

## 加味生脉散对脓毒症大鼠急性肾损伤的保护作用研究

王 帅<sup>1</sup>, 万晓刚<sup>2</sup>, 邱潮兵<sup>2</sup>, 易智彪<sup>2</sup>, 吴永刚<sup>1</sup>, 陈仁山<sup>1</sup>, 姚海魂<sup>1</sup>, 肖彩宏<sup>1</sup>, 李泽华<sup>3\*</sup>

1. 广州市中西医结合医院, 广东 广州 510800

2. 广州中医药大学, 广东 广州 510006

3. 长沙市中心医院, 湖南 长沙 410004

**摘要:** 目的 探讨加味生脉散对脓毒症大鼠急性肾损伤的影响。方法 将60只SPF级健康成年雄性SD大鼠随机分为对照组、假手术组、模型组和加味生脉散低、中、高剂量(10、20、30 g/kg)组, 每组10只。除对照组外, 采用盲肠结扎穿孔术建立脓毒症大鼠模型, 假手术组不进行盲肠结扎和穿孔, 其余操作相同。术后ig给药1次, 各组分别于术后0、3、6、12 h眼后静脉丛采血, 试剂盒法检测血清大鼠胱抑素C(CysC)和肾损伤分子-1(KIM-1)、尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)、全血乳酸、血清肌酐(Scr)水平; 并于12 h处死每组大鼠各3只, HE染色后进行肾组织病理观察, 免疫组化法检测肾组织缺氧诱导因子(HIF)-1 $\alpha$ 水平。结果 术后3~12 h, 加味生脉散低、中、高剂量组动物血清CysC、尿NGAL、Scr值显著低于模型组( $P < 0.05$ ); 术后6~12 h, 高、中、低剂量组动物血清KIM值显著低于模型组( $P < 0.05$ ); 术后12 h, 高、中、低剂量组全血乳酸值显著低于模型组( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 加味生脉散高、中、低剂量组动物病理变化程度轻微。模型组动物肾组织皮、髓质交界处弥漫性HIF-1 $\alpha$ 阳性表达, 皮质阳性表达明显; 加味生脉散高、中剂量组动物肾组织外髓质内带弱阳性表达HIF-1 $\alpha$ , 皮质无阳性表达; 低剂量组动物肾组织外髓质内带阳性表达明显, 皮质弱阳性表达。结论 加味生脉散具有保护脓毒症休克合并急性肾损伤大鼠肾功能的作用。

**关键词:** 加味生脉散; 脓毒症; 急性肾损伤; 胱抑素C; 肾损伤分子-1; 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白; 缺氧诱导因子-1 $\alpha$

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)05-0997-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.05.013

## Experimental study on protective effect of Jiawei Shengmai San on acute kidney injury in rats with septic

WANG Shuai<sup>1</sup>, WAN Xiaogang<sup>2</sup>, QIU Chaobing<sup>2</sup>, YI Zhibiao<sup>2</sup>, WU Yonggang<sup>1</sup>, CHEN Renshan<sup>1</sup>, YAO Haihun<sup>1</sup>, XIAO Caihong<sup>1</sup>, LI Zehua<sup>3</sup>

1. Guangzhou Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Guangzhou 510800, China

2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

3. Changsha Central Hospital, Changsha 410004, China

**Abstract: Objective** To investigate the effect and mechanism of Jiawei Shengmai San powder on septic shock complicated with acute renal injury. **Methods** Totally 60 SPF healthy adult male SD rats were divided into three groups: control group, sham group, model group, Jiawei Shengmai San high, medium and low dose (10, 20 and 30 g/kg) group. The models of Sepsis were established by CLP in all groups except the control group. The sham group only performed the same procedure without cecal ligation and perforation. Blood samples were taken from the retroorbital vein at the time points of 0, 3, 6 and 12 h in each group, and the indexes of CYS C, KIM-1, Ngal, lactic acid and Scr were measured at different time points in each group, and three rats in each group were killed at 12 h, pathological observation of Renal Tissue and detection of HIF-1 were performed. **Results** The values of serum CYS C, urine Ngal and Scr in the high, middle and low dose groups of 3 to 12 h were lower than those in the model group ( $P < 0.05$ ). The serum Kim values in the high, middle and low dose groups of 6 to 12 h were significantly lower than those in the model group ( $P < 0.05$ ). The values of whole blood lactic acid in the high, middle and low dose groups of 12 h were lower than those in the model

收稿日期: 2020-11-18

基金项目: 广东省产学研重大专项资助(2014B090902002); 广州市科技项目资助(201804010306)

第一作者: 王 帅(1980—), 男, 硕士研究生, 中医内科学专业。Tel: 13710582195 E-mail: melonw@139.com

\*通信作者: 李泽华(1976—), 男, 副主任医师, 硕士研究生, 心血管内科专业。Tel: 13507433336 E-mail: 30488393@qq.com

group ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, the pathological changes of Jiawei Shengmai San in high, middle and low dose groups were relatively slight. There was a weak positive expression in the outer medulla of the kidney tissue in the high and middle dosage groups, but not in the cortex of the kidney tissue in the low dosage groups. **Conclusion** Jiawei Shengmai San has protective effect on renal function in rats with septic shock and acute renal injury.

**Key words:** Jiawei Shengmai San; septic shock; acute kidney injury; CysC; KIM-1; NGAL; HIF-1 $\alpha$

脓毒症是严重感染、严重创伤、烧伤、休克、外科手术后常见的并发症,可导致脓毒性休克、多器官功能障碍综合征。脓毒休克是指脓毒症患者经足量液体复苏仍顽固性低血压,伴有低灌注状态,住院死亡率 $>40\%$ ,是严重威胁人类健康的重大疾病<sup>[1]</sup>。急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是由多种病因引起的短时间内(几个小时或几天)肾功能突然下降而出现的临床综合征<sup>[2]</sup>。AKI是脓毒休克的常见并发症,50%以上脓毒休克患者会并发AKI,短期内可增加死亡风险<sup>[3-4]</sup>。

加味生脉散由生脉散加大黄、附子组成(红参30 g、麦冬60 g、五味子20 g、熟附子18 g、生大黄24 g),具有益气、敛阴、固脱之功效,临床常用于脓毒休克合并AKI治疗。本研究通过盲肠结扎穿孔术(CLP)建立脓毒休克大鼠模型,给予加味生脉散干预,观察大鼠肾组织病理学、肾功能、肾损伤标志物变化,研究加味生脉散对脓毒症模型大鼠AKI的作用及机制。

## 1 材料

### 1.1 药物及主要试剂

颗粒饮片红参(批号0076611)、麦冬(批号0079191)、五味子(批号0080881,按干燥品计算,每1 g含五味子醇甲3.3 mg)、熟附子(批号0081591)、生大黄(批号0060261,按干燥品计算,每1 g含芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的总量为19.2 mg),均购自广东一方制药有限公司。加味生脉散标准药液配制:加50 mL温蒸馏水溶解25 g加味生脉散颗粒饮片。

大鼠中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) ELISA试剂盒(批号20200530)、大鼠肾损伤分子-1(KIM-1)ELISA试剂盒(批号20200602)、大鼠胱抑素C(Cystatin C, CysC)试剂盒(批号20200528),均购自美国CUSABIO公司;全血乳酸测定试剂盒(批号20200531)、血清肌酐(Scr)测定试剂盒(批号20200527)均购自南京建成生物工程研究所;缺氧诱导因子(HIF)-1 $\alpha$ 抗体(美国OriGene公司,批号20200631)。

### 1.2 主要仪器

3001型酶标仪(美国Thermo公司);7200型分光光度计(美国UNICO公司);RM2235型切片机、HistoCore Arcadia H型包埋机(德国LEICA公司)。

### 1.3 实验动物

SPF级健康成年雄性SD大鼠,体质量150~250 g,由江西中医药大学动物中心供应,实验动物生产许可证SCXK(赣)2018-0003。于江西中医药大学实验动物中心饲养,温控(22 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C,光控200 lx,12 h光暗循环。本实验已经通过江西中医药大学动物伦理审查委员会批准(JZLLSC 2019-0191)。

## 2 方法

### 2.1 分组、造模及给药

健康雄性SD大鼠适应性饲养7 d后随机分为6组:对照组、假手术组、模型组、加味生脉散高、中、低剂量(10、20、30 g/kg)组,每组10只。

除对照组外,采用CLP术建立脓毒症大鼠模型<sup>[5]</sup>:大鼠予0.3%戊巴比妥钠(30 mg/kg)ip麻醉,常规腹部碘伏消毒,备皮和铺无菌纱布洞巾。沿腹中线切开腹壁皮肤约1 cm,用无菌镊探查至盲肠后用手术缝线结扎盲肠(避免结扎回肠及盲肠系膜血管),20 G无菌针头分别于被结扎盲肠头尾端穿孔,然后挤压盲肠,使其内容物沿穿孔部位挤出0.3 mL,将盲肠和挤出内容物一起送回腹腔,逐层缝合腹壁切口。假手术组进行相同的操作,不进行盲肠结扎和穿孔。

大鼠造模成功后在22~25 $^{\circ}$ C环境下活动,食物和水不受限制。术后加味生脉散高、中、低剂量组ig给药1次,对照组、假手术组、模型组ig给予蒸馏水。

### 2.2 指标观察

各组分别于术后0、3、6、12 h 4个时间点,眼后静脉丛采血,试剂盒法检测不同时间点血清CysC、KIM-1,尿NGAL,全血乳酸,Scr水平;并于12 h处死每组大鼠各3只,HE染色后进行肾组织病理观察;免疫组化法检测肾组织HIF-1 $\alpha$ 水平。

### 2.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件包进行数据处理,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多个样本间的均数的比较采

用单因素方差分析(One-way ANOVA), 方差齐性时组间均值总体比较用  $F$  检验, 两两比较用 SNK 检验; 方差不齐时, 组间均值总体比较用 Welch 检验, 两两比较采用 Dunnett  $t_3$  检验。重复测量资料用球形检验; 各组治疗前后比较采用配对  $t$  检验。

### 3 结果

#### 3.1 各组大鼠血清 CysC 水平比较

如表 1 所示, 术后 3~12 h, 模型组及加味生脉散各剂量组血清 CysC 值显著高于对照组及假手术组 ( $P < 0.05$ ); 加味生脉散高、中、低剂量组动物血清 CysC 值显著低于模型组 ( $P < 0.05$ )。

#### 3.2 各组大鼠血清 KIM-1 水平比较

如表 2 所示, 术后 3~12 h, 与对照组及假手术组比较, 模型组及加味生脉散各剂量组血清 KIM-1 值显著升高 ( $P < 0.05$ ); 术后 6~12 h, 加味生脉散高、中、低剂量组动物血清 KIM-1 值显著低于模型组 ( $P < 0.05$ )。

#### 3.3 各组大鼠尿 NAGL 水平比较

如表 3 所示, 术后 3~12 h, 模型组及加味生脉

散各剂量组尿 NAGL 值显著高于对照组及假手术组 ( $P < 0.05$ )。加味生脉散高、中、低剂量组动物尿 NAGL 值显著低于模型组 ( $P < 0.05$ )。

#### 3.4 各组大鼠乳酸水平比较

如表 4 所示, 术后 12 h, 模型组及加味生脉散各剂量组全血乳酸值显著高于对照组和假手术组, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。加味生脉散高、中、低剂量组动物全血乳酸值显著低于模型组 ( $P < 0.05$ )。

#### 3.5 各组大鼠 Scr 水平比较

如表 5 所示, 术后 3~12 h, 模型组及加味生脉散各剂量组 Scr 水平显著高于对照组和假手术组, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。加味生脉散高、中、低剂量组动物 Scr 水平显著低于模型组 ( $P < 0.05$ )。

#### 3.6 实验动物一般情况观察

对照组无死亡, 饮食正常, 反应灵敏, 呼吸平稳均匀, 被毛顺滑有光泽, 喜扎堆取暖, 大小便正常, 剖腹未见异常。假手术组术后 1 h 左右完全清醒, 一般情况与对照组无明显区别, 剖腹未见恶臭、肠管水肿坏死等表现。模型组术后苏醒延迟, 醒后精

表 1 各组大鼠血清 CysC 检测结果 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 1 Results of CysC of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量/ ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	CysC/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )			
		术后 0 h	术后 3 h	术后 6 h	术后 12 h
对照	—	3.62±1.53	3.57±1.41	3.59±1.31	3.61±1.06
假手术	—	3.54±1.35	3.60±1.25	3.58±1.92	3.57±1.24
模型	—	3.62±1.44	7.82±2.03 <sup>#</sup>	10.21±2.01 <sup>#</sup>	12.18±2.01 <sup>#</sup>
加味生脉散	10	3.58±1.34	5.82±1.28 <sup>#▲</sup>	7.25±2.32 <sup>#▲</sup>	7.31±2.05 <sup>#▲</sup>
	20	3.65±1.24	5.62±2.22 <sup>#▲</sup>	6.95±1.14 <sup>#▲</sup>	7.01±1.45 <sup>#▲</sup>
	30	3.57±1.12	5.72±1.57 <sup>#▲</sup>	7.11±1.85 <sup>#▲</sup>	7.52±2.21 <sup>#▲</sup>

与对照组比较:  $^*P < 0.05$ ; 与假手术组比较:  $^{\#}P < 0.05$ ; 与模型组比较:  $^{\Delta}P < 0.05$

$^*P < 0.05$  vs control group;  $^{\#}P < 0.05$  vs sham group;  $^{\Delta}P < 0.05$  vs model group

表 2 各组大鼠血清 KIM 检测结果 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 2 Changes in KIM of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量/ ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	KIM-1/( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )			
		术后 0 h	术后 3 h	术后 6 h	术后 12 h
对照	—	2.38±1.12	2.29±1.02	2.41±1.42	2.34±1.13
假手术	—	2.36±1.22	2.34±1.34	2.42±1.11	2.39±1.09
模型	—	2.35±1.58	5.22±1.45 <sup>#</sup>	24.31±1.42 <sup>#</sup>	28.21±2.32 <sup>#</sup>
加味生脉散	10	2.35±1.21	5.11±1.43 <sup>#</sup>	17.21±2.15 <sup>#▲</sup>	7.31±2.05 <sup>#▲</sup>
	20	2.38±1.16	5.62±2.33 <sup>#</sup>	16.82±2.10 <sup>#▲</sup>	7.18±2.25 <sup>#▲</sup>
	30	2.40±1.09	5.22±1.19 <sup>#</sup>	17.28±1.74 <sup>#▲</sup>	8.22±2.43 <sup>#▲</sup>

与对照组比较:  $^*P < 0.05$ ; 与假手术组比较:  $^{\#}P < 0.05$ ; 与模型组比较:  $^{\Delta}P < 0.05$

$^*P < 0.05$  vs control group;  $^{\#}P < 0.05$  vs sham group;  $^{\Delta}P < 0.05$  vs model group

表3 各组大鼠尿NAGL检测结果( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 3 Changes in urine NAGL level of rats in each group ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/ (g·kg <sup>-1</sup> )	NAGL/(ng·mL <sup>-1</sup> )			
		术后0 h	术后3 h	术后6 h	术后12 h
对照	—	38.4±0.3	37.9±1.5	39.1±2.3	38.9±2.1
假手术	—	37.9±1.9	39.2±1.7	38.2±2.3	38.5±1.4
模型	—	36.8±1.7	54.5±1.3 <sup>#</sup>	99.6±1.9 <sup>#</sup>	125.2±2.1 <sup>#</sup>
加味生脉散	10	37.2±1.4	46.2±2.2 <sup>#▲</sup>	60.4±2.9 <sup>#▲</sup>	84.2±2.6 <sup>#▲</sup>
	20	36.8±1.6	45.2±3.0 <sup>#▲</sup>	66.8±2.3 <sup>#▲</sup>	81.5±3.1 <sup>#▲</sup>
	30	37.6±1.4	47.3±1.6 <sup>#▲</sup>	62.5±1.7 <sup>#▲</sup>	86.0±2.3 <sup>#▲</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与假手术组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>▲</sup> $P < 0.05$

<sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs sham group; <sup>▲</sup> $P < 0.05$  vs model group

表4 各组大鼠乳酸检测结果( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 4 Changes in LC of rats in each group ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/ (g·kg <sup>-1</sup> )	乳酸/(ng·mL <sup>-1</sup> )			
		术后0 h	术后3 h	术后6 h	术后12 h
对照	—	6.1±1.2	6.3±1.6	6.2±1.3	6.2±1.2
假手术	—	6.4±1.5	6.2±1.1	6.3±1.4	6.8±1.5
模型	—	6.2±1.7	6.4±1.2	6.2±1.4	9.7±1.4 <sup>#</sup>
加味生脉散	10	6.5±1.8	6.3±2.2	6.4±1.3	7.1±1.1 <sup>#▲</sup>
	20	6.3±1.2	6.4±2.1	6.2±2.3	8.1±2.2 <sup>#▲</sup>
	30	6.2±1.5	6.1±1.0	6.5±2.1	7.3±2.0 <sup>#▲</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与假手术组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>▲</sup> $P < 0.05$

<sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs sham group; <sup>▲</sup> $P < 0.05$  vs model group

表5 各组大鼠Scr检测结果( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 5 Changes in Scr of rats in each group ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/ (g·kg <sup>-1</sup> )	Scr/( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )			
		术后0 h	术后3 h	术后6 h	术后12 h
对照	—	22.3±1.3	23.1±1.5	22.6±1.1	21.9±1.4
假手术	—	24.1±1.8	23.9±1.4	22.9±2.1	24.2±1.9
模型	—	23.1±1.5	43.6±1.6 <sup>#</sup>	59.8±1.8 <sup>#</sup>	98.6±1.9 <sup>#</sup>
加味生脉散	10	23.5±1.1	35.2±2.1 <sup>#▲</sup>	39.0±2.4 <sup>#▲</sup>	51.6±2.3 <sup>#▲</sup>
	20	24.2±1.2	34.6±2.1 <sup>#▲</sup>	41.2±2.1 <sup>#▲</sup>	48.5±2.3 <sup>#▲</sup>
	30	23.6±1.4	38.2±1.2 <sup>#▲</sup>	46.2±2.8 <sup>#▲</sup>	60.1±2.5 <sup>#▲</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与假手术组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>▲</sup> $P < 0.05$

<sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs sham group; <sup>▲</sup> $P < 0.05$  vs model group

神萎靡, 身体蜷缩, 基本不活动, 进食进水减少, 对外界反应迟钝, 呼吸频率加快, 被毛蓬松少光泽, 大便稀软; 术后18 h出现死亡大鼠, 随着时间的延长大部分大鼠出现皮温低, 肌力减弱, 眼周血性分泌物, 停止进食进水, 排泄稀水样便, 色黄, 腥臭味; 进一步发展出现呼吸急促, 对被动仰卧无反抗, 排泄物呈黏液状, 量多, 最终死亡; 剖腹可见恶臭味血性

渗液, 肠管水肿黏连, 盲肠坏死变黑。加味生脉散高、中、低剂量组动物术后苏醒延迟, 但与模型组动物相比较, 术后苏醒延迟情况相对轻缓; 术后同样出现醒后精神萎靡, 身体蜷缩, 基本不活动, 进食进水减少, 对外界反应迟钝, 呼吸频率加快, 被毛蓬松少光泽, 大便稀软等情况, 但与模型组动物比较, 情况相对轻缓; 随着时间的延长, 部分大鼠(数量不超

过本组动物数量的20%)出现皮温低、肌力减弱,少数动物(数量不超过本组动物数量的5%)眼周现血性分泌物,停止进食进水,排泄稀水样便,色黄,腥臭味;24 h后,高、中、低剂量组动物存活率高于模型组动物。

### 3.7 肾组织病理学观察

图1结果显示,对照组及假手术组肾小球及远曲小管上皮细胞无明显病变,模型组及加味生脉散各剂量组均可见肾皮质及间质灶性炎性细胞浸润,大部分肾小管上皮细胞出现肿胀、空泡变形,部分刷状缘脱落。与模型组比较,加味生脉散高、中、低剂量组动物病理变化程度相对轻微,表明加味生脉散对CLP手术12 h脓毒休克引起的急性肾损伤具有一定的改善作用。

### 3.8 肾组织 HIF-1 $\alpha$ 免疫组化病理切片观察

图2结果显示,对照组动物肾组织外髓质基本不表达 HIF-1 $\alpha$ ,皮质不表达 HIF-1 $\alpha$ 。假手术组动物肾组织外髓质弱表达 HIF-1 $\alpha$ ,皮质不表达 HIF-1 $\alpha$ 。模型组动物肾组织皮、髓质交界处弥漫性 HIF-1 $\alpha$  阳性表达,皮质阳性表达明显,肾小球不表达 HIF-1 $\alpha$ 。加味生脉散高、中剂量组动物肾组织外髓质内带弱阳性表达 HIF-1 $\alpha$ ,皮质无阳性表达;低剂量组动物肾组织外髓质内带 HIF-1 $\alpha$  阳性表达明显,皮质弱阳性表达。

## 4 讨论

AKI是一组以肾功能急性减退、Scr短期内迅速增高为共同表现的临床综合征。据统计,众多因素

都可能导导致急性肾损伤,其中脓毒症位居榜首<sup>[1]</sup>。AKI是脓毒血症常见的一种并发症,细菌释放的毒素刺激机体产生大量的炎症介质促使肾血管微血栓形成,引起肾小球灌注压及滤过率的大幅降低导致急性肾损伤的发生,急性肾损伤病情十分凶险,预后极差<sup>[6]</sup>。

Cys-C相对分子质量为 $1.3 \times 10^4$ ,属于半胱氨酸蛋白酶抑制剂,能被肾脏自由过滤,近段小管几乎完全重吸收和分解代谢<sup>[7-8]</sup>,因此,只要肾功能受损,肾小球滤过膜通透性也会下降,穿过肾小球滤过膜的CysC减少,部分CysC进入血液中,血清CysC水平增高,是反映肾小球滤过率的敏感指标<sup>[9-11]</sup>。KIM-1是一种具有明显优势的跨膜蛋白,在正常肾组织中不表达,但在肾缺血或肾毒性损伤的早期阶段,它在近曲小管内皮细胞中高水平表达,KIM-1水平还与肾损伤的严重程度密切相关,可作为急性肾损伤早期诊断的新标志物<sup>[12-15]</sup>。NGAL是一种分泌性糖蛋白,在肾小管上皮细胞、中性粒细胞以及血管内皮细胞中表达,当肾小球损伤时,NGAL表达水平明显升高<sup>[16-18]</sup>,能够准确反映机体肾功能状态。临床研究显示<sup>[19]</sup>,AKI患者尿NGAL水平显著高于非AKI患者,持续性AKI患者尿NGAL水平显著高于短暂性AKI患者。乳酸是机体内无氧代谢的一个中间产物,是反映细胞缺氧及组织灌注的重要指标<sup>[20]</sup>。乳酸水平越高则提示组织灌注不足及缺氧越严重,其含量增加可进一步加重对脏器功能的损害<sup>[21]</sup>。HIF为近年来发现的介导哺乳动物细胞低氧

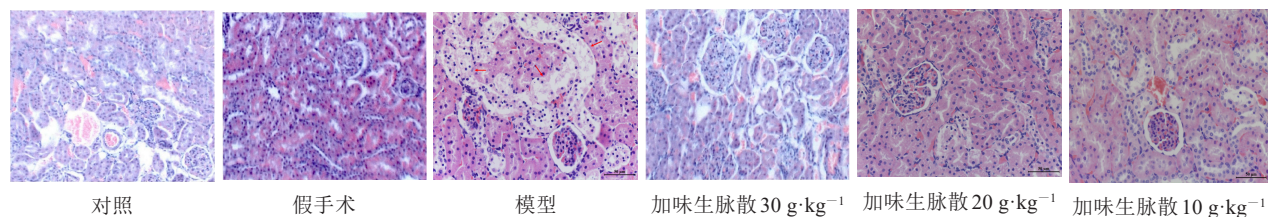


图1 术后12 h大鼠肾组织病理学观察

Fig. 1 Pathological changes of kidney tissue in rats at 12 h after operation

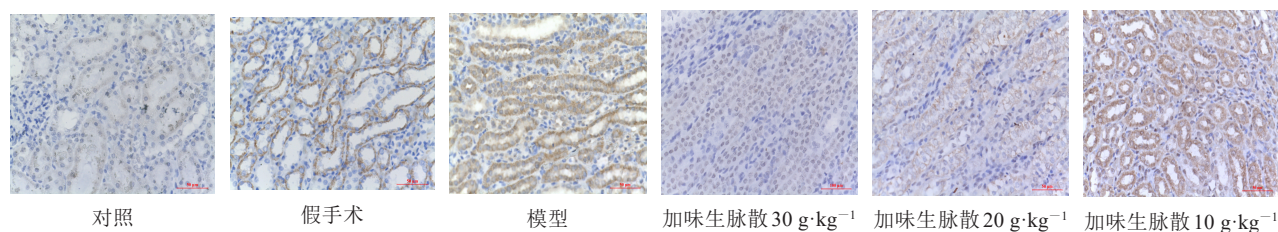


图2 术后12 h大鼠肾组织 HIF-1 $\alpha$  免疫组化病理切片

Fig. 2 Immunohistochemical changes of HIF-1 $\alpha$  in kidney tissue in rats at 12 h after operation

反应的核转录因子,促进机体和细胞对于低氧的适应过程。研究发现,脓毒症AKI时HIF-1 $\alpha$ 基因表达增强,稳定HIF-1 $\alpha$ 可以抑制TLR-4表达,从而减轻脓毒症所致的肺损伤,保护器官功能<sup>[22]</sup>。

本研究显示,CLP手术后3 h,模型组的大部分检测指标(血清CysC、KIM-1,尿NGAL、Scr)均明显高于对照组及假手术组动物,同时一般观察也显示模型组与对照组、假手术组大鼠有较为明显的差异。随着时间的延长,模型组大鼠的症状及指标相对对照组及假手术组愈加明显。术后12 h,模型组所有检测指标(血清CysC、KIM-1,尿NGAL、Scr)数值明显高于对照组、假手术组。同时,模型组肾组织病理学观察结果显示肾皮质及间质灶性炎性细胞浸润,肾组织免疫组化病理结果显示出现严重缺氧现象,再结合实验动物一般情况观察,本课题组认为CLP手术之后12 h可以作为判断出现典型的脓毒症休克合并AKI症状的时间点。

与模型组比较,加味生脉散高、中、低各剂量组鼠存活率明显提高,肾组织病理学及免疫组化明显改善,反映肾损伤血清学指标的血清CysC、KIM-1,尿NGAL,全血乳酸,Scr水平明显降低,表明加味生脉散具有保护脓毒症休克合并AKI大鼠肾功能的作用。

传统中医典籍中并没有“脓毒症”病名,但其实热、热毒等证候表现典籍中早有提及。现代中医对脓毒症的诊治从四诊表现进行辨证论治。一般认为,脓毒症发病初期以毒热内盛的实证为主,从温病理论认识其病机,早期系邪气入里,化火成毒,内陷营血,邪热炽盛,故高热等表现。热毒耗气伤阴,气阴两虚,则发展为正气已虚,邪气未衰的虚实夹杂之像,故见发热,与唇甲发绀、冷汗出、四肢厥冷、小便短赤并见的虚实夹杂之候,与现代医学脓毒症休克临床表现相似。热毒互结和气阴两虚(脱)虽有病机先后,但热、毒、虚前后密切相关,相互影响,可加重休克。正如《证治心得·脱》所说,“内闭外脱一证,乃缘脏腑之窒塞,而不尽乎元气之虚脱也”。故临床治疗脓毒症中后期、脓毒症休克,当益气敛阴固脱为要,兼之泻热解毒,方能较好地控制脓毒症休克。加味生脉散由生脉散加大黄、附子组成,方中人参甘温,益元气,补肺气,生津液,为君药。麦门冬甘寒养阴清热,润肺生津,用以为臣;人参麦冬合用,则益气养阴功能益彰。五味子酸温,敛肺止汗,生津止渴,为佐药;三药合用,一补一润一敛,益气养阴,生津止渴,敛阴止汗,使气复津生,汗止阴存;大

黄通腑泄热解毒,佐以辛热之附子,寒热合用,防止大黄苦寒泄泻太过使本已耗伤之津液、阴血耗竭而“亡阴”,同时“阳”药附子,温壮真阳、回阳救逆。全方共奏扶正益气敛阴、通腑泄热解毒之功,对气阴两虚、热毒互结为主要表现的脓毒症休克尤为适用。

本研究结果表明加味生脉散对脓毒症休克合并AKI大鼠肾功能具有保护作用,为其临床应用提供实验依据,但加味生脉散的量效、时效关系及具体作用机制有待进一步研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Bellomo R, Kellum J A, Ronco C et al. Acute kidney injury in sepsis [J]. Intensive Care Med, 2017, 43(6): 816-828.
- [2] 杨梅,张艳杰,朱海萍,等. 灯盏花素对脓毒症模型大鼠急性肾损伤保护作用的实验研究 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2014, 24(12): 1060-1063.  
Yang M, Zhang Y J, Zhu H P, et al. Protective effects of breviscapus on acute kidney injury in rats with sepsis [J]. Zhejiang J Integr Tradit Chin West Med, 2014, 24(12): 1060-1063.
- [3] Quenot J P, Binquet C, Kara F, et al. The epidemiology of septic shock in French intensive care units: the prospective multicenter cohort EPISS study [J]. Crit Care, 2013, 17(2): R65.
- [4] Bagshaw S M, George C, Bellomo R, et al. Early acute kidney injury and sepsis: a multicentre evaluation [J]. Crit Care, 2008, 12(2): 47.
- [5] Matsuda N, Yamamoto S, Takano K I, et al. Silencing of fas-associated death domain protects mice from septic lung inflammation and apoptosis [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 179(9): 806.
- [6] 许慧慧,吴维雄,于航,等. 老年脓毒症诱发急性肾损伤患者血清NGAL、CysC水平变化及诊断价值研究 [J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(7): 1138-1140.  
Xu H H, Wu W X, Yu H, et al. Hanges of serum NGAL and CYSC levels in elderly patients with acute renal injury induced by Sepsis and their diagnostic value [J]. Chin J Lab Diagn, 2020, 24(7): 1138-1140.
- [7] Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, et al. Structure and expression of the human cystatin C gene [J]. Biochem J, 1990, 268(2): 287-294.
- [8] Chew J S, Saleem M, Florkowski C M, et al. Cystatin C - a paradigm of evidence based laboratory medicine [J]. Clin Biochem Rev, 2008, 29(2): 47-62.

- [9] Gharaibeh K A, Hamadah A M, El-Zoghby Z M, et al. Cystatin C predicts renal recovery earlier than creatinine among patients with acute kidney injury [J]. *Kidney Int Rep*, 2018, 3(2): 337-342.
- [10] Volpon L C, Sugo E K, Carlotti A P. Diagnostic and prognostic value of serum cystatin C in critically ill children with acute kidney injury [J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2015, 16(5): 125-131.
- [11] Benoit S W, Ciccica E A, Devarajan P. Cystatin C as a biomarker of chronic kidney disease: latest developments [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2020, 2: 1-8.
- [12] Won A J, Kim S, Kim Y G, et al. Discovery of urinary metabolomic biomarkers for early detection of acute kidney injury [J]. *Mol Biosyst*, 2016, 12(1): 133-144.
- [13] Yang L, Brooks C R, Xiao S. KIM-1-mediated phagocytosis reduces acute injury to the kidney [J]. *Clin Invest*, 2015, 125: 1620-1636.
- [14] Yang G Y, Lee K A, Park M H, et al. Urinary nephrin: A new predictive marker for pregnancies with preeclampsia and small-for-gestational age infants [J]. *Obstet Gynecol Sci*, 2013, 56: 22-28.
- [15] Luo J H, Wu N. Value of serum kidney injury molecule-1 level in early predicting renal dysfunction secondary to liver cirrhosis [J]. *Lab Med Clin*, 2015, 12: 188-190.
- [16] Mishra J, Mori K, Ma Q, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel early urinary biomarker for cisplatin nephrotoxicity [J]. *Am J Nephrol*, 2004, 24: 307-315.
- [17] Cruz D N, de Cal M, Garzotto F, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early biomarker for acute kidney injury in an adult ICU population [J]. *Intensive Care Med*, 2010, 36(3): 444-451.
- [18] 周晓冰, 朱聪, 屈哲, 等. 庆大霉素诱导的大鼠急性肾损伤模型中尿液生物标志物NGAL的研究 [J]. *药物分析杂志*, 2016, 36(4): 639-644.  
Zhou X B, Zhu C, Qu Z, et al. Urinary biomarker NGAL in gentamicin-induced rat acute kidney injury model [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2016, 36(4): 639-644.
- [19] Barreto R, Chiara E, Elsa S, et al. Urinary neutrophilgelatinase-associated lipocalin predicts kidney outcome and death in patients with cirrhosis and bacterial infections [J]. *J Hepatol*, 2014, 61: 35-42.
- [20] 李政宁, 陈锐, 黄英华. 早期乳酸清除率和降钙素原在急诊脓毒性休克患者预后评估中的应用价值研究 [J]. *中国急救医学*, 2017, 37(1): 82-83.  
Li Z Y, Chen R, Huang Y H. The value of early lactate clearance rate and Procalcitonin in evaluating prognosis of patients with septic shock in emergency department [J]. *Chin J Crit Care Med*, 2017, 37(1): 82-83.
- [21] Chiarla C, Giovannini I, Miggiano G. Plasma amino acids of the transsulfuration pathway and plasma lactate in septic patients [J]. *La Clin Ter*, 2017, 168 (2): 72-76.
- [22] Wang Y M, Qi X, Gong F C, et al. Protective and predictive role of Mucin1 in sepsis-induced ALI/ARDS [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 83(7): 106438.

[责任编辑 兰新新]