DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.03.019

猪源杀菌性 通透性增加蛋白对烧伤大鼠绿脓杆菌菌血症的保护作用*

郑 江** 周 红 萧光夏 (第三军医大学附属西南医院烧伤研究所) 重庆,400038

提 要 目的: 观察猪源杀菌性 通透性增加蛋白(BPI)对大鼠烧伤绿脓杆菌菌血症的作用。方法: 将84只 Wistar大鼠烧伤后经静脉注射绿脓杆菌悬液(10^8 cfu·kg^{-1})随机分为烧伤绿脓杆菌菌血症组与烧伤绿脓杆菌菌血症 BPI(2 mg·kg^{-1})实验组,观察大鼠存活情况、全血细菌计数、血浆内毒素、血清 TNF-α、葡萄糖及乳酸浓度的改变。结果: 保护组大鼠全血细菌计数、血浆内毒素、血清 TNF-α、葡萄糖浓度较对照组明显低。结论: BPI对烧伤大鼠绿脓杆菌菌血症具有明显的保护作用。

关键词 猪源杀菌性 通透性增加蛋白;灼伤;菌血症;内毒素
中图法分类号 R644

杀菌性 通透性增加蛋白(BPI)是一种存在于人及哺乳动物 PMN嗜天青颗粒中的蛋白质,分子量约为55 kDa,具有特异杀死 G^-菌和中和内毒素的作用。因此如果 BPI应用于临床治疗 G^-菌脓毒血症,则可能达到既杀菌,又能中和内毒素的作用,且对人体无任何不良反应,无疑会对 G^-菌感染疾病的治疗带来新的有效措施,因此 BPI被称为"超级抗生素"。

国外文献报告 BPI存在于人、兔、小牛等哺乳动物 PMN中,含量约为0.5%~1%[1,2],为了验证 BPI的效果,我们成功地从猪 PMN中提取、纯化了 BPI,并进行了如下实验,以观察猪源 BPI对大鼠烧伤绿脓杆菌菌血症的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

1.1.1 健康 Wistar大鼠84只,雌雄各半,体重189 g±29 g

1.1.2 动物分组 随机将84只大鼠分为2组:① 单纯烧伤绿脓杆菌菌血症组(简称对照组):烧伤后仅给予绿脓杆菌菌液及生理盐水;② 烧伤绿脓杆菌菌血症保护组(简称实验组):除给予绿脓杆菌菌液外,同时也给予 BPI 2 mg·kg^{-1}。

1.1.3 猪源 BPI由我室提取并纯化(正在申请专利,并已通过初审)。

1.2 实验方法

1.2.1 绿脓杆菌的培养 将绿脓杆菌单个菌落接种于50 ml M-H培养基中,37℃振荡培养18 h,2000 r/min离心15 min,收集菌落,用生理盐水洗涤2次,再离心收集菌体,调整菌浓为10^8 cfu·ml^{-1}。

1.2.2 LD_{80}的测定 按《中国医学百科全书统计学分册》LD_{80}的计算法进行。

1.2.3 烧伤大鼠绿脓杆菌血症模型的制作 腹腔注射1%戊巴比妥钠(0.5 ml·kg^{-1}体重),待完全麻醉后,背部电推剃毛,置剃毛区于92℃水浴中18 s,造成30% TBSAIII度烫伤(病理切片证实,本文通称烧伤),伤后以4 ml·100 g^{-1}生理盐水腹腔注射抗休克,同时尾静脉注射绿脓杆菌悬液,10^6 cfu·kg^{-1},菌液配于1 ml生理盐水中注入。

1.2.4 时相点 两组动物均分别在实验开始后0 h、0.5 h、1 h、2 h、3 h、4 h、5 h活杀并取下腔静脉血。

1.2.5 血液标本的处理

1.2.5.1 取新鲜10 μl全血用生理盐水稀释后,涂于 M-H固体培养基,经37℃培养18 h~24 h进行菌落计数。

1.2.5.2 不抗凝血 立即离心,取血清,置-40℃冰箱中待测。

1.2.5.3 抗凝血 待血凝固后,离心取血浆置-40℃冰箱中待测。

1.3 观测指标

1.3.1 全血细菌计数。

1.3.2 血浆内毒素水平的测定 按鲎试剂盒说明操作,该试剂盒购自上海医化所。

1.3.3 血清 TNF-α浓度的测定 按人 TNF-α酶联试剂盒说明操作,该试剂盒购自军事医学科学院。

1.3.4 血清葡萄糖及乳酸浓度的测定 采用 GOD-POD酶偶联比色法测定。

1.4 统计学处理

采用《中国医学百科全书医学统计学》t检验进行均数比较。

2 结果

2.1 大鼠生存情况

实验组大鼠麻醉清醒后精神状态较好,较活泼,觅食,无一死亡,而对照组大鼠精神萎靡,3 h后即有动物死亡,见附表。

* 全军"八五"指令性攻关项目
** 郑 江,男,37岁,主治医师,讲师,博士研究生

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

附表　大鼠生存情况 (n= 6)

Table　Survival rates of rats (n= 6)

Time of P. aeruginosa injected(t /h)	Control	BPI treated
0	6	6
0.5	6	6
1	6	6
2	6	6
3	4	6*
4	1	6**
5	0	6*

*: P < 0.05,**: P < 0.01 *vs* control

2.2　全血绿脓杆菌计数

对照组,血液细菌数量一直较实验组高,见图 1

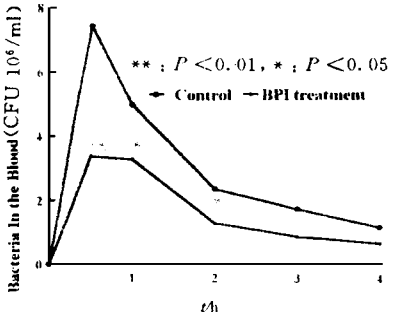


图 1　血中细菌计数

Fig 1　Bacteria count in the blood

2.3　血浆内毒素水平的测定

实验组内毒素水平在实验开始 1 h后即明显低于对照组,见图 2

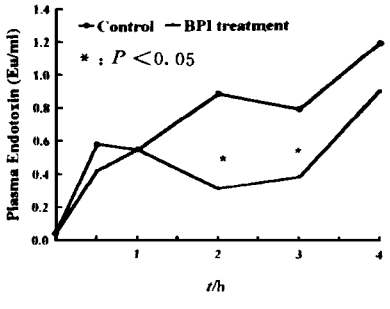


图 2　注射绿脓杆菌后血中内毒素水平

Fig 2　Endotoxin levels after injection with E. Coli

2.4　血清 TNF-α浓度的测定

烧伤大鼠静脉注入绿脓杆菌后,两组血清 TNF-α浓度均迅速上升,2 h达高峰,但实验组的水平在各时相点均明显低于对照组,见图 3

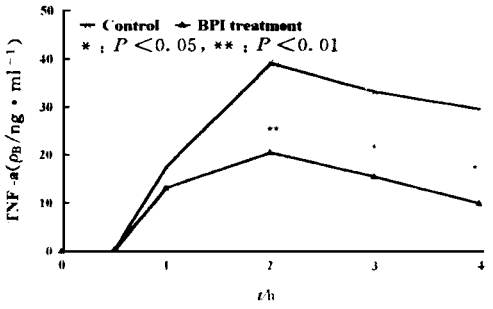


图 3　注射绿脓杆菌后血中 TNF-α 水平

Fig 3　Serum TNF-α levels after injection with E. Coli

2.5　血清葡萄糖水平的测定,见图 4

血清葡萄糖浓度在对照组动物先升高后持续降低,在实验组则相对稳定。

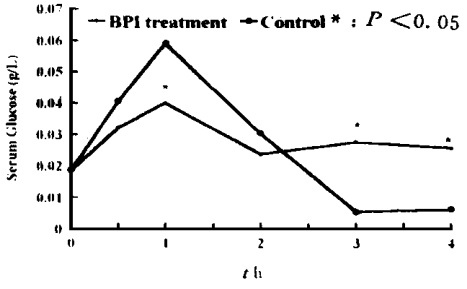


图 4　注射绿脓杆菌后血中葡萄糖水平

Fig 4　Serum TNF-α levels after injection with E. Coli

2.6　血清乳酸水平的测定

注射绿脓杆菌后,两组动物血清乳酸水平均迅速持续升高,差异不明显。

3　讨论

感染是大面积烧伤病人的主要死亡原因之一。而在烧伤感染中,绿脓杆菌引起的感染占相当大的比例,治疗较为棘手。故本实验选择从临床分离的绿脓杆菌作为致病菌,在 TBSA 30% Ⅲ度烧伤大鼠身上制造早期绿脓杆菌菌血症模型,观察猪源 BPI对动物的保护作用。该模型的特点在于大鼠在极短时间内接受两种打击:烧伤和大剂量绿脓杆菌的侵入。因此我们选择在短时间能直接反映 BPI作用特点的检测指标进行疗效观察。

在接受大剂量绿脓杆菌攻击后,对照组动物精神萎靡,而实验组动物则精神状态较好。猪源 BPI的主要作用为杀灭 G^- 菌和中和内毒素,表现在实验组全血中绿脓杆菌数量和血浆内毒素水平较对照组显著降低,尤以 2 h后的作用显著。LPS不仅是体内许多重要病理生理过程的启动子[2],而且是机体炎症反应的引

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

发者,实验组动物血浆内 LPS浓度的降低,提示机体炎症反应的减轻,血清 TNF-α 浓度的降低也说明这点。在本实验模型中,除绿脓杆菌的 LPS引起 TNF-α 升高外,烧伤的其它因素也可使 TNF-α 浓度的升高。但猪源 BPI可显著降低 TNF-α 峰值浓度,说明可能由 LPS引起的 TNF-α 分泌在其中占主要地位。猪源 BPI在改善葡萄糖代谢方面的作用主要表现在 1 h后维持葡萄糖浓度在一较高水平,而对 1 h葡萄糖浓度的增加,推测可能与动物对双重打击的应激有关[3~4]。

参考文献

1 Evans T J, Carpenter A, Moyes D *et al*. Protective effects of a recombinant amino-terminal fragment of human bactericidal/permeability-increasing protein in an animal model of gram- negative sepsis. J Infect Dis, 1995; 175: 153

2 Morisson C D. Bacterial endotoxins and host responses. Adv Immunol, 1979; 28: 293

3 Yue Lin, Kohn F R, Kung A H *et al*. Protective effect of a recombinant fragment of bactericidal/permeability-increasing protein against carbohydrate dyshomeostasis and tumor necrosis factor elevation in rat endotoxemia. Biochem Pharma, 1994; 47: 1553

4 Kohn F R. Protective effect of a recombinant aminal fragment of bactericidal/permeability-increasing protein in experimental endotoxemia. J Infect Dis, 1993; 168: 1307

(收稿: 1998-03-07;修回: 1998-06-05)

(编辑 王 红)

Therapeutic effects of pig bactericidal/permeability increasing protein on septicemia after burns in rats*

Zheng Jiang, Zhou Hong, Xiao Guangxia (Research Institute of Burns, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract **Objective**: To investigate the therapeutic effects of pig bactericidal/permeability increasing (BPI) protein on septicemia after burns in rats. **Methods**: After 84 rats were randomized into two groups of burned septicemia and BPI protein treatment, the levels of whole blood bacteria count, plasma endotoxin, serum TNF-α, glucose and lactate were determined. **Results**: After treatment with BPI protein, the whole blood bacteria count and the levels of plasma endotoxin, serum TNF-α, glucose and lactate were significantly decreased. **Conclusion**: BPI protein can exert marked therapeutic effects on septicemia after burns.

Key words pig bactericidal/permeability increasing protein; burned sepsis; endotoxin; rat

* This project was supported by the "Eighth Five" obligatory budget of PLA

溴环胺己醇对头孢克肟肺内渗透作用的影响

Influence of ambroxol on the lung tissue penetration of cefixime

张蔚东** 沈寒放 刘松青 刘 刚 (第三军医大学附属西南医院呼吸内科)重庆, 400038

溴环胺己醇(Ambroxol,安普索)是新一代粘液溶解剂及肺表面活性物质合成激活剂。1981年 Wiemeyer等[1]报告溴环胺己醇能提高鼠肺羟氨苄青霉素(Amoxicillin)的浓度。1987年 Gene等[2,3]在人体肺组织中也得出与 Wiemeyer报告相同的结论,并认为溴环胺己醇可以提高 β-内酰胺类抗生素对肺组织的穿透能力。本文采用观察支气管肺泡灌洗液(BALF)中头孢克肟(Cefixime,世福素)的含量,评价溴环胺己醇对头孢克肟肺组织穿透力的影响。

1 观察对象及方法

1.1 观察对象

选择 20例住院需作纤维支气管镜检查的住院病人。随机分为两组,对照组 8例,实验组 12例。对照组男性 6例,女性 2例,除 1例为肺结核外均为肺癌病人,平均年龄(56.4± 9.29)岁。实验组男性 10例,女性 2例,其中肺癌 9例,肺中叶不张 2例,支气管扩张 1例,平均年龄(55± 6.09)岁。

1.2 药物及给药方法

溴环胺己醇由美国加利福尼亚大药厂生产,深圳协和医药实业有限公司提供。头孢克肟由广州白云山制药总厂生产提供。两组病例均口服头孢克肟 0.1 g,每日 2次,连服 3 d实验组加服溴环胺己醇 60 mg,每日 3次,同样连服 3 d两组病例均在行纤维支气管镜检查前 3 h最后 1次服药。

(下转 233页)

** 张蔚东,男,54岁,主任医师,副教授

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net