangle P < 0.01$ 。

表 1 各组白细胞血小板计数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	WBC($\times 10^9/L$)		pt($\times 10^9/L$)	
	60min	150min	60min	150min
NC	7.0 \pm 3.3	8.4 \pm 3.6	385 \pm 80	305 \pm 105
LPS	3.9 \pm 0.6**	3.4 \pm 1.7**	345 \pm 70	250 \pm 45*
NJDH+LPS	4.6 \pm 0.9*	3.4 \pm 1.9**	395 \pm 85	345 \pm 30 \triangle

注:与 NC 组比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 LPS 组比 $\triangle P < 0.05$,下表同

表 2 注 LPS 后 150 分钟 TNF 和 AT-III 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	TNF(ng/ml)	AT-III(%)
NC	70.3 \pm 8.9	97.9 \pm 14.9
LPS	145.7 \pm 46.7**	73.1 \pm 14.4**
NJDH+LPS	84.5 \pm 17.9 \triangle	87.1 \pm 19.3 \triangle

2.4 对血浆 TF 和 TFPI 含量的影响 注 LPS 后 150min, LPS 组和 NJDH+LPS 组两组 TFPI 含量差异无显著性意义($P > 0.05$); 而 TF 含量则 LPS 组显著高于 NJDH+LPS 组($P < 0.01$), LPS 组的 TFPI/TF 比值明显低于 NTDH+LPS 组($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 注 LPS 150 分钟后 TF、TFPI 及 TFPI/TF 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	TF(ng/ml)	TFPI(μ g/ml)	TFPI/TF
LPS	1820.0 \pm 570.6	16.1 \pm 6.4	9.3 \pm 1.6
N+L	1205.3 \pm 487.9 \triangle	18.0 \pm 6.3	17.3 \pm 2.1 \triangle

注: N+L = NJDH+LPS

3 讨论

3.1 感染性休克常并发 DIC, 这与中医热入血分证的病理相似, 清代叶天士《外感温热

pt 在 60min 时, 两组均无明显降低($P > 0.05$); 而至 150min 时, LPS 组 pt 明显低于 NC 组($P < 0.05$), 但是 NJDH+LPS 组却无明显降低, 明显高于 LPS 组($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 对血浆 TNF 含量和 AT-III 活性的影响 注 LPS 后 150min, LPS 组 TNF 含量明显高于 NC 组($P < 0.01$), AT-III 活性明显低于 NC 组($P < 0.01$)。而 NJDH+LPS 组的 AT-III 活性明显高于 LPS 组($P < 0.05$), TNF 含量上升不明显, 明显低于 LPS 组($P < 0.05$)而与 NC 组比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。见表 2。

篇》中谓“入血就恐耗血动血, 直须凉血散血, 如生地、丹皮、赤芍、阿胶之类。”牛角地黄冲剂本着叶氏治疗热瘀证的原理, 以唐代孙思邈《备急千金要方》的犀角地黄汤为基础, 加用阿胶、茯苓、麦冬、生黄芪等养血补脾之品, 其中用黄芪一味甘温之品, 既能健脾摄血以止血, 又防诸药寒凉太过以伤脾。诸药合用, 血热能解, 动血可止, 瘀血可去, 虚损可补, 共奏清热解毒, 凉血散瘀, 健脾养血之效。由于犀角属国际禁用药品, 故本冲剂以来源广泛的水牛角代之。

3.2 动物实验表明, 休克动物的死亡率与 TNF 升高有关^[4], TNF 对机体的损伤作用有赖于内毒素等因素的存在^[5]。牛角地黄冲剂可对抗 LPS 引起的血压下降, 并抑制 TNF 的升高, 提示该药有抗休克作用, 推测其作用可能与抑制 LPS 诱导的 TNF 升高有关。

休克引起的 DIC 常与凝血机制失调有

关。TFPI 是主要由血管内皮细胞合成并释放的天然蛋白质,可抑制因子 Xa 和 VIIa/TF 复合物而对外源性凝血系统发挥强烈抑制作用^[6]。DIC 时 TFPI 降低^[7];故抑制 TF 表达,促进 TFPI 合成释放,即提高 TFPI/TF 比值具有重要意义。由于静止状态下血中测不出 TF,故本研究只在注 LPS 后测定 LPS 组和 NJDH+LPS 组的 TF 和 TFPI 含量。由于该药可对抗 TNF 的升高,故它可能是通过抑制 TNF 的产生,减轻了其对 VEC 的刺激,从而使 TF 的表达和释放减少。

内毒素休克合并 DIC 时,由于广泛微血栓形成,血小板和 AT-Ⅲ 被消耗。该药可对抗内毒素休克后血小板数的降低,防止血浆

AT-Ⅲ 活性降低。因此,本药对内毒素休克时微血栓形成和凝血亢进具有抑制作用。但本药的具体作用环节有待进一步阐明。

参考文献

- [1] Cerami A. *Clin Immunol Immunopathol* 1992; 62 : S3
- [2] Vassalli P. *Annu Rev Immunol* 1992;10 : 411
- [3] Taylor FB Jr, Chang A, Ruf W, et al. *Circ Shock* 1991;33 : 127
- [4] Van der poll T, Lowry SF. *Shock* 1995;3 : 1
- [5] Myers AK, Rubey JW, Price RM, et al. *Br J Pharmacol* 1990;99 : 499
- [6] Broze GJ Jr. *Semin Hematol* 1992;29 : 159
- [7] 瞿治清,李家增. *血栓与止血学杂志* 1995;2(1) : 30

(收稿:1996-07-23)