

• 研究报告 •

大黄减轻多发伤合并休克兔肾脏损伤

喻安永, 潘勇, 段海真, 张天喜, 寇雄, 陆元兰, 罗忠

(遵义医学院第一附属医院急诊科, 贵州 遵义 563003)

严重创伤是社会关注的问题,已成为第一大社会公害,多发伤更是导致患者死亡的主要原因^[1],其伤情错综复杂,易并发休克及低氧血症,涉及多个部位及器官,肾脏是最易受到累及的器官之一,其所致肾脏损害越来越引起人们的重视。因此,在处理多发伤的同时,进行有效的肾脏保护很有必要。本课题组前期研究表明,大黄对多发伤兔肝及小肠有保护作用^[2]。本研究拟进一步观察大黄对多发伤合并休克兔肾脏的保护作用,报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物分组:4~6 个月龄健康白色家兔 24 只,体质量 2.2~2.9 kg,雌雄各半,由遵义医学院实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(渝)20070003。按随机数字表法均分为假手术组、模型组、大黄治疗组 3 组,实验前禁食 12 h、自由饮水。

1.2 多发伤动物模型的建立:参照文献^[3]的方法并加以改进建立多发伤动物模型。经动物耳缘静脉注入 2% 戊巴比妥钠 2 ml/kg,右股动脉插管接监护仪动态监测平均动脉压(MAP),颈动脉插管用于放血及采集血液标本,耳缘静脉注入肝素 6 mg/kg 全身肝素化,保留通道用于输液及回输全血,插入胃管。用特制夹钳夹伤双股骨和双胫腓骨致粉碎性骨折,经颈动脉放血使 MAP 降至 40~50 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa),维持 1 h 后回输全部失血及等量生理盐水,制模过程结束。假手术组插管后不进行任何处理;治疗组参照文献^[4]方法于创伤前 0.5 h 用大黄精片水溶液 20 ml (大黄剂量为 50 mg/kg) 灌胃;模型组给予等量生理盐水。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 观察指标:

各组分别于创伤前(记为 0)及创伤后 0.5、1、2、4、

8 h 各时间点记录 MAP 的动态变化。复苏后 24 h 处死动物,开腹,取右肾中段组织,10% 甲醛溶液固定,石蜡包埋切片、脱蜡,苏木素-伊红(HE)染色后光镜下观察组织病理学变化。另各组家兔均取相同部位肾组织,切成

1 mm×1 mm×1 mm 的组织块,生理盐水漂洗,固定于 2.5% 戊二醛磷酸盐缓冲液(PBS)中,透射电镜下观察肾组织超微结构的变化。

1.4 统计学处理:采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据处理,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

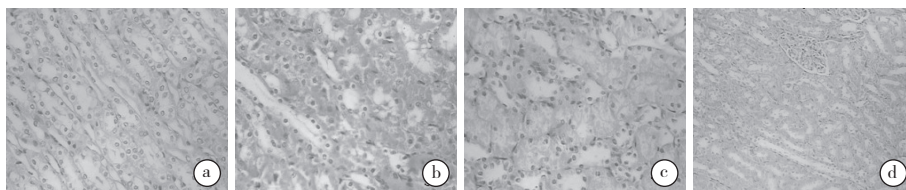
2.1 各组 MAP 变化比较(表 1):各组动物 MAP 基础值比较差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。随着创伤时间的延长,假手术组 MAP 变化不明显。模型组伤后 0.5 h MAP 即明显下降($P < 0.01$),然后逐步回升,至伤后 8 h 仍未达到基础值水平;各时间点 MAP 与假手术组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。大黄治疗组伤后 0.5 h MAP 即明显下降($P < 0.01$),然后逐步回升,至伤后 8 h 已接近创伤前水平;且创伤后 0.5、1、2 h MAP 与假手术组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),创伤后 4 h、8 h MAP 与假手术组比较差异无统计学意义;创伤后 2、4、8 h MAP 与模型组比较差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

2.2 肾脏形态学变化(图 1):光镜下可见,假手术组少部分血管充血,部分肾小管上皮细胞水肿。模型组部分肾小管上皮细胞肿胀,肾小管腔内见蛋白管型,间质见较多淋巴细胞、单核细胞浸润。大黄治疗组部分肾脏小血管充血,肾小管上皮细胞水肿,间质较少淋巴细胞、单核细胞浸润,个别肾小管内见蛋白管型。

表 1 各组动物创伤后不同时间点 MAP 变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	MAP (mm Hg)					
		伤前	伤后 0.5 h	伤后 1 h	伤后 2 h	伤后 4 h	伤后 8 h
假手术组	8	117.99 ± 4.02	109.21 ± 2.16	102.62 ± 3.82	100.27 ± 7.57	100.52 ± 4.88	104.89 ± 7.23
模型组	8	113.98 ± 19.37	38.28 ± 4.03 ^{ad}	72.91 ± 17.33 ^{ad}	84.14 ± 14.05 ^{ac}	86.59 ± 10.81 ^{ace}	78.00 ± 13.78 ^{ac}
大黄治疗组	8	109.35 ± 13.05	42.41 ± 2.11 ^{ad}	85.40 ± 12.80 ^{ac}	90.15 ± 12.27 ^b	99.78 ± 11.40 ^f	103.45 ± 14.67 ^g

注:与本组伤前比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$;与本组伤后 0.5 h 比较,^c $P < 0.01$;与假手术组比较,^d $P < 0.01$,^e $P < 0.05$;与模型组比较,^f $P < 0.05$,^g $P < 0.01$



①:假手术组;②~④:模型组;⑤:大黄治疗组

图 1 光镜下观察动物肾脏组织形态学变化(HE 中倍放大)

2.3 肾脏细胞超微结构变化

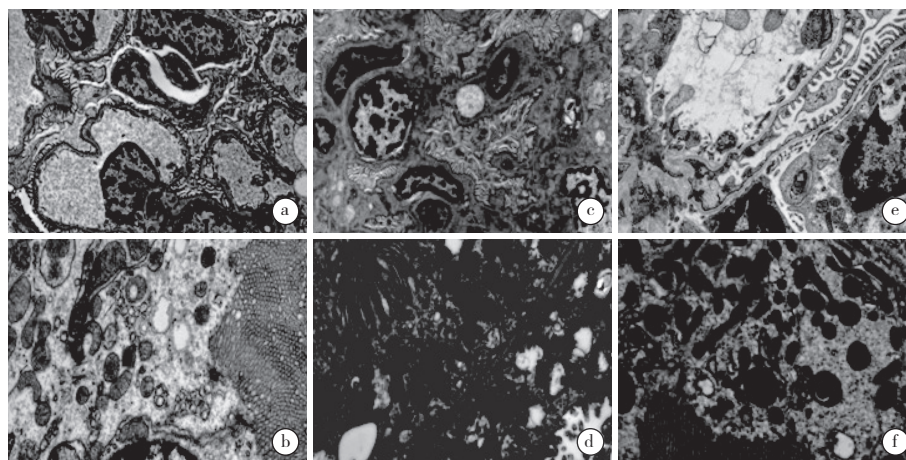
(图 2):电镜下假手术组肾小球细胞形态结构正常,基膜完整,厚度及电子密度均匀;足细胞结构正常,突起均匀;肾小管细胞形态结构正常,微绒毛结构正常。模型组肾小球毛细血管管腔不明显,基膜局部不均匀,间质较多;肾小管,线粒体大量水肿,细胞质内可见大量空泡。大黄治疗组毛细血管管腔较大,肾小球局部少量基膜厚度不均匀、电子密度均匀,足细胞突起结构大部分正常,少量融合;肾小管部分细胞水肿、电子密度降低,细胞内可见大泡,细胞质略显水肿,细胞核结构正常,微绒毛结构正常,线粒体结构正常。

3 讨论

多发伤后体内细胞因子、炎症介质大量释放,引起机体内环境严重紊乱,导致全身炎症反应综合征(SIRS),继而诱发或加重多器官功能障碍综合征(MODS),致使疾病难以逆转,病死率大增^[5]。众所周知,严重多发伤并休克后血液重新分布,肾脏是最早受到缺血性损伤的器官,患者极易出现肾功能改变,并发急性肾损伤(AKI)。有报道 AKI 患者血中白细胞介素-6(IL-6)增加,并伴机械通气时间延长及病死率增加;AKI 小鼠经拮抗 IL-6 后可减轻肺损伤及伴发的肺中性粒细胞浸润、CXC 趋化因子配体 1(CXCL1)减少^[6]。因此,积极有效的肾脏保护显得尤为重要。

中药大黄性味苦寒,具有泻下攻积、清热泻火、解毒、活血祛瘀的功效。近年来大量研究表明,大黄及大黄类药物具有抗炎、抗内毒素作用,并具有促进肠蠕动、保护肠道微生态环境和肠黏膜、防止肠道菌群移位、抗氧化作用及免疫调节等多种功效^[7-10],可明显降低 MODS 的发生率,用于创伤后 SIRS 和 MODS 的预防及治疗^[11];可保护器官功能,协助维持各器官间的平衡^[12]。大黄素还可减少肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、一氧化氮(NO)释放,抑制过度的炎症反应,减少大鼠氧自由基生成,对肠缺血/再灌注(I/R)损伤大鼠具有保护作用^[13]。本实验显示,大黄治疗组肾脏病理损害程度较模型组明显减轻,超微结构显示大黄预处理后线粒体受损情况明显轻于模型组。模型组低 MAP 可能是内毒素激活单核/巨噬细胞系统,释放大量细胞因子与炎症介质^[11],进一步加重休克时过度炎症反应、免疫功能异常、代谢紊乱和器官功能损害,从而加重了血流动力学的不稳定。本研究发现,多发伤合并休克复苏时,模型组单纯输血、输液维持 MAP 是困难的;而治疗组经大黄干预后能维持稳定的 MAP,且肾脏组织病理损害明显减轻,表明大黄对多发性创伤并休克时所产生的内毒素生物学活性有拮抗作用,可纠正休克时的低 MAP 状态,改善多发伤导致的血流动力学紊乱,从而减轻肾脏组织缺血、缺氧性损伤,明显改善休克动物的预后。

总之,大黄能减轻严重多发伤后机体的应激反应,具有



①~②:假手术组;③~④:模型组;⑤~⑥:大黄治疗组

图 2 电镜下观察动物肾脏组织超微结构变化

一定的抑制或下调全身过度的炎症反应的作用,并且可以稳定血流动力学,能够有效保护多发性创伤合并休克时缺血的肾脏组织,从而起到保护肾脏的作用。

参考文献

- [1] 王正国. 创伤基础研究进展. 中华创伤杂志, 2005, 21 (1): 6-10.
- [2] 喻安永, 李建国, 赵焕利, 等. 大黄对多发伤合并休克兔小肠的保护作用. 天津医药, 2008, 36 (8): 604-606, 插 3.
- [3] 陈德昌, 李红江, 高春芳. 大黄对烫伤大鼠肝脏肿瘤坏死因子受体基因表达的影响. 中国中西医结合急救杂志, 2000, 7 (1): 5-7.
- [4] 陈德昌, 景炳文, 李红江, 等. 大黄对危重症患者系统炎症反应治疗作用的临床研究. 中国危重病急救医学, 2000, 12 (10): 584-587.
- [5] Lendemann S, Kreuzfelder E, Waydhas C, et al. Clinical course and prognostic significance of immunological and functional parameters after severe trauma. Unfallchirurg, 2004, 107 (3): 203-210.
- [6] Ahuja N, Andres-Hernando A, Altmann C, et al. Circulating IL-6 mediates lung injury via CXCL1 production after acute kidney injury in mice. Am J Physiol Renal Physiol, 2012, 303 (6): F864-872.
- [7] 牛春雨, 侯亚利, 赵自刚, 等. 肠淋巴途径在失血性休克大鼠肠源性细菌/内毒素移位发病学中的作用. 中国危重病急救医学, 2007, 19 (5): 266-269.
- [8] 齐文杰, 张淑文, 王红, 等. 大黄素对重症急性胰腺炎大鼠小肠水通道蛋白 3 表达的调节作用. 中国中西医结合急救杂志, 2010, 17 (4): 214-217.
- [9] 郑国华, 全巧云, 朱宗耀, 等. 不同途径注入大黄对重症急性胰腺炎患者细胞因子的影响研究. 中国危重病急救医学, 2011, 23 (7): 437-438.
- [10] 陈德昌, 马丽琼, 刘绍泽. 大黄对脓毒症大鼠肠道细菌及其移位的影响. 中国危重病急救医学, 2009, 21 (1): 17-20.
- [11] Chen DC, Wang L. Mechanisms of therapeutic effects of rhubarb on gut origin sepsis. Chin J Traumatol, 2009, 12 (6): 365-369.
- [12] 陈德昌, 李红江. 大黄在危重病急救领域的药理作用机制. 中国危重病急救医学, 2000, 12 (7): 439-440.
- [13] 刘瑞林, 张嘉, 吴薇, 等. 大黄素对肠缺血/再灌注损害保护作用的实验研究. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15 (1): 45-47.

(收稿日期: 2012-10-26)

(本文编辑: 李银平)