

盐酸戊乙奎醚对脓毒症肺损伤大鼠炎症因子表达的影响

施红 董晨明

【摘要】 目的 观察盐酸戊乙奎醚对脓毒症肺损伤大鼠的治疗效果。方法 采用盲肠结扎穿孔术(CLP)制备脓毒症肺损伤大鼠模型,90 只 SD 大鼠被随机均分为假手术组、模型组和盐酸戊乙奎醚(0.45 mg/kg 肌肉注射)治疗组。各组分别于术后 24、48、72 h 检测血清高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)、巨噬细胞移动抑制因子(MIF)浓度、肺湿/干重(W/D)比值以及支气管肺泡灌洗液(BALF)中水通道蛋白 5(AQP5)的浓度,并进行肺组织病理观察。结果 与模型组比较,治疗组血清 HMGB1、MIF 水平及肺 W/D 比值明显下降,BALF 中 AQP5 水平明显升高,差异均有统计学意义(P 均 <0.01)。结论 盐酸戊乙奎醚通过抑制血清 HMGB1、MIF 的表达,增加 BALF 中 AQP5 表达,对脓毒症肺损伤大鼠肺组织具有保护作用。

【关键词】 脓毒症; 肺损伤; 盐酸戊乙奎醚; 高迁移率族蛋白 B1; 巨噬细胞移动抑制因子; 水通道蛋白 5

已知高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)和巨噬细胞移动抑制因子(MIF)作为关键性介质在免疫和炎症反应过程中起重要作用。Towne 等^[1]发现水通道蛋白 1(AQP1)和 AQP5 在病毒性肺炎鼠肺中表达降低,提示 AQP 减少可能是肺水在肺间质聚集的重要原因。盐酸戊乙奎醚是一种新型的选择性莨菪碱类抗胆碱能药物,其主要特征是对 M 受体作用的选择性,目前被临床用于麻醉前给药、有机磷农药中毒抢救、改善微循环障碍等过程中。本实验中通过检测盐酸戊乙奎醚治疗脓毒症大鼠血清 HMGB1、MIF 和支气管肺泡灌洗液(BALF)中 AQP5 的水平,探讨盐酸戊乙奎醚对脓毒症大鼠肺损伤的保护作用,为寻找治疗脓毒症的有效方法提供理论依据。

1 材料与与方法

1.1 实验动物分组及处理:清洁级雄性 SD 大鼠 90 只,体重 220~250 g(由兰州大学 GLP 实验中心提供),采用随机数字表法分为假手术组、脓毒症模型组、盐酸戊乙奎醚治疗组,每组 30 只。以盲肠结扎穿孔术(CLP)制备大鼠脓毒症模型。治疗组于术后 3、12、24、48 h 给予盐

酸戊乙奎醚(成都力思特制药股份有限公司,批号:H20080606)0.45 mg/kg 肌肉注射;其他组于相应时间点注射等量生理盐水。观察期间出现死亡的动物被排除并重新制模补充。

1.2 检测指标和方法:各组于术后 24、48、72 h 随机选取 10 只大鼠,心脏取血,活杀后取左肺行支气管肺泡灌洗;用酶联免疫吸附法(ELISA,试剂盒购自美国 ADL 公司)测定血清中 HMGB1、MIF 及 BALF 中 AQP5;同时取右肺中叶,测定湿/干重(W/D)比值。取 72 h 大鼠右肺下叶,用中性甲醛水溶液固定,常规石蜡包埋、切片、苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察肺组织病理改变。

1.3 统计学方法:采用 SPSS 11.0 统计软件,数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用方差分析和 q 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺组织病理改变:假手术组光镜下可见肺泡结构完整,未见明显病变。模型组大体观察可见肺组织肿胀,部分被膜下有出血点;光镜下可见肺内中性粒细胞浸润,肺泡腔内有大量含蛋白质的浆

液,红细胞渗出,肺泡间隔及肺泡间质轻度水肿。治疗组大体观察见肺组织轻度肿胀,未见被膜下出血点;光镜下肺泡腔内可见中性粒细胞和少量淋巴细胞浸润,肺泡内少量浆液渗出和红细胞浸润,病理改变程度较轻。

2.2 肺 W/D 比值(表 1):模型组术后 24、48、72 h W/D 比值显著高于假手术组;治疗组各时间点显著低于模型组,但明显高于假手术组(P 均 <0.01)。

2.3 BALF 中 AQP5(表 1):自 24 h 起各组 BALF 中 AQP5 水平逐渐减少。模型组各时间点 AQP5 水平显著低于假手术组;治疗组水平显著高于模型组,但明显低于假手术组(P 均 <0.01)。

2.4 血清 HMGB1(表 2):术后 24 h 假手术组 HMGB1 开始升高,48 h 达高峰,72 h 后下降;模型组各时间点 HMGB1 水平显著高于假手术组,治疗组显著低于模型组,但明显高于假手术组(P 均 <0.01)。

2.5 血清 MIF(表 2):各组血清 MIF 水平在 24 h 达高峰,48 h 后逐渐下降。模型组各时间点 MIF 水平显著高于假手术组;治疗组水平显著低于模型组,但

表 1 盐酸戊乙奎醚对脓毒症大鼠术后不同时间点肺 W/D 比值及 BALF 中 AQP5 变化的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	肺 W/D 比值			BALF 中 AQP5(ng/L)		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
假手术组	10	2.57±0.28	2.60±0.37	2.35±0.30	376.94±12.07	380.72±8.79	371.64±10.93
模型组	10	4.05±0.50 ^a	4.29±0.30 ^{ac}	4.48±0.21 ^{acd}	289.83±14.75 ^a	206.36±15.51 ^{ac}	151.40±14.27 ^{acd}
治疗组	10	3.44±0.34 ^{ab}	3.65±0.48 ^{abc}	3.87±0.27 ^{abcd}	315.32±12.20 ^{ab}	259.55±17.38 ^{abc}	190.69±10.48 ^{abcd}

注:与假手术组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与本组 24 h 比较,^c $P<0.01$;与本组 48 h 比较,^d $P<0.01$

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.11.016

作者单位:730030 甘肃,兰州大学第二医院(施红现在甘肃省人民医院工作) 通信作者:董晨明,Email:dongcm0608@163.com

表 2 各组大鼠术后不同时间点血清 HMGB1 和 MIF 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	HMGB1($\mu\text{g/L}$)			MIF(ng/L)		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
假手术组	10	6.15 \pm 0.89	8.64 \pm 1.00	5.29 \pm 0.92	60.67 \pm 6.84	50.14 \pm 3.60	41.71 \pm 3.88
模型组	10	20.67 \pm 1.91 ^a	34.95 \pm 2.26 ^{ac}	27.56 \pm 2.13 ^{acd}	521.79 \pm 23.52 ^a	433.58 \pm 27.87 ^{ac}	361.47 \pm 23.58 ^{acd}
治疗组	10	13.40 \pm 2.81 ^{ab}	26.98 \pm 4.38 ^{abc}	19.90 \pm 3.29 ^{abcd}	455.74 \pm 20.10 ^{ab}	389.97 \pm 18.21 ^{abc}	281.11 \pm 20.05 ^{abcd}

注:与假手术组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与本组 24 h 比较,^c $P<0.01$;与本组 48 h 比较,^d $P<0.01$

明显高于假手术组(P 均 <0.01)。

3 讨论

目前认为脓毒症是由机体过度炎症反应或炎症失控所致。脓毒症时亢进的全身炎症反应和免疫抑制产生于不同的机制,并涉及了不同的系统,亢进的炎症反应始终是脓毒症发展的主线,免疫抑制也是这个过程中的产物,血液中高水平的抗炎物质被认为可以反映亢进和持续的炎症反应。

自从 1999 年 Wang 等^[2]首次报道 HMGB1 作为一种晚期炎症介质参与了脓毒症的发病过程后,越来越多的研究表明, HMGB1 作为一种晚期炎症介质,具有释放晚、维持峰值时间长等特点,是脓毒症产生致死效应的关键因子,并为脓毒症治疗提供了宝贵的“时间窗”。邵义明等^[3]研究显示,大鼠 CLP 后 24 h 和 48 h HMGB1 表达到达达高峰,与脓毒症严重程度评分、生存率高度相关。给予抗 HMGB1 抗体可显著降低大鼠的死亡率^[4]。脓毒症初期致炎介质迅速合成释放,而临床治疗难以做到早期或预防性治疗。因此, HMGB1 作为一种重要的晚期致炎因子,较肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素-1(IL-1)等早期速发炎症因子具有更重要的临床意义^[5]。

Berhagen 等^[6]检测了纯化和重组的 MIF 后发现, MIF 具有重要的致炎功能。MIF 在多种危重病中表达明显升高,可促进多种危重疾病的发生发展。脓症患者血浆 MIF 增高,其增高程度与不良预后显著相关。阻滞 MIF 可显著改善脓毒症动物的存活率^[7]。对脓毒性休克患者的治疗往往是在症状出现及感染建立的情况下开始的,抗 MIF 治疗脓毒性休克有着特别的优势^[8]。

AQP5 定位于 I 型肺泡上皮细胞的肺泡腔面,气道分泌上皮顶膜上也有分布^[9]。AQP5 的表达或功能下降导致肺泡炎性水肿清除率下降,可能是高氧肺损伤中肺水肿的形成原因之一^[9];同时 AQP5 也可能参与了肺水肿时液

体的异常转运,因此 AQP5 在调节肺内液体平衡中起明显作用,可能参与了肺损伤时肺水肿的发病机制^[1]。AQP5 还与气道高反应性有关, Krane^[10]的研究表明:与野生型鼠相比, AQP5 缺失鼠气道对乙酰胆碱或乙酰甲胆碱反应更加敏感,更容易引起支气管痉挛,但 AQP5 所致气道高反应性的机制仍不清楚。因此,增加脓毒症肺损伤时 AQP5 的表达为临床治疗肺损伤时肺水肿、改善肺换气功能障碍、降低气道高反应性、改善通气功能障碍提供了新的思路和途径。

盐酸戊乙奎醚作为选择性作用于 M1、M3 和 N1、N2 受体的新型抗胆碱药,既往多作为针对胆碱能系统的药物用于急性肺损伤(ALI)的治疗。肺组织中富含 M1、M3 受体, M3 受体略多于 M1 受体^[11],盐酸戊乙奎醚的抗胆碱能作用可解除 ALI/急性呼吸窘迫综合征(ARDS)患者肺血管和支气管平滑肌痉挛,减少腺体分泌和气道阻力,另有研究表明,盐酸戊乙奎醚可通过抑制诱生型一氧化氮合酶,减少过量一氧化氮来实现脓毒症引起的肺损伤^[12]。

本实验结果显示,假手术组大鼠术后 HMGB1、MIF、AQP5 均有微弱表达,可能与手术应激有关。模型组大鼠术后 HMGB1 和 MIF 即升高,24 h 达峰值,但 MIF 回落早于 HMGB1; AQP5 于 24 h 起持续减少。治疗组大鼠 HMGB1、MIF 表达趋势同模型组,但表达水平明显低于模型组; AQP5 表达显著高于模型组。说明盐酸戊乙奎醚能减少脓毒症肺损伤时炎症因子 HMGB1、MIF 的表达,减轻脓毒症肺损伤的症状,甚至可能在一定程度上阻止 ALI 向 ARDS 进展;同时可增加 AQP5 表达,而 AQP5 减少可能是导致肺水肿的原因。

本实验中只是探讨了盐酸戊乙奎醚在大鼠脓毒症肺损伤治疗中对降低炎症介质、减轻肺水肿有一定作用。已有报道指出,通过抑制 HMGB1 和 MIF 的表达可以提高脓毒症动物的存活率^[13],但本

次实验未统计存活率,且在临床应用上能否改善脓毒症患者的预后、降低病死率,尚有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] Towne JE, Harrod KS, Krane CM, et al. Decreased expression of aquaporin (AQP) 1 and AQP5 in mouse lung after acute viral infection. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2000, 22(1): 34-44.
- [2] Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science*, 1999, 285(5425): 248-251.
- [3] 邵义明,姚华国,梁小仲,等.高迁移率族蛋白 B1 表达水平与大鼠脓毒症严重程度及预后关系的实验研究. *中国危重病急救医学*, 2006, 18(11): 668-672.
- [4] 王松柏,姚咏明.高迁移率族蛋白 B1 的细胞生物学效应及其与脓毒症的关系. *中国危重病急救医学*, 2003, 15(11): 701-704.
- [5] 唐道林,肖献忠.高迁移率族蛋白-1 与脓毒症. *中国危重病急救医学*, 2004, 16(2): 113-116.
- [6] Berhagen J, Calandra T, Mitchell RA, et al. MIF is a pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxaemia. *Nature*, 1993, 365(6448): 756-759.
- [7] 张振辉,陈晓辉,林佩仪,等.巨噬细胞移动抑制因子在脓毒症小鼠中的作用及其干预研究. *中国危重病急救医学*, 2009, 21(8): 481-484.
- [8] Calandra T, Echtenacher B, Roy DL, et al. Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor. *Nat Med*, 2000, 6(2): 164-170.
- [9] 谭利平,许峰,匡凤梧.水通道蛋白 5 在高氧肺损伤中的表达及调节机制. *中国危重病急救医学*, 2006, 18(8): 462-465.
- [10] Krane CM, Fortner CN, Hand AR, et al. Aquaporin 5-deficient mouse lungs are hyperresponsive to cholinergic stimulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(24): 14114-14119.
- [11] 韩济生. *神经科学纲要*. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,

1993;342-343.

[12] 雷利荣, 王森林, 贾宝辉, 等. 盐酸戊乙奎醚对腹腔感染脓毒症小鼠肺损伤的保护作用. 中国危重病急救医学, 2007,

19(10):623-624.

[13] 寇秋野, 杨祖立, 管向东, 等. 乌司他丁对脓毒症大鼠血浆高迁移率族蛋白 B1 水平的影响. 中国中西医结合急救杂志, 2009, 16(2):103-105.

(收稿日期: 2009-06-10
修回日期: 2009-08-22)
(本文编辑: 李银平)

• 方法介绍 •

微量注射泵注射药液时药量与速度的计算

陈林

【关键词】 微量注射泵; 配药量; 药液量; 泵入速度; 给药速度

在重症监护病房(ICU)用微量注射泵注射药液要计算药量及给药速度。笔者推导出相关公式, 临床应用较为方便实用, 且适用面较广, 现介绍如下。

1 基本公式

假设患者的体重为 $W(\text{kg})$, 配药量为 $Q(\text{mg})$, 药液量为 $V(\text{ml})$, 泵入速度(泵速)为 $S(\text{ml/h})$, 给药速度(药速)为 N 。药速等于每毫升溶液药量与泵速的乘积。

$$N = Q/V \cdot S \quad (1)$$

药速单位是 mg/h 。如果按公斤体重计算, 则得出下列公式(2)。

$$N = Q/(V \cdot W) \cdot S \quad (2)$$

药速单位是 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 要变为微量单位 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 将公式(2)乘以换算系数 $1\,000/60=50/3$ 。

$$N = 50 Q/(3 W \cdot V) \cdot S \quad (3)$$

当泵速 $S=1\text{ml/h}$ 时, 每小时每毫升泵速的微量药速(设为 N_m , 以区别 N)计算式则由公式(3)转化为公式(4)。

$$N_m = 50 Q/3 W V \quad (4)$$

此泵速往往是起始泵速, 对应的药速也是起始药速, 即最低药速(N_m)。公式(4)中的 W 对特定患者来说是定量, N_m 对某个选用的药物来说也是已知的, 求得 Q/V 比值, 就可以按比例配制药量和药液量。

2 公式的简化应用

2.1 根据 N_m 计算配药量及药液量: 当 $W=50\text{kg}$, 或 $V=50\text{ml}$ 时, 公式(4)可简化为公式(5)。

$$N_m = Q/3 V \text{ 或 } N_m = Q/3 W \\ Q = 3 V N_m \text{ 或 } Q = 3 W N_m \quad (5)$$

当 $N_m = 1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.11.017

作者单位: 243000 安徽省马鞍山市人民医院 ICU

$$Q = 3 V \text{ 或 } Q = 3 W;$$

当 $N_m = 0.1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 时,

$$Q = 0.3 V \text{ 或 } Q = 0.3 W;$$

当 $N_m = 0.01 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 时,

$$Q = 0.03 V \text{ 或 } Q = 0.03 W.$$

如多巴胺用于体重 60kg 患者, 若最低药速为 $1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 药液量取 50ml , 那么其配药量 $Q = 3 W = 3 \times 60 = 180(\text{mg})$ 。

当 $W \neq 50\text{kg}$, $V \neq 50\text{ml}$ 时, 为使计算式简化, 设患者体重 $W = 10 n$ (n 取自然数 $1, 2, \dots, n$) 代入公式(4)。

$$N_m = 50 Q/30 n V$$

$$Q = 0.6 n V N_m \quad (6)$$

当 $N_m = 1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 时,

$$Q = 0.6 n V;$$

当 $N_m = 0.1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 时,

$$Q = 0.06 n V;$$

当 $N_m = 0.01 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 时,

$$Q = 0.006 n V.$$

以 $N_m = 1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 为基准, N_m 扩大或缩小 n 倍时, Q 也相应扩大或缩小 n 倍。

如硝普钠首次配药时, 可取 $N_m = 0.1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 计算, 若患者体重 $W = 80\text{kg}$, 药液量用 20ml , $Q = 0.06 \times 8 \times 20 = 9.6(\text{mg})$ 时, 可取硝普钠 10mg 配药。观察药效及起始药速。若起始药速 $N_m \approx 1/3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ (泵速 $S = 3\text{ml/h}$ 时显效), 再配药时药液量如果不变, 那么配药量 $Q = 0.6 \times 1/3 \times 8 \times 20 = 32(\text{mg})$, 可取 30mg 配制药液。

2.2 N_m 的取值: 任何药物的有效药速都有范围, 那么取哪个药速公式计算药量呢? 根据公式(4)、(5)、(6)原理, 往往取最低药速计算药量。在 ICU 用药, 除丙泊酚等少数药物外, 其他药物最低药速很少超过 $10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 所以, 首次配药时常取 N_m 值如下。

$N_m = 1 \sim 10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, 取 $N_m \approx 1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 计算。多巴胺有效药速为 $1 \sim 20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 而阿曲库铵维持肌松的有效药速为 $5 \sim 10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 它们的最低药速在 $1 \sim 10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 因此, 取 $N_m \approx 1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 代入公式(5)或公式(6)计算药量。

$N_m = 0.1 \sim 1.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, 取 $N_m \approx 0.1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 计算。如硝酸甘油、硝普钠有效药速为 $0.1 \sim 1.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 首次配药取 $N_m \approx 0.1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 计算药量。

$N_m = 0.01 \sim 0.10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, 取 $N_m \approx 0.01 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 计算。如肾上腺素维持用药时, 有效药速通常为 $0.01 \sim 0.10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 取 $N_m = 0.01 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 计算; 而去甲肾上腺素维持药速为 $0.02 \sim 0.20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 首次配药常取 $0.02 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 计算药量。按照上述方法, 计算结果药量接近剂量或剂型倍数时, 取剂型量或倍数。如力月西用于体重为 60kg 的患者, 取 $N_m = 0.1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 计算, $V = 50\text{ml}$, $Q = 18\text{mg}$, 可取 $Q = 20\text{mg}$ 配药。

2.3 已知配药量及药液量计算药速: 将已知配药数据和患者体重代入公式(4)、(5)、(6), 均容易得出药速 N_m 。 N_m 为泵速 1ml/h 时的药速计算方法同上。

3 药速的调节及目标疗效药速

按计算定量配制药液泵注时, 往往根据药效上调泵速, 调节泵速即调节药速, 以达到目标疗效, 此时泵速为目标疗效泵速 S 。将目标疗效泵速 N 乘以 N_m 便可得知目标疗效药速 N , 即 $N_m \cdot S = 50 Q/(3 W \cdot V) \cdot S = N$ 。

(收稿日期: 2009-04-04)
(本文编辑: 李银平)