

黄连解毒汤对多器官功能障碍大鼠脏器的保护作用

任建华^{1,2*}, 陈 宁¹, 林正佳², 陈中腾³, 翁书和²

(1. 广东省第二中医院 ICU, 广东 广州 510095;

2. 广州中医药大学第一附属医院 ICU, 广东 广州 510405;

3. 浙江省台州市人民医院 ICU, 浙江 台州 317000)

[摘要] 目的: 探讨黄连解毒汤对多器官功能障碍综合征(MODS)大鼠脏器的保护作用。方法: 采用腹腔注射酵母多糖的方法复制大鼠 MODS 模型, 观察黄连解毒汤(HLJDT)对 MODS 大鼠血浆丙氨酸转氨酶(ALT)、肌酐(Cr)、呼吸(R)、心率(HR)及组织病理的影响。结果: 造模后各时段, 治疗组动物血浆丙氨酸转氨酶、肌酐、呼吸、心率比模型组显著降低, 且小肠、肝、肾和肺脏等组织病理也明显改善。结论: 黄连解毒汤对 MODS 大鼠脏器具有一定的保护作用。

[关键词] 黄连解毒汤; 脏器损害; 多器官功能障碍综合症

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)04-0063-04

Protecting Effect of Huanglianjiedutang on Multiple Organ Dysfunction Syndrome in Rats

REN Jian-hua^{1,2*}, CHENG Ning¹, LIN Zheng-jia², CHEN Zhong-teng³, WENG Shu-he²

(1. Intensive Care Unit, the Second Hospital of Guangdong of TCM, Guangzhou 510095, China;

2. Intensive Care Unit, the first Affiliated Hospital of Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China;

3. Intensive Care Unit, the Taizhou People Hospital of Zhejiang, Taizhou 317000, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the protective effect of Huanglianjiedutang (HLJDT) on multiple organ dysfunction syndrome (MODS) in rats. **Methods:** Animal model was induced by intraperitoneal administration of zymosan. Sixty SD rats were randomly divided into control group, model group, HLJDT low-dosage and high-dosage groups. The

[收稿日期] 2007-09-13

[通讯作者] * 任建华, Tel: (020) 53490710; E-mail: hnrenjh@sohu.com

content of aminotransferase and creatinine in plasma was examined, respiration rate and heart rate of every group were examined and the pathological change of the main organs in every period were examined. **Results:** Results showed that the content of aminotransferase and creatinine in plasma, respiration rate and heart rate of treatment Groups were significantly decrease compared with model group. The histopathological change of small intestine, liver, kidney and lung of treatment groups was significantly improved compared with model group. **Conclusions:** HLJDT has protective effects on MODS in rats.

[**Key words**] Huanglianjiedutang; organ protective effect; multiple organs dysfunction syndrome

多器官功能障碍 (Multiple Organs Dysfunction Syndrome, MODS) 的发病机制迄今尚不清楚。目前, MODS 的治疗方法很多, 但临床均无肯定效果, 据统计, 2 个系统或器官功能衰竭者, 死亡率约 50% ~ 60%, 4 个器官功能衰竭者近乎 100% 死亡^[1]。中医认为本病是热毒壅盛、三焦壅滞、脏腑损伤导致的实热证, 本实验采用腹腔注射酵母多糖复制大鼠 MODS 模型, 观察黄连解毒汤对 MODS 大鼠脏器功能及病理形态的影响, 为临床黄连解毒汤防治 MODS 提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只, 体重(220 ± 15)g, 广州中医药大学实验动物中心提供。动物合格证号: 粤监证字: 2005A031; 动物实验环境设施合格证号: 粤监证字 2003A0001。

1.2 药品与试剂 黄连解毒汤(组方: 黄连 10g, 黄芩 10g, 黄柏 10g, 栀子 10g) 水煎剂, 由广州中医药大学第一附院制剂室提供, 按《药理实验方法学》大鼠剂量比 1: 5(0.25 g·mL⁻¹) 和 1: 15(0.75 g·mL⁻¹) 浓缩成低剂量和高剂量药液; 酵母多糖 (Zymosan A), 美国 Sigma 公司产品, 规格 2g/瓶, 出厂序号 Z-5250; 肌酐 (Cr) 及丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 试剂盒, 南京建成生物工程研究所和上海荣盛生物技术有限公司提供, 批号: 031209, 3061051。

1.3 主要仪器 BIOPAC SYSTEMS(MP150 型) 16 道生理系统记录仪(美国), XW-80A 旋涡混合器(上海医科大学仪器厂)和 KS 型电动振荡器(沈阳市温控开关厂), Anke TDL-5-A 低温离心机(上海), UV-754 分光光度计(上海)。

2 方法

2.1 模型制备 取 2g 酵母多糖 A, 用医用灭菌石蜡液溶解至 500 mL, 高频振荡 30 min, 超声振荡 6 h, 制备成 4 mg·mL⁻¹ 酵母多糖 A 混悬液。按酵母多糖 16 mg·kg⁻¹ (4 mL·kg⁻¹) 腹腔注射造模。空白组腹腔注

射等容量的医用灭菌石蜡液。

2.2 分组与给药 将大鼠随机分为模型组, 黄连解毒汤低剂量组和高剂量组, 并设空白组, 每组 18 只。按 20 mL·kg⁻¹ 体重给黄连解毒汤低剂量 5 g·kg⁻¹ 和高剂量 15 g·kg⁻¹ 药液。造模前, 将大鼠灌胃给药 1 次, 造模后每隔 12 h 再给药 1 次, 空白组给等容量的生理盐水。

2.3 样本采集与检测 分别于造模后 12, 24, 48 h, 腹腔注射水合氯醛 (350 mg·kg⁻¹) 麻醉大鼠, 测定大鼠体温、呼吸次数及心率。腹主动脉取血, 肝素抗凝, 离心分离血浆, -20 °C 冰箱保存; 并按试剂盒说明测 ALT 和 Cr。取肺、肝、小肠、心脏及肾脏, 以 10% 福尔马林固定, 制片组织学检查。脏器病变分级标准见表 1。

表 1 脏器病变程度分级标准

分级标准	按组织细胞的排列、炎性细胞浸润程度、组织细胞的变性、组织细胞中血管变化等方面病变分级
0 级	正常肝组织
1 级	轻度炎性细胞浸润、轻度组织细胞中血管充血和扩张
2 级	中度细胞损害伴炎症细胞浸润、明显组织细胞中血管充血、间质水肿和局灶性细胞坏死
3 级	组织细胞内广泛炎症细胞浸润, 明显组织细胞中血管充血、间质水肿, 广泛的组织细胞坏死、萎缩
统计方法	每一组织切片任选 5 个低倍镜视野判断其组织学分级, 取平均值作为该标本的组织学分级

2.4 结果统计与处理 结果采用 $\bar{x} \pm s$ 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检验, 等级资料采用 χ^2 检验, 数据采用 SPSS 11.5 软件处理。

3 结果

3.1 对 MODS 大鼠血浆 Cr 和 ALT 含量的影响 由表 2 可知, 模型组大鼠血浆 Cr, ALT 含量显著升高 ($P < 0.05$), 黄连解毒汤低、高剂量组大鼠血浆 Cr, ALT 含量与模型组比较显著降低 ($P < 0.05$)。

3.2 对 MODS 大鼠呼吸次数和心率的影响 由表 3 可知, 模型组大鼠呼吸次数显著升高 ($P < 0.05$); 造模后 48 h 黄连解毒汤低、高剂量组大鼠呼吸次数与

模型组比较显著降低 ($P < 0.05$); 模型组大鼠心率显著升高 ($P < 0.05$); 黄连解毒汤高剂量组大鼠心率与模型组比较显著降低 ($P < 0.05$)。

表 2 造模后 12, 24, 48 h 血浆 Cr 和 ALT ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	Cr(μmol·L ⁻¹)			ALT(U·L ⁻¹)		
		12 h	24 h	48 h	12 h	24 h	48 h
空白组	—	112.38 ± 12.42 ¹⁾	108.68 ± 11.32 ¹⁾	115.18 ± 14.12 ¹⁾	38.40 ± 4.23 ¹⁾	41.30 ± 4.83 ¹⁾	40.60 ± 4.63 ¹⁾
模型组	—	175.85 ± 23.27	251.89 ± 81.49	367.05 ± 153.26	64.17 ± 14.58	71.50 ± 7.18	100.17 ± 7.03
HLJDT 组	5	162.68 ± 35.19 ²⁾	205.93 ± 75.69 ²⁾	205.41 ± 31.37 ^{1,2)}	57.00 ± 6.69 ²⁾	57.17 ± 5.38 ^{1,2)}	61.67 ± 10.19 ^{1,2)}
	15	122.39 ± 44.10 ¹⁾	162.03 ± 38.27 ¹⁾	233.30 ± 70.56 ^{1,2)}	67.83 ± 13.66 ²⁾	59.67 ± 12.66 ^{1,2)}	52.50 ± 7.84 ^{1,2)}

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与空白组比较²⁾ $P < 0.05$ (下同)

表 3 造模后 12, 24, 48 h 呼吸次数和心率 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	R(次/分)			HR(次/分)		
		12 h	24 h	48 h	12 h	24 h	48 h
空白组	—	117.00 ± 8.45 ¹⁾	119.00 ± 9.49 ¹⁾	120.00 ± 9.78 ¹⁾	442.50 ± 50.86 ¹⁾	442.50 ± 50.86 ¹⁾	442.50 ± 50.86 ¹⁾
模型组	—	145.00 ± 12.25	155.00 ± 12.45	164.17 ± 8.01	512.17 ± 16.2	527.17 ± 10.21	542.50 ± 12.69
HLJDT 组	5	132.50 ± 28.83	135.00 ± 13.42 ^{1,2)}	130.00 ± 12.25 ¹⁾	435.00 ± 56.12 ¹⁾	510.00 ± 25.10 ²⁾	474.17 ± 77.03 ¹⁾
	15	133.33 ± 11.69	142.50 ± 8.22 ²⁾	127.50 ± 12.54 ¹⁾	480.00 ± 45.50	450.00 ± 74.70 ¹⁾	482.50 ± 38.44

3.3 各组大鼠脏器组织病理学结果 造模后肺、小肠、肝、肾脏器病变程度分级统计结果见表 4~5。

模型组: 可见肺间质及肺泡片灶技术水肿, 肺泡腔内充有纤维蛋白颗粒及白细胞, 肺泡膜增厚, 肺泡透明膜形成, 肺小血管中性粒细胞积聚, 微血栓形成; 肝细胞胞浆浊肿、肝窦充血及炎细胞浸润, 枯否氏细胞明显增生; 肾小球毛细血管呈充血或缺血改变, 肾小管上皮细胞浊肿、透明变性; 肠黏膜及黏膜下层充血、水肿及慢性炎细胞浸润, 局部黏膜出血及上皮溶解、脱落, 随时间延长肠黏膜破坏或萎缩。心脏未见明显病理改变。

表 4 造模后 12, 24, 48 h 多器官功能障碍大鼠肺脏和小肠病变分级平均值统计

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	肺脏			小肠		
		12 h	24 h	48 h	12 h	24 h	48 h
空白组	—	0	0	0	0	0	0
模型组	—	2	2.7	3	2	2.6	3
HLJDT 组	5	1	2.1	1.8	1	1	2
	15	1	1.4	1.2	1	1.6	1.8

黄连解毒汤治疗组和空白组: 黄连解毒汤高剂量和低剂量组的病理改变均较模型组明显减轻。可见肺间质轻度水肿及血管充血; 肝细胞胞浆浊肿及嗜酸性变; 肾小球毛细血管充血、缺血, 肾小管上皮细胞轻度浊肿、变性; 小肠黏膜及黏膜下层局灶性充

血、水肿; 治疗组比空白组稍重。心脏未见明显病理改变。

表 5 造模后 12, 24, 48 h 多器官功能障碍大鼠肝脏和肾脏病变分级平均值统计

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	肝脏			肾脏		
		12 h	24 h	48 h	12 h	24 h	48 h
空白组	—	0	0	0	0	0	0
模型组	—	1	2.2	2.6	1	2.2	3
HLJDT 组	5	1	1.4	2.2	1	2	1.4
	15	1	1.4	1.6	1	2	2.4

4 讨论

近年来有认为肠道中细菌和毒素的移位启动全身炎症性反应中起枢纽性和扩增器作用, 是导致 MODS 发病的一个重要因素^[1], 过度炎症反应是宿主防御双面性中不利的一面, MODS 被认为全身炎症反应失调的结果^[2-3]。文献报道^[4] MODS 患者的肺组织表现为肺泡间隙的广泛炎性渗出和肺泡膜增厚, 肝脏的组织学改变为局部细胞坏死, 在坏死区域周围有炎性细胞形成的“晕”, 胃肠黏膜表现为局部坏死, 这些细胞坏死在所有 MODS 患者的组织中都是局灶性的, 而非弥漫性的。Goris' 的研究小组认为干预在这种模型开始激发阶段可能是一个很好的治疗窗^[5]。本实验选择了这种腹腔内注射酵母多糖-液体石蜡混悬液复制过度炎症反应性 MODS 大鼠模

型^[6], 依据临床对 MODS 的中医病机认识, 全身炎症反应所致 MODS 类似中医热毒壅盛、三焦壅滞、脏腑损伤导致的实热证, 应用黄连解毒汤进行干预实验。

血浆 Cr 的测定结果表明: 模型组大鼠随着时间延长肾脏功能由功能代偿逐步恶化为氮质血症符合肾脏衰竭规律; 黄连解毒汤低剂量组 Cr 虽升高但基本保持平稳水平, 肾脏功能相对稳定有较好代偿; 黄连解毒汤高剂量组 Cr 缓慢升高到 48 h 时进展为较重的氮质血症, 黄连解毒汤高剂量组在第一时间可控制炎症介质对肾脏损害, 但逐渐进展为较重的氮质血症也可能说明中药剂量较大控制炎症反应同时对肾脏有一定的影响, 这与文献[7]报道黄连解毒汤对组织细胞有一定的影响类似, 表明适当剂量黄连解毒汤对肾脏有保护作用。血浆 ALT 测定结果表明: 模型组大鼠 ALT 随着时间延长逐渐升高; 黄连解毒汤高剂量和低剂量组 ALT 虽有所升高但未见随时间递增的恶化迹象; 结果提示黄连解毒汤有协助肝脏解毒和控制炎症反应, 有保护肝脏功能的作用, 与文献研究结果一致^[8,9]。实验也表明模型组大鼠的呼吸次数、心率随着时间延长有递增现象, 而黄连解毒汤治疗组较模型组明显减轻, 与文献研究结果一致^[8,9]。本实验证明黄连解毒汤对 MODS 器官功能有一定保护作用。

病理组织学观察, 表明模型对照组的病理与文献相符^[4], 表明黄连解毒汤能减轻 MODS 模型大鼠的小肠、肺、肝、肾等脏的病理损害, 与文献研究结果一致^[8,9]。

以上结果表明黄连解毒汤对 MODS 时多器官功能的有保护作用, 并能对器官组织的病理变化有明

显减轻作用, 充分说明黄连解毒汤对 MODS 有良好的疗效和潜在的治疗价值, 值得进一步研究和开发。

[参考文献]

- [1] Christopher J, Doig, Lloyd R, *et al.* Increased intestinal permeability is associated with the development of multiple organ dysfunction syndrome in critically ill ICU patients[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998, 158: 444-451.
- [2] 丘海波, 杜斌, 刘大为, 等. 全身炎症反应综合征与多器官功能障碍综合征的临床研究[J]. *中华外科杂志*, 1997, 35(7): 403.
- [3] Bone R. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation[J]. *Crit Care Med*, 1996, 24: 163-172.
- [4] 盛志勇, 胡森. 多脏器功能障碍综合征[M]. 北京科学出版社, 1994. 4: 64-72.
- [5] Goris RJ, Volman TJ, Hendriks T, *et al.* Tissue- and time-dependent upregulation of cytokine mRNA in a murine model for the multiple organ dysfunction syndrome[J]. *Ann Surg*, 2004, 240: 142-150.
- [6] Steinberg S, Flyun W, Kelley K, *et al.* Development of a bacteria independent model of the multiple organ failure syndrome[J]. *Arch Surg*, 1989, 124(7): 1390-1396.
- [7] 方素萍, 邱全瑛, 郝钰. 黄连解毒汤含药血清对中性粒细胞与血管内皮细胞粘附的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2000, 16(10): 1128.
- [8] 李鸣真, 叶望云, 陆付耳. 中医“清热解毒法”实质的研究[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2000, 10(8): 449-450.
- [9] 曹书华, 王今达. 血必净对感染性多器官功能障碍综合征大鼠组织及内皮损伤保护作用的研究[J]. *中国危重病急救医学*, 2002, 14(8): 489-491.