

• 论著 •

血必净注射液联合地塞米松防治大鼠百草枯中毒慢性肺损伤的作用研究

王 英, 邱泽武, 彭瑞云, 高亚兵, 王水明, 李 扬

(北京军事医学科学院附属医院全军中毒救治专科中心, 北京 100071)

【摘要】 目的 探讨血必净注射液联合地塞米松防治大鼠百草枯中毒慢性肺损伤的作用及可能机制。方法 30 只雄性 Wistar 大鼠被随机均分为 6 组, 每组 5 只。腹腔注射质量分数为 20% 的百草枯 80 mg/kg 制备大鼠中毒模型; 正常对照组予生理盐水。染毒后 2 h, 治疗组分别向腹腔注射小剂量血必净注射液 (1.25 g/kg)、大剂量血必净注射液 (2.50 g/kg)、地塞米松 (25 mg/kg) 及大剂量血必净注射液联合地塞米松 (联合治疗), 正常对照组和模型组给予等量生理盐水, 均每日 1 次, 连用 4 d。观察各组大鼠染毒后反应; 于 28 d 处死各组大鼠取相应标本, 检测肺系数、肺匀浆中羟脯氨酸 (HYP)、血清转化生长因子- β 1 (TGF- β 1), 同时行肺组织病理学观察。结果 各治疗组血清 TGF- β 1、肺 HYP 均较模型组显著降低, 以联合治疗组最为明显, 血必净大剂量组和地塞米松组其次, 血必净小剂量组仅 TGF- β 1 好于模型组, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.05)。比较各组肺系数, 联合治疗组最佳, 其他治疗组间差异无统计学意义。肺组织病理学观察显示, 治疗组肺纤维化及实变程度较模型组轻, 其中联合治疗组最轻。结论 血必净注射液联合地塞米松治疗百草枯中毒, 通过抑制 TGF- β 1 水平, 减少纤维母细胞迁移、活化, 抑制胶原蛋白产生, 保护肺组织结构, 可以更有效地抑制肺纤维化、肺实变。

【关键词】 中毒, 百草枯; 肺损伤, 慢性; 血必净注射液; 转化生长因子- β 1

中图分类号: R242; R256.1 文献标识码: A 文章编号: 1008-9691(2008)05-0282-04

Effect of Xuebijing injection (血必净注射液) combined with dexamethasone in prevention and treatment of chronic pulmonary injury induced by paraquat in rats WANG Ying, QIU Ze-wu, PENG Rui-yun, GAO Ya-bing, WANG Shui-ming, LI Yang. *Poisoning Control Center of PLA, The Affiliated Hospital of Military Medical Academy, Beijing 100071, China*

Corresponding author: QIU Ze-wu (Email: qiuzw@em120.com)

【Abstract】 Objective To explore the possible mechanism and protective effect of Xuebijing injection (血必净注射液) and dexamethasone on rats with paraquat-induced chronic pulmonary injury. **Methods** Thirty male Wistar rats were randomly divided into six groups: normal group ($n = 5$), model group ($n = 5$), treatment groups ($n = 20$). In the normal group, normal saline was used, while in the other groups, 20% paraquat 80 mg/kg was injected peritoneally for poisoning. After 2 hours of intoxication, low dose Xuebijing injection (1.25 g/kg), high dose Xuebijing injection (2.50 g/kg), dexamethasone (25 mg/kg), high dose Xuebijing injection combined with dexamethasone (combined group) respectively were administered into the four different treatment groups, equal amount of normal saline was given to the normal and model groups, and the treatment continued for 4 days. At 28 days after paraquat injection, 5 rats in each group were killed respectively, serum transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and hydroxyproline (HYP) level in the lung homogenate were measured, and pulmonary coefficient and histological changes were observed. **Results** In the treatment groups, the levels of serum TGF- β 1 and lung tissue HYP, pulmonary coefficient were less than those of model group, and among the treatment groups, combined group had the best results (all $P < 0.05$). There was no significant difference between the high dose Xuebijing group and dexamethasone group. In the low dose Xuebijing group, only TGF- β 1 was better than that of model group, and the difference was significant ($P < 0.05$). When pulmonary coefficients were compared, the combined group was the best among the treatment groups, and no other statistical differences were found among the other treatment groups. The lung tissue pathological investigation showed that the pulmonary fibrosis and consolidation in the treatment groups were milder than those in the model group, and among them the combined group was the mildest. **Conclusion** Xuebijing injection combined with dexamethasone in treatment of paraquat intoxication can protect pulmonary structure and ameliorate pulmonary fibrosis and consolidation by inhibiting TGF- β 1 level, reducing fibroblast migration, activation and suppressing production of collagenous protein.

【Key words】 paraquat; chronic pulmonary injury; Xuebijing injection; transforming growth factor- β 1

百草枯是一种速效触杀型除草剂,中毒者病死率达 25%~76%,短期存活者常因晚期进展性肺纤维化、呼吸衰竭而死亡。目前的治疗手段主要为抑制免疫反应、减轻过氧化损害等,但疗效有限。血必净注射液是治疗脓毒症及全身炎症反应综合征的中药制剂,既有强效广谱抗内毒素作用,也有强效拮抗内源性炎症介质^[1]、调节免疫、抗氧化损伤等功用。本实验中观察血必净注射液合用激素治疗百草枯中毒大鼠,从转化生长因子- β 1(TGF- β 1)等角度探讨其对中毒后慢性肺损伤的保护作用及可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组:雄性 Wistar 大鼠 30 只,体重 180~200 g,由军事医学科学院实验动物中心提供。按随机数字表法将动物分 6 组,每组 5 只。模型组:腹腔注射质量分数为 20% 的百草枯 80 mg/kg (稀释至 1 ml)制备动物中毒模型,2 h 后腹腔注射生理盐水 1 ml,每日 1 次,共 4 次。正常对照组:仅腹腔注射等量生理盐水,每日 1 次,共 4 次。治疗组:百草枯染毒后 2 h 分别经腹腔注射血必净注射液 1.25 g/kg、2.50 g/kg,地塞米松 25 mg/kg,血必净注射液 2.50 g/kg+地塞米松注射液 25 mg/kg,均每日 1 次,共 4 次。观察各组动物的表现。在染毒后 28 d 处死各组动物,取材待检。

1.2 观察指标及检测方法:观察大鼠一般情况,包括体重、精神、活动、进食、呼吸情况等。染毒后 28 d,用质量分数为 1% 的戊巴比妥按 40 mg/kg 剂量腹腔注射麻醉大鼠,剖腹从下腔静脉采血,离心后分离血清,用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 TGF- β 1;开胸夹闭气管,分离出完整肺组织,缓冲液冲洗,滤纸滤干,观察肺组织颜色并称重,计算肺重/鼠体重,得出肺系数;取 100 mg 左肺组织,剪碎至 10 mg 大小,放入试管中,用碱水解法检测羟脯氨酸(HYP)含量;取右肺下叶行常规病理学观察。

1.3 统计学方法:采用 SPSS 11.5 统计软件,数据用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析和 q 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况:正常对照组大鼠进食好,反应灵敏,行动敏捷,毛色有光泽,大小便正常,体重增加约 4~5 g/d。模型组大鼠染毒后次日出现精神

萎靡,行动迟缓,进食水少,3 d 时精神最差,毛色发黯,不进食,呼吸急促,口、眼、鼻出血,其中 1 只出现血尿,后逐渐恢复。各治疗组大鼠精神、活动、进食等情况都较模型组动物好,部分大鼠出现少量口鼻出血,4 d 很快恢复,体重增加快,其中联合治疗组中毒症状最轻,恢复接近正常对照组。

2.2 肺脏肉眼观察结果:正常对照组大鼠肺脏呈淡粉色,表面光滑。染毒后 28 d,模型组大鼠肺脏色苍白,体积缩小,表面呈灰白色,见大小不一结节及陈旧出血灶,硬度增加;各治疗组大鼠肺脏颜色稍白,表面可见散在陈旧出血点、偶见白色小结节病灶,其中联合治疗组病变程度最轻。

2.3 各组大鼠肺 HYP 含量比较(表 1):与正常对照组比较,各组 HYP 含量均显著升高(P 均 <0.05)。与模型组比较,血必净大量组、地塞米松组、联合治疗组 HYP 含量均显著降低,以联合治疗组 HYP 含量最低,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。

表 1 各组大鼠染毒后 28 d 肺 HYP、血清 TGF- β 1 及肺系数的比较($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 动物数 | HYP(mg/g) | TGF- β 1(ng/L) | 肺系数 |
|--------|-----|--------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| 正常对照组 | 5 | 0.81 \pm 0.05 | 120.25 \pm 46.06 | 0.37 \pm 0.04 |
| 模型组 | 5 | 2.54 \pm 0.63 ^a | 484.13 \pm 63.79 ^a | 0.52 \pm 0.03 ^a |
| 血必净小量组 | 5 | 2.21 \pm 0.08 ^{ad} | 380.42 \pm 64.58 ^{ab} | 0.50 \pm 0.02 ^{ad} |
| 血必净大量组 | 5 | 2.02 \pm 0.04 ^{abd} | 302.66 \pm 47.71 ^{abcd} | 0.49 \pm 0.03 ^{ad} |
| 地塞米松组 | 5 | 1.90 \pm 0.07 ^{abd} | 294.81 \pm 46.82 ^{abcd} | 0.52 \pm 0.02 ^{ad} |
| 联合治疗组 | 5 | 1.32 \pm 0.07 ^{ab} | 202.22 \pm 49.83 ^{abc} | 0.46 \pm 0.02 ^{ab} |

注:与正常对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与血必净小量组比较,^c $P<0.05$;与联合治疗组比较,^d $P<0.05$

2.4 各组大鼠血清 TGF- β 1 水平比较(表 1):与正常对照组比较,各组血清 TGF- β 1 水平均显著升高(P 均 <0.05)。与模型组比较,各治疗组 TGF- β 1 水平均显著降低,其中以联合治疗组最低,血必净小量组最高,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。

2.5 各组大鼠肺系数比较(表 1):与正常对照组比较,其他各组肺系数均显著升高(P 均 <0.05)。联合治疗组肺系数均显著低于模型组及其他治疗组,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。

2.6 各组大鼠肺组织病理学观察结果:光镜下观察正常对照组大鼠肺泡及肺泡间隔结构正常,无肺实变、间质纤维化。模型组肺泡正常结构消失,肺实变,大量炎细胞浸润,肺泡间隔可见胶原沉积,肺纤维化程度较重。血必净低剂量组炎细胞浸润和间质纤维化程度较模型组略轻。血必净高剂量组和地塞米松

基金项目:天津市科技创新专项基金资助(06F22DSH00403)

通讯作者:邱泽武,Email:qiuzw@em120.com

作者简介:王英(1974-),女(汉族),天津市人,硕士研究生,主治医师,Email:tiger-ying@163.com。

组部分肺泡腔、肺间质可见炎细胞浸润,轻度肺实变,间质纤维化程度相对较轻。联合治疗组肺泡结构完好,炎细胞浸润减少,间质纤维化程度较轻。

3 讨论

百草枯中毒的预后与口服剂量有关,小量(15~30 mg/kg)会诱导延迟肺纤维化(45 d)。百草枯进入体内经一系列反应产生超氧阴离子及其他活性氧产物,攻击细胞膜脂质及细胞内线粒体,干扰细胞代谢,使组织上皮、内皮细胞损伤、死亡。同时肺泡损伤早期炎性渗出液中有多种细胞因子,其中 TGF- β 1 对上皮细胞生长有抑制活性作用;而在低浓度时对纤维母细胞、平滑肌细胞生长具有促进作用,在高浓度时具有抑制作用,说明 TGF- β 1 在慢性炎症纤维化过程中具有促进作用^[2]。具体机制为:①促进纤维母细胞、单核细胞、巨噬细胞分裂、趋化^[3];②促进纤维母细胞向肌成纤维细胞转化,使胶原积聚增加^[4];③促进细胞外基质积聚。百草枯中毒后 2~3 周促肺纤维化的 TGF- β 1 基因表达增加,其产物 TGF- β 1 水平增加^[5]。染毒后 2 周~1 个月,肺部可出现进展性的实变及纤维化。在纤维化形成过程中,肺泡壁纤维结缔组织增生,大量淋巴、单核细胞浸润等因素造成肺重量增加,这是肺系数升高的直接原因。胶原是细胞外基质的主要成分,可维持正常的肺结构,而 HYP 又是胶原蛋白的主要成分,约占氨基酸总量的 13%,其他除弹性蛋白含少量 HYP(约 1%)外,均不含 HYP,因此组织内 HYP 可作为胶原代谢的重要指标^[6]。肺组织 HYP 含量增加继发于 TGF- β 1 升高,在染毒后 21 d 增加显著^[7]。因此,TGF- β 1 水平和组织中胶原 HYP 含量变化是判定肺纤维化的决定因素。本研究显示,模型组大鼠在染毒后 28 d 血清 TGF- β 1 含量和肺 HYP 水平均显著升高,相应肺纤维化程度最重,证明 TGF- β 1 水平是影响 HYP 含量和肺纤维化程度的一个重要因素。

目前,预防肺纤维化多采用糖皮质激素、免疫抑制剂、自由基清除剂等。糖皮质激素有强大、非特异的抗炎作用,大剂量糖皮质激素对百草枯中毒性肺损伤有一定保护作用。本研究结果显示,采用激素治疗后血清 TGF- β 1、肺 HYP 水平降低,28 d 肺纤维化程度也减轻,分析其保护机制为:①稳定细胞溶酶体膜,减少巨噬细胞趋化、分泌活性,抑制 TGF- β 1 产生,继而使 HYP 含量下降,减少细胞间质胶原沉积;②保护肺 I 型细胞分泌表面活性物质,促进肺间质液体吸收,维护肺泡弹性;③抑制成纤维细胞增殖,防止或减轻肺纤维化;④降低脂质超氧化物及羰

基团物质,减轻肺组织损伤。因大剂量激素有骨质疏松、消化道出血、免疫功能下降等潜在副作用,一定程度上限制了其临床使用。

中药丹参、当归等对预防肺纤维化具有明确的作用^[8]。血必净注射液由当归、丹参、赤芍、红花、川芎组成,具有很强的抗脂质过氧化、清除氧自由基、保护血管内皮的作用;其中丹参还可通过改善微循环来调节组织修复和再生。本研究显示,大剂量血必净注射液可通过抑制 TGF- β 1 途径减少 HYP 产生及胶原沉积。分析其肺保护机制为:①调节过高或过低的免疫反应,拮抗单核/巨噬细胞产生内源性炎症介质失控性释放,间接阻抑 TGF- β 1 及其诱发的 HYP 水平升高;②提高超氧化物歧化酶活性^[9],抑制、清除氧自由基,避免细胞膜的损害;③减少纤维蛋白原含量^[10];④改善微循环,保护肺血管内皮;⑤提高抗炎、抗毒能力及组织修复、再生能力^[11]。

联合治疗组无论是 TGF- β 1、HYP、肺系数水平还是病理结果均好于其他治疗组。说明两药联用可呈现较好的治疗作用,可能与其在多角度、高水平上抑制 TGF- β 1 水平、减少 HYP 产生、降低胶原蛋白沉积、抑制/延缓肺实变及肺纤维化进程有关。

参考文献

- [1] 王今达,雪琳.细菌、内毒素、炎性介质并治——治疗重症脓毒病的新对策[J].中国危重病急救医学,1998,10(6):323-325.
- [2] 周长福,李志军,刘红栓.血必净联合前列腺素 E1 对肺纤维化大鼠转化生长因子- β 1 的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2007,14(3):186.
- [3] Blobe GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor- β in human disease [J]. N Engl J Med, 2000, 342(18):1350-1358.
- [4] Mohammadi-Karakani A, Ghazi-Khansari M, Sotoudeh M. Lisinopril ameliorates paraquat-induced lung fibrosis [J]. Clin Chim Acta, 2006, 367(1-2):170-174.
- [5] Ishida Y, Takayasu T, Kimura A, et al. Gene expression of cytokines and growth factors in the lungs after paraquat administration in mice [J]. Leg Med (Takyo), 2006, 8(2):102-109.
- [6] Bowler P, Crapo JD. Oxidative stress in airways: is there a role for extracellular superoxide dismutase [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2002, 166(12 Pt 2):38-43.
- [7] Chen CM, Chou HC, Hsu HH, et al. Transforming growth factor- β 1 upregulation is independent of angiotensin in paraquat-induced lung fibrosis [J]. Toxicology, 2005, 216(2-3):181-187.
- [8] 汪玉冠,周勇,宋康,等.中药抗实验性肺纤维化研究新进展[J].浙江中西医结合杂志,2007,17(10):659.
- [9] 张畔,曹书华,崔克亮,等.血必净对多脏器功能障碍综合征单核细胞 HLA-DR 表达影响的研究[J].中国中西医结合急救杂志,2002,9(1):21-23.
- [10] 李志军,刘红栓,王今达,等.血必净联合前列腺素 E1 防治急

性肺纤维化的实验研究[J]. 中华急诊医学杂志, 2007, 16(3): 255-259.

重病急救医学, 2006, 18(11): 660.

(收稿日期: 2008-02-24 修回日期: 2008-05-25)

[11] 张鸣青, 张兰. 血必净注射液治疗丁草胺中毒 1 例[J]. 中国危

(本文编辑: 李银平)

• 经验交流 •

500 例蛇伤患者流行特征分析

郑武, 邹荣生, 戴春山

(浙江省宁波市中医院, 浙江 宁波 315010)

【关键词】 蛇咬伤; 流行病学研究特征

中图分类号: R595.8 文献标识码: B 文章编号: 1008-9691(2008)05-0285-01

总结分析本院 1997 年 4 月—2007 年 10 月 500 例蛇伤患者的流行特点, 了解蛇伤患者的发病特点, 为提供有效的预防和控制毒蛇咬伤中毒的依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料: 根据国家中医药管理局 1994 年颁布的《中医病证诊断疗效标准》^[1]。调查患者的年龄、性别、蛇伤季节、职业、毒蛇种类分布、蛇伤中毒原因构成、毒蛇咬伤部位、转归及咬伤史等。

1.2 方法: 用 Excel 进行数据统计处理, 应用描述流行病学方法进行分析。

2 结果

2.1 年龄分布: < 9 岁 16 例 (占 3.2%), 10~19 岁 34 例 (占 6.8%), 20~29 岁 82 例 (占 16.4%), 30~39 岁 102 例 (占 20.4%), 40~49 岁 107 例 (占 21.4%), 50~59 岁 76 例 (占 15.2%), 60~69 岁 43 例 (占 8.6%), 70~79 岁 32 例 (占 6.4%), > 80 岁 8 例 (占 1.6%)。

2.2 性别分布: 男 372 例 (占 74.4%), 女 128 例 (占 25.6%), 男女性别比为 1: 0.34。

2.3 发病季节分布: 夏季 272 例 (占 54.4%), 秋季 201 例 (占 40.2%), 春季 27 例 (占 5.4%)。

2.4 职业分布: 从事农活 352 例 (占 70.4%); 野外作业 61 例 (占 12.2%); 蛇贩 21 例 (占 4.2%), 学生、居民及其他职业人员 66 例 (占 13.2%)。

2.5 毒蛇种类分布: 蝮蛇 396 例 (占 79.2%), 五步蛇 43 例 (占 8.6%), 眼镜

蛇 36 例 (占 7.2%), 银环蛇 13 例 (占 2.6%), 竹叶青 12 例 (占 2.4%)。

2.6 蛇伤中毒的原因: 因干农活、野外作业被咬伤造成中毒 413 例 (占 82.6%), 养蛇、捕蛇被咬伤造成中毒 46 例 (占 9.2%), 家居及野外行走、玩耍被咬伤造成中毒 41 例 (占 8.2%)。

2.7 毒蛇咬伤部位: 上肢 276 例 (占 55.2%), 下肢 212 例 (占 42.4%), 面部、臀部及其他部位 12 例 (占 2.4%)。

2.8 病情转归: 死亡 8 例 (占 1.6%), 其中 4 例为蝮蛇咬伤, 3 例为五步蛇咬伤, 1 例为银环蛇咬伤; 5 例为农民, 3 例为野外作业的工人。自动出院 12 例, 治愈 422 例, 好转 58 例, 伤残 51 例。

2.9 咬伤史: 既往有咬伤史 9 例, 其中 4 例咬伤 2 次, 5 例咬伤 1 次。

3 讨论

本研究结果显示, 被蛇咬伤人群以 20~59 岁居多, 以男性、农民及野外作业人群为主; 蛇咬伤分布季节主要集中在夏、秋季, 这与该季节气温较高, 蛇类活动频繁相关。

蛇毒主要的成分包括神经毒、心脏毒、凝血毒、抗凝血毒、溶血毒和磷脂酶 A₂、蛋白水解酶、透明质酸酶等。银环蛇的神经毒素主要是阻断运动神经-肌肉接头的传导, 引起横纹肌松弛, 导致外周呼吸肌麻痹, 急性通气功能障碍, 以及心脏束支传导阻滞而死于呼吸、循环衰竭^[2]。眼镜蛇毒含有较多的心脏毒素, 可产生持续性心肌兴奋作用和心肌中毒性损害, 导致心室纤颤、心脏停搏。五步蛇咬伤后可出现局部和内脏大量出血。有研究表明, 五步蛇蛇毒可促进纤维蛋白原转变为纤维蛋白, 形成凝血沉积于毛

细血管, 加上溶血毒素而出现溶血。蝮蛇蛇毒主要含神经毒素和出血毒素, 其中磷脂酶 A₂ 可引起 5-羟色胺、缓激肽、儿茶酚胺等物质释放, 从而引起组织水肿、炎症反应及剧烈疼痛^[3]。蛋白水解酶可引起组织细胞结构破坏, 细胞溶解而出现肌纤维断裂, 导致肌肉坏死, 严重时坏死可深达骨髓, 使肌腱和骨骼外露; 透明质酸酶能增加组织通透性, 从而加速蛇毒在组织内的扩散和吸收。毒蛇咬伤是由于毒蛇咬伤人体后引起的中毒性疾病, 其症状复杂, 病情凶险, 在临床上广泛使用的抗蛇毒血清是目前国内外公认的对抗蛇毒的特效药, 及早注射抗蛇毒血清是最有效的急救措施^[4]。抗蛇毒血清能中和未对靶器官结合的游离的蛇毒, 使其对人体组织细胞失去破坏作用, 阻断蛇毒对机体重要脏器功能的损害, 但对已和机体结合的蛇毒无效^[5]。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准 [M]. 南京: 南京大学出版社, 1994: 56.
- [2] 卢春喜. 综合治疗银环蛇咬伤 82 例 [J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(1): 61.
- [3] 孙网保, 王慧华, 王立华. 中西医结合治疗蝮蛇咬伤 2 114 例诊治分析 [J]. 蛇志, 2006, 18(1): 28-31.
- [4] 王晓燕, 王允生. 毒蛇咬伤的中医药治疗 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12(2): 122-124.
- [5] 覃公平. 中国毒蛇学 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 1995: 724-727.

(收稿日期: 2008-03-06)

修回日期: 2008-06-10)

(本文编辑: 李银平)

作者简介: 郑武 (1971-), 男 (汉族), 浙江省人, 副主任医师, Email: surg_001@163.com.