

Xuebijing Regulate the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Septic Rats

Yanling Hu¹, Hongshan Li^{1*}, Shuzheng Liu²

¹ICU, Tangshan People Hospital, Tangshan Hebei

²ICU, The Second Hospital of Tangshan, Tangshan Hebei

Email: *iculihongshan@163.com

Received: Feb. 16th, 2015; accepted: Feb. 27th, 2015; published: Mar. 5th, 2015

Copyright © 2015 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Objective: To investigate the level changes of corticotropin-releasing hormone (CRH), adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and cortisol (CORT) level in plasma in septic rats, without and with the use of Xuebijing injection. The main purpose is to reveal whether Xuebijing can affect the hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis in septic rats. **Methods:** Forty male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 4 groups: control group, sham group, saline group (NS group), Xuebijing for treatment group. The septic rat models were challenged by CLP. We observe the clinical manifestation of animal after CLP. We use the radio-immunity method to detect the levels of CRH, ACTH and CORT in plasma. **Results:** Compared with the Sepsis group, the level of CRH, ACTH and CORT in XBJ group was significantly decreased ($P < 0.05$), but both groups were significantly higher than that in sham group. And the clinical manifestations in the rats of XBJ group were better. There was no significant difference between Normal control and Sham group ($P > 0.05$). **Conclusion:** In septic rats, the levels of the CRH, ACTH and CORT in plasma were increased, which indicate that HPA axis was more active. Xuebijing can decrease the levels of CRH, ACTH and CORT in plasma, downregulate overactivation of the HPA axis, improves the clinical manifestation.

Keywords

Xuebijing, Sepsis, CLP, Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis

*通讯作者。

血必净对脓毒症早期大鼠下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴的调节

胡艳玲¹, 李宏山^{1*}, 刘淑正²

¹唐山市人民医院重症医学科, 河北 唐山

²唐山市第二医院重症医学科, 河北 唐山

Email: iculihongshan@163.com

收稿日期: 2015年2月16日; 录用日期: 2015年2月27日; 发布日期: 2015年3月5日

摘要

目的: 探讨脓毒症早期大鼠血浆中促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)、促肾上腺皮质激素(ACTH)、皮质醇(CORT)水平的变化, 明确脓毒症时大鼠下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴的变化以及血必净对其的调节作用。**方法:** 选用健康雄性SD大鼠40只, 随机分为正常对照组(Normal group), 假手术组(Sham group), 模型组(Sepsis group)和血必净治疗组(XBJ group)四个组, 采用改良的盲肠结扎穿孔法(CLP)制作SD大鼠脓毒症模型。观察CLP术后动物的临床表现, 术后6小时处死动物, 利用放射免疫法检测血浆中促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)、促肾上腺皮质激素(ACTH)、皮质醇(CORT)水平。**结果:** XBJ组与Sepsis组相比, 血浆中CRH、ACTH、CORT水平显著降低($P < 0.05$), 均高于Normal组和Sham组, 且XBJ组大鼠一般情况表现较Sepsis组轻, Normal组和Sham组之间比较无统计学差异($P > 0.05$)。**结论:** 脓毒症早期大鼠HPA轴处于过度激活的状态, 血浆中CRH、ACTH、CORT的水平是升高的; 血必净治疗后能够降低血浆中CRH、ACTH和CORT的水平, 调节HPA轴的过度激活状态, 减轻脓毒症大鼠的感染中毒表现。

关键词

血必净, 脓毒症, 盲肠结扎穿孔, 下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴

1. 引言

脓毒症是在严重感染、创伤、烧伤等因素诱发下引起的全身炎症反应综合征(SIRS), 是临床常见的急危重症[1] [2]。长期以来脓毒症一直是危重病人的主要死亡原因, 也是人们关注的焦点。人们对脓毒症时机体的炎症反应机制已非常投入的研究了几十年, 然而迄今为止, 结果难以令人满意。脓毒症时内分泌系统功能可发生明显的变化, 其中下丘脑 - 垂体 - 肾上腺(HPA)轴的激活及分泌变化被认为是机体对抗脓毒症的主要机制之一[3]-[5]。

血必净注射液主要成分为红花黄色素 A、川芎嗪、丹参素、阿魏酸、芍药苷、原儿茶醛主要是从红花、赤芍、川芎、丹参、当归等中草药中提炼而来, 是防治脓毒症/多器官功能障碍综合征(MODS)的临床新药[6], 不仅通过抑菌、抗炎、抗内毒素、调节凝血功能及防止早期器官损伤等机制减少脓毒症的发生, 降低病死率并改善预后, 并且具有显著的免疫调节作用。本研究采用盲肠结扎穿孔术(CLP)制备大鼠脓毒症模型, 观察血必净注射液对脓毒症大鼠 HPA 轴的调节作用。

2. 对象和方法

2.1. 实验动物及模型制备

健康清洁级雄性 SD 大鼠 40 只(由河北医科大学实验动物中心提供), 体重 250~300 g。24℃~26℃实验室内适应性饲养 1 周, 术前称重。按照 Chaudry 等[7]报道的方法行大鼠盲肠结扎穿孔术(CLP), 复制严重腹腔感染致脓毒症模型。动物术前称重、编号, 并禁食 12 h, 自由饮水。10%水合氯醛 300 mg/kg 腹腔注射麻醉大鼠后固定, 常规消毒, 铺无菌洞巾。沿腹中线作一长约 1.5 cm 的切口, 逐层切开, 暴露盲肠并小心游离其盲端避免血管损伤, 生理盐水润湿盲肠表面, 将盲肠取出, 在距盲端 1 cm 处结扎, 用 16 号针头贯穿 3 次, 挤出少许肠内容物, 并留置一条宽 2 mm 的橡皮条贯通盲肠, 防止针孔闭合。然后 5C06 盲肠移入腹腔, 逐层缝合腹壁切口。术毕在股部皮下注射 50 ml/kg 林格平衡液抗休克。待动物清醒后可自由活动和饮水。假手术组只开腹翻动肠管后关腹。

2.2. 动物分组及给药

将 40 只大鼠随机分为正常对照组(Normal)、假手术组(Sham)、模型组(Sepsis)和血必净治疗组(XBJ)4 组, 每组 10 只。血必净治疗组于 CLP 术后经静脉注射血必净注射液(天津红日药业股份有限公司生产)4 ml/kg [8] [9]; 模型组于 CLP 术后经静脉注射生理盐水, 量同血必净治疗组。各组均于 CLP 术后 6 小时留取血液标本待测。

2.3. 检测指标及方法

在 CLP 术后 6 小时以 10%水合氯醛腹腔注射麻醉, 打开胸腔, 剪开心包, 用 5 ml 注射器心尖部采血 4 ml, 迅速置于肝素抗凝管, 充分混匀, 置于冷冻离心机中, 4℃、3000 rpm, 离心 15 min, 取上清液即血浆分装于 EP 管中, -20℃保存, 待测。放射免疫法测定血浆中 CRH, ACTH and CORT 的水平, 严格按照试剂盒说明书步骤检测(北京福瑞工程公司提供)。

2.4. 统计学处理

数据统计分析采用 SPSS12.0 统计软件包, 计量资料以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用成组设计资料的 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. CLP 术后观察

在 CLP 后 2~3 小时大鼠可自由饮水, 6~8 小时出现精神倦怠、躁动、寒战、腹胀、眼角分泌物增多、竖毛等表现, 各组动物处死后剖腹见腹腔积有血性渗出液, 盲肠肿胀变黑、发生粘连, 空肠肠管胀气等表现, 依据 William [10]的研究符合脓毒症早期表现, 制模成功。

3.2. 各组大鼠血浆中 CRH、ACTH 和 CORT 水平检测结果(表 1)

与 Normal 和 Sham 组相比, Sepsis 组下血浆中 CRH、ACTH 和 CORT 水平明显升高($P < 0.01$); 与 Sepsis 组相比, XBJ 组血浆中 CRH、ACTH、CORT 水平明显下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

4. 讨论

脓毒症是严重创伤、烧伤、休克、大手术和感染后常见并发症, 其本质为不同感染因素所致失控性炎症反应, 如细菌、真菌、病毒及其毒性产物等均可诱发脓毒症。在美国, 每年约有 750,000 人发生脓

Table 1. The level changes of CRH, ACTH and CORT in plasma of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 40$)**表 1.** 各组大鼠血浆中 CRH、ACTH 和 CORT 水平的变化 ($\bar{x} \pm s, n = 40$)

Group	CRH (ng/ml)	ACTH (pg/ml)	CORT (ng/ml)
Normal group	31.36 ± 3.12	9.65 ± 1.21	7.56 ± 0.89
Sham group	46.68 ± 4.37 ^{##}	16.45 ± 3.18 ^{**}	13.27 ± 1.31 ^{**}
Sepsis group	86.51 ± 5.89	27.26 ± 3.12	29.74 ± 1.65
XBJ group	56.18 ± 4.90 [*]	17.62 ± 2.74 [#]	19.27 ± 1.85 [#]

注: XBJ group compare to Sham group: ^{*} $P < 0.01$, ^{##} $P < 0.05$; XBJ group compare to Sepsis group: ^{*} $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$; Sham group compare to Sepsis group: $P < 0.01$; Sham group compare to Normal group: $P > 0.05$; XBJ group compare to Normal group: ^{*} $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$ 。

毒症,在入院治疗的病人中约有 2% 发生脓毒症。预计到 2020 年,美国每年发生脓毒症的病人将超过 100 万[11]。据报道:目前脓毒症的病死率高达 30%~50%,一旦并发休克和多器官衰竭,其病死率可达 80%~90% [12]。临床流行病学资料显示,脓毒症是危重患者的主要死亡原因之一,现已成为进一步提高危重症救治成功率的最大障碍。提高对该严重感染并发症的认识和防治水平具有重要的理论价值及临床意义。然而迄今为止,我们对于脓毒症时机体的炎症反应机制还没有充分阐明,而神经-内分泌-免疫网络调节理论的形成与出现为脓毒症发病机制的进一步认识提供了契机,神经-内分泌-免疫网络可能在脓毒症的发生发展中起着重要的调控作用。深入研究其机制有望开辟脓毒症临床干预新途径。在神经内分泌免疫网络研究中,下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴备受关注。HPA 轴是神经内分泌免疫网络的枢纽,在应激反应中起关键性的作用,因为当应激发生时,脑内内分泌机能改变的最重要的途径时 HPA 轴被激活。

HPA 轴是机体主要的应激管理系统。躯体和精神性的损害激活 HPA 轴,通过控制机体的激素水平来维持内环境的稳态[13]。HPA 轴是维护整个机体正常生理和谐的重要组成部分,HPA 轴的激活时对疾病和应激产生的全身性调节的重要组成部分,能够促进细胞和器官内环境稳态的维持。在感染、创伤等应激状态下机体可通过激活下丘脑-垂体-肾上腺轴加速能量供给,减少非必需的能量消耗,保护心、脑、肺等重要脏器功能。HPA 轴在脓毒症早期活化并引起 CRH 的释放,CRH 进一步促进 ACTH 分泌,血中肾上腺皮质激素升高,儿茶酚胺、血浆催乳素、胰高血糖素水平上升,甲状腺素、胰岛素、生长激素、血管加压素水平下降。本研究中我们也观察到 CLP 术后 6 小时,大鼠血浆中 CRH、ACTH 及 CORT 水平明显升高,说明 HPA 轴处于激活状态。

血必净注射液的主要有效成分包括红花黄色素 A、川芎嗪、丹参素、阿魏酸、芍药苷、原儿茶醛。文献报道,血必净注射液能在体内外有效拮抗内毒素,抑制体内多种炎性介质的病理生理作用,恢复受到抑制的免疫反应,对应激性脏器损伤具有良好的保护作用[11]。本研究以经典的盲肠结扎穿孔法(CLP)来复制脓毒症的模型,CLP6 小时后测得大鼠血浆中 CRH、ACTH、CORT 水平明显升高,而应用血必净治疗后血浆中 CRH、ACTH、CORT 水平较模型组有明显的降低并且大鼠的感染中毒表现也减轻。这说明血必净能够改善脓毒症大鼠 HPA 轴过度激活的状态,减轻脓毒症大鼠的感染中毒症状,为临床治疗早期脓毒症提供了理论依据。当然,我们的实验设计仍存在不足,观察时间点比较单一,在今后的研究中我们会增加 CLP 术后 12 小时或者更长时间的比较,进一步证实脓毒症是 HPA 轴的变化以及血必净注射液对其的影响。

参考文献 (References)

- [1] Linger, R.P., Levy, M.M., Carlet, J.M., et al. (2008) Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Medicine*, **34**, 17-60.
- [2] De Hinger, R.P., Levy, M.M., Rhodes, A., et al. (2013) Surviving sepsis campaign: International guidelines for man-

- agement of severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Medicine*, **39**, 165-228.
- [3] Annane, D., Maxime, V., Ibrahim, F., et al. (2006) Diagnosis of adrenal insufficiency in severe sepsis and septic shock. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **174**, 1319-1326.
- [4] De Jong, M.F., Beishuizen, A., Spijkstra, J.J., et al. (2007) Relative adrenal insufficiency: An identifiable entity in nonseptic critically ill patients? *Clinical Endocrinology (Oxford)*, **66**, 732-739.
- [5] 崔娜, 刘大为, 王郝等 (2007) 严重感染患者下丘脑-垂体-靶腺轴功能的早期改变. *中国危重病急救医学*, **19**, 332-335.
- [6] 朱雪琦, 王蕾, 刘清泉等 (2006) 血必净注射液对脓毒症大鼠肾保护作用的研究. *中国危重病急救医学*, **18**, 681-683.
- [7] Chaudry, I.H., Wichterman, K.A. and Baue, A.E. (1979) Effect of sepsis on tissue adenine nucleotide levels. *Surgery*, **85**, 205-211.
- [8] 曹书华, 王今达 (2002) 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. *中国危重病急救医学*, **14**, 489-491.
- [9] 张畔, 曹书华, 崔克亮等 (2002) 血必净对多脏器功能障碍综合征单核细胞 HLA-DR 表达影响的研究. *中国中西医结合急救杂志*, **9**, 21-23.
- [10] Hubbard, W.J., Choudhry, M., Schwacha, M.G., et al. (2005) Cecal ligation and puncture. *Shock*, **24**, 52-57.
- [11] Jame, M., O'Brien Jr., M.D., et al. (2007) Sepsis. *The American Journal of Medicine*, **120**, 1012-1022.
- [12] 卢中秋 (2007) 关注脓毒症的神经-内分泌-免疫网络调节作用. *世界急危重病医学杂志*, **4**, 1894-1896.
- [13] Gupta, S., Aslakson, E., Brian, M., et al. (2007) Inclusion of the glucocorticoid receptor in a hypothalamic pituitary adrenal axis model reveals bistability. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, **4**, 8.