维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)05-0459-04

创建急性肺损伤模型探讨小剂量地塞米松对肺脏的保护作用

梁 玲

(深圳市平湖人民医院药剂科,深圳 518111)

【摘 要】目的:探讨小剂量地塞米松对急性肺损伤动物模型肺脏的保护作用。方法:雄性 SD 大鼠 54 只,随机平均分为对照组、损伤组和激素组。主要观察指标:支气管肺泡灌洗液细胞总数计数、总蛋白水平、TNF-α 水平。次要指标:肺系数、动脉血氧分压、血清中 TNF-α 的变化及病理检查结果。结果:激素组肺泡结构仍存在,但肺泡间隔增厚,中性粒细胞浸润明显减轻,肺泡腔内见少量渗出;激素组大鼠的动脉血氧分压明显高于损伤组($P<0.05$)。激素组的大鼠肺系数及支气管肺泡灌洗液的总蛋白水平、细胞总数与其他组比较有显著性差异($P<0.05$);激素组第 2h 血清中和第 2、6h 支气管肺泡灌洗液中 TNF-α 水平与其他组比较有显著性差异($P<0.05$)。结论:小剂量地塞米松对肺组织损伤有一定保护作用。

【关键词】急性肺损伤;地塞米松;肺功能

【中国图书分类号】R977.1 【文献标识码】B 【收稿日期】2006-04-29

Protection of little dosage of Desamethasone to pulmonary function on acute lung injury model

LIANG Ling

(*Department of Pharmacy, Pinghu people's Hospital of Shenzhen*)

【Abstract】*Objective:* To explore the pretection of small dosage desamethasone to pulmonary function on acute lung injury model. *Methods:* 54 male SD rats were divided randomly into control group, injury group and therapeutic group. Major observed marker consisted of count of cell sum, total protein level and TNF-α level of bronchoalveolar douche solution. Secondary marker consisted of lung coefficient, PAO2, TNF-α level in blood serum and histopathologic examination. *Results:* Alveolar texture in therapeutic group existed yet, but alveolar interval increased thickness, neutrophilic granulocyte infiltration relieved obviously, and a little bleeding in alveolar cavity. PAO2 in therapeutic group was higher than that of injured group ($P<0.05$). A significant difference existed between therapeutic group and other groups in lung coefficient, total protein level and cell sum of bronchoalveolar douche solution ($P<0.05$). and a obvious difference in TNF-α level also existed between therapeutic group and other groups in blood serum in 2 hours and in bronchoalveolar douche solution in 2 and 6 hours ($P<0.05$). *Conclusion:* Small dosage desamethasone could protect injured lung texture.

【Key words】Acute lung injury; Desamethasone; Pulmonary function

根据文献显示,应用小剂量激素对急性肺损伤有保护作用,同时可避免大剂量激素的免疫抑制作用[1]。本实验选择大剂量内毒素气管内滴注创建急性肺损伤模型,选择地塞米松 10 mg/kg 腹腔注射探讨小剂量激素对急性肺损伤时肺脏的保护作用。

1 材料和方法

1.1 动物及分组

选用雄性二级 SD 大鼠 54 只,体质量(210±20)g,由重庆医科大学动物中心提供。将大鼠随机分为对照组、损伤组和激素组,每组 18 只,每个时间点 6 只。内毒素(意大利 FOSCAMA 生化制药公司生产)。5g/L 地塞米松磷酸钠(上海何丰制药有限公司生产,批号 2001101)。考马斯亮兰 G-250、小牛血清白蛋白购自北京邦定泰克生物技术公司。肿瘤坏死因子 α 放免检测试剂盒购自北京东亚免疫技术研究所。

1.2 方法

对照组:实验开始时腹腔内注射生理盐水 0.5 ml,30 min 时气管内滴注 0.5 ml 生理盐水。损伤组:实验开始时腹腔内注射 0.5 ml 生理盐水,30 min 时气管内滴注内毒素 10 mg/kg(溶于 0.5 ml 生理盐水)。激素组:实验开始时腹腔内

作者介绍:梁 玲(1969-),主管药师,主要研究方向:药代动力学。

维普资讯 http://www.cqvip.com

注射激素 10 mg/kg(溶于 0.5 ml 生理盐水)，余同损伤组。以上各组 18 只动物，实验第 2,6,24h 各 6 只。

动物模型：10g/L 戊巴比妥钠 50 mg/kg 腹腔注射麻醉，将大鼠放入天平称取体重，然后将大鼠仰卧位固定，使用经 16 号脊髓穿刺针改制的气管插管插入气道内并滴注 LPS 及 1ml 空气。

标本收集：按预设时间，同上法麻醉后大鼠再次称取体重，腹主动脉取血做动脉血气分析并收集血清，待测肿瘤坏死因子 α（TNF-α）。然后开胸取肺，湿肺称重。体积分数为 0.1 甲醛固定右下肺叶，待行病理检查。随后用 4℃生理盐水 3 ml 分两次进行左肺灌洗，取摇匀的灌洗液原液 1 滴，于 400 倍高倍镜下做细胞总数计数（除上皮细胞及红细胞）。灌洗液 2 000 r/min 离心 10 min，细胞沉渣涂片做 Wright-Giemsa 染色，计数巨噬细胞，中性粒细胞分类及淋巴细胞百分比，上清液待测肿瘤坏死因子 α 及蛋白水平。

肺系数测定：肺系数 = 肺湿重（g）/ 体质量（g）× 100

支气管肺泡灌洗液总蛋白含量测定：考马斯亮兰法。

主要观察指标：支气管肺泡灌洗液细胞总数计数、总蛋白水平、TNF-α 水平。次要结局：肺系数、动脉血氧分压、血清中 TNF-α 的变化及病理检查结果。

2 结 果

2.1 病理检查

实验第 2、6、24h 对照组大鼠肺泡结构清晰，肺泡壁薄，肺泡内未见水肿液；损伤组内毒素滴注后 2h，尚可辨认出肺泡结构，但肺泡间隔增厚，炎细胞浸润，实验第 6h 肺泡结构已破坏，实验第 24h 无法辨认肺泡结构，肺内大量炎细胞浸润（以中性粒细胞为主）伴出血、水肿、透明膜形成；实验第 24h 激素组肺泡结构仍存在，但肺泡间隔增厚，中性粒细胞浸润明显减轻，肺泡腔内见少量渗出。

2.2 统计推断

大鼠动脉氧分压见表 1。损伤组大鼠实验第 2、6、24h 动脉血氧分压大鼠明显低于对照组和激素组（$P<0.05\sim0.01$）。

表 1 大鼠动脉氧分压 （$\bar{x}\pm s$,kPa）

组别	实验第 2h	实验第 6h	实验第 24h
对照组	13.40 ± 1.06（6）[a]	12.60 ± 0.34（6）[b]	13.11 ± 0.84（6）[b]
损伤组	11.36 ± 1.02（6）[a]	10.45 ± 0.55（6）	8.23 ± 0.41（6）
激素组	12.74 ± 0.87（5）[a]	12.41 ± 1.10（5）[b]	12.93 ± 0.76（6）[b]
F	5.01	9.66	20.29

括号内为实验动物数；与损伤组比较，*$P<0.05$，[b] $P<0.01$

支气管肺泡灌洗液细胞总数计数及分类，见表 2。

表 2 支气管肺泡灌洗液细胞总数计及中性粒细胞分类型（$\bar{x}\pm s$）

组别	细胞总数（$\times 10^8$/L）		
	实验第 2h	实验第 6h	实验第 24h
对照组	2.45 ± 1.10（6）	3.73 ± 0.88（6）	4.85 ± 2.15（6）
损伤组	8.70 ± 1.62（5）[b]	16.76 ± 3.76（6）[b]	65.75 ± 9.85（6）[b]
激素组	3.18 ± 1.43（6）[d]	8.07 ± 2.29（6）[bc]	18.73 ± 7.73（6）[bd]
F	14.00	23.83	61.18

括号内为实验动物数；与对照组比较，[a]$P<0.05$，[b]$P<0.01$；与损伤组比较，[c]$P<0.05$，[d]$P<0.01$

大鼠肺系数及支气管肺泡灌洗液的总蛋白水平见表 3。

表 3 大鼠肺系数及支气管肺泡灌洗液的总蛋白水平（$\bar{x}\pm s$）

组别	肺系数		
	实验第 2h	实验第 6h	实验第 24h
对照组	0.56 ± 0.03（6）	0.56 ± 0.04（6）	0.57 ± 0.04（6）
损伤组	0.80 ± 0.05（6）[b]	0.76 ± 0.05（6）[b]	1.01 ± 0.06（6）[b]
激素组	0.63 ± 0.18（6）[ad]	0.63 ± 0.18（6）[ad]	0.71 ± 0.05（6）[bd]
F	47.00	21.29	87.80

组别	支气管肺泡灌洗液的总蛋白水平(g/L)		
	实验第 2h	实验第 6h	实验第 24h
对照组	0.28 ± 0.06（6）	0.33 ± 0.09（6）	0.33 ± 0.07（6）
损伤组	1.25 ± 0.18（5）[b]	1.22 ± 0.23（6）[b]	1.40 ± 0.18（6）[b]
激素组	0.32 ± 0.13（5）[d]	0.32 ± 0.14（6）[d]	0.29 ± 0.08（6）[d]
F	66.79	40.76	107.40

括号内为实验动物数；与对照组比较，[a]$P<0.05$，[b]$P<0.01$；与损伤组比较，[c]$P<0.05$，[d]$P<0.01$

大鼠血清和支气管肺泡灌洗液中肿瘤坏死因子 α 水平，见表 4。

表 4 大鼠血清及支气管肺泡灌洗液肿瘤坏死因子 α 水平（$\bar{x}\pm s$,up/L）

组别	血清		
	实验第 2h	实验第 6h	实验第 24h
对照组	0.56 ± 0.17（6）	0.54 ± 0.16（6）	0.53 ± 0.17（6）
损伤组	1.06 ± 0.14（6）[b]	0.69 ± 0.11（6）	0.61 ± 0.19（6）
激素组	0.68 ± 0.15（6）[c]	0.61 ± 0.21（6）	0.69 ± 0.11（6）
F	10.10		

组别	支气管肺泡灌洗液		
	实验第 2h	实验第 6h	实验第 24h
对照组	0.15 ± 0.03（6）	0.17 ± 0.03（6）	0.16 ± 0.03（6）
损伤组	0.31 ± 0.02（6）[b]	0.43 ± 0.03（6）[b]	0.22 ± 0.02（6）[a]
激素组	0.20 ± 0.03（6）[c]	0.24 ± 0.03（6）[ad]	0.24 ± 0.03（6）[ad]
F	37.50	59.51	4.51

括号内为实验动物数；与对照组比较，[a]$P<0.05$，[b]$P<0.01$；与损伤组相比较，[c]$P<0.05$，[d]$P<0.01$

维普资讯 http://www.cqvip.com

对照组和激素组实验第 2h 血清 TNF-α 水平明显低于损伤组（$P<0.01, 0.05$）；损伤组实验第 2、6、24h 支气管肺泡灌洗液中 TNF-α 水平明显高于对照组（$P<0.05\sim0.01$）；激素组实验第 6h 支气管肺泡灌洗液中 TNF-α 水平明显高于对照组（$P<0.05$）。激素组实验第 2、6h 支气管肺泡灌洗液中 TNF-α 水平明显低于损伤组（$P<0.05, 0.01$）。

3 讨 论

地塞米松是人工合成的糖皮质激素中生物作用最强的激素之一，仅需要很小的量即能达到与天然皮质醇相似的作用，因其量小，分布在血中浓度很低，可明显抑制多种炎症介质的合成与释放[2]。其抗炎作用可抑制急性肺损伤时的急性炎性反应综合征。与诸多肺部炎症反应调控和保护机制治疗方法相比，地塞米松应用简便易行，是临床应用较普遍的药物[3]。目前对地塞米松的褒贬不一，焦点不在于对地塞米松肺保护机制的否定。大量基础与临床研究早已证实了地塞米松在急性肺损伤综合救治中的作用，如通过降低肺毛细血管通透性，减少渗出，减轻肺间质水肿和透明膜形成所致的弥散障碍；通过增加肺表面活性物质降低肺表面张力，减少肺泡萎陷所致的肺内分流；通过抑制肺泡上皮和巨噬细胞、肺毛细血管内皮细胞凋亡，通过降低各种促炎细胞因子水平，从发病机制的主要环节阻断和减少各种致病因素导致的肺部炎症反应和肺部组织损伤[4,5]。但有临床多中心研究发现，大剂量地塞米松不能降低急性肺损伤的发生率和病死率，大剂量地塞米松应用后可能发生感染并导致病死率增加。地塞米松的剂量一直是令人困惑的难题[6]。以往主张大剂量（>10~20 mg/kg·d），目前多主张中小剂量（≤5 mg/kg·d），尤其对急性肺损伤，应将地塞米松用量降低至最小限度[7]。我们主张，地塞米松应用愈早、愈少、愈短，效果愈好，在不考虑原发病治疗需要情况下，以地塞米松≤40~60 mg/天（相当于甲基氢化泼尼松≤3.5~5.3 mg/天）连用 3~5 天为宜。有文献报道通过动物实验证实小剂量地塞米松对多种炎症介质均有明显的抑制作用，显著降低血液中前列环素、TX、肿瘤坏死因子的水平，并降低肺组织的炎症程度，提高生存率[8,9]。本实验进一步研究了小剂量地塞米松治疗急性肺损伤的作用相对于对照组，用药后肺组织炎症明显受到了抑制，肺水肿明显改善，白细胞的浸润程度也明显减轻[7]。我们认为[8]，应用小剂量地塞米松从以下几个方面对损伤的肺组织损伤起到了保护作用：①抑制炎症介质，应用小剂量地塞米松有效的降低肺组织肿瘤坏死因子的基因表达水平，肿瘤坏死因子强烈表达可以激活白细胞，促进 IL-1、IL-6、IL-8 等炎症介质的释放，在急性肺损伤发病及其全身并发症发生过程中起着重要作用而小剂量地塞米松则通过抑制多种炎症介质的基因表达水平发挥其治疗急性肺损伤的作用；②改善血管内皮细胞的功能损伤 研究发现急性肺损伤是一种主要表达于内皮细胞表面的蛋白质所引起，其高表达可通过引起内皮细胞、白细胞相互间反应造成肺组织内白细胞的大量浸润并不断加重肺损伤，小剂量地塞米松明显降低了肺组织该蛋白质的表达水平，减轻了肺血管内皮细胞的功能性损伤，降低了肺组织内的白细胞浸润程度；③降低肺组织血管通透性 在用小剂量地塞米松治疗中可以发现肺组织内凋亡的血管内皮细胞数量减少，表明小剂量地塞米松对肺部毛细血管内皮细胞具有保护作用，通过抑制血管内皮细胞凋亡，改善组织血管通透性，从而减少血浆漏入组织间隙，缓解肺组织水肿，减轻肺组织炎症程度。

参 考 文 献

[1] 岳茂兴，李成林.短程地塞米松对 MODS 时微循环及免疫病理学改变的试验研究[J].中华外科杂志，2000；35：392-396.

[2] 岳茂兴，李成林.地塞米松治疗多脏器功能障碍综合机制的研究[J].中国危重病急救医学，2000；12（6）：341-343.

[3] 徐酉华，宪 莹.小儿特发性血小板减少性紫癜临床疗效观察：附 83 例分析[J].重庆医科大学学报，2000；25（1）：87-88.

[4] Shapirl L，Gelfand JA.Cytokines and sepsis：pathophysiology and therapy [J]. New Horizons，2001；1：13.

[5] 吕礼应，康格非.磷脂酶 A2 抑制剂及抗氧化剂对内毒素所致生物膜损伤的保护作用研究[J].重庆医科大学学报，1994；19（2）：94-96.

[6] Stephens KE，Ishizaka A，Larrick TM，et al.Tumor necrosis factor causes increased pulmonary permeability and edema：comparison to septic acutd lung injury [J].Am Rev Respir Dis，2002；137：364.

[7] Kundsen PJ，Dinarello CA，Strom TB.Glucocorticoids inhibit transcriptional and post-transcriptional expression of interleukin 1 in U937 cells [J].J Immunol，2000；137：4129.

[8] Gong JH，Renz H，Sprenger H，et al. Enhancement of tumor necrosis factor：a gene expression by low dose of prostaglandin E2 and cyclic GMP [J].Immunobiology，2001；182：44.

[9] Rose CE.Role of interleukin-1 in endotoxin-induced lung injury in the rat [J].Am J Respir Cell Mol Biol，2002；10：214.