

# 山莨菪碱雾化吸入对油酸诱导大鼠急性肺损伤的保护作用及其机制

孔祥 刘中民 范慧敏 赵曙光 汪进益 郭建华

【关键词】 肺损伤, 急性; 山莨菪碱; 大鼠

急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征 (ALI/ARDS) 是指由心源性以外的各种肺内外致病因素导致的急性、进行性、缺氧性呼吸衰竭。ARDS 晚期多诱发或合并多器官功能障碍综合征 (MODS), 甚至多系统器官功能衰竭 (MSOF), 是外科危重患者常见的致命并发症之一。山莨菪碱是一种 M 受体阻滞剂, 对血管具有扩张作用。本研究拟探讨山莨菪碱雾化吸入对油酸诱导大鼠 ALI 的保护作用及其机制。

## 1 材料与与方法

1.1 动物分组及模型制备: 健康雄性 SD 大鼠 20 只, 体重 300~350 g, 按随机数字表法分为模型组和治疗组。4601 型小动物呼吸机由德国 TSE 公司提供。Optineb 小型超声雾化吸入仪由德国 Nebu-Tec 公司提供。348 型快速血气分析仪由英国 Chiron 公司提供。内径为 0.58 mm 的聚乙烯导管购自英国 Sims Portex 公司。纯油酸购自美国 Sigma 公司, 与体积分数为 0.1% 的牛血清白蛋白 (BSA) 按照 1:9 进行稀释后猛烈摇晃成油酸混悬液。腹腔注射质量分数为 2% 的戊巴比妥 40 mg/kg 麻醉, 行气管切开并插管并连接呼吸机, 呼吸机参数设置: 吸入氧浓度 (FiO<sub>2</sub>) 0.3, 呼吸频率 80 次/min, 潮气量 10 ml/kg, 吸:呼为 1:2。三通管连接气管插管测定气道压力 (Paw)。游离左侧颈动脉和右侧颈外静脉后置管。胸部正中剪开胸骨, 打开心包, 暴露心脏, 经右心室插入聚乙烯导管至肺动脉, 以 6-0 聚丙烯线荷包缝合固

定。经导管注射少量肝素生理盐水后, 分别将气管插管三通管, 颈动、静脉和肺动脉插管连接压力转换接头, 动态监测 Paw、血压 (BP)、中心静脉压 (CVP) 和肺动脉压 (PAP) 变化。以羟乙基淀粉溶液补充失血和失液以维持血流动力学稳定。各项监测指标稳定 20 min 后开始实验。模型组经右颈外静脉插管在 20 min 内缓慢注入油酸混悬液 2 ml/kg (含油酸 0.2 ml/kg), 治疗组注入油酸后 30 min, 给予 10 g/L 山莨菪碱经超声雾化后吸入 10 min, 每小时重复 1 次, 共 4 次。雾化吸入时保持 Paw 在吸入前水平。各组动物在注射油酸后 4 h 放血处死。

## 1.2 检测指标及方法

1.2.1 BP、PAP、Paw: 于注入油酸后 0.1、2、3 和 4 h 记录 BP、PAP、Paw。

1.2.2 动脉血气、混合静脉血气: 于注入油酸后 0.1、2、3 和 4 h 抽取颈动脉和肺动脉血标本各 0.2 ml, 测定动脉血气和混合静脉血气指标。

1.2.3 支气管肺泡灌洗液 (BALF) 蛋白定量、白细胞计数及分类: 实验结束时结扎右侧肺门结构, 经气管插管缓慢向左肺注入生理盐水 2 ml, 反复灌洗 3 次, 回收 BALF。取 0.5 ml BALF, 用血细胞分析仪进行白细胞计数。剩余 BALF 离心, 取上清液用 Bradford 法检测蛋白含量; 沉淀加入少许生理盐水摇匀, 涂片染色, 显微镜下统计白细胞所占百分比。

1.2.4 肺湿/干重 (W/D) 比值: 实验结束时取右肺下叶小块组织称湿重, 然后置 60 °C 恒温烘烤 48 h 后称干重, 计算 W/D 比值。

1.2.5 肺组织髓过氧化物酶 (MPO): 取右肺中叶组织 0.15 mg 置入液氮中保存, 按照文献 [1] 方法测定 MPO 活性。

1.2.6 组织病理学观察: 实验结束时取右肺上叶小块组织, 用体积分数为 4% 的甲醛固定, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 光镜下观察肺组织水肿和白细胞浸润情况。同时取右肺上叶小块组织, 用戊二醛

固定, 常规方法制片, 在透射电镜下观察肺组织超微结构改变。

1.3 统计学处理: 使用 SPSS 13.0 统计软件。计量资料以均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用单因素方差分析; 组间比较用 Dunnett 法; 组内比较用 SNK 法;  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 BP、PAP、Paw 变化 (表 1): 两组 BP 自 3 h 后明显下降, 但下降趋势无明显差异。两组 PAP 逐渐升高, 与基础值比较, 在 2 h 差异有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 这种升高的趋势 3 h 后在治疗组得到了很好的控制; 两组 Paw 缓慢升高, 在 3 h 以后与基础值比较差异有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 这种升高的趋势在 3 h 后治疗组得到明显改善。

2.2 氧合指数 (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>) 与肺内分流 (Qs/Qt, 表 1): 模型组 PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> 逐渐降低, 与基础值比较, 在 1 h 以后出现明显差异 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 并在 2 h 以后达到 ALI 的诊断标准 ( $< 300$  mm Hg); 在治疗组 PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> 得到了很好的控制, 并在实验大部分时间与模型组比较差异有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.05$ )。按照公式计算 Qs/Qt<sup>[2]</sup> 后, 发现模型组 Qs/Qt 逐渐升高, 与基础值比较, 在 2 h 以后出现明显差异 ( $P$  均  $< 0.01$ ); 治疗组 Qs/Qt 较模型组在实验大部分时间明显改善 ( $P$  均  $< 0.05$ )。

2.3 BALF 蛋白定量、白细胞计数及分类、W/D 比值、MPO 活性 (表 2): 治疗组 BALF 蛋白定量、白细胞计数及其占细胞总数百分比、肺 W/D 比值及 MPO 活性均较模型组明显降低 ( $P$  均  $< 0.05$ )。

2.4 组织病理学改变 (彩色插页图 1, 图 2): 光镜下观察模型组表现为弥漫性肺水肿, 肺间质小血管充血, 管腔内中性粒细胞聚集, 微血栓形成, 小血管周围水肿。治疗组水肿明显减轻, 浸润的白细胞数量也明显减少。透射电镜下观察模型组表现为 I 型肺泡上皮细胞肿胀, 肺泡

基金项目: 上海市科委科研计划项目 (055407030)

作者单位: 200120 上海, 同济大学附属东方医院胸心外科

通讯作者: 刘中民, Email: frankfan64@hotmail.com

作者简介: 孔祥 (1973 -), 男 (汉族), 安徽省人, 博士研究生, 主治医师, 曾在柏林德国心脏中心学习, Email: ox999@163.com。

表 1 两组大鼠伤后不同时间点 BP、PAP、Paw、PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> 和 Qs/Qt 的动态比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	动物数	BP(mm Hg)	PAP(mm Hg)	Paw(mm Hg)	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> (mm Hg)	Qs/Qt(%)
模型组	0 h	10	87.3±5.8	7.3±0.9	5.2±0.6	420±21	5.9±1.2
	1 h	10	82.0±5.3	8.1±1.2	5.6±0.7	360±19 <sup>a</sup>	9.2±2.4
	2 h	10	73.4±4.0 <sup>a</sup>	9.1±1.2 <sup>a</sup>	6.2±1.1	306±27 <sup>a</sup>	12.5±4.6 <sup>a</sup>
	3 h	10	69.5±4.7 <sup>a</sup>	10.9±1.2 <sup>a</sup>	6.7±1.1 <sup>a</sup>	261±21 <sup>a</sup>	16.2±5.4 <sup>a</sup>
	4 h	10	68.2±3.3 <sup>a</sup>	12.6±1.3 <sup>a</sup>	7.5±0.8 <sup>a</sup>	226±17 <sup>a</sup>	18.8±4.1 <sup>a</sup>
治疗组	0 h	10	86.5±3.3	7.5±0.8	5.3±0.5	410±16	6.1±2.2
	1 h	10	83.0±4.6	7.9±0.6	5.4±0.5	382±19 <sup>ab</sup>	7.3±2.3 <sup>b</sup>
	2 h	10	78.7±4.6 <sup>a</sup>	8.3±0.7 <sup>a</sup>	5.8±0.4	323±20 <sup>a</sup>	10.7±3.8 <sup>a</sup>
	3 h	10	72.4±3.2 <sup>a</sup>	8.8±0.6 <sup>ab</sup>	6.0±0.5 <sup>ab</sup>	307±16 <sup>ab</sup>	11.7±2.7 <sup>ab</sup>
	4 h	10	67.7±4.0 <sup>a</sup>	9.3±0.5 <sup>ab</sup>	6.1±0.7 <sup>ab</sup>	303±18 <sup>ab</sup>	12.3±2.7 <sup>ab</sup>

注:与本组 0 h 比较,<sup>a</sup>P<0.01;与模型组同期比较,<sup>b</sup>P<0.05;1 mm Hg=0.133 kPa

表 2 两组大鼠 BALF 蛋白定量、白细胞计数及分类、肺组织 W/D 比值和 MPO 活性变化的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数	蛋白定量(g/L)	白细胞计数( $\times 10^6/L$ )	白细胞分类(%)	W/D 比值	MPO(U/g)
模型组	10	0.71±0.10	1.11±0.09	36.6±3.7	7.2±0.4	65.3±7.8
治疗组	10	0.53±0.06 <sup>b</sup>	0.60±0.08 <sup>b</sup>	27.8±1.9 <sup>b</sup>	5.9±0.3 <sup>b</sup>	43.0±3.9 <sup>b</sup>

注:与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.05

间隔水肿、增宽;Ⅱ型上皮细胞微绒毛脱落,毛细血管内红细胞聚集,Ⅱ型上皮细胞胞质内板层体排空明显。治疗组则有明显改善。

3 讨论

油酸复制大鼠的肺损伤模型组织病理学改变与人 ARDS 相似,是一种较成熟、可靠的方法。本研究中注射油酸后大鼠 PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub><300 mm Hg,肺间质和肺泡出现明显充血、水肿,大量炎症细胞浸润,肺泡隔增厚,部分肺泡塌陷,符合 ALI 的诊断标准和病理改变,说明 ALI 模型制备成功。ALI/ARDS 时中性粒细胞、巨噬细胞和肺泡毛细血管内皮细胞等释放肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)等多种介质和细胞因子,造成肺泡上皮和肺毛细血管内皮细胞的损伤,毛细血管膜通透性增加,出现肺水肿<sup>[3]</sup>;Ⅱ型肺泡上皮细胞的损伤导致表面活性物质的减少或消失,从而导致肺泡萎陷。ALI/ARDS 病理改变导致了顽固性的低氧血症,继而引起肺血管持续性收缩,广泛的肺血管收缩又加重了通气/血流比例失调和低氧血症,从而形成恶性循环。因此,需要应用血管扩张药物来扩张肺血管,改善低氧血症,打断由于肺血管收缩所导致的这种恶性循环<sup>[4-6]</sup>。

全身应用血管扩张药物会导致低血压等不良反应,对 ALI 的治疗产生不利影响。雾化吸入这些药物在舒张肺血管的同时可以避免对全身其他部位的血管

以及心脏功能产生不良影响<sup>[7]</sup>。山莨菪碱为 M 受体阻滞剂,能够扩张小血管,目前临床广泛用于防治感染性休克、解痉、改善微循环和防治缺血/再灌注损伤等,20 世纪 80 年代以来用于防治 ALI,显示出良好的保护作用<sup>[8]</sup>。但是目前基本采用的是静脉给药方法,而把雾化吸入与静脉应用山莨菪碱的肺保护作用进行系统比较的文献极少。

采用雾化吸入的方法使药物局限于靶器官,使肺部药物浓度高于静脉给药。研究表明,雾化吸入山莨菪碱 10 g/L 可以明显降低 PAP 而不引起 BP 降低,并且能够明显改善 ALI 的多项指标,其作用机制可能是由于改善了肺血管收缩引起的肺通气/血流比例异常,从而对肺血管内皮细胞起保护作用。

综上所述,山莨菪碱雾化吸入简便、高效、安全,具有明显改善由于肺血管收缩引起的顽固性低氧血症,是一种有前途的 ALI/ARDS 治疗方法。

志谢 本文作者对同济大学医学院流行病学教研室刘浩博士在数据统计分析方面给予的帮助表示衷心感谢

参考文献

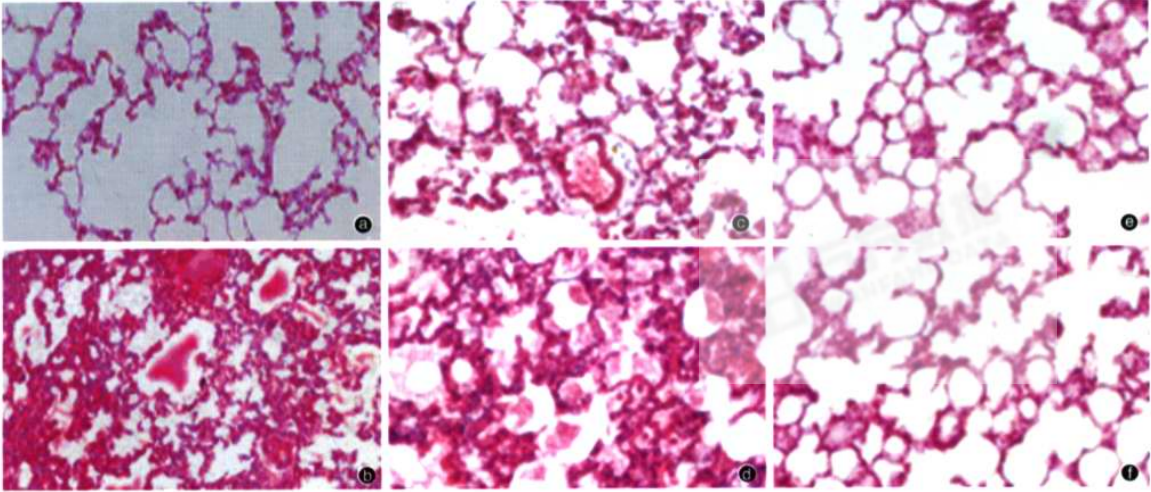
[1] Kuebler W M, Abels C, Schuerer L, et al. Measurement of neutrophil content in brain and lung tissue by a modified myeloperoxidase assay [J]. Int J Microcirc Clin Exp, 1996, 16(2): 89-97.  
 [2] Lahana A, Costantopoulos S, Nakos G. The local component of the acute

cardiovascular response to simulated apneas in brain-dead humans [J]. Chest, 2005, 128(2): 634-639.  
 [3] 黄亮,曹春水.复方丹参对早期肺损伤模型兔血清 C 反应蛋白的影响[J].中国中西医结合急救杂志, 2004, 11(5): 304-306.  
 [4] 杨毅,邱海波,周韶霞,等.吸入一氧化氮对急性肺损伤小鼠肺组织炎症反应的影响[J].中国危重病急救医学, 2002, 14(12): 723-727.  
 [5] Fortier S, DeMaria R G, Lamarche Y, et al. Inhaled prostacyclin reduces cardiovascular bypass-induced pulmonary endothelial dysfunction via increased cyclic adenosine monophosphate levels [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2004, 128(1): 109-116.  
 [6] Klein A, Zils U, Bopp C, et al. Low-dose phosphodiesterase inhibition improves responsiveness to inhaled nitric oxide in isolated lungs from endotoxemic rats [J]. J Surg Res, 2007, 138(2): 224-230.  
 [7] Lamarche Y, Malo O, Thorin E, et al. Inhaled but not intravenous milrinone prevents pulmonary endothelial dysfunction after cardiopulmonary bypass [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2005, 130(1): 83-92.  
 [8] 陈学华,罗晓阳,胡振华,等.山莨菪碱对脑外伤后急性肺损伤大鼠神经降压素含量的影响[J].中华创伤杂志, 2006, 22(2): 133-135.

(收稿日期:2007-07-11  
 修回日期:2008-01-18)  
 (本文编辑:李银平)

# 不同时间给予猪肺表面活性物质对大鼠油酸型急性肺损伤疗效的影响

(正文见88页)



①:假手术组; ②:PPS 100 mg/kg 0.5 h组; ③:PPS 150 mg/kg 0.5 h组;  
 ④:模型组; ⑤:PPS 100 mg/kg 2 h组; ⑥:PPS 150 mg/kg 2 h组  
 图5 油酸注入不同时间给予PPS对ALI大鼠肺组织病理学的影响(HE, × 200)

# 生长激素对急性肺损伤大鼠Clara细胞的影响

(正文见92页)

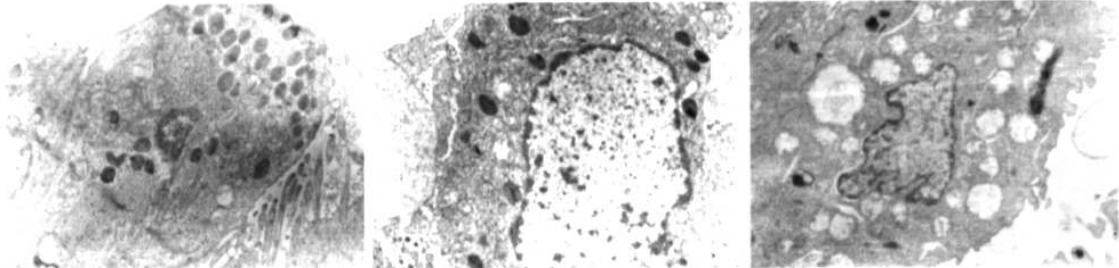
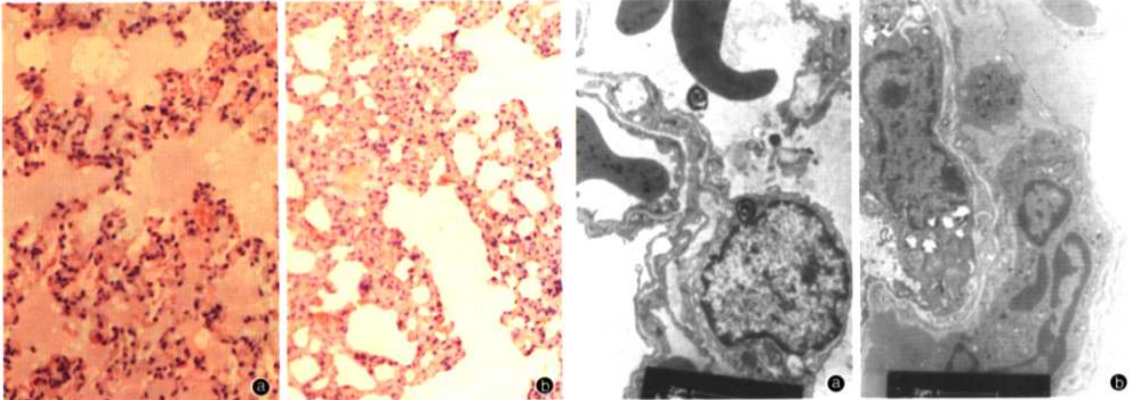


图1 生理盐水对照大鼠Clara细胞超微结构(× 8 000)      图2 ALI组注射LPS后24 h大鼠Clara细胞超微结构(× 8 000)      图3 rhGh组注射LPS后24 h大鼠Clara细胞超微结构(× 8 000)

# 山莨菪碱雾化吸入对油酸诱导大鼠急性肺损伤的保护作用及其机制

(正文见117页)



①:模型组; ②:治疗组  
 图1 光镜下观察两组大鼠肺组织病理学改变(HE, × 40)      图2 电镜下观察两组大鼠超微结构改变(× 5 000)