

• 论著 •

血必净注射液对内毒素诱导急性肺损伤大鼠 γ -干扰素/白细胞介素-4 失衡的影响

何国鑫¹, 范丽娟¹, 罗文朝¹, 卢中秋²

(1. 温州医学院附属第三医院 ICU, 浙江 温州 325200; 2. 温州医学院附属第一医院急诊科, 浙江 温州 325000)

【摘要】 目的 探讨血必净注射液对急性肺损伤(ALI)大鼠 γ -干扰素/白细胞介素-4(IFN- γ /IL-4)比值失衡的影响。方法 将 56 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组和血必净组,后两组又分别分为给药后 1、2、4 h 3 个亚组,每个亚组 8 只。采用舌下静脉注射脂多糖(LPS)5 mg/kg 建立 ALI 模型,血必净组注射 LPS 后腹腔注射血必净注射液 10 ml/kg,模型组、对照组腹腔注射等量生理盐水。检测各组肺湿/干重(W/D)比值及血清 IFN- γ 、IL-4 的水平和 IFN- γ /IL-4 比值。结果 模型组给药后各时间点肺 W/D 比值、血清 IFN- γ 、IL-4 水平和 IFN- γ /IL-4 比值均较对照组显著升高(均 $P < 0.01$);血必净组大鼠肺 W/D 比值、血清 IFN- γ 和 IFN- γ /IL-4 比值均较模型组显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),血清 IL-4 水平均显著升高(均 $P < 0.01$)。结论 血必净注射液可使 LPS 所致 ALI 大鼠失衡的 IFN- γ /IL-4 比值趋于平衡,减轻大鼠 ALI 的程度。

【关键词】 肺损伤,急性; 白细胞介素-4; γ -干扰素; 血必净注射液; 大鼠

中图分类号:R285.5;R256.1 文献标识码:A DOI:10.3969/j.issn.1008-9691.2010.02.012

The effects of Xuebijing injection (血必净注射液) on imbalance of interferon- γ /interleukin-4 in rats with acute lung injury induced by lipopolysaccharide HE Guo-xin*, FAN Li-gui, LUO Wen-chao, LU Zhong-qiu. * Department of Intensive Care Unit, the Third Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325200, Zhejiang, China

【Abstract】 Objective To investigate the effect of Xuebijing injection (血必净注射液, XBJ) on the imbalance of interferon- γ /interleukin-4 (IFN- γ /IL-4) in rats with acute lung injury (ALI). Methods Fifty-six Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into three groups: control, model and XBJ groups; the latter two groups were subdivided into three groups respectively: 1, 2, 4 hours groups (each $n=8$). ALI rat models were induced by the sublingual vein injection of lipopolysaccharide (LPS, 5 mg/kg). In the XBJ group, after LPS injection, intraperitoneal injection of 10 ml/kg XBJ was given, while in the control and model groups, equal amount of normal saline (NS) was injected via the same route. The lung wet-to-dry (W/D) weight ratios were calculated; the levels of IFN- γ and IL-4, their ratio (IFN- γ /IL-4) in the serum were measured. Results The lung W/D ratio, IFN- γ , IL-4 and IFN- γ /IL-4 levels in serum at all time points were significantly increased in model group compared with those in the control group, while in XBJ group, the elevated W/D ratio, IFN- γ and IFN- γ /IL-4 were decreased obviously compared with those of the model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The IL-4 level in the serum of peripheral blood was significantly increased in model group compared with that in the control group, while in XBJ group it was increased more markedly than that in the model group (both $P < 0.01$). Conclusion Xuebijing injection tends to restore IFN- γ /IL-4 cytokine imbalance in LPS induced ALI model to be balanced, and ameliorate the severity of ALI.

【Key words】 Acute lung injury; Interleukin-4; Interferon- γ ; Xuebijing injection; Rat

急性肺损伤(ALI)是众多炎性细胞和炎症介质参与的过度炎症反应和炎症损伤导致的急性进行性缺氧性呼吸衰竭,其本质是机体促炎和抗炎反应失衡导致的炎症反应失控^[1]。脂多糖(LPS)进入机体后可启动相关细胞因子和炎症介质的表达,刺激辅助性 T 细胞(Th)产生和释放促炎/抗炎因子,其中 Th1 细胞分泌 γ -干扰素(IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1(IL-1)、IL-2 等促炎因子,而 Th2 细胞产生的 IL-4、IL-10 等能抑制炎症介质产生和促进体液免疫反应,从而具有抑制炎症反应的作用,故 Th1/Th2 能够反映机体促炎和抗炎反应

的失衡情况^[2]。本研究通过测定大鼠血 IFN- γ 和 IL-4 水平及 IFN- γ /IL-4 比值,了解 Th1/Th2 的变化,探讨血必净注射液对 LPS 所致大鼠 ALI 模型 Th1/Th2 失衡的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及试剂:健康雄性 SD 大鼠,体重(250 $\pm$ 50) g,由温州医学院动物实验中心提供(动物合格证号:2203001)。血必净注射液为天津红日药业股份有限公司产品;大肠杆菌 LPS 为美国 Sigma 公司产品;大鼠 IFN- γ 酶联免疫吸附法(ELISA)检测试剂盒购于上海雅培生物试剂公司;大鼠 IL-4 ELISA 试剂盒购于上海前生生物试剂公司。

1.2 动物分组、模型制备及给药:56 只大鼠按随机数字表法分成对照组(8 只)、模型组(24 只)、血必净

基金项目:天津市科技创新专项基金项目(06F22DSH00403);

天津市现代中药大品种群系统开发基金资助项目(2006)

作者简介:何国鑫(1975-),男(汉族),浙江省人,主治医师。

组(24 只)。腹腔注射水合氯醛麻醉大鼠,按文献^[3]方法复制大鼠 ALI 模型。对照组:舌下静脉注射生理盐水 5 mg/kg,腹腔注射生理盐水 10 ml/kg;模型组:舌下静脉注射 LPS 5 mg/kg,腹腔注射生理盐水 10 ml/kg;血必净组舌下静脉注射 LPS 5 mg/kg 后腹腔注射血必净注射液 10 ml/kg。对照组于给药后 4 h、模型组和血必净组分别于给药后 1、2、4 h 各活杀 8 只大鼠取材备检。

1.3 检测指标及方法:各组于相应时间点活杀动物,腹腔静脉采血,离心分离血清,-20℃保存待检;同时取左肺上叶约 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 的组织块用于检测肺湿/干重(W/D)比值。

1.3.1 肺 W/D 比值测定:取大鼠左肺上叶,吸去肺表面血液后用分析天平称 W,置 80℃烤箱,20 h 后再称 D,计算 W/D 比值。

1.3.2 血清 IFN-γ 和 IL-4 水平测定:采用双抗体夹心 ELISA 法,按试剂盒说明书要求操作,显色后经全自动酶标仪读数。

1.4 统计学方法:实验数据采用 SPSS 10.0 统计软件处理,结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间两两比较用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺 W/D 比值变化(表 1):与对照组相比,模型组各时间点肺 W/D 比值显著升高(均 $P < 0.01$);与模型组相比,血必净组各时间点肺 W/D 比值显著降低(均 $P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠不同时间点肺 W/D 比值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	肺 W/D 比值		
		给药 1 h	给药 2 h	给药 4 h
对照组	8			4.88±0.23
模型组	8	5.08±0.04 ^b	5.29±0.20 ^b	5.68±0.10 ^b
血必净组	8	5.02±0.06 ^{bd}	5.05±0.20 ^{bd}	5.42±0.30 ^{bd}

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与模型组比较,^d $P < 0.01$;空白代表未测

2.2 血清 IFN-γ 的动态变化(表 2):与对照组相比,模型组各时间点 IFN-γ 水平显著升高(均 $P < 0.01$);与模型组相比,血必净组各时间点 IFN-γ 水平显著下降(均 $P < 0.01$)。

2.3 血清 IL-4 的动态变化(表 2):与对照组相比,模型组各时间点 IL-4 水平显著升高(均 $P < 0.01$);与模型组相比,血必净组给药后各时间点 IL-4 水平显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.4 血清 IFN-γ/IL-4 比值的动态变化(表 2):与对照组相比,模型组各时间点 IFN-γ/IL-4 比值显著升高(均 $P < 0.01$);与模型组相比,血必净组各时间点 IFN-γ/IL-4 比值显著下降(均 $P < 0.01$)。

3 讨论

革兰阴性(G⁻)菌是诱发 ALI 的主要因素之一,而 G⁻菌的毒性与其细胞壁中的内毒素成分 LPS 密切相关。已知感染发生后,体内细胞因子网络的平衡被破坏,导致病理改变,甚至造成多器官功能障碍综合征(MODS)。Th1/Th2 能够反映机体促炎和抗炎反应的失衡情况,Th1 细胞以分泌 IFN-γ 等促炎细胞因子为主,Th2 细胞以分泌 IL-4 等抗炎细胞因子为主^[2],两者的平衡实际上反映了促炎和抗炎的平衡。本研究中选用的是目前被认为最能代表体内 Th1/Th2 类细胞因子的指标 IFN-γ、IL-4、IFN-γ/IL-4 比值,观察 LPS 诱导的 ALI 大鼠外周血 Th1/Th2 类细胞因子水平。张明静等^[4]研究发现,大鼠注射 LPS 5 h 后,促炎因子 IFN-γ 水平显著升高,抗炎因子 IL-4 水平无显著变化,IFN-γ/IL-4 比值明显升高,说明机体发生了强烈的促炎反应,而抗炎因子分泌不足,导致炎症反应失衡,引起组织损伤。而 Junger 等^[5]报道,内毒素攻击后,动物循环中 IL-4、IL-10 等抗炎细胞因子亦显著增高,认为可能与维持机体防御机制,防止促炎因子产生有害作用有关。本实验观察到内毒素作用后 1、2、4 h 血清 IFN-γ、IL-4 及 IFN-γ/IL-4 比值均明显升高。

血必净注射液主要成分有川芎、赤芍、丹参、红花等,目前应用于全身炎症反应综合征(SIRS)、脓毒症及 MODS 等疾病。周忠东等^[6]在常规救治基础上早期给予血必净注射液治疗严重创伤患者,能使 CD4⁺和 CD4⁺/CD8⁺比值较快回升,缩短创伤后 T 淋巴细胞辅助/抑制免疫炎症调节网络紊乱或抑制的持续时间;张淑文等^[7]通过实验发现血必净注

表 2 各组大鼠给药后不同时间点肺 W/D 比值及血清 IFN-γ、IL-4 水平的变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	血清 IFN-γ (ng/L)			血清 IL-4 (ng/L)			血清 IFN-γ/IL-4 比值		
		给药 1 h	给药 2 h	给药 4 h	给药 1 h	给药 2 h	给药 4 h	给药 1 h	给药 2 h	给药 4 h
对照组	8			50.83±5.36			1.78±0.16			31.83±4.36
模型组	8	89.36±9.62 ^b	140.50±15.42 ^b	176.99±16.36 ^b	1.98±0.16 ^b	2.32±0.24 ^b	2.63±0.27 ^b	45.46±5.62 ^a	70.50±3.42 ^a	86.99±7.36 ^a
血必净组	8	79.40±8.60 ^{bd}	116.74±11.28 ^{bd}	155.58±14.76 ^{bc}	2.08±0.22 ^{ac}	2.92±0.28 ^{bd}	3.14±0.30 ^{bd}	31.40±3.60 ^d	36.74±4.28 ^d	45.58±3.76 ^{bd}

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与模型组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$;空白代表未测

射液能明显降低脓毒症大鼠 TNF- α 和 IL-10 水平,促使抗炎与促炎达到平衡。本研究显示,ALI 大鼠腹腔注射血必净注射液后,可出现 IFN- γ 水平相对下降,而 IL-4 水平相对升高,可使 Th1 细胞向 Th2 细胞漂移,从而使 Th1/Th2 比例趋于平衡;同时发现给药后各时间点肺 W/D 比值明显小于模型组,提示腹腔注射血必净注射液可减轻 LPS 所致大鼠 ALI,其机制可能与血必净注射液通过改善促炎/抗炎反应平衡有关。

参考文献

- [1] Faist E, Schinkel C, Zimmer S. Update on the mechanisms of immune suppression of injury and immune modulation. World J Surg, 1996, 20(4): 454-459.
- [2] Puyana JC, Pellegrini JD, De AK, et al. Both T-helper-1- and

T-helper-2-type lymphokines are depressed in posttrauma anergy. J Trauma, 1998, 44(6): 1037-1045.

- [3] 黄善灶,王静飞. 血必净注射液治疗创伤后急性肺损伤 40 例临床分析. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(4): 244-245.
- [4] 张明静,王兴勇,卢仲毅,等. 内毒素诱导的大鼠急性肺损伤与 Th1/Th2 类细胞因子失衡. 中华急诊医学杂志, 2004, 13(2): 88-90.
- [5] Junger WG, Hoyt DB, Liu FC, et al. Immunosuppression after endotoxin shock: the result of multiple anti-inflammatory factors. J Trauma, 1996, 40(5): 702-709.
- [6] 周忠东,陆远强,杨林,等. 血必净注射液对严重创伤患者外周血 T 淋巴细胞亚群变化的干预研究. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(2): 108-110.
- [7] 张淑文,孙成栋,文艳,等. 血必净注射液对脓毒症大鼠血清炎症介质及 Th1/2 的影响. 中国危重病急救医学, 2006, 18(11): 673-676.

(收稿日期: 2009-11-26)

(本文编辑: 李银平)

• 经验交流 •

安宫牛黄丸治疗原发性脑干出血术后昏迷患者 37 例

王 军, 王晓峰, 毛小林, 陈勃勃, 张坤虎

(解放军第三医院神经外科, 陕西 宝鸡 721004)

【关键词】 安宫牛黄丸; 脑干出血; 疗效

中图分类号: R242 文献标识码: B DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2010.02.013

本院 2004 年 1 月至 2009 年 6 月用安宫牛黄丸治疗 37 例脑干出血术后昏迷患者疗效满意, 总结如下。

1 临床资料

1.1 一般资料: 选择原发性脑干出血、格拉斯哥昏迷评分(GCS) 3~8 分者作为观察对象, 均经头颅 CT 确诊。其中男 46 例, 女 29 例; 年龄 40~70 岁, 平均 55 岁。按入院单双号将患者随机分为对照组(38 例)和治疗组(37 例), 两组一般资料比较差异无统计学意义, 有可比性。

1.2 方法: 对照组给予脱水降颅压、控制血压、预防消化道出血及肺部感染和对症支持等常规治疗。治疗组在对照组基础上胃管注入安宫牛黄丸, 每次 1 丸, 每日 1 次, 连续 2 周为 1 个疗程。

1.3 主要观察指标: 观察两组治疗前后格拉斯哥-匹兹堡昏迷量表评分(G-P 评分)及住院期间病死率。

1.4 统计学处理: 计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 行 t 检验; 计数资料用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.5 结果(表 1): 治疗组治疗后 G-P 评

分较对照组明显增高, 病死率较对照组明显降低($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$)。

表 1 两组患者治疗前后 G-P 评分及病死率比较

组别	例数	G-P 评分($\bar{x} \pm s$, 分)		病死率 [% (例)]
		治疗前	治疗 2 周	
治疗组	37	14.8 $\pm$ 2.3	32.4 $\pm$ 2.8 ^b	62.2 (23) ^a
对照组	38	14.7 $\pm$ 2.5	26.4 $\pm$ 2.2	78.9 (30)

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$

2 讨论

脑干出血后机体应激性产生的大量 β -内啡肽可通过抑制脑干网状上行激活系统, 增加谷氨酰转移酶活性和 γ -氨基丁酸水平, 抑制呼吸中枢的兴奋性, 造成患者呼吸困难、缺氧和 CO_2 潴留。并且, 内啡肽通过与阿片受体结合, 抑制儿茶酚胺、前列腺素对心血管系统的调节作用, 导致微循环障碍, 出血周围缺血区脑血流进一步减少, 加重灌注损伤和微循环障碍; 一方面使脑血管通透性显著增加, 加重脑水肿、颅内压升高; 另一方面使脑干网状上行激活系统兴奋性降低, 最终导致意识障碍, 呼吸抑制和神经功能损害加重。因此, 脑干出血患者急性期防止继发性脑干损伤以及镇静解痉、开

窍醒脑是十分关键的环节。研究表明, 安宫牛黄丸可以避免神经纤维的进一步损伤, 促进功能恢复^[1]。同时, 安宫牛黄丸也被证实可治疗脑出血急性期的阳闭证^[2]。而在实践中, 西药治疗往往不能同时兼顾, 应用镇静剂控制抽搐的同时会加深意识障碍, 抑制呼吸和心血管运动中枢, 如掌握不当, 反而会使病情加重。安宫牛黄丸能解热止痉, 对中枢的调节作用既有兴奋作用又有明显的抑制作用, 对生命中枢有一定的保护作用, 能降低体温, 防止或减少惊厥, 减少气管内分泌物, 从而减轻细菌、内毒素对脑细胞的损害, 促进大脑功能恢复; 调节中枢神经介质乙酰胆碱和儿茶酚胺的活性, 从而恢复脑干网状结构上行激活功能, 达到开窍复苏的功能。本组结果表明, 安宫牛黄丸在治疗脑干出血方面有一定价值, 值得推广应用。

参考文献

- [1] 付宪文, 孙异临, 党国义, 等. 安宫牛黄丸对脑出血大鼠脑组织超微结构的影响. 河北中医药学报, 2008, 23(1): 39-41.
- [2] 黄友岐. 神经系统疾病治疗学. 北京: 人民卫生出版社, 1984: 36.

(收稿日期: 2010-01-22)

(本文编辑: 李银平)

作者简介: 王 军(1979-), 男(汉族), 湖北省人, 主治医师。