

丹参酮 IIA 磺酸钠在创伤失血性休克过程中的保护作用研究

李云鹏¹ 陈超爽¹ 孙 力² 王艳霞³ 高 操³

(1 解放军 313 医院 辽宁 葫芦岛 125000 2 第四军医大学西京消化病医院 陕西 西安 710032 ;

3 第四军医大学基础部病理与病理生理学教研室 陕西 西安 710032)

摘要 目的:研究中药提取物丹参酮 IIA 磺酸钠在创伤失血性休克中的作用。方法:复制 SD 大鼠创伤失血性休克模型,即经右侧股动脉插管放血,左侧股静脉建立液体通道,经颈动脉插管至左心室监测创伤失血性休克大鼠平均动脉压,在达到最大放血量后,治疗组大鼠给予丹参酮 IIA 磺酸钠(10mg/kg)。按时间点经股静脉取大鼠静脉血,测量血清肌酸激酶(CK)及乳酸脱氢酶(LDH)水平,比较各组心肌酶改变。并以酶联免疫法检测各组大鼠血清促炎因子 IL-1 β 、IL-6、IL-10 和 TNF α 的改变。结果:丹参酮 IIA 磺酸钠在一定程度上改善了创伤失血性休克导致大鼠的血流动力学的改变,显著减轻了炎症反应过程中的各种炎症因子的表达。结论:丹参酮 IIA 磺酸钠改善了创伤失血性休克导致大鼠的低血压,抑制了大鼠创伤失血性休克过程中炎症因子的表达,可能在创伤失血性休克过程中发挥保护作用,为临床提供了治疗创伤失血性休克提供了新的可能的参考。

关键词 丹参酮 IIA 磺酸钠;创伤失血性休克;炎症因子

中图分类号:Q95-3,R605.971 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)10-1853-05

Protective effects of Tanshinone IIA Sodium Sulfonate on Traumatic-Hemorrhagic Shock

LI Yun-peng¹, CHEN Chao-shuang¹, SUN Li², WANG Yan-xia³, GAO Cao³

(1 313 Hospital of PLA, 125000, Huludao, China; 2 Xijing Digestive Disease Hospital, Fourth Military Medical University, 710032, Xi'an, China; 3 Department of Pathology and Pathophysiology, Fourth Military Medical University, Xi'an, 710032, PR China)

ABSTRACT Objective: To investigate the protective effects of Tanshinone IIA Sodium Sulfonate on the traumatic-hemorrhagic shock. **Methods:** Duplicate traumatic-hemorrhagic shock models of SD rats; that is, drawing blood from right femoral artery; establishing liquid pathway through left femoral artery; monitoring the mean arterial pressure; detecting the concentrations of creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH). Inflammatory cytokines concentrations of IL-1 β , IL-6, IL-10 and TNF- α were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results:** Tanshinone IIA Sodium Sulfonate significantly ameliorated traumatic-hemorrhagic shock resulted in the deterioration of hemodynamics, notably decreased traumatic-hemorrhagic shock resulted in the elevation of inflammatory cytokines. **Conclusion:** Tanshinone IIA Sodium Sulfonate improved traumatic-hemorrhagic shock induced hypotension, and inhibited traumatic-hemorrhagic shock induced inflammatory response. It may have protective effects on traumatic-hemorrhagic shock, and may offer useful information for treating traumatic-hemorrhagic shock clinically.

Key words: Tanshinone IIA Sodium Sulfonate; Traumatic-hemorrhagic shock; Inflammatory cytokine

Chinese Library Classification: Q95-3 R605.971 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)10-1853-05

前言

创伤失血性休克 (THS) 是导致创伤后人员死亡的主要原因,超过 40% 的创伤伤员死于失血性休克,这些失血引起的死亡大多发生于伤后最初的 6 小时^[1]。创伤失血性休克是因机体遭受严重创伤大量失血后通过“血管-神经”反射所引起的以微循环障碍为主要特征的急性循环功能不全,以及由此导致的组织、器官缺血、缺氧和内脏损害综合征,在此过程中大量炎症因子的释放会形成连锁级联反应,最终导致多器官功能失调;因此如何及时有效的改善机体缺血-再灌注损伤,维持组织氧耗-氧供平衡,抑制炎症因子及氧化应激损伤是影响疾病转归的关键所在^[2,3]。丹参酮 IIA 磺酸钠是丹参主要提取物有效成分丹

参酮 IIA 经磺化而形成的水溶性衍生物。它可以通过清除过氧化物、抑制白细胞、血小板和血管内皮细胞黏附分子的表达、阻止白细胞和血小板与血管内皮细胞的黏附、缓解肥大细胞脱颗粒、抑制炎症介质释放等多种途径改善缺血再灌注诱导的微循环紊乱,进而对心、脑、肝、肺、肾等多脏器发挥保护作用^[4-6]。目前关于丹参酮 IIA 磺酸钠在创伤失血性休克中的作用研究较少。本研究拟采用大鼠创伤失血性休克模型观察丹参酮 IIA 磺酸钠在其中的作用,主要着眼于对炎症因子的作用,从而为临床治疗创伤失血性休克有益资料。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

酶标仪 (美国 Molecular Devices 公司)、PowerLab 生物信号采集处理系统 (澳大利亚 ADInstruments)。丹参酮 IIA 磺酸钠 (中国药品生物制品检定所);戊巴比妥钠 (美国 sigma 公

作者简介:李云鹏(1976-)男,硕士,主要研究方向:普通外科、肿瘤外科 电话:13842978086 E-mail:lyunpeng@yahoo.cn。

(收稿日期:2011-09-07 接受日期:2011-10-01)

司) ;肝素(江苏万邦生化医药股份有限公司) ;肌酸激酶测试试剂盒(CK)、乳酸脱氢酶测定试剂盒(LDH)、白介素 1 β (IL-1 β)、大鼠白介素 6 (IL-6)、白介素 10 (IL-10)、大鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α)酶联免疫分析试剂盒(南京建成生物研究所)。

1.2 动物选择及分组

健康清洁级成年雄性 SD 大鼠(第四军医大学动物中心提供)18 只 200g-250g,随机分为 3 组 :假手术组(SHAM $n=6$) ,模型组(THS $n=6$) ,丹参酮组(DS 组, $n=6$)。

1.3 创伤失血性休克动物模型的复制及处理

大鼠禁食过夜,自由饮水。建立创伤出血性休克模型 :将大鼠以 3%戊巴比妥麻醉后(40 mg/kg ip),取腹正中切口 5cm 然后缝合造成软组织创伤。右侧股动脉插入聚乙烯导管以备放血,右侧股静脉插管以备输液,左侧股动脉插管连接压力转换器经 powerlab 生物信号采集系统检测平均动脉压(MAP)。伤口以 1%利多卡因浸润阻滞伤口疼痛。除假手术组外各组均在

10min 内迅速放血使 MAP 降至 35-40mmHg。若血压不能维持则补充生理盐水,此时为最大放血量,放血总量为大鼠血容量的 60% (大鼠血容量为大鼠体重的 6%)。最大放血量后,回输最大放血量 40%的生理盐水,维持血压在 35-40mmHg(约出血后 90min),后以 4 倍最大放血量的生理盐水进行复苏 60min。复苏后的大鼠拔除所有插管,结扎血管,丝线缝合所有伤口后放回笼子观察,自由进食饮水。假手术组(SHAM 组) :大鼠给予创伤出血性休克动物模型制备操作,但不开腹、不放血、不输液复苏,复苏前不予腹腔注射药物及生理盐水处理。模型组(THS 组) :大鼠给予创伤出血性休克动物模型制备所有操作,以生理盐水复苏。丹参酮组 IIA 磺酸钠(DS 组) :大鼠给与创伤出血性休克动物模型制备所有操作,达到最大放血量后经股静脉给予丹参酮 IIA 磺酸钠(10mg/kg),之后以生理盐水复苏。连续观察大鼠的血流动力学指标,经股静脉取大鼠休克后 2 小时的静脉血以备后续实验。

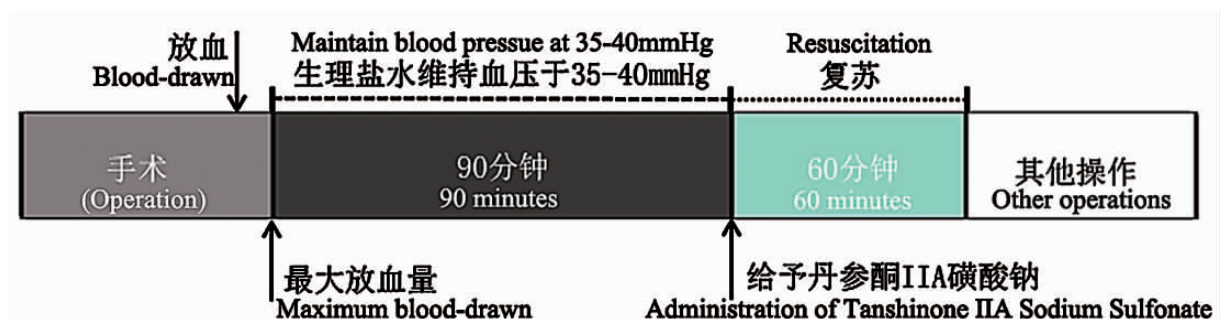


图 1 操作时间窗示意图

Fig.1 Illustration of operating time points

1.4 各项实验指标的检测

1.4.1 血流动力学监测 持续监测平均动脉压 MAP (mmHg)、心率 HR (次 / 分),分别记录各组在休克前、休克 90min,复苏后 30min、45min、60min 的指标。

1.4.2 心肌酶学检测 抽取大鼠复苏后 2h 静脉血,采用南京建成生物工程研究所提供的检测试剂盒,测量血清肌酸激酶(CK)及乳酸脱氢酶(LDH)水平,比较各组心肌酶改变。

1.4.3 炎症因子检测 同样抽取大鼠复苏后 2h 静脉血,采用南京建成生物工程研究所提供的相关炎症因子酶联免疫分析试

剂盒,检测各组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、IL-10 和 TNF α 的改变。

1.5 统计学处理

数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm SD$)表示,采用 SPSS16.0 统计软件进行数据分析。行单因素方差分析(ANOVA),组内及组间两两比较采用 LSD 检验。对不满足正态和方差齐性条件的,组内及组间采用 Dunnett's C 检验。以 $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 丹参酮组 IIA 磺酸钠对创伤失血性休克大鼠 MAP 的影响 休克前,三组 MAP 比较无明显统计学差异($P > 0.05$)。在

表 1 丹参酮 IIA 磺酸钠对创伤失血性休克大鼠 MAP 的影响($\bar{X} \pm SD$)

Table 1 The effects of Tanshinone IIA Sodium Sulfonate on MAP after THS

Group 分组	Before shock 休克前	90 min after shock 休克 90min	15 min after resuscitation 复苏 15min	30 min after resuscitation 复苏 30min	45 min after resuscitation 复苏 45min	60 min after resuscitation 复苏 60min
SHAM 假手术组	113.4 $\pm$ 4.3	110.9 $\pm$ 4.2	109.6 $\pm$ 2.8	113.8 $\pm$ 4.2	115.5 $\pm$ 2.4	113.5 $\pm$ 4.9
THS 模型组	116.7 $\pm$ 3.5	39.7 $\pm$ 1.2*	82.5 $\pm$ 2.7*	79.6 $\pm$ 2.4*	70 $\pm$ 1.6*	69.6 $\pm$ 1.9*
DS 丹参酮干预组	116.7 $\pm$ 2.6	39.1 $\pm$ 1.8*	83.2 $\pm$ 2.4*	83.5 $\pm$ 1.9*,#	74.6 $\pm$ 3.3*,#	77.2 $\pm$ 2.5*,#

Note: * $P < 0.05$, groups THS and DS compared with SHAM group; # $P < 0.05$, group DS compared with group THS.

表 2 丹参酮组 IIA 磺酸钠对创伤失血性休克大鼠 HR 的影响

Table 2 The effects of Tanshinone IIA Sodium Sulfonate on rat heart rate after THS

Group 分组	Before shock 休克前	90 min after shock 休克 90min	15 min after resuscitation 复苏 15min	30 min after resuscitation 复苏 30min	45 min after resuscitation 复苏 复苏 45min	60 min after resuscitation 复苏 复苏 60min
SHAM 假手术组	404.7± 20.1	398.7± 17	389.7± 13.7	387.7± 16.4	396.7± 20.8	392± 20.1
THS 模型组	414.5± 13.6	322.3± 22*	421.2± 15.3*	417.5± 12.4*	406.3± 13.7	394.2± 19.2
DS 丹参酮干预组	416.5± 12.6	331.5± 18.6*	421.3± 11.5*	402± 8.3	401.5± 12.9	400.5± 13.3

Note: * $P < 0.05$, groups THS and DS compared with SHAM group

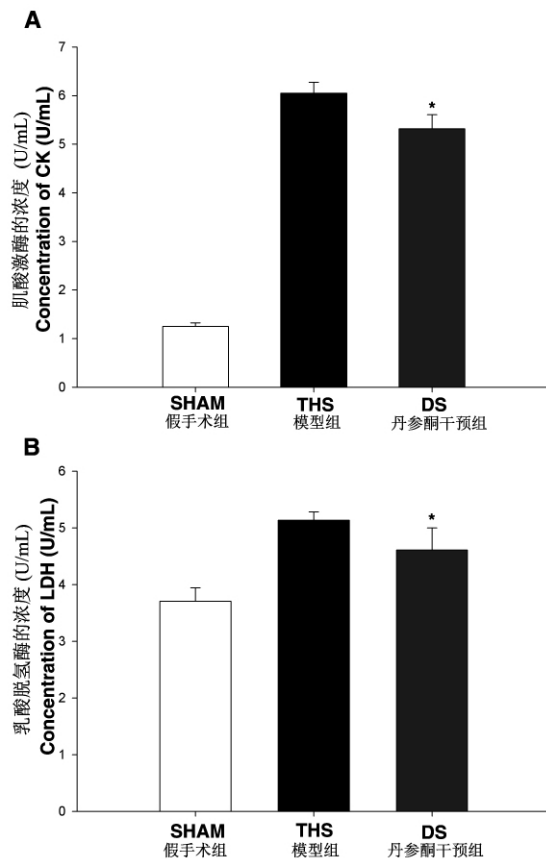


图 2 丹参酮组 IIA 磺酸钠对创伤失血性休克大鼠心肌酶的影响

Fig.2 The effects of Tanshinone IIA Sodium Sulfonate on the cardiac enzymes of CK and LDH after THS.

Note: * $P < 0.05$, group DS compared with THS group

休克 90min, THS 与 DS 两组大鼠的 MAP 均维持在模型要求范围, 明显低于 SHAM 组($P < 0.01$), THS 组与 DS 组相比无明显统计学差异($P > 0.05$), 表明模型建立成功。在复苏后 15min 时间点 THS 和 DS 两组的 MAP 显著回升, THS 与 DS 组间差异不显著($P > 0.05$)。在复苏后 30min, 45min 与 60min 三个时间点均显示 THS 与 DS 两组大鼠 MAP 均回升, 且 DS 组显著高于 THS 组($P < 0.05$)。

2.2 丹参酮组 IIA 磺酸钠对创伤失血性休克大鼠 HR 的影响

休克前三组 HR 间比较无明显统计学差异, 休克 90min,

THS 与 DS 两组 HR 均较 SHAM 组偏低($P < 0.05$), 符合休克中后期病理生理改变。复苏后 15min, THS 与 DS 两组 HR 上升, 且相较于 SHAM 组均偏高 ($P < 0.05$); 复苏后 30min 开始, THS 与 DS 两组大鼠 HR 又有轻微下降, 组间比较无明显统计学差异($P > 0.05$), 提示复苏后的短期心率增加可能是液体复苏反应。与模型组相比, 丹参酮 IIA 磺酸钠对心率的影响不明显。

2.3 丹参酮组 IIA 磺酸钠对 CK 与 LDH 的影响

在复苏后 2 小时, THS 与 DS 组两组的血清 CK 浓度显著高于 SHAM 组 (图 2A, $P < 0.05$), DS 组明显低于 THS 组($P < 0.05$)。与 CK 相似, THS 与 DS 组两组的血清 LDH 浓度显著高于 SHAM 组 (图 2B, $P < 0.05$), DS 组明显低于 THS 组($P < 0.01$)。

2.4 丹参酮组 IIA 磺酸钠对炎症因子的影响

复苏后 2 小时, THS 与 DS 两组大鼠的血清 IL-1 β 浓度显著高于 SHAM 组 (图 3 A, $P < 0.05$), DS 组明显低于 THS 组 (图 3 A, $P < 0.01$)。THS 与 DS 两组大鼠的血清 IL-6 浓度同样显著高于 SHAM 组 (图 3 B, $P < 0.05$), DS 组明显低于 THS 组($P < 0.01$)。而对于 IL-10 来说, 在复苏后 2 小时, SHAM、THS 与 DS 三组大鼠的血清 IL-10 浓度变化无显著差异 (图 3 C, $P > 0.05$)。另外, THS 与 DS 两组大鼠的血清 TNF- α 浓度显著高于 SHAM 组 (图 3 D, $P < 0.05$), DS 组明显低于 THS 组($P < 0.01$)。

3 讨论

创伤失血性休克是严重创伤导致死亡的主要病因, 涉及器官多、病理过程复杂多变。微循环障碍所导致氧供/需失衡, 以及缺血缺氧时产生的大量代谢产物和炎症因子在再灌注时导致机体“瀑布样”炎症效应, 加剧了血流动力学紊乱和组织器官损伤。传统的快速补液以及使用心脏正性肌力与血管活性药物等复苏方法救治效果有限, 仍有大批伤病员死于早期失血、或者死于创伤后全身炎症反应综合症或多器官功能障碍综合症, 甚至多器官功能衰竭^[7]。因此, 如何及时有效的改善机体缺血/再灌注损伤, 维持组织氧耗-氧供平衡, 抑制炎症及氧化应激损伤是影响疾病转归的关键所在。

早在 1997 年 Remmers 等人就报道了应用抗炎药物可以减少 HTS 后的 MPO 活性, 减轻炎症反应, 从而改善复苏后 24 小时心功能^[8]。而据近年来的研究发现, 应用抗炎药物氟他米特可抑制 HTS 后肝脏炎症反应, 氧化应激, 及肝细胞凋亡等

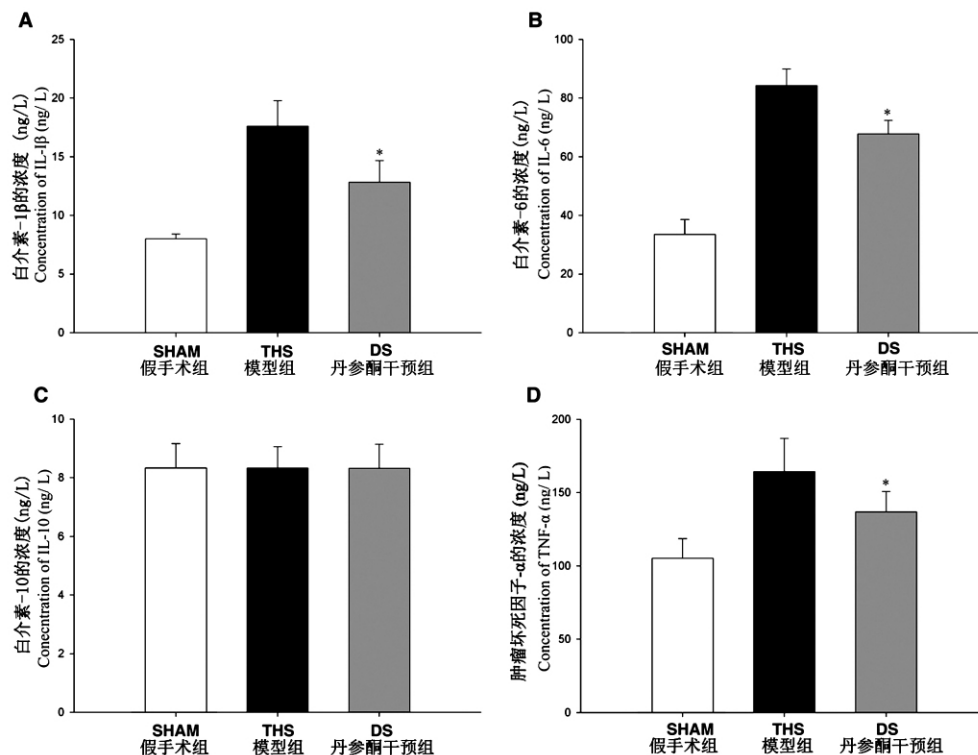


图3 丹参酮组 IIA 磺酸钠对创伤失血性休克大鼠炎症因子的影响

Fig.3 The effects of Tanshinone IIA Sodium Sulfonate on the cardiac enzymes of CK and LDH after TBS

Note: * $P < 0.05$, group DS compared with TBS group

损伤^[9]。而最近的一位科学家 Chima 发现 C-肽(在胰岛素生成过程中水解分离出来的 31 个氨基酸的肽段)减轻了出血性休克导致的炎症反应^[10]。综上所述,通过减轻机体炎症反应,可对 HTS 所致的器官损伤起到一定保护作用。

丹参是应用最为广泛的中国传统中草药之一,具有数百年的应用历史,由于其具有改善微循环、扩张冠状动脉、抑制血小板黏附和集聚、改善心肌缺血等多种生物学活性,丹参在包括心血管疾病、脑血管疾病、肝功能障碍、肾功能不全和糖尿病血管病变在内的多种微循环紊乱相关疾病的治疗中得到广泛的应用。目前研究发现丹参酮 IIA 可以抑制炎症过程中 NF- κ B 的活化^[11-13]。丹参酮 A 还可通过糖皮质激素受体非依赖性途径选择性减轻内毒素诱导的 HMGB1 的释放,从而对小鼠致死性脓毒症起到治疗作用^[14]。另外研究发现丹参酮 A 还可通过抑制促炎症因子释放治疗炎症性肠病^[15]。目前,丹参酮对创伤失血性休克导致的炎症反应的作用研究尚不多见。因此,我们假设丹参酮 IIA 磺酸钠可以抑制创伤失血性休克的炎症反应而发挥保护作用。

我们的结果显示,丹参酮 IIA 磺酸钠在一定程度上保护了模拟创伤失血性休克导致大鼠的低血压,显著抑制了炎症过程中 IL-1 β 、IL-6 与 TNF- α 三种主要的炎症因子的表达,而对于 IL-10 抑炎因子的表达影响不明显。这些结果在一定程度上验证了我们的假设,即:丹参酮 IIA 磺酸钠可以通过抑制创伤失血性休克导致的炎症反应发挥保护作用。

虽然我们的结果显示丹参酮 IIA 磺酸钠可以明显减轻创伤失血性休克导致的炎症因子的表达,但其内在机制还不明确,并且与其丹参酮 IIA 磺酸钠对机体的保护作用的因果关系

还不完全确定,我们下一步工作将继续深入研究,进一步揭示其作用机制,为临床治疗创伤失血性休克提供更多资料。

4 结论

我们的研究表明,丹参酮 IIA 磺酸钠可以明显改善创伤失血性休克导致的大鼠低血压,减轻了多种炎症因子的表达,可能在创伤失血性休克过程中起到有益的保护作用,这为临床治疗创伤失血性休克提供了新的思路。

参考文献 (References)

- [1] Gunst M, Ghaemmaghami V, Gruszecki A, et al. Changing epidemiology of trauma deaths leads to a bimodal distribution [J]. Proc (Bayl Univ Med Cent), 2010, 23(4): 349-354
- [2] Angele M K, Schneider C P, Chaudry I H. Bench-to-bedside review: latest results in hemorrhagic shock [J]. Crit Care, 2008, 12(4): 218
- [3] Stukanov M M, Lukach V N, Girsh A O, et al. Comparative study of infusion therapy options in patients with hemorrhagic shock [J]. Anesteziol Reanimatol, 2011(2): 27-30
- [4] Han J Y, Fan J Y, Horie Y, et al. Ameliorating effects of compounds derived from Salvia miltiorrhiza root extract on microcirculatory disturbance and target organ injury by ischemia and reperfusion [J]. Pharmacol Ther, 2008, 117(2): 280-295
- [5] Hei M, Luo Y, Zhang X, et al. Tanshinone IIA Alleviates the Biochemical Changes Associated with Hypoxic Ischemic Brain Damage in a Rat Model [J]. Phytother Res, 2011, 25(12): 1865-1869
- [6] Wang X, Wang Y, Jiang M, et al. Differential cardioprotective effects of salvianolic acid and tanshinone on acute myocardial infarction are mediated by unique signaling pathways [J]. J Ethnopharmacol, 2011,

- 135(3): 662-671
- [7] Park K H, Lee K H, Kim H, et al. The anti-inflammatory effects of ulinastatin in trauma patients with hemorrhagic shock [J]. J Korean Med Sci, 2010, 25(1): 128-134
- [8] Remmers D E, Wang P, Cioffi W G, et al. Testosterone receptor blockade after trauma-hemorrhage improves cardiac and hepatic functions in males[J]. Am J Physiol, 1997, 273(6 Pt 2): H2919-H2925
- [9] Kan W H, Hsieh C H, Schwacha M G, et al. Flutamide protects against trauma-hemorrhage-induced liver injury via attenuation of the inflammatory response, oxidative stress, and apoptosis [J]. J Appl Physiol, 2008, 105(2): 595-602
- [10] Chima R S, Lamontagne T, Piraino G, et al. C-peptide, a novel inhibitor of lung inflammation following hemorrhagic shock[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2011, 300(5): L730-L739
- [11] Li X, Du JR, Wang W D, et al. Experimental study of effect of tanshinone on artery restenosis in rat carotid injury model [J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2006, 31(7): 580-584
- [12] Jang S I, Kim H J, Kim Y J, et al. Tanshinone IIA inhibits LPS-induced NF-kappaB activation in RAW 264.7 cells: possible involvement of the NIK-IKK, ERK1/2, p38 and JNK pathways[J]. Eur J Pharmacol, 2006, 542(1-3): 1-7
- [13] Gao S, Liu Z, Li H, et al. Cardiovascular actions and therapeutic potential of tanshinone IIA[J]. Atherosclerosis, 2012, 20(1): 3-10
- [14] Li W, Li J, Ashok M, et al. A cardiovascular drug rescues mice from lethal sepsis by selectively attenuating a late-acting proinflammatory mediator, high mobility group box 1 [J]. J Immunol, 2007, 178(6): 3856-3864
- [15] Bai A, Lu N, Guo Y, et al. Tanshinone IIA ameliorates trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced murine colitis [J]. Dig Dis Sci, 2008, 53(2): 421-428

(上接第 1841 页)

- [10] 李元青, 马成杰, 刘朝阳. 茶多酚联合反应停对人肺腺癌 A549 抑制作用研究[J]. 现代生物医学进展, 2007, 7(9): 1281-1283
- Li Yuan-qing, Ma Cheng-jie, Liu Chao-yang. Study on inhibitory effect of tea polyphenols combined with Thalidomide on human lung adenocarcinoma A549 [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2007, 7(9): 1281-1283 (In Chinese)
- [11] 李慧梅, 肖伟, 曹爱芳, 等. 肺癌血清基质金属蛋白酶-2 及其组织抑制因子的表达[J]. 肿瘤学杂志, 2008, 14(3): 210-212
- Li Hui-mei, Xiao Wei, Cao Ai-fang, et al. Expression of serum matrix metalloproteinase-2 and its tissue inhibitor in lung cancer [J]. Journal of Oncology, 2008, 14(3): 210-212 (In Chinese)
- [12] 钟国平, 俞万钧, 王玲娣. MMP-2 和 TIMP-2 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[J]. 现代实用医学, 2005, 17(10): 604-606
- Zhong Guo-ping, Yu Wan-jun, Wang Ling-di. Expression of MMP-2, TIMP-2 in non-small cell lung carcinoma tissue and their significance [J]. Modern Practical Medicine, 2005, 17(10): 604-606 (In Chinese)
- [13] 梁丹, 宋向群. 沙利度胺在治疗肺癌中的应用 [J]. 肿瘤学杂志, 2008, 14(4): 326-328
- Liang Dan, Song Xiang-qun. Thalidomide in treatment for lung cancer[J]. Journal of Oncology, 2008, 14(4): 326-328 (In Chinese)