

# 大黄联合乌司他丁对百草枯中毒大鼠肺损伤保护作用

张永成 姜银松 王占青

**【摘要】** **目的** 观察大黄联合乌司他丁对急性百草枯中毒大鼠肺组织病理变化以及血浆中 TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta_1$  含量的干预作用。**方法** 将 72 只 SD 大鼠随机分为对照组 8 只、染毒组 32 只、干预组 32 只。染毒组、干预组分别于第 1 天、3 天、5 天、7 天分批处死存活大鼠,光镜下观察肺组织变化,并测定血浆 TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta_1$  的含量。**结果** 染毒组大鼠肺组织出现明显的出血、炎症细胞浸润、肺实变等变化;干预组较染毒组病理损伤减轻;染毒组、干预组 TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta_1$  水平在染毒后 1 天开始升高,与对照组相比,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),在相同时间点干预组血浆 TGF- $\beta_1$ 、TNF- $\alpha$  表达低于染毒组,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。**结论** 大黄联合乌司他丁可通过降低百草枯中毒大鼠血浆 TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta_1$  水平,发挥对百草枯中毒大鼠肺组织的保护作用。

**【关键词】** 百草枯; 大黄; 乌司他丁; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 转化生长因子- $\beta_1$

**【中图分类号】** R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.07.005

**The protection effect of Rhubarb combine with Ulinastatin on paraquat poisoning induced lung injury in rats** Zhang Yong-cheng, Jiang Yin-song, Wang Zhan-qing. Department of Emergency, the Affiliated Hospital of Bin Zhou Medical College, Yantai 264100, China

**【Abstract】 Objective** To evaluate the intervention effect of Rhubarb combine with Ulinastatin on pathological changes of lung tissue and the plasma levels of TNF- $\alpha$  and TGF  $\beta_1$  content on paraquat poisoning induced lung injury in rats. **Methods** 72 SD rats were randomly divided into control group ( $n=8$ ), phosgene group ( $n=32$ ), intervention group ( $n=32$ ). The rats in phosgene group and the intervention group were sacrificed at first days, 3 days, 5 days and 7 days. The changes of lung tissue were observed under light microscope, and the determination of the content of plasma TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta_1$ . **Results**

Lung tissue of phosgene group showed significant hemorrhage, inflammatory cell infiltration, pulmonary consolidation and other changes; The lung tissue of intervention group was better than the phosgene group; The level of TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta_1$  was increased on the first day after paraquat intoxication in phosgene group and intervention group, compared with control group, the result had statistical difference ( $P < 0.01$ ); The plasma TGF- $\beta_1$  and TNF- $\alpha$  of intervention group was lower than that of phosgene groups at the same time point, the differences were statistically significant ( $P < 0.01$ ). **Conclusions** Rhubarb and Ulinastatin can reduce lung injury by decreasing the expression of TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta_1$  on paraquat poisoning induced lung injury in rats.

**【Key words】** Paraquat; Rhubarb; Ulinastatin; TNF- $\alpha$ ; TGF- $\beta_1$

百草枯(paraquat,PQ)中毒具有低致死量、进展快、无特效药等特点,死亡率极高。肺组织是百草枯中毒最重要的靶器官,国内外研究证实肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )等细胞因子参与并推动全身炎症反应综合征(systemic

inflammatory response syndrome, SIRS)是百草枯中毒引发肺损伤的发病机制之一<sup>[1]</sup>,采用有效途径抑制炎症反应是减轻中毒症状,改善患者生存率的重要举措。中药大黄对多种中毒导致的脏器损伤具有保护作用,已在临床得到广泛的应用,现代医学研究发现其还有抗炎、排毒、胃肠道修复等作用<sup>[2-4]</sup>,同时资料报道乌司他丁(ulinastatin, UTI)能够显著降低百草枯中毒患者体内的炎症介质<sup>[5]</sup>,本文通过观察大黄联合乌司他丁对百草枯灌胃大鼠细胞因

作者单位: 264100 滨州医学院烟台附属医院急诊科

作者简介: 张永成(1976-),本科,主治医师。研究方向:急性中毒。E-mail:15666056239@163.com

子的干预作用,初步探讨二者对百草枯中毒大鼠保护作用的机制,为临床应用大黄及乌司他丁治疗百草枯中毒提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠 72 只,体质量(200±20) g,滨州医学院动物实验室提供,动物批号:SCXK(鲁)20140007。

### 1.2 实验试剂

20% 百草枯水剂,购自江苏南通先正达农药公司;TNF- $\alpha$  试剂盒,批号: SXR063; TGF- $\beta$ 1 试剂盒,批号: SXR015,美国 R&D 公司产品进口分装;生大黄粉(免煎剂型),购自三九医药股份有限公司;乌司他丁,购自广东天普洛安。

### 1.3 仪器

LG16-W 型台式高速离心机购自北京医用离心机厂;梅特勒·托利多 AX-205DeLta Range 电子天平,820Rotary 切片机(美国)均购自湖北泰维科技实业有限公司;Olympus 显微镜(日本)购自上海奥电电子科技有限公司。

### 1.4 造模与分组

实验参照文献<sup>[6-7]</sup>进行。72 只 SD 大鼠按随机数字表法随机分为对照组 8 只、染毒组 32 只、干预组 32 只。染毒组、干预组分别给予 20% 百草枯水剂(60 mg/kg,用 0.9% 生理盐水稀释至 1 mL)灌胃染毒,对照组同时给予 1 mL 生理盐水灌胃。干预组染毒后 60 分钟给予生大黄粉 300 mg/kg(用温水浸泡)灌胃,同时腹腔注射 UTI 75 kU/kg。对照组和染毒组同时以等量生理盐水灌胃。

### 1.5 观测指标

染毒组、对照组分别于中毒后 1 天、3 天、5 天、7 天处理存活的大鼠各 8 只,取下腔静脉血 5 mL,5000 rpm 离心 5 分钟取上清,-70℃冻存待测。取大鼠肺组织置于 10% 的甲醛溶液中固定,HE 染色

后光学显微镜观察。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血浆 TNF- $\alpha$  和 TGF- $\beta$ 1 水平。

### 1.6 统计学处理

应用 SPSS 17.0 统计软件处理数据。计量资料用均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。数据通过正态分布和方差齐性检验,TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1 运用单因素方差分析,并采用 LSD 检验进行两组间比较。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠肺组织光镜下的观察

染毒大鼠中毒后逐渐出现肺毛细血管扩张、水肿,可见大量中性粒细胞、淋巴细胞,部分肺泡塌陷,出现肺不张;中毒后 3 天部分肺泡融合,明显肺不张,肺间质出血和肺泡出血并存,间质增厚;干预组大鼠肺出血、炎症细胞、肺实变等明显减轻;对照组肺组织结构及形态无明显变化。见图 1。

### 2.2 各组大鼠血浆 TNF- $\alpha$ 水平的表达

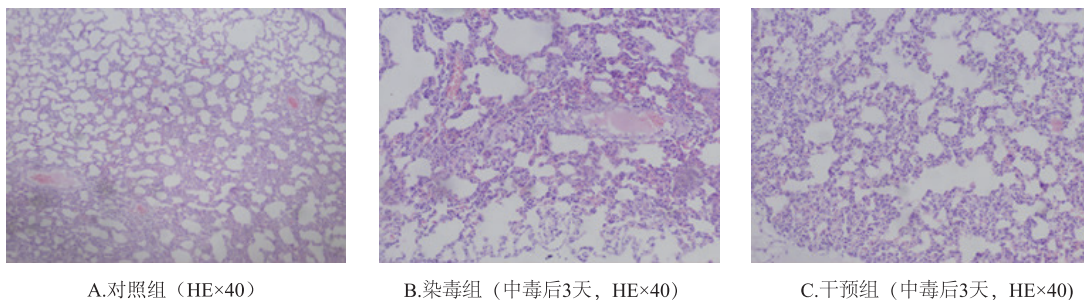
同时间点相比,染毒组、干预组大鼠 TNF- $\alpha$  水平较对照组升高( $P<0.01$ ),干预组大鼠 TNF- $\alpha$  水平较染毒组明显降低,具有统计学差异( $P<0.01$ )。见表 1。

### 2.3 各组大鼠血浆 TGF- $\beta$ 1 水平的表达

中毒组大鼠 TGF- $\beta$ 1 水平随着中毒时间的延长,在中毒后 7 天含量最高;同时间点,染毒组、干预组大鼠 TGF- $\beta$ 1 水平较对照组升高,差异具有统计学意义( $P<0.01$ );同时间点,干预组大鼠 TGF- $\beta$ 1 水平较染毒组明显降低,差异具有统计学意义( $P<0.01$ )。见表 2。

## 3 讨论

由于肺内聚胺类的物质摄取系统对百草枯的主动转运作用,中毒后百草枯大量蓄积在肺组织中,随着中毒的程度加深,中毒机体的肺组织出现上皮细胞增生、肺水肿甚至出血、纤维化等病理损伤<sup>[8]</sup>,有研究表明,TNF- $\alpha$  和 TGF- $\beta$ 1 在肺损伤过程中发挥着重要的生物学作用,TNF- $\alpha$  在百草枯导致



A.对照组 (HE×40)

B.染毒组 (中毒后3天, HE×40)

C.干预组 (中毒后3天, HE×40)

图 1 各组大鼠肺组织病理学观察

表 1 大鼠血浆 TNF-α 水平的表达(̄x±s, pg/mL)

组别	n	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
对照组	8	22.28±3.78	16.87±4.02	21.18±4.99	17.58±1.90
染毒组	32	231.21±7.89 <sup>a</sup>	435.94±7.52 <sup>a</sup>	689.39±8.08 <sup>a</sup>	985.29±2.47 <sup>a</sup>
干预组	32	97.04±3.20 <sup>ab</sup>	278.27±3.68 <sup>ab</sup>	323.00±3.08 <sup>ab</sup>	699.55±4.80 <sup>ab</sup>

注:与对照组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与染毒组比较,<sup>b</sup>P<0.01。

表 2 大鼠血浆 TGF-β1 水平的表达(̄x±s, pg/mL)

组别	n	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
对照组	8	82.28±2.78	83.87±1.02	73.18±4.99	87.58±1.92
染毒组	32	801.21±7.89 <sup>a</sup>	1185.94±7.52 <sup>a</sup>	1389.39±8.08 <sup>a</sup>	1535.29±2.47 <sup>a</sup>
干预组	32	667.04±3.20 <sup>ab</sup>	811.27±3.68 <sup>ab</sup>	902.0 ±3.08 <sup>ab</sup>	1183.55±4.80 <sup>ab</sup>

注:与对照组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与染毒组比较,<sup>b</sup>P<0.01。

的细胞网络反应中起着启动和放大的作用,并且能够激活不同的炎症细胞,加剧炎症反应对中毒机体的打击;TGF-β1 则可通过与靶细胞表面相应受体结合,开启细胞内的信号转导级联<sup>[9]</sup>,调控细胞内相关基因的表达,诱导肺纤维化的形成,最终引发呼吸衰竭。此外,隋宏等<sup>[10]</sup>观察发现中毒大鼠血浆内的 TGF-β1、PDGF、IGF-1 等细胞因子的含量与染毒剂量相关。大黄是重要的导泻剂,随着研究的深入,人们发现大黄具有减少毒物的吸收、抑制炎症因子释放以及促进中毒机体胃肠功能恢复等作用,在救治急性农药中毒中有着重要价值<sup>[4]</sup>。近年发现,乌司他丁能有效降低百草枯中毒机体的多种炎症因子的水平<sup>[11]</sup>,并在救治农药中毒的过程中逐渐得到应用。王刚等<sup>[12]</sup>给予大鼠灌胃百草枯(120 mg/kg)制备急性百草枯中毒模型,2 小时后腹腔注射 UTI 75 KU/kg,结果显示 UTI 组给药后 6 小时、24 小时、72 小时等时间点血清中 TNF-α 含量均较中毒对照组明显降低。

本实验发现,染毒组大鼠的血浆 TGF-β、TNF-α 水平较对照组明显升高,而且随着时间延长有增加的趋势,与以往研究结果相一致。大黄联合乌司他丁干预后的大鼠血浆内 TGF-β、TNF-α 含量在中毒后 1 周内明显降低,并且干预组大鼠肺病理损伤亦有明显减轻,说明大黄联合乌司他丁能够有效地减轻百草枯中毒导致的肺损伤,其机制可能与大黄促进毒物排泄、减少毒物吸收以及乌司他丁抑制炎症细胞反应、降低血浆中细胞因子的表达有关。

总之,本实验初步证实了大黄联合乌司他丁治疗方案对急性期百草枯中毒大鼠的细胞因子具有干预作用,但本研究存在样本较小、时间较短、未涉及死亡率等不足,后期将对百草枯中毒机体死亡率、血浆浓度、基因表达以及信号转导等方面进行

大样本深入探讨,以期为临床应用大黄、乌司他丁治疗百草枯中毒提供更有力的实验依据。

参 考 文 献

- [1] 赵波,营向东,张忠,等.百草枯染毒大鼠组织中中毒物含量与脏器损伤的关系[J].中华劳职业卫生病,2010,28(3):220-223.
- [2] 刘芙蓉,佟飞,田英平,等.大黄对百草枯中毒大鼠急性肺损伤保护作用的研究[J].医学研究生学报,2008,21(9):924-928.
- [3] Cui XY, Wang YL, Kokudo N, et al. Traditional Chinese medicine and related active compounds against hepatitis B virus infection[J]. Biosci Trends, 2010,4(2):39-47.
- [4] 姜善红,王占青,马玉英,等.思密达联合大黄灌胃对百草枯中毒大鼠的保护作用[J].中国中医急症,2014,23(6):1093-1095.
- [5] 孙明莉,李海峰,袁媛,等.乌司他丁对百草枯中毒大鼠肺纤维化的影响及其机制研究[J].中国危重病急救医学,2011,23(3):187-188.
- [6] 王占青,马玉英,尹彩星,等.思密达对百草枯中毒大鼠多脏器的保护作用[J].中华急诊医学杂志,2012,21(8):825-830.
- [7] 李广军,姜银松,王占青,等.百草枯中毒大鼠 TNF-α、IL-10 的表达及大黄保护作用的研究[J].现代生物医学进展,2012,12(4):649-651.
- [8] 兰超,王金柱,李莉,等.奥美沙坦酯对百草枯致大鼠肺损伤的保护作用[J].中华急诊医学杂志,2014,23(11):1222-1227.
- [9] 郑桂林,林群英,涂海建,等.特发性肺纤维化患者血清 TGF-β1、PDGF、IL-13 水平变化及相关研究[J].中国现代医生,2012,50(31):59-61.
- [10] 隋宏,营向东,楚中华,等.大鼠急性百草枯中毒血清中细胞因子的动态变化[J].毒理学杂志,2007,21(1):27-29.
- [11] 王鑫,李兵,孙桂芹,等.乌司他丁对急性百草枯中毒大鼠血浆中炎症细胞因子及 MDA、SOD 影响的研究[J].现代中西医结合杂志,2015,24(23):2527-2529.
- [12] 王刚,陈安宝,胡强,等.乌司他丁对急性百草枯中毒大鼠的影响[J].广东医学,2013,23(5):687-690.

(收稿日期:2015-11-08)

(本文编辑:韩虹娟)