

乌司他丁对急性百草枯中毒大鼠炎症因子的影响

陈安宝 梁道明 袁勇 王刚 胡强 赵群远 杨春燕 陈嘉勇

【摘要】 目的 观察乌司他丁(UTI)对急性百草枯中毒大鼠炎症因子的抑制作用。方法 72 只 SD 大鼠被随机分为对照组、中毒组(PQ 组)和 UTI 组 3 组。按 120 mg/kg 灌胃百草枯造成急性百草枯中毒模型,2 h 后 UTI 组腹腔注射 UTI 75 kU/kg,对照组和 PQ 组腹腔注射 10 ml/kg 生理盐水,均每日 1 次。于给药后 6、24、72 h 取大鼠眼眶血,用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和 IL-2 水平。结果 PQ 组各时间点血清 TNF- α 水平较对照组明显升高;UTI 组给药后 6 h TNF- α 水平明显降低,至 24 h 时升高,然后再次下降,各时间点 TNF- α 水平均显著低于 PQ 组(P 均 <0.05)。PQ 组 6 h 和 24 h 血清 IL-1 β 均较对照组明显升高;UTI 组给药后各时间点 IL-1 β 明显降低,与 PQ 组比较差异有统计学意义(P 均 <0.05)。PQ 组血清 IL-2 水平仅 6 h 时显著高于对照组;UTI 组给药后 6 h IL-2 明显降低,24 h 有所升高,至 72 h 明显低于 PQ 组(P <0.05)。结论 UTI 可明显抑制急性百草枯中毒大鼠血清 TNF- α 的释放,并在一定程度上抑制 IL-1 β 和 IL-2 的释放,对急性百草枯中毒炎症反应大鼠具有一定的保护作用。

【关键词】 百草枯; 中毒; 大鼠; 乌司他丁; 炎症因子

百草枯作为农药中的高效除草剂,毒性较大,无特效解毒剂,中毒后病死率极高。本实验中通过建立急性百草枯中毒大鼠模型,研究乌司他丁(UTI)对急性百草枯中毒大鼠是否具有抑制炎症反应和保护作用,为临床治疗急性百草枯中毒提供一定的实验依据。

1 材料与方

1.1 实验动物及材料:72 只雌性 SD 大鼠,体重 200~250 g,购自昆明医学院动物科。体积分数为 20% 的百草枯水剂(深圳瑞德丰农药有限公司生产);UTI 注射液(广东天普生化医药股份有限公司);酶联免疫吸附法(ELISA)检测试剂盒购自晶美生物工程(北京)有限公司。

1.2 动物分组及模型制备:百草枯水剂按 120 mg/kg 灌胃 SD 大鼠,建立大鼠急性百草枯中毒模型。72 只大鼠按随机数字表法分为对照组、中毒组(PQ 组)和 UTI 组,每组均设给药后 6、24、72 h 3 个时间点,每个时间点 8 只。UTI 组中毒 2 h 后腹腔注射 UTI 75 kU/kg,其余两组腹腔注射 10 ml/kg 生理盐水,均每日 1 次,直至处死。

1.3 血标本采集及检测:给药后各时间

点取大鼠眼眶血,分离血清,用 ELISA 检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和 IL-2 水平。

1.4 统计学方法:数据采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,使用 SPSS 11.5 软件统计包进行单因素方差分析或非参数检验, P <0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 TNF- α 水平比较(表 1):PQ 组各时间点血清 TNF- α 水平较对照组明显升高(P 均 <0.05)。UTI 组 TNF- α 水平于给药后 6 h 显著降低,24 h 有所升高,至 72 h 明显下降,各时间点均较 PQ 组明显降低(P 均 <0.05)。

2.2 各组 IL-1 β 水平比较(表 1):PQ 组各时间点血清 IL-1 β 水平明显升高,6 h 和 24 h 时与对照组比较差异有统计学意义(P 均 <0.05)。UTI 组给药后 IL-1 β 明显降低,与 PQ 组比较差异有统计学意义(P 均 <0.05)。

2.3 各组 IL-2 水平比较(表 1):PQ 组 6 h 时血清 IL-2 水平明显高于对照组(P <0.05),24 h 和 72 h 时与对照组比较差异无统计学意义(P 均 >0.05)。UTI 组于给药后 6 h IL-2 较 PQ 组明显降低(P <0.05),24 h 有所回升,至 72 h 时明显下降(P <0.05)。

3 讨论

百草枯毒性较强,成人致死量为 20% 水溶液 5~15 ml 或 40 mg/kg 左右,中毒后极易引起多器官功能障碍综合征(MODS),甚至发生多器官功能衰竭(MOF)而死亡,但目前尚无特效解毒

药,因此常规治疗效果极差^[1]。基础研究表明,随百草枯染毒浓度的增加和时间的延长,细胞因子水平也在逐渐增加,具有一定的线性趋势,其中 TNF- α 、IL-6 等炎症因子与 MODS 关系最为密切^[2]。TNF- α 在局部或全身损伤后几分钟内由巨噬细胞释放,以调节各种免疫球蛋白和代谢反应。TNF- α 的全身性释放能促进有害性级联反应,导致组织损伤、器官功能不全甚至死亡。其导致死亡的重要因素可能是:①抑制心肌收缩,减少组织灌注量;②松弛血管平滑肌张力,进一步降低血压,减少组织灌注;③引起弥散性血管内凝血(DIC),导致组织灌流量减少;④引起严重的代谢障碍,如使血糖降低,甚至危及生命。TNF- α 另一个重要的作用是能诱导各种细胞凋亡,IL-1 β 是 IL-1 在循环中的主要形式,IL-1 除具有引起发热、肝脏合成急性期蛋白、诱导 IL-6 合成、上调组织因子表达、下调血栓调节蛋白(TM)表达、活化纤溶作用和其他生物学效应外,还可增加 TNF- α 的有害作用,但不诱导组织损伤和细胞凋亡。IL-2 是体内生物反应调节系统的一种重要淋巴因子及细胞免疫的重要成分,主要由活化的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞产生,能促进 T、B 淋巴细胞生长、增殖、分化,诱导和促进细胞毒性 T 细胞、自然杀伤(NK)细胞、淋巴因子活化杀伤细胞(LAK)增殖,又有促进 B 淋巴细胞分化成熟,促进抗体产生的作用,还能激发免疫效应器细胞产生各种继发的细胞因子,如 γ -干扰素、TNF 等。Netea 等^[3] 研

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.06.017

基金项目:云南省教育厅科学研究基金项目(07C10217)

作者单位:650101 云南,昆明医学院第二附属医院急诊科

通信作者:陈嘉勇,Email:cjy125@163.com

表 1 各组大鼠给药后不同时间点各炎症因子检测结果比较 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	TNF- α (ng/L)			IL-1 β (ng/L)			IL-2(ng/L)		
	6 h	24 h	72 h	6 h	24 h	72 h	6 h	24 h	72 h
对照组	99.0 \pm 23.6	99.0 \pm 23.6	99.0 \pm 23.6	150.6 \pm 44.0	150.6 \pm 44.0	150.6 \pm 44.0	4.57 \pm 2.15	4.57 \pm 2.13	3.78 \pm 1.53
PQ 组	152.5 \pm 49.0 ^a	230.3 \pm 78.7 ^a	166.0 \pm 40.3 ^a	283.4 \pm 138.9 ^a	258.6 \pm 84.2 ^a	187.1 \pm 77.2	7.89 \pm 3.34 ^a	5.17 \pm 2.09	4.52 \pm 2.24
UTI 组	55.0 \pm 16.8 ^b	131.4 \pm 35.3 ^b	66.1 \pm 24.0 ^b	128.6 \pm 62.7 ^b	147.8 \pm 58.7 ^b	119.0 \pm 93.8 ^b	2.35 \pm 0.43 ^b	4.02 \pm 2.64	1.99 \pm 1.88 ^b

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 PQ 组比较,^b $P < 0.05$

究表明, TNF- α 、ILs 等炎症因子的过度释放可激活炎性细胞释放大量各种蛋白酶、磷脂酶及氧自由基等细胞毒物质,引起组织细胞损害,而组织细胞损害或解体后形成更多的炎症刺激物,引起炎症因子“瀑布式”级联放大反应和组织损害的恶性循环,导致多器官功能障碍,最终患者可死亡。因此,减少炎症因子的过度释放是成功抢救患者的关键环节。

近年来,国内外学者对百草枯中毒的治疗进行了各种各样的尝试和研究,但尚未取得明显进展。UTI 及其分解形成的低分子成分均具有很强的蛋白酶抑制作用,能够同时抑制胰蛋白酶、磷脂酶 A₂、透明质酸酶、 α -糜蛋白酶和粒细胞弹性蛋白酶等多种蛋白水解酶活性,促进酶的降解^[4-5];还可以通过抑制巨噬细胞内蛋白激酶 C(PKC)及核转录因子- κ B(NF- κ B)信号转导通路直接抑制 TNF- α 的翻译和分泌,减少 TNF- α 的产生^[6];能稳定溶酶体膜,抑制溶酶体酶释放及氧自由基产生,抑制内源性休克因子如心肌顿抑因子(MDF)生成,抑制多种炎症介质如血小板活化因子(PAF)、IL-6、IL-8、髓过氧化物酶(MPO)及 NF- κ B 活化的作用,从而阻止应激时炎症因子与白细胞之间的联系,切断疾病的进展,改善微循环,起到抗休克、缺血及预防 MOF 的作用^[7-8]。大量临床研究亦证实,UTI 可有效抑制患者机体炎症细胞因子(包括 TNF- α 、IL-1、IL-6 和 IL-8)的生成及过度释放,降低 β -葡萄糖醛酸

酶(β -GCD)活性,稳定溶酶体膜;并能保持超氧化物歧化酶(SOD)活性,降低丙二醛(MDA)含量,减少氧自由基产生^[9-10];还可使 CD3、CD4⁺ 值及 NK 细胞明显上升,CD4⁺/CD8⁺ 比值上升,提高细胞免疫功能^[11];同时还能降低中毒及复苏患者呼吸机相关性肺炎(VAP)、心肌缺血和心律失常的发生率,有效保护肾、肝、肺及脑等脏器功能,使 MODS 的发生率和病死率明显降低^[12-13]。

本研究表明:UTI 可明显抑制急性百草枯中毒大鼠血清炎症细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-2 的释放,具有抗炎作用,从而减少 MODS 的发生,降低急性百草枯中毒大鼠的死亡率。这可能为临床综合救治百草枯中毒提供了新的治疗方法和实验依据。

参考文献

[1] 刘冰,韩玉平,高华. 强化血液灌注救治百草枯中毒疗效分析. 中国危重病急救医学, 2004, 16(7): 420.
 [2] 隋宏,曹向东,楚中华,等. 大鼠急性百草枯中毒血清中细胞因子的动态变化. 毒理学杂志, 2007, 21(1): 27-29.
 [3] Netea MG, van der Meer JW, van Deuren M, et al. Proinflammatory cytokines and sepsis syndrome; not enough, or too much of a good thing? Trends Immunol, 2003, 24(5): 254-258.
 [4] Nakanishi K, Takeda S, Sakamoto A, et al. Effects of ulinastatin treatment on the cardiopulmonary bypass-induced hemodynamic instability and pulmonary

dysfunction. Crit Care Med, 2006, 34(52): 1351-1357.
 [5] 景炳文. 乌司他丁在急危重症临床应用的进展. 中国危重病急救医学, 2006, 18(2): 117-120.
 [6] Aosasa S, Ono S, Mochizuki H, et al. Mechanism of the inhibitory effect of protease inhibitor on tumor necrosis factor alpha production of monocytes. Shock, 2001, 15(2): 101-105.
 [7] 吴雅莉, 海燕, 田炳章. 乌司他丁对急性坏死性胰腺炎模型大鼠血清淀粉酶、肿瘤坏死因子的影响. 中国药房, 2004, 15(9): 535-536.
 [8] 吴骅, 余小云, 雷涌, 等. 乌司他丁对危重患者器官功能保护作用的研究. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(5): 269-271.
 [9] 余剑波, 姚尚龙, 袁世炎. 乌司他丁对感染性休克患者影响的临床研究. 中国急救医学, 2004, 24(2): 135-136.
 [10] 蒋龙元, 杨炼红, 常建星, 等. 乌司他丁对脓毒性休克患者细胞因子的影响. 中华急诊医学杂志, 2006, 15(12): 1136-1138.
 [11] 吴伟芳, 方强, 方雪玲. 乌司他丁对脓毒症患者免疫功能的影响. 中国急救医学, 2006, 26(11): 872-873.
 [12] 姜兴权, 胡家昌, 宋德彪, 等. 乌司他丁干预重症有机磷农药中毒的临床研究. 中国急救医学, 2006, 26(12): 888-890.
 [13] 吴向东, 周峻峰, 万献光. 乌司他丁对复苏后多器官功能障碍的防治作用. 中国急救复苏与灾害医学杂志, 2007, 2(3): 172-174.

(收稿日期: 2008-11-17)
(本文编辑: 李银平)

• 启事 •

欢迎参加全国医学论文写作研修班

为提高广大作者的医学论文特别是英文医学论文的写作水平,中华医学会《中华医学杂志英文版》定于 2009 年 8 月 28-30 日在济南举办“全国医学论文写作研修班”。研修班邀请国内有丰富审稿、投稿和英文写作经验的专家就以下内容进行授课:①如何撰写易被杂志接受的中(英)文医学论文(论著、综述、病例报告);②医学论文中图和表的制作;③如何报告临床随机对照试验;④医学论文参考文献的管理;⑤论文写作中的伦理学问题;⑥版权知识、重复发表、二级发表问题;⑦向国内外医学期刊投稿的注意事项;⑧国际一流医学期刊的稿件处理程序;⑨临床试验注册。

培训班授予国家级继续教育 I 类学分 8 分[2009-15-01-063(国)]。有意参加研修班的同志,请与《中华医学杂志英文版》编辑部孙静编辑联系。地址:北京市东四西大街 42 号,邮编:100710;电话:010-85158320;传真:010-85158333;Email: sunj@cma.org.cn. 中华医学杂志英文版网站地址: www.cmj.org.

(中华医学杂志英文版编辑部)