

DOI:CNKI;11-3495/R. 20110221. 1159. 010

内毒素致小鼠 SIRS 模型建立及两种贯众醇提物 对其保护作用的初步观察

李玉洁, 杨庆, 杨岚, 刘晓霓, 翁小刚, 陈颖, 张东, 门薇, 朱晓新*

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:通过建立小鼠全身炎症反应综合征(SIRS)模型,研究中药贯众的不同品种对SIRS模型的保护作用。方法: BALB/c小鼠随机分为空白组、模型组和贯众醇提物高、中、低剂量(4.68, 2.34, 1.17 g·kg⁻¹)组,预防给药7 d后造模,5 h后检测小鼠肛温、呼吸频率、肺湿重/干重比、外周血白细胞计数以及糖脂代谢情况。结果: ip 内毒素(LPS) 6 mg·kg⁻¹可致小鼠体温明显降低,外周血白细胞数减少,肺组织充血水肿,糖脂代谢水平降低。紫萁贯众和荚果蕨贯众可不同程度地影响LPS所致小鼠的肛温、肺干湿重、血清胆固醇和外周血白细胞数等异常改变,其中紫萁贯众作用更为明显。结论: ip LPS致小鼠SIRS模型成立,紫萁贯众和荚果蕨贯众醇提物对内毒素致小鼠SIRS有一定保护作用。

[关键词] 紫萁贯众;荚果蕨贯众;全身炎症反应综合征;内毒素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0187-03

Protective Effect of Different Extracts of *Dryopteris crassirhizoma* on Endotoxin Induced Systemic Inflammatory Response Syndrome in Mice

LI Yu-jie, YANG Qing, YANG Lan, LIU Xiao-ni, WENG Xiao-gang, CHEN Yin,
ZHANG Dong, MEN Wei, ZHU Xiao-xing*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medic Sciences science, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the protective effect of *Dryopteris crassirhizoma* on systemic inflammatory response syndrome (SIRS) through establishing the mouse model of SIRS. **Method:** BALB/c mice were randomly divided into several groups, the normal control group, the LPS model group and the different doses of *Dryopteris crassirhizoma* extract groups (4.68, 2.34, 1.17 g·kg⁻¹). The rectal temperature, respiratory rate, wet and dry lung weight ratio, WBC, the level of glucose and lipid metabolism were determined before and after treatment. **Result:** Intra-peritoneal injection of LPS 6 mg·kg⁻¹ could significantly lower the body temperature, reduce WBC, make the lung congestion and edema, reduce the level of glucose and lipid metabolism. *Osmunda japonica* and *Matteuccia struthiopteris* could raise the low temperature and reduction of WBC caused by LPS, improve the abnormal serum cholesterol. **Conclusion:** *O. japonica* and *M. struthiopteris* have marked effect in protecting LPS caused SIRS.

[Key words] *Osmunda japonica*; *Matteuccia struthiopteris*; systemic inflammatory response syndrome; endotoxin

全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)是因感染或非感染病因作

用于机体而引起的机体失控的自我持续放大和自我破坏的全身性炎症反应。各种危重病人因机体代偿

[收稿日期] 2011-01-12

[基金项目] 科技部国际科技合作项目(S2011ZR0193)

[第一作者] 李玉洁, 博士, 副研究员, 从事心血管药理学和药代动力学研究, Tel: 010-64015008, E-mail: liyujie000000@163.com

[通讯作者] *朱晓新, 博士生导师, 研究员, 从事中药药理学和药代动力学研究, Tel: 010-64056154, E-mail: zhuxx59@yahoo.com.cn

[网络出版时间] 2011-02-21 11:59

性抗炎反应能力降低以及代谢功能紊乱,最易引发 SIRS。严重者可导致多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)。中药贯众具有清热解毒、止血杀虫之功,现代药理表明其具有抗病毒、抗菌、驱虫等作用。但贯众品种来源复杂,各地用药习惯不一,本研究在建立小鼠 SIRS 模型的基础上,通过比较紫萁贯众和荚果蕨贯众醇提物对内毒素(lipopolysaccharide/endotoxin, LPS)致小鼠 SIRS 模型的保护作用,为临床选择用药提供依据。

1 材料

1.1 药品 药材采集自重庆金佛山,经中国中医科学院中药研究所冯雪峰研究员鉴定为紫萁科植物紫萁 *Osmunda japonice* Thunb. 和球子蕨科植物荚果蕨 *Matteuccia struthiopteris* (L.) Todaro 的干燥带叶柄残基的根茎。两种贯众各 200 g 依次用 10 倍和 8 倍量 50% 乙醇回流提取 2 次,每次 1 h,合并提取液,减压浓缩成紫萁稠浸膏(0.57 g·mL⁻¹)和荚果蕨稠浸膏(0.67 g·mL⁻¹)备用。

1.2 试剂和仪器 布洛芬(中美天津史克制药有限公司,批号 2009009001);LPS(美国 Sigma 公司,批号 029k4023,用无菌生理盐水溶解成 10 g·L⁻¹, -20℃ 保存,使用前无菌生理盐水稀释成所需浓度);总胆固醇(T-CHO,批号 091220)、甘油三酯(TG,批号 091115)、葡萄糖(Glu,批号 091210)(北京北化康泰临床试剂有限公司)。MGA2219 温度传感器(日本);6108 型全自动血球计数仪(日本);半自动血液生化分析仪(威图 Vital Microlab);Sn-69513 放射免疫计数器(上海日环光电仪器有限公司);Wellscan MK3 全自动酶标仪。

1.3 动物 BALB/c 小鼠 100 只,雄性,5~7 周龄,体重 17~20 g,购自中国药品生物制品检定所,许可证号 SCXK(京)2005-0004。

2 方法

2.1 分组给药与造模 动物随机分为空白对照组, LPS 模型组(6 mg·g⁻¹),布洛芬组(7.8 × 10⁻⁵ g·kg⁻¹),紫萁低、中、高剂量组(1.17, 2.34, 4.68 g·kg⁻¹),荚果蕨低、中、高剂量组(1.17, 2.34, 4.68 g·kg⁻¹)。给药组预防性 ig 给药 7 d,1 次/d。

2.2 观测指标 末次给药后 1 h 测肛温,模型组和各给药 ip 6 mg·kg⁻¹ LPS。注射 LPS 5 h 后再次测定肛温。同时观察动物一般状态,包括精神状态、毛

色、呼吸频率、大小便、死亡情况等^[1]。眼眶取血,取 20 μL 进行白细胞计数和分类,其余血液分离血清后用于检测 T-CHO, TG, Glu。动物处死后,取小鼠左肺称湿重,置烤箱(80℃, 20 h)烤至干重恒重,称干重,计算湿重/干重比值,作为肺水肿指标。空白对照组不注射 LPS,注射同体积生理盐水。

2.3 统计学处理 用 SPSS17.0 软件,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组资料组间比较用单因素方差分析,方差齐的计量资料用 LSD 检验,方差不齐的计量资料用 Tamhane's T₂ 检验, P < 0.05 示有显著性差异。

3 结果

3.1 紫萁和荚果蕨醇提物对 SIRS 小鼠一般状态的影响 空白组活泼好动,双目有神,被毛干燥、有光泽,呼吸均匀,大便棕黑色,成形。模型组注射 LPS 20 min 后即出现精神倦怠,蜷缩少动,双目微闭,毛色湿润、发暗,无光泽,大便黏稠,不成形。各给药组小鼠状态好于模型组。各组小鼠皆无死亡。

3.2 紫萁和荚果蕨醇提物对 SIRS 小鼠呼吸频率和肺水肿的影响 与空白组相比,模型组呼吸频率下降明显(P < 0.01);与模型组相比,布洛芬组呼吸频率明显增加(P < 0.01)。与空白组相比,模型组肺水肿显著(P < 0.05);与模型组相比,紫萁贯众高剂量组肺湿重/干重比明显降低(P < 0.01)。见表 1。

表 1 紫萁和荚果蕨对 SIRS 小鼠呼吸频率和肺组织水肿程度的影响

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	呼吸频率 /次/20 s	肺湿重/干重
空白	-	7	61.29 ± 6.18 ²⁾	3.66 ± 0.17 ¹⁾
模型	-	10	42.3 ± 7.73	4.10 ± 0.20
布洛芬	7.8 × 10 ⁻⁵	10	52.4 ± 5.40 ²⁾	4.15 ± 0.25
紫萁	4.68	10	3.8 ± 5.02	3.58 ± 0.55 ²⁾
	2.34	10	43.6 ± 5.58	4.71 ± 0.27
	1.17	9	39.1 ± 4.04	4.30 ± 0.53
荚果蕨	4.68	10	39.8 ± 7.51	3.99 ± 0.25
	2.34	10	40.2 ± 6.21	4.00 ± 0.25
	1.17	10	42.8 ± 4.57	3.83 ± 0.31

注:与模型组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01(表 2~3 同)。

3.3 紫萁和荚果蕨醇提物对 SIRS 小鼠直肠肛温的影响 与空白组相比,模型组小鼠肛温明显降低(P < 0.01);布洛芬组,紫萁贯众低、中、高剂量组,荚果蕨贯众低、中、高剂量组可显著改善模型组肛温变化(P < 0.05 或 P < 0.01)。见表 2。

3.4 紫萁和荚果蕨醇提物对 SIRS 小鼠外周血白细胞计数的影响 与空白组相比,模型组白细胞总

表 2 紫萁和荚果蕨对 SIRS 直肠肛温的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	LPS 注射前	LPS 注射后	LPS 注射前
			肛温/°C	肛温/°C	后肛温差/°C
空白	-	7	38.19 ± 0.34	37.76 ± 0.51	0.43 ± 0.66 ²⁾
模型	-	10	37.66 ± 0.33	32.00 ± 0.01	5.66 ± 0.35
布洛芬	7.8 × 10 ⁻⁵	10	37.34 ± 0.32	33.27 ± 1.05	4.07 ± 0.92 ²⁾
紫萁	4.68	10	37.18 ± 0.30	32.44 ± 0.83	4.74 ± 0.80 ¹⁾
	2.34	10	37.04 ± 0.48	33.28 ± 1.19	3.76 ± 1.54 ²⁾
	1.17	9	37.35 ± 0.79	32.80 ± 0.82	4.56 ± 1.39 ¹⁾
荚果蕨	4.68	10	37.44 ± 0.44	32.81 ± 0.88	4.63 ± 1.01 ¹⁾
	2.34	10	36.69 ± 0.36	32.49 ± 0.60	4.20 ± 0.57 ²⁾
	1.17	10	37.09 ± 0.46	32.72 ± 1.04	4.37 ± 1.30 ²⁾

数、淋巴细胞、大型白细胞总数及大型白细胞比例均下降明显($P < 0.01$);与模型组比较,紫萁和荚果蕨各剂量组未见明显治疗作用。

3.5 紫萁和荚果蕨醇提取物对 SIRS 小鼠糖、脂代谢的影响 与空白组相比,模型组血清 T-CHO, Glu 含量明显下降($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组相比,荚果蕨高剂量组可显著增高血清 T-CHO 含量,对血清 Glu 含量未见明显作用,见表 3。

表 3 紫萁和荚果蕨对 SIRS 小鼠糖、脂代谢的影响

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	T-CHO	TG	Glu
			/mmol·L ⁻¹	/mmol·L ⁻¹	/mmol·L ⁻¹
空白	-	7	3.23 ± 0.24 ¹⁾	2.31 ± 0.40	8.14 ± 1.26 ²⁾
模型	-	10	2.51 ± 0.38	1.96 ± 0.66	4.91 ± 0.75
布洛芬	7.8 × 10 ⁻⁵	10	2.44 ± 0.54	4.56 ± 2.11	4.66 ± 0.83
紫萁	4.68	9	2.85 ± 0.69	4.30 ± 1.72	4.53 ± 0.59
	2.34	8	2.73 ± 0.58	6.11 ± 2.59	4.74 ± 0.69
	1.17	9	2.91 ± 0.64	4.79 ± 2.73	5.12 ± 0.96
荚果蕨	4.68	10	4.43 ± 1.04 ²⁾	2.22 ± 0.89	4.69 ± 0.59
	2.34	10	3.35 ± 0.85	2.75 ± 1.05	4.65 ± 1.04
	1.17	10	3.88 ± 1.37	5.12 ± 2.16	5.36 ± 1.72

4 讨论

全身炎症反应是机体修复和生存而出现过度应激反应的一种临床过程。当机体受到外源性损伤或感染毒性物质的打击时,可促发初期炎症反应,同时机体产生的内源性免疫炎症因子又可形成“瀑布效应”。

内毒素被认为是革兰阴性杆菌致 SIRS 的主要原因,LPS 进入血液循环后,会与脂多糖结合蛋白(upopolysaccharide binding protein, LBP)结合形成复合物。这种复合物通过与单核细胞或巨噬细胞表面高亲和力的受体 CD14 结合再作用于 T 细胞抗原受体 4(TCR4),引起靶细胞激活并释放一系列的炎症介质进入全身循环,继而引起瀑布式的炎症级联反

应,造成组织继发损害甚至最终由 SIRS 发展为多器官功能障碍综合征 MODS^[2]。本实验以注射内毒素建立小鼠 SIRS 的模型,小鼠症状、体征变化明显,造模成功。除此之外,也可以通过腹腔注射过量的酵母多糖悬液引起无菌性的腹膜炎及腹腔脓肿,从而引起免疫反应过高和炎症反应迁延失控,诱发 SIRS^[3]。

目前对于 SIRS 的治疗方法主要有抗炎介质治疗、基因治疗、糖皮质激素、血液净化疗法和药物(如乌司他丁、阿拓莫兰等)疗法。中医中药对于 SIRS 的治疗研究在进行中,例如大黄能抑制血小板活化因子介导的炎症反应,保护肠黏膜屏障,拮抗 SIRS^[40]。参脉注射液、血府逐瘀汤等均对 SIRS 有一定治疗作用^[5]。中药贯众具有清热解毒、驱虫、凉血止血等作用,近年来对该类植物的化学成分、药理作用、临床应用等做了大量研究,发现其具有抗癌、抗病毒、抗衰老、抗菌等药理作用^[6],并可以通过抗脂质过氧化而保护肝细胞^[7],但尚未见关于贯众对 SIRS 的保护作用的研究报道。

本实验结果表明,两种贯众醇提取物均可改善 LPS 所致小鼠 SIRS 引起的体温降低、总胆固醇和白细胞数下降及肺水肿情况,说明对全身炎症反应综合征有一定程度的保护作用,其相关作用及机制有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 魏育林,李亚俊,刘轩,等. 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[J]. 中国中西医结合杂志,2001,21(1):47.
- [2] 王嵩卿,曹书华. 血必净对感染性 MODS 治疗中细胞因子及预后影响[J]. 天津医药,2007,35(7):529.
- [3] 赵晓琴,龙晓弘,邝晓聪. 全身炎症反应综合征动物模型发病机制的研究[J]. 中国全科医学,2010,(29):3293.
- [4] 田金飞,汤彦,周心涛,等. 大黄对 SIRS 和 MODS 患者凝血功能及血液流变学治疗作用的临床研究[J]. 临床荟萃,2007,22(24):1793.
- [5] 陈霞. 全身炎症反应综合征的研究进展[J]. 临床医药实践,2010,19(7):1087.
- [6] 陈红云,刘光明,石武祥,等. 中药贯众的研究进展[J]. 大理学院学报,2006,6(6):75.
- [7] 韦四煌,方鉴,詹皓,等. 贯众提取物的保肝降酶作用[J]. 航空军医,2004,32(6):109.

[责任编辑 何伟]