

· 基础研究 ·

丹参注射液山莨菪碱联合应用预防脂肪栓塞综合征的实验研究

李翠花¹, 慕江兵^{1△}, 刘新宇²

(辽宁医学院:1. 研究生学院;2. 第一附属医院 121000)

摘要:目的 探讨丹参注射液山莨菪碱联用对脂肪栓塞综合征(FES)的预防作用。方法 选择雄性健康 SD 大鼠 100 只,按随机数字表法将大鼠分为 4 组,每组 25 只。丹参注射液组给予丹参注射液 0.4 mL/kg;山莨菪碱组给予山莨菪碱 2 mg/kg;联用组给予丹参注射液 0.2 mL/kg 加山莨菪碱 1 mg/kg 加油酸(OA) 0.2 mL/kg;模型组给予 OA 0.2 mL/kg,比较 4 组用药前及用药后 1、2、3、4 h 大鼠行动脉血氧分压(PaO₂)、血浆肿瘤坏死因子-α(TNF-α)及血清游离脂肪酸(FFA)等结果。结果 模型组、丹参注射液组、山莨菪碱组与联用组的 PaO₂、TNF-α、FFA 同时点比较差异有统计学意义(P<0.05)。结论 丹参注射液与山莨菪碱联合应用预防脂肪栓塞综合征的效果优于两种药物单独应用。

关键词: 栓塞, 脂肪; 丹参注射液; 山莨菪碱; 综合征

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.08.026

文献标识码: A

文章编号:1671-8348(2013)08-0906-03

Experimental study on Radix Salviae Miltiorrhizae Injection combined with anisodamine for preventing fat embolism syndrome

Li Cuihua¹, Mu Jiangbing^{1△}, Liu Xinyu²

(Liaoning Medical University; 1. Postgraduate College; 2. First Affiliated Hospital, Liaoning 121000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the preventive effects of Radix Salviae Miltiorrhizae(RSM) Injection combined with anisodamine on fat embolism syndrome(FES). **Methods** 100 healthy male SD rats were selected and randomly divided into four groups according to the randomized digital table, 25 cases in each group. The RSM Injection group(A) was given RSM Injection 0.4 mL/kg, the anisodamine group(B) was given anisodamine 2 mg/kg, the combination group was given RSM Injection 0.2 mL/kg combined with anisodamine 1 mg/kg and oleic acid(OA) 0.2 mL/kg, and the model group was given OA 0.2 mL/kg. The FES model was induced by tail vein injection of OA 0.2 mL/kg. PaO₂, tumor necrosis factor-α(TNF-α) and serum free fatty acid(FFA) were measured before medication and at 1, 2, 3, 4 h after medication. The morphological and pathological changes of the lung were observed. The results were compared among 4 groups. **Results** The differences of PaO₂, TNF-α and FFA at the same time point in the group D, A, B and C were statistically significant(P<0.05). **Conclusion** The effects of RSM Injection combined with anisodamine for preventing FES is superior to single use one of two drugs.

Key words: embolism, fat; Radix Salviae Miltiorrhizae Injection; anisodamine; syndrome

脂肪栓塞综合征(fat embolism syndrome, FES)是脂肪颗粒阻塞血管腔而引起一系列病理生理改变的临床综合征。多见于创伤,尤其是长骨或骨盆骨折的严重并发症,发病率为3%~33%,病死率为5%~15%。其主要症状为呼吸困难、低氧血症、无头部创伤的神经症状和皮肤黏膜出血点。至今其确切发病机制仍未完全明了。目前的学说有:机械阻塞理论、“生物化学”理论、炎症反应理论、凝集理论、细胞凋亡理论^[1]。无特异性有效治疗手段,多以积极预防及对症治疗为主。现将本研究选用丹参注射液山莨菪碱联合应用预防 FES 的实验结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材料及仪器 选择雄性健康 SD 大鼠 100 只,体质量(280±20)g,购自辽宁医学院实验动物中心;油酸(oleic acid, OA, 国药集团化学试剂有限公司);丹参注射液 10 mL/支(四川开和制药);山莨菪碱每支 10 mg(天津药业焦作有限公司);肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(武汉博士德);血气分析仪、Varian3700 气相色谱仪。

1.2 FES 大鼠模型制作 按随机数字表法将大鼠分为丹参注射液组、山莨菪碱组、丹参注射液及山莨菪碱联用组、模型组,每组 25 只,用 10%水合氯醛溶液(0.3 mL/100 g)腹腔注射麻

醉。麻醉后,将大鼠俯卧固定于手术板上,OA 0.2 mL/kg 从尾静脉注入。丹参注射液组、山莨菪碱组、联用组在给予 OA 注射的同时分别给予丹参注射液 0.4 mL/kg,山莨菪碱 2 mg/kg、丹参注射液 0.2 mL/kg 加山莨菪碱 1 mg/kg 药物的静脉注射。静脉注射药物前及注射药物后 1、2、3、4 h 各组随机抽取 5 只大鼠处死并留取血及肺组织标本。

1.3 指标检测 (1)PaO₂ 测定:各时间点颈动脉置管取血 0.5 mL 肝素抗凝,胶塞封闭针头,用 AVL995 自动血气分析仪测定;(2)血清游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)测定:自股静脉抽取肝素抗凝静脉血 1.0 mL,高速离心后,分离出血浆 0.4 mL,行血浆 FFA 分析(气相色谱法);(3)各个时间点采取静脉血用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELSA)法测定 TNF-α 含量;(4)肺组织形态学观察:各组取栓塞前及用药后 4 h 的肺组织用 10% 甲醛浸泡,逐级组织脱水后,石蜡包埋,行 HE 染色,光镜下观察。

1.4 统计学处理 应用 SPSS17.0 统计软件进行统计学数据处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 ANOVA 方差分析,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

4 组大鼠脂肪栓塞造模前、后 PaO₂ 变化、血浆 TNF-α 及血清 FFA 见表 1~3。

表 1 4 组大鼠脂肪栓塞造模前、后 PaO₂ 变化(̄x±s,mm Hg)

组别	n	造模前	造模后			
			1 h	2 h	3 h	4 h
丹参注射液组	25	91.73±4.35	75.00±5.85*	70.58±10.73*	66.83±8.18*	60.83±8.10*
山莨菪碱组	25	91.88±5.18	73.88±9.60*	71.03±3.38*	67.20±6.38*	61.13±6.90*
联用组	25	92.25±3.75	86.93±5.48	77.48±7.95	77.93±6.38	79.35±7.05
模型组	25	91.50±4.58	61.80±11.54*	56.65±7.62*	54.46±7.12*	51.07±4.12*

*:P<0.05,与联用组同时点比较。

表 2 4 组大鼠脂肪栓塞造模前、后血浆 TNF-α 的变化(̄x±s,mg/L)

组别	n	造模前	造模前			
			1 h	2 h	3 h	4 h
丹参注射液组	25	0.193±0.014	0.492±0.114*	0.556±0.137*	0.602±0.108*	0.542±0.115*
山莨菪碱组	25	0.195±0.032	0.452±0.075*	0.540±0.094*	0.528±0.068*	0.430±0.058*
联用组	25	0.198±0.041	0.300±0.051	0.348±0.069	0.322±0.070	0.272±0.071
模型组	25	0.192±0.023	0.868±0.099*	1.072±0.157*	0.904±0.071*	0.706±0.086*

*:P<0.05,与联用组同时点比较。

表 3 4 组大鼠脂肪栓塞造模前、后血清 FFA 的变化(̄x±s,ug/mL)

组别	n	栓塞前	栓塞后			
			1 h	2 h	3 h	4 h
丹参注射液组	25	175.8±12.34	327.80±89.17*	365.40±104.48*	381.60±79.62*	392.60±83.92*
山莨菪碱组	25	180.6±16.30	313.00±69.01*	366.40±87.56*	378.60±89.23*	390.40±67.67*
联用组	25	178.5±14.54	243.60±44.51	256.20±59.34	289.00±69.67	280.80±70.45
模型组	25	183.7±17.25	442.60±76.20*	478.60±70.61*	496.60±74.23*	502.40±71.70*

*:P<0.05,与联用组同时点比较。

3 讨 论

油酸在医学动物实验中常被用于制作脂肪栓塞综合征、急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrom,ARDS)模型。用油酸复制大鼠的 FES 模型组织病理学改变与人相似,是一种较成熟、可靠的方法。本实验注入 OA 量的选择参考了蔡贤华等^[2]的研究,选择了 0.2 mL/kg 为注入量。注射 OA 前 PaO₂ 为(91.50±4.57)mm Hg、注射 OA 后 1 h 时 PaO₂ 降为(61.80±11.54)mm Hg,说明 PaO₂ 变化明显。结合病理学检查见栓塞肺毛细血管内皮肿胀,血管壁增厚,肺间质和肺泡出现明显充血、水肿,大量炎症细胞及吞噬细胞浸润等改变,与陈阳等^[3]报道家兔脂肪栓塞后肺部病理变化相符,提示本实验 FES 动物模型复制成功。

FES 的病变主要在肺部,表现为急性肺损伤,进一步发展为 ARDS,临床表现以低氧血症为主。因此,目前大多数学者公认,PaO₂ 是早期诊断 FES 的可靠且敏感指标之一,减轻肺组织损伤提高 PaO₂ 是治疗 FES 的关键^[4]。FFA 可发生于任何创伤和应激性疾病,具有化学毒作用,可影响肺 II 型细胞产生表面活性物质。Nakata 等^[5]研究发现,主要由中性粒细胞介导 FFA 可使肺毛细血管通透性升高,因而发生水肿、出血、肺不张和纤维蛋白沉积,形成肺实变,使低氧血症发生恶性循环。本研究显示,脂肪栓塞后血 PaO₂ 急剧下降,血 FFA 浓度明显增加。各用药物组较模型组能不同程度地减小血 PaO₂ 的下降趋势和降低血 FFA 浓度,差异有统计学意义(P<0.05)。

联用组的效果要明显好于丹参注射液组和山莨菪碱组。组织学检查结果与之相对应,即各用组均能降低 FES 引起的肺部病理改变,联合用组肺部病变最轻。丹参注射液、山莨菪碱对 FES 均有一定的疗效,此结果与文献报道一致^[6-7]。可能是两种药物均能改善微循环,进而减轻脂肪栓在微血管区局部聚集及分解为 FFA 而产生毒性作用。复方丹参注射液能抗氧化自由基、阻止钙离子向细胞内流动、扩张血管^[8],抑制巨噬细胞产生前列腺素 E₂ 及血栓素 B,降低全血黏度、抑制血小板和中性粒细胞黏附凝集作用,促进纤维蛋白降解^[9];山莨菪碱具有扩张微血管,稳定溶酶体膜的作用,还能改善 FES 受损的血管张力,降低脂质过氧化物,从而降低肺毛细血管内通透性。此外,研究报道细胞水通道蛋白对肺水肿的形成起重要作用,水通道蛋白 1(aquaporin 1, AQP1)存在于大鼠肺泡 II 型细胞膜上,可减轻压力性肺水肿的程度^[10],AQP5 主要发现在肺泡 I 型细胞的顶膜面及气道分泌腺细胞上^[11],与肺泡 I 型上皮细胞跨膜分子转运关系密切,参与肺泡腔内液体的重吸收。丹参可调节 AQP1 表达^[12],山莨菪碱调节增加 AQP1、AQP5 的表达量^[13],加强了细胞膜的水通透性,减轻肺间质水液滞留状态及胶原纤维增生等病理改变,减轻肺水肿,改善机体缺氧状态。

Park 等^[4]研究发现,FES 患者肺内的促炎介质、炎症介质受体及其拮抗剂均增加。即 FES 患者可以出现全身性炎症反应综合征^[14-15]。因此,清除血液中参与全身性炎症反应综合

征发生、发展的炎症因子,成了目前关注的治疗热点。本研究显示,脂肪栓塞后 TNF- α 较栓塞前大量释放,各用药组均能抑制 TNF- α 的释放,与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),联用组效果优于丹参注射液组和山莨菪碱组。TNF- α 主要由巨噬细胞分泌,能诱导中性粒细胞、单核巨噬细胞分泌 IL-8、IL-6、IL-1 等炎症介质并能协同扩大其生物学效应,是介导机体炎症反应的关键因子。简文等^[16]研究山莨菪碱可抑制肺泡巨噬细胞中核因子 κ B 的活化,下调 TNF- α mRNA 的转录及蛋白的合成,巨噬细胞中核因子 κ B 是一种具有多向性转录调节作用的蛋白质因子,能与多种炎症递质基因启动子或增强子中存在的 κ B 序列结合,启动和调节其基因转录。丹参注射液中的有效成分丹参酮也有一定的抗炎、抗白细胞趋化和聚集等作用^[17],能降低炎症反应时循环中 TNF- α 的浓度^[18-19]。

综上所述,丹参注射液、山莨菪碱均具有一定的预防大鼠 FES 作用,联合用药组改善微循环和炎症反应综合征的作用更明显。可能与脂肪栓塞综合征发病机制多因素有关,两种药物联用有相加或协同的效应,阻断了 FES 发生的多个病理环节。其机制有待进一步研究证明。

参考文献:

- [1] 陆慰萱,王辰. 肺循环病学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2007:514-518.
- [2] 蔡贤华,吴璐锋. 低分子右旋糖酐与地塞米松预防脂肪栓塞综合征的实验研究[J]. 创伤外科杂志, 2011, 13(5): 434-437.
- [3] 陈阳,焦传军. 家兔肺脂肪栓塞后超微病理学观察[J]. 法医学杂志, 2011, 27(3):174-177.
- [4] Park WY, Goodman RB, Steinberg KP, et al. Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 164(10):1896-1903.
- [5] Nakata Y, Dahms TE. Triolein increases microvascular permeability in isolated perfused rabbit lungs: role of neutrophils[J]. J Trauma, 2000, 49(2):320-326.
- [6] 顾章平,马承宣,张伯勋. 丹参注射液在脂肪栓塞综合征防治中的作用[J]. 中华外科杂志, 1994, 32(11):692-695.
- [7] 周智勇,赵学琴,高富贵,等. 山莨菪碱对脂肪栓塞综合征的防治作用[J]. 中华急诊医学杂志, 2004, 13(11):742-

744.

- [8] 罗礼容,汤军,李丽,等. 复方丹参注射液对家兔油性急性肺损伤的防治作用[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(4):48-49.
- [9] 秦彩玲,刘婷,张毅,等. 复方丹参对正常家兔血浆血小板粘聚性及 TXA₂、PGI₂ 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(3):18-20.
- [10] 李涛平,申海燕,刘琳. 油酸肺损伤时肺泡 II 型上皮细胞钠水通道的研究[J]. 南方医科大学学报, 2006, 26(7): 918-935.
- [11] Ito K, Mizutani A, Kira S, et al. Effect of Ulinastatin, a human urinary trypsin inhibitor, on the oleic acid-induced acute lung injury in rats via the inhibition of activated leukocytes[J]. Injury, 2005, 36(3):387-394.
- [12] 李敏,李锋,胡波,等. 丹参对大鼠急性肺损伤的保护作用[J]. 中药材, 2007, 30(4):442-444.
- [13] 王石生,颜春松,饶伟华,等. 山莨菪碱增加急性肺损伤大鼠肺组织 AQP1 和 AQP5 表达[J]. 基础医学与临床, 2009, 29(10):1110-1112.
- [14] Pape HC, Zelle BA, Hildebrand F, et al. Reamed femoral nailing in sheep: does irrigation and aspiration of intramedullary contents alter the systemic response[J]. Bone Joint Surg Am, 2005, 87(11):2515-2522.
- [15] Stroud MH, McCarthy RE, Parham DM, et al. Fatal pulmonary fat embolism following spinal fusion surgery[J]. Pediatr Crit Care Med, 2006, 7(3):263-266.
- [16] 简文,樊爱琳,尹文,等. 山莨菪碱治疗兔创伤性急性肺损伤分子生物学机制的实验研究[J]. 第四军医大学学报, 2008, 29(11):985-987.
- [17] 沈鹰,黄清春,接力刚,等. 复方丹参治疗类风湿性疾病的研究[J]. 华南国防医学杂志, 2007, 21(6):15-18.
- [18] 罗友根. 丹参对油酸引起的急性肺损伤治疗作用的实验研究[J]. 河南职工医学院学报, 2005, 17(6):328-329.
- [19] 曹春水,黄亮. 复方丹参对早期急性肺损伤炎症介质的影响[J]. 江西医药, 2007, 42(3):208-211.

(收稿日期:2012-10-13 修回日期:2012-11-18)

(上接第 905 页)

- 超声诊断及预后评估[J]. 中华妇产科杂志, 2008, 43(10):742-745.
- [12] Garne E, Lonae M, Wellesley D, et al. congenital hydronephrosis: prenatal diagnosis and epidemiology in Europe [J]. J Pediatr Urol, 2009, 5(1):47-52.
- [13] De Bruyn R, Marks SD. Postnatal investigation of fetal renal disease [J]. Semin Fetal Neonatal Med, 2008, 13(3):133-141.
- [14] Zhan X, Tao G, Cheng L, et al. Ultrasound score: a new

method to differentiate fetal physiological hydronephrosis [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2010, 151(1):26-32.

- [15] 英特纳米(德). 胎儿异常超声诊断图谱[M]. 李辉,李胜利,宋文玲,译. 济南:山东科学技术出版社, 2009:128-129.
- [16] 周岩,唐燕. 超声诊断胎儿肾盂扩张及预后 56 例分析[J]. 宁夏医学杂志, 2010, 32(6):570-571.

(收稿日期:2012-09-24 修回日期:2012-10-29)