

· 论著 ·

沐舒坦对吸入性肺损伤大鼠的肺保护作用

赵双平 郭曲练 艾宇航 王瑞珂 王鐸 贺氏

【摘要】 目的 评价预先使用药物沐舒坦对稀盐酸吸入性肺损伤是否具有保护作用,为临床治疗提供理论依据。**方法** 30 只健康 SD 大鼠随机分成 3 组:A 组为生理盐水吸入组;B 组为稀盐酸吸入组;C 组为稀盐酸吸入加沐舒坦处理组。C 组预先以 50 mg/kg 沐舒坦腹腔注射,每日 1 次,连续 3 d;A、B 两组则以腹腔注射等体积生理盐水代替。第 3 d 腹腔注射沐舒坦或生理盐水 30 min 后,A 组以 1.2 ml/kg(pH 5.3)的生理盐水经气管内注入造成非盐酸吸入肺损伤作为对照;B、C 组则以 1.2 ml/kg(pH 1.25)的盐酸加生理盐水混合液经气管内注入制备盐酸吸入性肺损伤模型。观察盐酸注入 5 h 后大鼠动脉血气、肺湿/干重比(W/D)以及光镜下肺组织病理改变及肺损伤评分。**结果** ①B、C 组动脉血氧分压(P_{aO_2})在盐酸吸入 5 h 时比 A 组明显降低,B 组又低于 C 组,组间比较差异均有显著性(P 均 < 0.01);但 pH 和动脉血二氧化碳分压(P_{aCO_2})在 3 组间差异无显著性($P > 0.05$)。②3 组 W/D 由低到高依次为 A 组、C 组和 B 组,组间比较差异均有显著性(P 均 < 0.01)。③光镜下组织病理学观察发现,B 组肺损伤最为严重,而 C 组损伤比 B 组要轻;肺损伤程度评分 A 组最低,C 组较 B 组低,3 组间比较差异有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** 沐舒坦能减轻稀盐酸吸入所引起弥漫性肺损伤。

【关键词】 盐酸; 气管内吸入; 肺损伤,急性; 沐舒坦; 保护作用

Prophylactic effect of ambroxol on acute hydrochloric acid aspiration - induced lung injury ZHAO Shuang - ping, GUO Qu - lian, AI Yu - hang, WANG Rui - ke, WANG E, HE Min. Department of Anesthesiology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, Hunan, China

【Abstract】 Objective To evaluate the protective effect of ambroxol, a mucocactive drug, on acute hydrochloric acid - induced lung injury in rats. **Methods** Thirty pathogen - free SD rats were randomly divided into three groups: group A ($n = 10$) and group B ($n = 10$) were injected normal saline (NS) intraperitoneally (6.7 ml/kg), and group C with ambroxol (50 mg/kg), once a day for 3 consecutive days. Then animals received intracheal instillation of NS (group A, pH 5.3, 1.2 ml/kg) or hydrochloric acid/NS (group B and C, pH 1.25, 1.2 ml/kg). Five hours after instillation of the injury vehicle, the arterial gas was determined, and the extent of lung injury was assessed by measuring the ratio of wet to dry weight (W/D) and evaluation of pathological change in lung tissue. **Results** ①Partial pressure of oxygen in arterial blood (P_{aO_2}) was significantly lower in group B than in groups A and C, although pH and partial pressure of carbon dioxide in arterial blood (P_{aCO_2}) in three groups showed little difference (all $P < 0.01$). ②The W/D was the highest in group B and the lowest in group A. ③Severe acute lung injuries were detected in group B by pathological examination, the extent of injury was less in group C than in group B, but more severe than in group A (group A vs. B and B vs. C in mean pathologic score, $P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively). **Conclusion** Hydrochloric - acid aspiration may induce an acute and diffuse lung injury, with manifestations of hyperpnea, lower P_{aO_2} and severe pathological changes in lung tissues. Ambroxol may have a protective effect against lung injury induced by hydrochloric acid.

【Key words】 hydrochloric acid; aspiration; acute lung injury; ambroxol; protective effect

急性肺损伤(ALI)是由多种原因引起的临床常见肺部并发症,胃酸(pH < 2.5)误吸是其主要原因之一。我们通过建立盐酸吸入性肺损伤大鼠模型,观察一种具有多种生物学效应的新型黏液溶解剂溴环己胺醇(商品名为 Ambroxol,沐舒坦)对盐酸吸入性肺损伤是否具有保护作用,以期误吸所导致肺损伤的防治提供有益途径。

1 材料与方法

1.1 动物分组及模型制备:健康清洁级成年 SD 大鼠 30 只,雌雄不拘,体重 230~280 g,随机分成 A 组(生理盐水吸入组)、B 组(稀盐酸吸入组)和 C 组(稀盐酸吸入加沐舒坦处理组)3 组,每组 10 只。预先给 3 组大鼠连续 3 d 腹腔注射药物处理,A 组和 B 组用 6.7 ml \cdot kg $^{-1}$ \cdot d $^{-1}$ 的生理盐水腹腔内注射;C 组用 50 mg/kg 沐舒坦(规格 2 ml/15 mg,勃林格殷格翰公司),每日 1 次。大鼠可自由饮食水,第 3 d 经药物处理 30 min 后给予各组大鼠腹腔注射氯胺酮 50 mg/kg 麻醉,仰卧位固定,分离颈前各层组织至

基金项目:湖南省科技计划项目(02SSY30111)

作者单位:410008 湖南长沙,中南大学湘雅医院麻醉科

作者简介:赵双平(1968-),男(汉族),湖南省慈利人,医学硕士,副主任医师。

气管暴露。距氯胺酮麻醉 30 min 时,置高频呼吸机喷针于大鼠口腔内,按照常频 60 次/min、驱动压 0.03 mPa 予持续给氧。5 min 后将 1 支 24 号套管针经暴露的气管处插入大鼠气管内,参照 Nader 等^[1]介绍的方法略加改进制备盐酸吸入性肺损伤模型。将大鼠仰卧 60 °C 呈头高尾低位,A 组经套管针向气管内匀速注入无菌生理盐水(pH 5.3, 1.2 ml/kg)作为对照;B 组和 C 组则向气管内匀速注入稀盐酸加生理盐水混合溶液(由 1 mmol/L 盐酸溶液加生理盐水配制,pH 1.25, 1.2 ml/kg)。3 组气管内药物注入时间均为 2 min,注药期间持续高频给氧,注药完毕后仍保持原有体位 3 min,拔出套管针缝合伤口,再高频给氧 5 min,然后将大鼠固定带松开置于观察台观察,自主呼吸空气和饮食水。

1.2 观察指标:在生理盐水或稀盐酸吸入后观察 5 h,期间如有大鼠死亡,记录其死亡时间。5 h 后存活大鼠给予氯胺酮 25 mg/kg 腹腔注射麻醉,仰卧位固定,打开颈部伤口,分离暴露一侧颈动脉取血行血气分析,并放血处死动物。然后快速开胸取出完整肺脏,分离左肺,吸去肺表面血液后称湿重(W),然后置 80 °C 烘箱内烘干,48 h 后再称干重(D),计算 W/D 比值。分离右肺置体积分数为 10% 的甲醛溶液中固定,2 周内进行脱水、石蜡包埋,切片,苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察肺组织病理变化。

1.3 肺损伤轻重程度评分法^[2]:0 分为无白细胞浸润,间质无水肿,无实质和透明膜形成;1 分为肺泡轻度充血和白细胞浸润,间质轻度水肿,无透明膜形成;2 分为肺泡中度充血,肺泡内有较多白细胞和红细胞浸润,间质明显水肿,轻度实变;3 分为肺泡严重充血,大量白细胞浸润致肺实质或透明膜形成。

1.4 统计学方法:数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS11.5 统计软件处理数据,组间各参数均数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 3 组大鼠气管内注药 5 h 后均存活,3 组间体重及存活数差异均无显著性($P > 0.05$)。

2.2 肺脏 W/D 比值:与 A 组(4.39 ± 0.11)比较,B 组(4.87 ± 0.10)和 C 组(4.56 ± 0.10)的 W/D 均显著增加(P 均 < 0.01),C 组比 B 组要低,两者比较差异有显著性($P < 0.01$)。

2.3 3 组动物动脉血 pH、动脉血氧分压(PaO₂)和动脉血二氧化碳分压(PaCO₂)值比较(表 1):稀盐酸或生理盐水吸入后 5 h,3 组 pH 值均低于 7.35,

3 组间比较差异无显著性($P > 0.05$);PaO₂ 值以 A 组最高,B 组最低,3 组间两两比较差异均有显著性(P 均 < 0.01);PaCO₂ 值 3 组间比较差异无显著性($P > 0.05$)。

表 1 给药后 5 h 3 组动物动脉血气结果比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1 Comparison on arterial gas 5 hours after instillation of the injury vehicle in three groups($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	pH	PaO ₂ (mm Hg)	PaCO ₂ (mm Hg)
A 组	7.31±0.06	87.4±5.2	34.6±4.8
B 组	7.23±0.06	64.7±9.2**	40.5±8.7
C 组	7.28±0.08	77.8±6.3***	35.2±4.5

注:与 A 组比较:** $P < 0.01$;与 B 组比较:** $P < 0.01$;

1 mm Hg = 0.133 kPa

2.4 3 组肺组织形态学观察及肺损伤程度评分

2.4.1 肺组织形态学:光镜下 A 组无明显损伤或损伤轻微,肺泡结构基本完整,肺泡壁无水肿,有少量白细胞浸润(彩色插页图 1);B 组损伤最明显,肺间质、肺泡水肿,大部分肺泡萎陷、肺实变,肺内有大量白细胞浸润(彩色插页图 2);C 组肺组织损伤程度较 B 组有所减轻,肺间质有轻度或中度水肿(彩色插页图 3),也有组织结构紊乱和白细胞大量浸润及实变现象,但较 B 组变化程度轻(彩色插页图 4)。

2.4.2 肺损伤程度评分:3 组间肺损伤程度评分结果比较,A 组评分最低[(0.7 ± 0.5)分],B 组最高[(2.6 ± 0.5)分],C 组居中[(2.0 ± 0.7)分]。A 组与 B、C 组间比较差异均有显著性(P 均 < 0.01),B、C 组间比较差异也有显著性($P < 0.05$)。

3 讨论

反流性胃内容物(主要是无菌性胃酸)吸入肺内可引起急性化学性肺损伤,严重者可发展成为急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。尽管给氧、机械通气及呼气末正压通气(PEEP)等措施治疗 ARDS 有了很大发展,但病死率仍一直居高不下。因此,如何治疗由误吸所造成的肺损伤仍值得研究。

本研究中参照 Nader 介绍的盐酸吸入性肺损伤模型,选用 1.2 ml/kg (pH 1.25) 的稀盐酸溶液作为刺激物,以等量的生理盐水(pH 5.3)气管内注入作为对照观察,并在盐酸吸入后 5 h 留取大鼠肺及血标本。发现当低 pH 值(pH < 2.5)稀盐酸溶液吸入后,大鼠表现出明显的呼吸急促;5 h 盐酸吸入组大鼠 PaO₂ 较吸入生理盐水对照组明显降低,W/D 值比生理盐水吸入后明显增高,说明盐酸吸入后造成肺水含量显著增多。光镜下显示,盐酸吸入后大鼠肺组织内可见大量白细胞浸润,肺间质水肿,肺泡萎陷,出现实变现象,说明低 pH 值的稀盐酸吸入确实

可造成弥漫性肺损伤。

沐舒坦最初作为一种黏液溶解剂广泛应用于临床。但近来某些研究发现,沐舒坦具有抗氧化和减少炎性介质的释放作用^[3-5],并能促进肺泡表面活性物质(PS)的合成和分泌^[6,7]。张波等^[8]也观察到,对大潮气量(40 ml/kg)机械通气引起肺损伤的 SD 大鼠予以沐舒坦预先处理(10 mg/kg 腹腔内注射,每日 2 次,连续 7 d),可明显减少肺泡灌洗液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的产生,抑制氧化反应,肺组织病理损伤程度也明显减轻。目前认为胃酸吸入性肺损伤与其他致病原因引起的 ALI 同样涉及到肺内过度炎症反应^[9]、氧化/抗氧化系统失衡^[10]以及 PS 减少^[11]等机制。

本研究设计了通过沐舒坦 50 mg/kg 预先处理,表明沐舒坦确实改善了由盐酸吸入所造成的大量炎症细胞肺内浸润,减轻了肺泡萎陷、肺实变的严重程度,能减轻肺组织水肿,并明显改善 PaO₂。本实验中动脉血气结果还显示 3 组都有不同程度的酸血症(pH<7.35),其原因可能与实验动物麻醉和手术操作后自由摄食和饮水都减少有关。而在生理盐水吸入组和沐舒坦处理组中表现有轻度低碳酸血症(PaCO₂在 35 mm Hg 左右),这可能与留取动物血标本时氯胺酮麻醉剂量(25 mg/kg)偏少;或是动物轻度应激反应导致过度通气,且与该两组动物无肺损伤或肺损伤较轻有关。结合本研究结果和上述文献,我们认为,沐舒坦对由盐酸吸入所造成的 ALI 同样具有保护作用。

参考文献:

- 1 Nader N D, Knight P R, Bobela I, et al. High dose nitric oxide inhalation increases lung injury after gastric aspiration [J]. *Anesthesiology*, 1999, 91: 741 - 749.
- 2 张波, 刘又宁. 气管内吹气对机械通气相关性急性肺损伤保护作用的实验研究[J]. *中国危重病急救医学*, 2000, 12: 42 - 47.
- 3 Lee C S, Jang Y Y, Han E S. Depressant effects of ambroxol on lipopolysaccharide - or fMLP - stimulated free radical production and granule enzyme release by alveolar macrophages [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 1999, 12: 275 - 284.
- 4 Teramoto S, Suzuki M, Ohga E, et al. Effects of ambroxol on spontaneous or stimulated generation of reactive oxygen species by bronchoalveolar lavage cells harvested from patients with or without chronic obstructive pulmonary diseases [J]. *Pharmacology*, 1999, 59: 135 - 141.
- 5 Pfeifer S, Zissel G, Kienast K, et al. Reduction of cytokine release of blood and bronchoalveolar mononuclear cells by ambroxol [J]. *Eur J Med Res*, 1997, 2: 129 - 132.
- 6 Kimoto A, Saito M, Hirano Y, et al. The effects of YM26818; 1-(2-dimethylaminoethyl)-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl) urea and derivatives on pulmonary surfactant secretion and lung compliance [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1998, 118: 294 - 300.
- 7 谭黎杰, 刘岩青, 徐松涛, 等. 盐酸氨溴索对胸部外科手术致 PS 下降的保护作用[J]. *上海医科大学学报*, 2000, 27: 484 - 487.
- 8 张波, 刘又宁. 溴环己胺醇对通气机肺损伤作用的研究[J]. *中华医学杂志*, 2000, 80: 51 - 53.
- 9 Davidson B A, Knight P R, Helinski J D, et al. The role of tumor necrosis factor - alpha in the pathogenesis of aspiration pneumonia in rats [J]. *Anesthesiology*, 1999, 91: 486 - 499.
- 10 Nader N D, Knight P R, Thusu K, et al. Reactive oxygen species contributed to oxygen - related lung injury after acid aspiration [J]. *Anesth Analg*, 1998, 87: 127 - 133.
- 11 白浪, 薛张纲, 蒋豪. 单侧肺滴入酸后急性肺损伤的研究[J]. *中国危重病急救医学*, 2000, 12: 533 - 536.

(收稿日期: 2005 - 02 - 26 修回日期: 2005 - 05 - 19)

(本文编辑: 李银平)

• 启事 •

高海拔地区急性危重病与多器官功能障碍综合征诊断标准 早期防治专题研讨会征文通知

由中华高原医学会主办,《中国危重病急救医学》杂志社、《高原医学》杂志社协办,甘肃省医学会兰州军区兰州总医院承办的中国首届“高海拔地区急性危重病与多器官功能障碍综合征(MODS)诊断标准早期防治”专题研讨会定于 2005 年 9 月 12 日在甘肃兰州召开。届时将邀请国内知名危重病急救医学、高原医学、创伤外科和呼吸病学专家蒞会讲学。现将参会事项及征文内容通知如下。

1 会议时间: 2005 年 9 月 12 日报到, 9 月 13 - 14 日开会, 9 月 15 日撤离。

2 征文内容: ①严重创伤/多发伤伤情评分、现场救护、后续处理; ②急性呼吸窘迫综合征与 MODS; ③高海拔地区急性与慢性危重病; ④高海拔地区严重创伤、烧伤、早期复苏与延迟复苏; ⑤高海拔地区围手术期防护特点; ⑥心肺复苏技术与呼吸机支持技术; ⑦与联合会议内容相关的其他论文。

3 征文要求: 论文摘要 300~800 字, 有全文者需附软盘(word97/2000 格式), 凡参加会议的代表, 均颁发论文证书, 优秀论文颁发优秀论文证书并授予国家 I 类继续医学教育学分。征稿截止日期: 2005 年 7 月 30 日。

4 收费标准: 会务费(含资料费)600 元, 食宿费自理。

5 来稿请寄: 甘肃省兰州市小西湖兰州军区兰州总医院胸外科张德海、刘惠萍收, 邮编: 730050; 联系电话: 0931 - 8975748。大会联络处负责人: 刘毅、李乃斌。Email: lanzhouhy@126.com。

(中华高原医学会)

急性肺血栓栓塞症血尿酸增高的意义 (正文见342页)

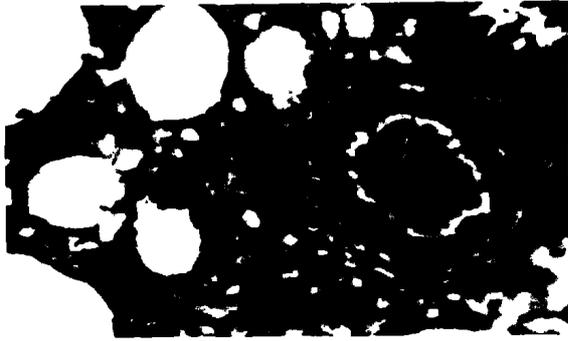


图2 PTE后第1 d,肺泡水肿、出血,肺泡间隔增厚,其内大量炎症细胞浸润 (HE,×100)
Figure 2 1 day after PTE with local hemorrhages in alveoli and inflammatory cell infiltration in interstitial tissue (HE, × 100)



图3 PTE后第14 d,肺泡结构基本正常,间质内仍有炎症细胞 (HE, ×100)
Figure 3 14 days after PTE with inflammatory cell infiltration in interstitial tissue (HE, ×100)

沐舒坦对吸入性肺损伤大鼠的肺保护作用 (正文见364页)

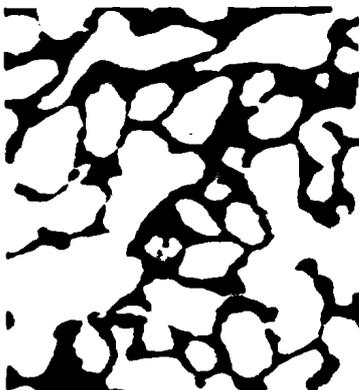


图1 A组肺组织病理变化 (HE, ×100)
Figure 1 Pathologic changes of lung tissue in group A(HE, ×100)

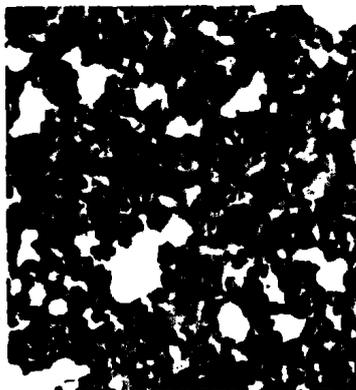


图2 B组肺组织病理变化 (HE, ×100)
Figure 2 Pathologic changes of lung tissue in group B(HE, ×100)

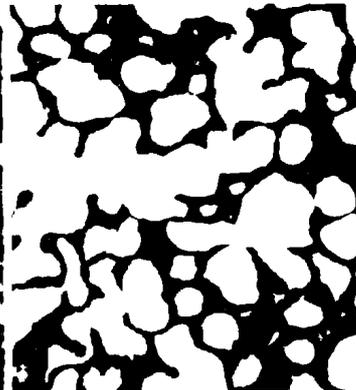


图3 C组肺组织轻度病理变化 (HE, ×100)
Figure 3 Mild pathologic changes of lung tissue in group C(HE, ×100)



图4 C组肺组织重度病理变化 (HE, ×100)
Figure 4 Severe pathologic changes of lung tissue in group C(HE, ×100)

纳洛酮与甲基泼尼松龙联用对急性肺损伤大鼠肺组织核转录因子-κB表达的影响 (正文见370页)



图1 生理盐水对照组肺组织NF-κB表达 (SABC, ×400)
Figure 1 NF-κB expression in lung tissue in normal saline control group(SABC, ×400)



图2 LPS损伤组肺组织NF-κB表达 (SABC, ×400)
Figure 2 NF-κB expression in lung tissue in LPS injury group(SABC, ×400)



图3 甲基泼尼松龙组肺组织NF-κB表达 (SABC, ×400)
Figure 3 NF-κB expression in lung tissue in methylprednisolone group(SABC, ×400)

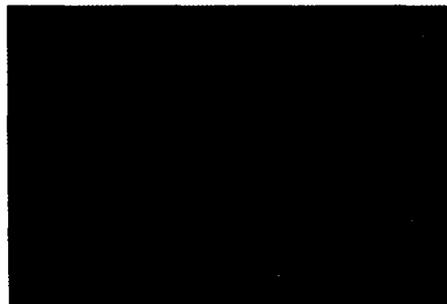


图4 纳洛酮组肺组织NF-κB表达 (SABC, ×400)
Figure 4 NF-κB expression in lung tissue in naloxone group(SABC, ×400)



图5 联合用药组肺组织NF-κB表达 (SABC, ×400)
Figure 5 NF-κB expression in combined drug group(SABC, ×400)