

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00286

## 盐酸戊乙奎醚对油酸诱导大鼠急性肺损伤作用的影响

孔祥, 范慧敏, 赵曙光, 周谦君, 卢伟, 刘刚, 郭建华, 刘中民\*

同济大学附属东方医院中德心脏研究所, 上海 200120

**[摘要]** **目的:** 观察雾化吸入和静脉注射盐酸戊乙奎醚对油酸诱导大鼠急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 的影响, 并对雾化吸入和静脉用药途径的效果进行比较。 **方法:** 采用静脉注射油酸复制 ALI 大鼠模型。将 40 只 SD 大鼠随机分为 4 组: 空白对照组 (I 组)、ALI 组 II 组)、盐酸戊乙奎醚雾化吸入治疗组 (III 组) 和盐酸戊乙奎醚静脉注射治疗组 (IV 组)。实验过程中每隔 60 min 记录大鼠血压 (BP)、肺动脉压 (PAP), 气道压力 (airway pressure, Paw) 并且检验动脉以及混合静脉血气。注射油酸 240 min 后检测肺湿干比 (W/D), 测定血清肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ ) 水平。 **结果:** III、IV 组较之 II 组能够缓解由于注射油酸引起的 PAP、Paw 升高和 PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> 下降, III 组缓解更为明显 ( $P < 0.05$ )。III、IV 组 W/D, 血清 TNF- $\alpha$  均比 II 组降低, III 组降低更为明显 ( $P < 0.05$ )。 **结论:** 盐酸戊乙奎醚能够缓解油酸引起的 ALI 多项指标, 相同剂量条件下雾化吸入较之静脉注射途径对 ALI 有更好的治疗作用。

**[关键词]** 急性肺损伤; 盐酸戊乙奎醚; 动物模型; 吸入投药; 静脉内注射

**[中图分类号]** R 563 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)03-0286-04

### Effect of penethylidene hydrochloride on oleic acid-induced acute lung injury in rats: a comparison between inhalation and intravenous therapy

KONG Xiang, FAN Hui-min, ZHAO Shu-guang, ZHOU Qian-jun, LU Wei, LIU Gang, GUO Jian-hua, LIU Zhong-min\*

China-German Heart Institute, Eastern Hospital, Tongji University, Shanghai 200120, China

**[ABSTRACT]** **Objective:** To compare the therapeutic effects of penethylidene hydrochloride on rat with oleic acid (OA)-induced acute lung injury (ALI) when given *via* inhalation and intravenous injection. **Methods:** Forty male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 4 equal groups: normal control group (group I), ALI group (group II), penethylidene hydrochloride inhalation group (group III), and intravenous penethylidene hydrochloride group (group IV). The blood pressure (BP), pulmonary artery pressure (PAP), and airway pressure (Paw) were determined every 60 min during the experiment and the artery blood gas analysis and mixed venous blood gas analysis were performed. The wet to dry lung weight ratio (W/D) and the serum concentration of tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) were determined 240 min after the experiment in each group. **Results:** The OA-induced increase of PAP, Paw and decrease of PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> were improved in the group III and group IV compared with those in the group II ( $P < 0.05$  for group III). The W/D and serum TNF- $\alpha$  concentration were lower in the group III and group IV compared with those in the group II ( $P < 0.05$  for group III). **Conclusion:** Penethylidene hydrochloride can relieve the symptoms of OA-induced ALI. Inhalation approach is more effective than intravenous injection when the same dose of penethylidene hydrochloride is given.

**[KEY WORDS]** acute lung injury; penethylidene hydrochloride; animal models; inhalation administration; intravenous injections

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(3):286-289]

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 是危重患者常见的致命并发症之一。盐酸戊乙奎醚是一种新型选择性的莨菪类药物。近来研究发现, 其能改善微循环、降低毛细血管壁的通透性, 具有细胞保护和减少溶酶体释放等作用。本研究探讨雾化吸入以及静脉应用盐酸戊乙奎醚对油酸诱导大鼠 ALI 的保

护作用以及机制。

### 1 材料和方法

1.1 实验材料 健康雄性 SD 大鼠 40 只, 体质量 300~350 g, 随机分为 4 组。4601 型小动物呼吸机由德国 TSE 公司提供。Optineb 小型超声雾化吸入

**[收稿日期]** 2007-09-17 **[接受日期]** 2007-12-17

**[基金项目]** 上海市科委科研计划资助项目 (055407030)。Supported by Scientific Research Project of Shanghai Science Committee (055407030)。

**[作者简介]** 孔祥, 主治医师, 博士生。E-mail: ox999@163.com

\* 通讯作者 (Corresponding author)。E-mail: frankfan64@hotmail.com

仪由德国 Nebu-Tec 公司提供。348 型快速血气分析仪由英国 Chiron 公司提供。内径为 0.58 mm 的聚乙烯导管购自英国 Sims Portex 公司。纯油酸购自 Sigma 公司,与 0.1% 的牛血清白蛋白(BSA)溶液按照 1:9 稀释后经剧烈摇晃成油酸混悬液。1 mg/ml 盐酸戊乙奎醚购自成都力思特制药股份有限公司。血浆肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )试剂盒购自美国 TPI 试剂公司。

1.2 手术操作 腹腔注射 2% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉后,颈部以及胸部皮肤剃毛消毒。作颈胸部前正中中长切口,气管切开后插管并接呼吸机,呼吸机参数  $FiO_2$  为 0.3,呼吸频率 80 次/min,潮气量 10 ml/kg,吸呼比 1:2。三通管连接气管插管测定气道压力。游离左侧颈动脉和右侧颈外静脉后置入聚乙烯导管。正中剪开胸骨,打开心包,暴露心脏,经右心室将聚乙烯导管插入到肺动脉,以 6-0 prolene 线荷包缝合固定。少量肝素生理盐水冲洗聚乙烯导管后,分别将气管插管三通管,颈动、静脉和肺动脉插管连接压力转换接头,动态监测气道压(airway pressure, Paw)、血压(blood pressure, BP)、中心静脉压(central venous pressure, CVP)和肺动脉压(pulmonary artery pressure, PAP)变化。以羟乙基淀粉溶液补充失血和失液以维持血流动力学的稳定。待各项监测指标稳定 20 min 后开始实验。

1.3 动物分组 I 组为对照组,经右颈外静脉插管缓慢注入 0.1% BSA 溶液 2 ml/kg; II 组为急性肺损伤组,经右颈外静脉插管在 20 min 内缓慢注入油酸混悬液 2 ml/kg(含油酸 0.2 ml/kg); III 组为盐酸戊乙奎醚雾化吸入治疗组,按照 II 组方法给油酸 30 min 后,1 mg/kg 盐酸戊乙奎醚溶液超声雾化后经气管插管完全吸入; IV 组为盐酸戊乙奎醚静脉治疗

组,按照 II 组方法注入油酸 30 min 后,经右侧颈外静脉缓慢推入盐酸戊乙奎醚 1 mg/kg。各组动物在注射油酸后 240 min 放血处死。

1.4 指标检测 给油酸后 0、60、120、180、240 min 分别记录 BP、PAP、Paw,抽取颈动脉和肺动脉血标本各 0.2 ml 测定动脉血气和混合静脉血气指标,按照文献<sup>[1]</sup>公式计算  $Q_s/Q_t$ 。实验结束时取右肺下叶小块肺组织称湿重,然后置 60°C 恒温烘烤 48 h 后称干重,计算湿干比(the wet to dry lung weight ratio, W/D)。240 min 时经右颈外静脉插管抽取 1 ml 血标本,用酶联免疫吸附法(ELISA)检测,按照试剂盒说明操作。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据处理。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析,组间比较用 Dunnett 法,组内比较用 SNK 法。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 BP、PAP、Paw、 $PaO_2/FiO_2$ 、 $Q_s/Q_t$  随着实验时间的延长, I、II、III 组 BP 轻微下降。IV 组血压下降幅度更大,实验结束时较之 I、II 组有显著性差异( $P < 0.05$ )。I 组在整个实验期间 PAP、Paw、 $PaO_2/FiO_2$ 、 $Q_s/Q_t$  基本稳定。II 组 PAP、Paw、 $Q_s/Q_t$  逐渐明显升高,  $PaO_2/FiO_2$  逐渐降低,这些指标较之 I 组在实验中后期均有显著性差异( $P < 0.05$ )。III、IV 组 PAP 升高以及  $PaO_2/FiO_2$  降低的趋势得到缓解, III 组缓解更为明显,较之 IV 组有显著性差异( $P < 0.05$ )。III 组 Paw、 $Q_s/Q_t$  较之 II 组在实验结束时明显降低,并有显著性差异( $P < 0.05$ )。IV 组虽然 Paw、 $Q_s/Q_t$  在实验结束时较 II 组低,但是没有统计学意义(表 1)。

表 1 各组血压、气道压、 $PaO_2/FiO_2$  和  $Q_s/Q_t$  比较

Tab 1 Comparison of pulmonary artery pressure, airway pressure,  $PaO_2/FiO_2$  and  $Q_s/Q_t$  in each group

( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Index	Time t/min				
	0	60	120	180	240
Blood pressure( $p/mmHg$ )					
I	87.5 $\pm$ 5.3	84 $\pm$ 10.5	76.9 $\pm$ 14.6	70.9 $\pm$ 11.5	71.5 $\pm$ 11.5
II	87.3 $\pm$ 5.8	82 $\pm$ 5.3	73.4 $\pm$ 4	69.5 $\pm$ 4.7	68.2 $\pm$ 3.3
III	86.7 $\pm$ 3.6	83.1 $\pm$ 4.2	75.7 $\pm$ 3.6	71.4 $\pm$ 3.5	68.7 $\pm$ 3.5
IV	85.9 $\pm$ 3.1	79.8 $\pm$ 3.4	71.9 $\pm$ 3.8	66.5 $\pm$ 2.7*	62.8 $\pm$ 2.9* $\Delta$
Pulmonary artery pressure( $p/mmHg$ )					
I	7.5 $\pm$ 1.1	7.6 $\pm$ 1.1	7.9 $\pm$ 1	7.9 $\pm$ 0.7	8.1 $\pm$ 0.7
II	7.3 $\pm$ 0.9	8.1 $\pm$ 1.2	9.1 $\pm$ 1.2*	10.9 $\pm$ 1.2*	12.6 $\pm$ 1.3*
III	7.4 $\pm$ 0.7	7.8 $\pm$ 0.5	8.2 $\pm$ 0.8	8.6 $\pm$ 0.5* $\Delta$	9.0 $\pm$ 0.6* $\Delta$
IV	7.5 $\pm$ 0.6	7.9 $\pm$ 0.5	8.5 $\pm$ 0.6	9.1 $\pm$ 0.9* $\Delta$	9.7 $\pm$ 0.5* $\Delta$ $\blacktriangle$

(续下表)

(接上表)

Index	Time <i>t</i> /min				
	0	60	120	180	240
Airway pressure( <i>p</i> /mmHg)					
I	5.3±0.8	5.4±0.8	5.5±0.8	5.5±0.7	5.6±0.7
II	5.2±0.6	5.6±0.7	6.2±1.1	6.7±1.1*	7.5±0.8*
III	5.4±0.4	5.5±0.6	5.7±0.5	5.8±0.6	5.9±0.6△
IV	5.3±0.6	5.4±0.5	5.6±0.5	6.0±0.6*	6.3±0.5*▲
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> ( <i>p</i> /mmHg)					
I	413±21	414±26	409±24	398±24	383±24
II	420±21	360±19*	306±27*	261±21*	226±17*
III	412±14	392±12*△	363±21△	349±17*△	331±15*△
IV	415±20	367±12*△	342±17*	326±18*△▲	309±13*△▲
Q <sub>s</sub> /Q <sub>t</sub>					
I	6.4±1.7	6.6±1.7	6.5±0.7	8.2±2.2	8.3±1.4
II	5.9±1.2	9.2±2.4*	12.5±4.6*	16.2±5.4*	18.8±4.1*
III	6.2±2.1	7.1±2.2△	8.7±3.5*	9.9±2.3△	10.5±2.6*△
IV	5.8±1.5	7.8±1.2	9.9±2.6*	11.9±3.1*	13.2±2.8*▲

\* *P*<0.05 vs group I at the same time point;△*P*<0.05 vs group II in each treatment group at the same time point;▲*P*<0.05 vs group III at the same time point;1 mmHg=0.133 kPa

2.2 肺湿干比(W/D)、血清 TNF-α II组 W/D、TNF-α 较之 I 组增高有显著性差异;III、IV 组 W/D、TNF-α 较之 II 组降低有显著性差异;III 组降低程度较之 IV 组有显著性差异(*P* 均<0.05,表 2)。

表 2 各组肺 W/D 和血清 TNF-α 比较  
Tab 2 Comparison of lung W/D and serum TNF-α concentration in each group

(*n*=10,  $\bar{x} \pm s$ )

Group	Lung W/D	Serum TNF-α ρ <sub>B</sub> /(ng·L <sup>-1</sup> )
I	4.2±0.3	107.4±13.9
II	7.2±0.4*	296.3±15.7*
III	5.7±0.4*△	168.2±9.3*△
IV	6.2±0.3*△▲	201.3±7.5*△▲

\* *P*<0.05 vs group I ;△*P*<0.05 vs group II ;▲*P*<0.05 vs group III ;W/D:Wet to dry lung weight ratio

### 3 讨论

急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(ALI/ARDS)是指由心源性以外的各种肺内外致病因素导致的急性、进行性缺氧性呼吸衰竭。虽然近年来包括呼吸支持在内的各种技术发展迅速,但这些技术并未使 ALI/ARDS 的病死率明显下降。ALI/ARDS 时中性粒细胞、巨噬细胞和肺泡毛细血管内皮细胞等释放多种介质和细胞因子,造成肺泡上皮和肺毛细血管内皮细胞的损伤,毛细血管膜通透性增加,出现肺水肿。复制的油酸诱导大鼠肺损伤模型组织病理学改变与人 ARDS 相似,是较为成熟、

可靠的一种方法<sup>[2-3]</sup>。本研究中 ALI 组大鼠 PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> 达到小于 300 mmHg 的诊断标准,出现肺动脉压逐渐升高以及动脉压逐渐降低的趋势,说明 ALI 模型制作成功<sup>[3-4]</sup>。

毒蕈碱受体根据药理作用又分为 M1、M2、M3 三种亚型。M1 受体主要分布在中枢神经系统,M2 受体主要分布于心肌和心脏传导系统,M3 受体主要分布在平滑肌和腺体。盐酸戊乙奎醚是新型抗胆碱药,选择性地作用于 M1 和 M3 受体,对 M2 受体几乎没有影响,目前主要应用于救治有机磷中毒和麻醉前用药。盐酸戊乙奎醚对急性肺损伤的主要作用为:(1)既降低胆碱能神经的张力,又避免了胆碱能神经反射的加强,从而使气道静态张力降低,松弛气道平滑肌,减少黏液分泌及血管渗出,改善肺通气功能<sup>[5]</sup>;(2)解除血管平滑肌痉挛,调节微血管舒缩,开放闭锁的微循环前后通路,重新恢复灌注,能减轻对微血管内皮细胞骨架的影响,调控胞质内 Ca<sup>2+</sup> 的有效浓度等,从而抑制肺微血管的通透性<sup>[5]</sup>;(3)减少中性粒细胞在肺内的聚集、抑制氧自由基生成、减轻肺泡上皮细胞损伤<sup>[6-7]</sup>。我们参考文献<sup>[7]</sup>应用了 1 mg/kg 剂量盐酸戊乙奎醚,观察到 BP、PAP、Paw、PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>、Q<sub>s</sub>/Q<sub>t</sub>、W/D、血清 TNF-α 指标均有明显改善。

采用雾化吸入的方法药物局限于靶器官,使肺部药物浓度高于静脉给药,同时避免了药物对全身其他部位的不良反应。通过荧光显像的方法可以证实超声雾化吸入的大分子液体能够均匀的分布于全肺,说明这种给药途径是非常有效的<sup>[8]</sup>。在本研究

中静脉注射盐酸戊乙奎醚多项指标虽然也有改善,但是改善程度均不如雾化吸入途径,说明同等剂量下静脉用药到达肺部的药物浓度要低于吸入途径。另外本研究还发现在未予以额外补液的情况下,静脉应用盐酸戊乙奎醚后血压有下降的趋势,这可能是由于该药物对内脏和皮肤小血管也有扩张作用所致。但也从另一个方面说明同等剂量下给药,雾化吸入途径能将更多的药物滞留在肺部,从而使得血液中的药物浓度远低于静脉用药途径。盐酸戊乙奎醚雾化吸入简便、高效、安全,能明显改善ALI的多项指标,是一种有前途的ALI/ARDS治疗方法。

(志谢 对同济大学医学院流行病学教研室刘浩博士在数据统计分析方面给予的帮助表示衷心感谢!)

#### [参考文献]

- [1] Tanaka H, Tajimi K, Kobayashi K. Milrinone improve arterial oxygenation in dogs with acute lung injury induced by oleic acid [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1999, 34:806-810.
- [2] Richard J C, Bregeon F, Leray V, Le Bars D, Costes N, Tourvieille C, et al. Effect of activated protein C on pulmonary

blood flow and cytokine production in experimental acute lung injury[J]. *Intensive Care Med*, 2007, 33:2199-2206.

- [3] He X, Han B, Mura M, Xia S, Wang S, Ma T, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril prevents oleic acid-induced severe acute lung injury in rats[J]. *Shock*, 2007, 28:106-111.
- [4] 沈颜红, 张建新, 徐宁. 异丙酚对大鼠油酸性急性肺损伤的保护作用[J]. *中华麻醉学杂志*, 2006, 26:57-60.
- [5] 俞辰斌, 孙海晨, 聂时南, 邵旦兵, 许宝华, 唐文杰, 等. 盐酸戊乙奎醚对创伤性急性肺损伤的早期干预作用[J]. *创伤外科杂志*, 2007, 9:359-362.
- [6] 李娟, 李俊, 潘建辉, 方才, 陈昆洲. 盐酸戊乙奎醚预先给药对大鼠内毒素性急性肺损伤的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2007, 27:70-74.
- [7] 沈伟锋, 吴洪海, 干建新, 杨波, 江观玉. 盐酸戊乙奎醚对内毒素致急性肺损伤的保护作用[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2006, 29:633-634.
- [8] Brueckl C, Kaestle S, Kerem A, Habazettl H, Krombach F, Kuppe H, et al. Hyperoxia-induced reactive oxygen species formation in pulmonary capillary endothelial cells *in situ*[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2005, 34:453-463.

[本文编辑] 尹茶

· 读者 作者 编者 ·

## 《第二军医大学学报》对一稿两投问题处理的声明

为维护学术研究的纯洁性和严肃性,同时也为了维护《第二军医大学学报》的声誉和广大读者的利益,现将本刊对一稿两投(包括一稿多投)问题的处理原则声明如下:

(1)本声明中的“一稿两投”主要指所涉及到的两篇论文尽管在文字的表达或讨论的阐述上可能存在某些不同之处,但其涉及的理论、主要实验数据和图表是相同的,或文中核心内容相同。所指文稿不包括重要会议的纪要、疾病诊断标准和防治指南、有关组织达成的共识性文件、新闻报道类文稿以及在一种刊物上发表过摘要(简报)或初步报道而将进一步研究的全文投向另一种期刊的文稿。上述各类文稿如作者要重复投稿,应向有关期刊编辑部作出说明。

(2)凡来稿在接到编辑部回执后满3个月未接到退稿通知,则表明该稿件仍在处理过程中,作者如欲转投他刊,应事先与本刊编辑部联系并提出理由。

(3)编辑部认为文稿有一稿两投嫌疑时,将认真收集有关资料并仔细核对后再通知作者,在作出处理决定前请作者就相关问题作出解释。编辑部与作者双方意见发生分歧时应由上级主管部门或有关权威机构进行最后仲裁。

(4)一稿两投一经证实,将择期在本刊刊出其作者单位和姓名以及撤消该论文的通告;2年内,《第二军医大学学报》将拒绝发表该文第一作者所撰写的一切文稿;并将就此事件向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。

《第二军医大学学报》编辑部