

• 基础研究 •

蒙脱石联合甘露醇对百草枯急性中毒大鼠早期肺间质纤维化的影响*

张 云¹,王 琰²,何亚荣¹,曹 钰^{1△}

(1. 四川大学华西医院急诊科,成都 610041;2. 吉林医药学院流行病学教研室,吉林吉林 132013)

摘要:目的 观察大鼠一次性灌胃百草枯染毒后,蒙脱石联合甘露醇对百草枯中毒大鼠肺间质纤维化的干预作用。方法 雄性 SD 大鼠 40 只,按体质量随机分为对照组(C 组),百草枯组(P 组),百草枯染毒 1 h 后治疗组(PT1 组)和 4 h 后治疗组(PT2 组)。P 组、PT1 组、PT2 组给予一次性灌胃染毒百草枯 50 mg/kg,于染毒后 1、4 h 分别给予 PT1 组、PT2 组大鼠以 7 g/kg 蒙脱石甘露醇溶液灌胃治疗,C 组及 P 组用生理盐水代替。观察大鼠一般情况变化。灌胃前后对大鼠进行跑步机训练,比较各组大鼠灌胃前、灌胃后 5、10、15 d 跑步机上掉落次数。于灌胃后第 15 天麻醉处死大鼠,收集肺组织,碱水解法测定肺组织羟脯氨酸含量,HE 染色观察大鼠肺组织病理变化。**结果** P 组、PT1 组和 PT2 组大鼠灌胃染毒后一般状况差,较对照组大鼠进食量明显降低($P<0.01$)。各组大鼠体质量增长、灌胃前在跑步机上掉落次数差异无统计学意义($P>0.05$);灌胃后 15 d,P 组大鼠跑步机上掉落次数较其余各组明显增加($P<0.05$)。各组大鼠肺组织羟脯氨酸含量总体差异显著($P<0.01$),其中,染毒各组较对照组肺组织羟脯氨酸含量明显增加($P<0.05$),P 组较 PT1、PT2 组含量也明显增加($P<0.05$)。染毒各组大鼠肺组织切片呈现不同程度的肺纤维化改变,其中 P 组纤维化最为严重。**结论** 百草枯急性中毒早期应用蒙脱石甘露醇溶液可减轻百草枯急性中毒大鼠肺间质纤维化程度。

关键词:甘露醇;肺;中毒;百草枯;蒙脱石

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.33.033

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)33-4059-03

Effects of montmorillonite and mannitol on early pulmonary fibrosis in rats with acute paraquat poisoning*

Zhang Yun¹,Wang Yan²,He Yarong¹,Cao Yu^{1△}

(1. Department of Emergency,West China Hospital of Sichuan University,Chengdu,Sichuan 610041,China;

2. Epidemiology Department of Jilin Medical College,Jilin,Jilin 132013,China)

Abstract:**Objective** To observe the intervene effects of montmorillonite powder and mannitol on rat with acute paraquat poisoning by intragastric administration. **Methods** 40 male SD rats were divided into four groups randomly,control group(C),paraquat group(P),PT1 groups were treated with montmorillonite powder and mannitol gavage after paraquat exposure one hour,PT2 group was treated after paraquat exposure four hours. P,PT1, and PT2 groups were exposed to paraquat 50 mg/kg, one and four hour later,PT1 and PT2 group rats were given 7 g/kg montmorillonite-mannitol solution respectively,C group and P group with saline instead, then to observe general state in rats. Give rats run training before and after intragastric administration,comparison the fall times from the treadmill among groups before and 5,10,15 days after administration,rats were killed in 15 th days exposed paraquat,collect their lung tissue,hydroxyproline content were measured in lung tissue of rat by alkaline hydrolysis,observe the pathological changes by HE staining in rat lungs. **Results** the general condition were poor in P,PT1 and PT2 group rats. And those mean food intakes were significantly lower than the control group($P<0.01$). there are no significant of the weight gain and the fall times from the treadmill before and 5 th,10 th after administration among four groups($P>0.05$),but P group's fall times increased significantly than the others group's at 15 th day after exposed($P<0.05$). the all group rat lung tissue hydroxyproline overall difference significant($P<0.01$),from the two-two compared results,three paraquat exposed groups higher than control group,and P group also higher than PT1 and PT2 group($P<0.05$). From the lung tissue slices,P,PT1 and PT2 group showed significant pulmonary fibrosis than C group,and the P group's was the most severe. **Conclusion** Pulmonary interstitial fibrosis may be alleviated by early use of montmorillonite powder and mannitol on paraquat poisoning rats.

Key words:mannitol;lung;poisoning;paraquat;montmorillonite

口服百草枯中毒,病程进展快,病死率高^[1-2],且无特效解毒剂,是急诊常见的急危重症。目前临床针对百草枯中毒的救治方法众多^[3-4],但仍未找到一套行之有效的方法^[5],本研究利用蒙脱石散对百草枯的吸附作用,同时配合甘露醇的加速毒物排除的导泻作用,以期找到一种救治百草枯中毒的有效方法。

1 材料与方法

1.1 材料 20%百草枯溶液由河北省保定通元精细化工有限公司生产,蒙脱石散湖南华纳大药厂有限公司生产,甘露醇注射液购于吉林科伦康乃尔制药有限公司,羟脯氨酸试剂盒购于南京建成生物工程研究所,动物跑步机(FT-200)由成都泰盟科技有限公司提供。将 30 g 蒙脱石散剂用甘露醇稀释至 100

mL,配制为 30%蒙脱石甘露醇溶液,现用现配。

1.2 实验动物及分组 雄性 SD 大鼠 40 只,体质量 150~200 g,由四川大学动物实验中心提供,实验前适应性饲养 1 周。根据体质量大小随机分为对照组(C 组)、百草枯组(P 组)、百草枯染毒 1 h 后治疗组(PT1 组)、百草枯染毒 4 h 后治疗组(PT2 组)。

1.3 实验方法

1.3.1 染毒及观察 灌胃前大鼠禁食 12 h,正常饮水,C 组以 50 mg/kg 蒸馏水灌胃,P 组、PT1、PT2 组各以 20%的百草枯溶液 50 mg/kg 灌胃染毒,染毒 1 h 后,PT1 组大鼠给予 7 g/kg 配制好的蒙脱石甘露醇溶液灌胃,PT2 组于染毒 4 h 后给予相同剂量蒙脱石甘露醇溶液灌胃。而后定时喂养,自由饮水,每

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金(30900493)。 作者简介:张云(1981~),主治医师,在读博士,主要从事中毒、心肺复苏研究。

△ 通讯作者,E-mail:dr. yu. cao@gmail. com。

日测量大鼠进食量、体质量变化及行跑步训练。

1.3.2 跑步训练 灌胃染毒前后大鼠每天做适应性跑步训练,跑步速度从 $v=10\text{ m/s}$,每只大鼠跑步 20 分/次开始,逐渐增加到 $v=20\text{ m/s}$,每只大鼠跑步 40 分/次。记录比较各组大鼠染毒前及染毒后 5、10、15 d 跑步掉落次数。

1.3.3 肺组织羟脯氨酸含量及病理检测 于染毒后第 15 天,10%水合氯醛溶液 3 mL/kg 腹腔注射麻醉处死,打开腹腔,取大鼠右肺组织以碱水解法测定羟脯氨酸含量,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。取左肺组织 4%甲醛溶液固定后石蜡包埋,苏木素-伊红(HE)染色,电子显微镜观察各组病理变化。

1.4 统计学处理 数据录入 Excel 2003,采用 SPSS17.0 软件分析。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,利用单因素方差分析和多个样本间多重比较 LSD- t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 灌胃后各组大鼠进食量和一般情况比较 整个实验过程中无大鼠意外死亡。灌胃前后对照组大鼠活泼好动,行动敏捷,精神状态佳,呼吸平稳,鼠毛色泽光亮洁净。P 组、PT1 组、PT2 组大鼠灌胃后表现为倦怠、嗜睡、活动少,张口呼吸。大鼠体质量缓慢增长,但各组体质量增长差异无统计学意义($P>0.05$)。但平均进食量 P 组、PT1 组、PT2 组较 C 组明显降低($F=13.742, P=0.000$)。

2.2 各组大鼠跑步掉落次数比较 经单因素方差分析:各组大鼠灌胃前及灌胃后 5、10 d 跑步机上掉落次数并无明显差异($P>0.05$)。但是灌胃后 15 d,组间总体比较差异有统计学意义($P=0.003$),见表 1。P 组较其余各组掉落次数明显增加。见图 1。

2.3 灌胃后对大鼠肺组织羟脯氨酸含量的影响 各组大鼠肺组织羟脯氨酸浓度分别为:(0.54 ± 0.08)、(0.85 ± 0.21)、(0.68 ± 0.10)、(0.69 ± 0.10) $\mu\text{g/mg}$ 肺湿重,总体差异有显著统计学意义($P=0.001$)。行两两比较结果提示:除 PT1 与 PT2 组之间比较差异无统计学意义外,其余各组之间差异均

有统计学意义($P<0.05$),即染毒各组较对照组肺组织羟脯氨酸浓度明显增加,P 组较 PT1、PT2 组浓度也明显增加。

表 1 各组大鼠跑步掉落次数比较($\bar{x}\pm s, n=10$)				
组别	灌胃前	灌胃后 5 d	灌胃后 10 d	灌胃后 15 d
C 组	7.00 \pm 2.79	2.50 \pm 1.09	4.00 \pm 1.96	5.00 \pm 1.41
P 组	4.67 \pm 1.37	7.10 \pm 3.21	9.50 \pm 4.68	47.90 \pm 14.25
PT1 组	10.22 \pm 2.92	4.60 \pm 2.22	4.00 \pm 1.45	7.40 \pm 2.50
PT2 组	8.20 \pm 3.17	7.90 \pm 4.01	4.30 \pm 1.45	20.10 \pm 5.54

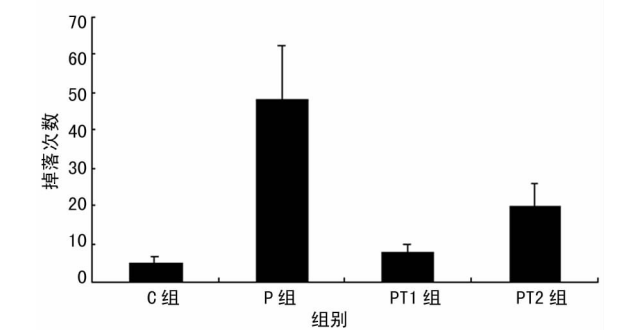
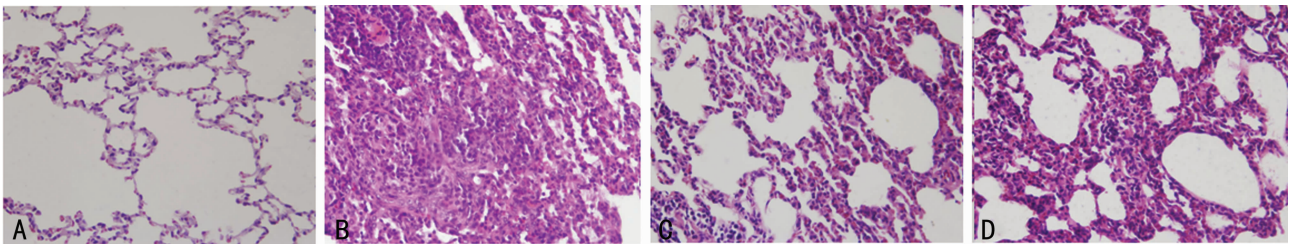


图 1 灌胃 15 d 后各组跑步机掉落次数比较

2.4 各组大鼠肺大体标本观察及肺组织病理学改变 C 组大鼠肺组织呈淡红色,质软弹性好,表面光滑均匀。P 组肺组织呈灰白色,表面欠光滑,可见散在分布凹凸不平斑点或斑片状实变灶,质地明显变硬。PT1 组和 PT2 组肺组织较苍白,表面欠光滑,有小的凹凸不平灶,质地稍硬。HE 染色可见 C 组大鼠肺组织肺泡结构清晰,肺泡壁薄,偶有少许红细胞。P 组肺泡明显萎缩塌陷,肺泡壁肺泡间隔明显增宽,有斑片状的纤维化改变。PT1 组和 PT2 组大鼠肺组织肺泡壁皆增厚,只有少数肺泡可见其轮廓,成纤维细胞少量增生。见图 2。



A:C 组;B:P 组;C:PT1 组;D:PT2 组。

图 2 各组大鼠肺组织病理学变化(HE \times 200)

3 讨论

本研究采用蒙脱石甘露醇溶液进行灌胃,观察蒙脱石颗粒能否吸附胃肠道内尚未吸收的毒物而使其失活。观察蒙脱石甘露醇溶液能否减少百草枯中毒导致的急性肺损伤,减轻肺间质纤维化的程度。

百草枯急性中毒因缺乏特效解毒药物^[6],且其导致的多脏器功能损害程度重、进展快,临床上综合治疗的疗效并不理想。因百草枯吸收入血后可在肺脏蓄积,轻、中度中毒患者的死亡原因主要是肺间质纤维化和呼吸衰竭^[7]。

临床上常见百草枯中毒患者在中毒 1 周后出现明显呼吸困难,这与百草枯急性中毒导致的肺间质纤维化多在中毒 5~9 d 后产生,2~3 周达高峰有关^[8-9]。此时,胸部 CT 影像提示肺间质纤维化改变^[10],而肺组织纤维化将严重影响肺的通气及换气功能,导致机体缺氧,从而影响机体的运动功能及对缺氧的耐受力。本实验采用跑步机的方式检测其对实验动物机体运动功能及耐力的影响。实验结果显示,各组大鼠在染毒前

及染毒后 5、10 d 跑步机上掉落次数没有明显差异,而在 15 d P 组较其余各组掉落次数明显增加。提示单纯染毒组较其余各运动功能及耐力降低,且这种降低可能与肺间质纤维化关系密切,而与百草枯中毒早期就受影响的肝脏代谢功能、心脏泵功能等关系较小。

间质纤维化的病理学改变的重要特征之一是胶原沉积,胶原蛋白中含有其他蛋白质所没有的大量羟脯氨酸,其含量的测定可以作为衡量组织胶原蛋白含量的特异性生化指标,用以判定组织纤维化的程度^[11]。本研究结果发现 PT1 组、PT2 组的肺间质纤维化程度均较 P 组明显减轻。说明蒙脱石甘露醇溶液灌胃确实可以减轻肺间质纤维化的程度,其机制可能与减少百草枯在消化道的吸收有关。有研究表明^[12-13],百草枯可被土壤中直径小于 2 μm 的颗粒及有机质吸附而迅速失活。而具有较强吸附作用的蒙脱石散是由双四面体氧化硅和单八面体氧化铝组成的直径为 1~3 μm 的颗粒,其颗粒直径与土壤中粘粒直径相当^[14]。同时甘露醇作为一种为带有 6 个羟基的

多元醇,口服在肠道基本不吸收,在常温酸性条件下不与蒙脱石散发生任何化学反应,但有促进口服毒物从肠道排除的作用。本研究也发现采用蒙脱石甘露醇溶液进行灌胃,能减轻百草枯急性中毒导致的肺间质纤维化的程度。

经口染毒 4 h 与 1 h 后给予蒙脱石甘露醇溶液的研究比较发现,在第 15 天对大鼠的运动能力及耐力方面的影响区别不明显,但 1 h 后给药与 4 h 后给药两组肺纤维化程度无明显差异。可能与百草枯在大鼠胃肠道吸收速度及吸收率较低有关。本研究中没有进一步探讨更长时间的给药对其结果的影响,也没有进一步观察给药后更长时间各组大鼠运动功能、耐力及肺间质纤维化程度的变化,另外,如果能动态观察各组大鼠动脉血气的变化情况,将更有助于判断该治疗方案的疗效。但可以提示,积极的消化道毒物处理可在一定程度上减轻百草枯急性中毒所致的肺间质纤维化,而不要因为中毒时间稍长,放弃消化道毒物的清除。

综上所述,从运动能力及耐力、肺组织羟脯氨酸含量及病理切片均提示蒙脱石甘露醇溶液对百草枯中毒大鼠肺间质纤维化及由此可能影响的运动能力及耐力有一定的改善作用,对肺损伤有一定的保护作用,虽不能完全阻止肺纤维化的发生和发展,但可延缓肺间质纤维化的进程,减轻纤维化的程度,对百草枯急性中毒救治有积极作用。可以作为百草枯急性中毒综合救治一项有效的早期干预措施。

参考文献:

- [1] 王伯良,涂艳阳,仲月霞,等.百草枯致大鼠多脏器损害的观察[J].中华急诊医学杂志,2010,19(12):1296-1299.
- [2] Cory-Slechta DA. Studying toxicants as single chemicals: does this strategy adequately identify neurotoxic risk [J]. Neurotoxicology,2005,26(4):491-510.
- [3] 李国强,魏路清,刘阳,等.持续血浆灌流清除百草枯中毒患者血中百草枯的临床研究[J].中国危重病急救医学,2011,23(10):588-592.
- [4] Lin JL,Chen KH,Huang WH,et al. Improved survival in

- severe paraquat poisoning with repeated pulse therapy of cyclophosphamide and steroids[J]. Intensive Care Med, 2011,37(6):1006-1013.
- [5] 王永进,王泽惠.百草枯中毒治疗的研究进展[J].中国急救医学,2003,23(6):404-406.
- [6] Posecion NC,Ostrea EM,Bielawski DM. Quantitative determination of paraquat in meconium by sodium borohydride-nickel chloride chemical reduction and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,2008,862(1/2):93-99.
- [7] 刘峰,管向东,张忠臣,等.百草枯中毒急性肺损伤抗凝治疗的实验研究[J].中华劳动卫生职业病杂志,2012,30(3):190-193.
- [8] 王泽惠,王永进,侯云生,等.阿魏酸钠对百草枯中毒大鼠急性肺损伤的保护作用[J].中华急诊医学杂志,2006,15(7):599-601.
- [9] Li LR,Sydenham E,Chaudhary B,et al. Glucocorticoid with cyclophosphamide for paraquat-induced lung fibrosis [J]. Coch Dat Sys Rev,2012,7(10):CD008084.
- [10] Neves FF,Sousa RB,Pazin-Filho A,et al. Severe paraquat poisoning:clinical and radiological findings in a survivor [J]. J Bra Dneumol,2010,36(4):513-516.
- [11] 刘瑞,李成刚,梁欣,等.博来霉素诱导大鼠肺纤维化过程中羟脯氨酸及氧化应激指标的变化[J].第四军医大学学报,2004,25(23):2210-2212.
- [12] 张朝贤,钱益新,付仲文,等.百草枯生产工艺改进及应用前景[J].植物保护,1999,25(1):41-43.
- [13] 郑文,唐文浩.土壤粒度与含水量对太阳光降解百草枯的影响[J].安徽农业科学,2007,35(8):2370-2371.
- [14] 常威,何忠芳.蒙脱石散对水溶性维生素吸收的影响[J].兰州医学院学报,2004,30(1):17-19.

(收稿日期:2013-07-20 修回日期:2013-08-17)

(上接第 4058 页)

- diseases[J]. Antioxid Redox Signal,2011,15(4):949-965.
- [3] Tripathy D,Sanchez A,Yin X,et al. Thrombin,a mediator of cerebrovascular inflammation in AD and hypoxia[J]. Front Aging Neurosci,2013,5(1):19-23.
- [4] Cooper CR,Chay CH,Gendernalik JD,et al. Stromal factors involved in prostate carcinoma metastasis to bone [J]. Cancer,2003,97(3 Suppl):S739-747.
- [5] Caballero S,Hazra S,Bhatwadekar A,et al. Circulating mononuclear progenitor cells: differential roles for subpopulations in repair of retinal vascular injury[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2013,54(4):3000-3009.
- [6] Dragneva G,Korpisalo P,Herttuala S. Promoting blood vessel growth in ischemic diseases:challenges in translating preclinical potential into clinical success [J]. Dis Model Mech,2013,6(2):312-322.
- [7] Young KC,Torres E,Hatzistergos KE. Inhibition of the SDF-1/CXCR4 axis attenuates neonatal hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. Circ Res,2009,104(11):1293-1301.
- [8] Wang YB,Liu YF,Lu XT,et al. Rehmannia glutinosa extract activates endothelial progenitor cells in a rat model

- of myocardial infarction through a SDF-1 α /CXCR4 cascade[J]. PLoS One,2013,8(1):e54303.
- [9] Huang NF,Dewi RE,Okogbaa J,et al. Chemotaxis of human induced pluripotent stem cell-derived endothelial cells [J]. Am J Transl Res,2013,5(5):510-520.
- [10] Isabelle P,David J,Shahin R. The SDF-1-CXCR4 signaling pathway:a molecular hub modulating neo-angiogenesis[J]. Trends Immunol,2007,28(3):299-307.
- [11] Garcia-Lopez MT,Gutierrez-Rodriguez M,Herranz R. Thrombin-activated receptors: promising targets for cancer therapy [J]. Curr Med Chem,2010,17(2):109-128.
- [12] Zhang C,Srinivasan Y,Arlow DH,et al. High-resolution crystal structure of human protease-activated receptor 1 [J]. Nature,2012,492(7429):387-392.
- [13] Braeuer RR,Zigler M,Villares GJ,et al. Transcriptional control of melanoma metastasis: the importance of the tumor microenvironment[J]. Semin Cancer Biol,2011,21(2):83-88.
- [14] Soh UJ,Dores MR,Chen B,et al. Signal transduction by protease activated receptors [J]. Br J Pharmacol,2010,160(2):191-203.

(收稿日期:2013-06-27 修回日期:2013-07-18)