

# 长期雾化吸入4种非雾化剂型药物对健康SD大鼠肺组织的影响<sup>△</sup>

唐荣国<sup>1\*</sup>, 赫倩<sup>1</sup>, 付磊<sup>1</sup>, 许昌业<sup>1</sup>, 王秀娟<sup>2</sup>, 李雄<sup>1</sup>, 欧维琳<sup>1#</sup>(1. 桂林医学院附属医院儿科, 广西桂林 541001; 2. 桂林医学院附属医院检验科, 广西桂林 541001)

中图分类号 R725.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)09-1214-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.09.13

**摘要** 目的: 研究长期雾化吸入4种非雾化剂型药物对健康SD大鼠肺组织的损伤情况, 评价其雾化吸入的安全性。方法: 将40只健康SD大鼠(♂)按随机数字表法分为8组, 分别为空白对照组、生理盐水组(溶剂对照)、布地奈德组(雾化剂型药物对照, 0.1 g/L)、二氧化硅组(肺损伤药物对照, 40 g/L)和4种非雾化剂型药物组[定喘汤组(15 g/mL, 以生药量计)、头孢曲松组(200 g/L)、清开灵组(原液)和痰热清组(原液)], 每组5只。除空白对照组大鼠不作处理外, 其余各组大鼠均雾化吸入给药, 给药体积均为10 mL, 每天给药2次, 连续给药56 d。给药结束后, 对其外周血中白细胞进行分类、计数以及对支气管肺泡灌洗液中白细胞进行计数; 苏木精-伊红染色观察其肺组织病理变化并进行尘细胞计数; 免疫组化法检测其肺组织中白细胞分化抗原163(CD163)表达水平。结果: 各组大鼠外周血中白细胞分类主要有淋巴细胞和中性粒细胞, 其中又以淋巴细胞为主。与空白对照组比较, 生理盐水组大鼠外周血中白细胞、淋巴细胞、中性粒细胞计数和肺泡灌洗液中白细胞计数以及肺组织中尘细胞计数差异均无统计学意义( $P>0.05$ ); 支气管及肺组织结构完整, CD163表达为阴性。与生理盐水组比较, 布地奈德组大鼠上述指标差异均无统计学意义( $P>0.05$ ), 支气管及肺组织结构完整, CD163表达为阴性; 而其余5组大鼠外周血中白细胞、淋巴细胞、中性粒细胞计数和支气管肺泡灌洗液中白细胞计数以及肺组织中尘细胞计数均显著升高( $P<0.05$ ); 肺组织发生不同程度的肺泡壁增厚、肺泡间质水肿等病理变化, CD163表达均为阳性或强阳性。结论: 4种非雾化剂型药物长期雾化吸入后可引起健康SD大鼠肺组织不同程度的病理改变, 炎症细胞计数升高, 肺泡中出现尘细胞。

**关键词** 雾化吸入; 非雾化剂型药物; 肺损伤; 安全性; 大鼠

## Effects of Long-term Aerosol Inhalation of 4 Kinds of Non-aerosol Drugs to Lung Tissue of Healthy SD Rats

TANG Rongguo<sup>1</sup>, HE Qian<sup>1</sup>, FU Lei<sup>1</sup>, XU Changye<sup>1</sup>, WANG Xiujuan<sup>2</sup>, LI Xiong<sup>1</sup>, OU Weilin<sup>1</sup> (1. Dept. of Pediatrics, the Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guangxi Guilin 541001, China; 2. Dept. of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guangxi Guilin 541001, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study lung tissue injury induced by long-term aerosol inhalation of 4 kinds of non-aerosol drugs in healthy SD rats, and to evaluate the safety of aerosol inhalation of non-aerosol drugs. METHODS: Totally 40 healthy SD rats (♂) were randomly divided into 8 group, i.e. blank control group, normal saline group (solvent control), budesonide group (non-aerosol drug control, 0.1 g/L), silicon dioxide group (lung injury drug control, 40 g/L) and 4 kinds of non-aerosol drugs [Dingchuan decoction group (15 g/mL, calculated by crude drug), ceftriaxone group (200 g/L), Qingkailing group (stoste) and Tangreqing group (stoste)], with 5 rats in each group. Except that blank control group didn't received any treatment, other groups received aerosol inhalation, 10 mL, twice a day, for consecutive 56 days. After medication, the number of white blood cells in peripheral blood were counted and classified, and the number of white blood cells in bronchus alveolar lavage fluid were counted. The pathological changes of lung tissue were observed by HE staining and the number of dust cells was counted. The expression of leukocyte differentiation antigen 163 (CD163) in lung tissue were determined by immunohistochemical method. RESULTS: The white blood cells in peripheral blood mainly included lymphocyte and neutrophil, of which lymphocyte is the main one. Compared with blank control group, there was no statistical significance in the number of white blood cells, lymphocyte or neutrophil in peripheral blood, the number of white blood cells in alveolar lavage fluid or the number of dust cells in lung tissue of rats in normal saline group ( $P>0.05$ ); the structures of bronchus and lung tissue were intact, and the expression of CD163 was negative.

<sup>△</sup> 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81360248); 广西壮族自治区自然科学基金资助项目(No.2014GXNSFAA118171)

\* 住院医师, 硕士研究生。研究方向: 儿童呼吸系统疾病的基础与临床。E-mail: 466121217@qq.com

# 通信作者: 主任医师, 教授, 硕士。研究方向: 儿童呼吸系统疾病的基础与临床。E-mail: ouweilin@163.com

Compared with normal saline group, there was no statistical significance in the above indexed of rats in budesonide group ( $P>0.05$ ), the structures of bronchus and lung tissue were intact, and the expression of CD163 was negative, while the number of white blood cells, lymphocyte or neutrophil in peripheral blood, the number of white blood cells in alveolar

lavage fluid or the number of dust cells in lung tissue of rats in other 5 groups were all increased significantly ( $P < 0.05$ ); alveolar wall thickening and alveolar interstitial edema occurred in different degrees in lung tissue. The expression of CD163 was positive or strongly positive. CONCLUSIONS: The long-term aerosol inhalation of 4 kinds of non-aerosol drugs can induce pathological changes of lung tissue and increase the number of inflammatory cell and dust cell in alveolin in healthy SD rats.

**KEYWORDS** Aerosol inhalation; Non-aerosol drugs; Lung injury; Safety; Rat

呼吸系统疾病是我国城乡居民中最常见、病死率最高的疾病,而雾化吸入疗法是呼吸系统相关疾病的重要治疗手段,与口服、静脉和肌肉给药相比,雾化吸入疗法因药物直接作用于靶器官,具有起效迅速、疗效佳、全身不良反应少、不需要患者刻意配合等优势,被国内外广泛应用<sup>[1]</sup>。雾化吸入疗法常用的药品有吸入型糖皮质激素和支气管扩张剂,包括布地奈德、沙丁胺醇、特布他林、异丙托溴铵等<sup>[2]</sup>。但在我国临床中,除了上述药品外,将抗生素、中药注射剂及中药汤剂等用于雾化吸入治疗呼吸道疾病也很常见,如张永进<sup>[3]</sup>、刘茜<sup>[4]</sup>、周晓楠<sup>[5]</sup>、陈秀芳<sup>[6]</sup>等分别报道了雾化吸入头孢曲松(抗生素)、定喘汤(中药汤剂)及痰热清注射液、清开灵注射液(中药注射剂)治疗呼吸道疾病取得了较好的临床疗效,但均未进行安全性研究。

目前,对长期雾化吸入疗法的安全性研究多以雾化剂型的糖皮质激素为代表药物,安全性研究的指标多在生长发育、骨代谢以及肾上腺皮质功能等方面<sup>[7]</sup>。其他非雾化剂型药物雾化吸入对肺组织的安全性研究多数是短期雾化,雾化时间多在5~7 d,安全性研究指标多在对呼吸系统黏膜的刺激性方面,而非雾化剂型药物长期雾化吸入对肺损伤研究的报道则很少<sup>[8]</sup>。因非雾化剂型药物含有部分不溶性微粒,类似细颗粒物2.5 (PM<sub>2.5</sub>),通过雾化吸入到达肺部,可能对肺组织产生一定影响。所以笔者选用临床上比较常用的雾化剂型药物和几种非雾化剂型药物(类别包括抗生素、中药汤剂、中药注射剂)长期雾化吸入,观察其对健康SD大鼠肺组织的影响,探讨非雾化剂型药物雾化吸入的安全性,为临床合理使用雾化药物提供实验依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

NE-C28压缩式吸入器[欧姆龙自动化(中国)有限公司];CX21显微镜(日本奥林巴斯公司);DT5-6B医用离心机(北京时代北利离心机有限公司);PPTHK-21B摊片烘片烤片机(上海精密仪表有限公司);2235轮转式切片机(上海名元实业有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

清开灵注射液(广州白云山明兴制药有限公司,批号:160821,规格:10 mL);布地奈德混悬液(商品名普美克令舒,澳大利亚阿斯利康公司,批号:LOT323881,规格:1 mg);痰热清注射液(上海凯宝药业股份有限公司,批号:1701315,规格:10 mL);二氧化硅(美国Sigma公司,

批号:806765);注射用头孢曲松钠(山东鲁抗医药股份有限公司,批号:161104,规格:1.0 g);0.9%氯化钠注射液(武汉滨湖双鹤药业有限责任公司,批号:161018707,规格:100 mL);苏子、黄芩、甘草、桑白皮等九味制备定喘汤的中药材均购自桂林医学院附属医院中药房;兔单白细胞分化抗原163(CD163)[艾博抗(上海)贸易有限公司,批号:ab182422];二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(福州迈新生物技术开发公司,批号:ZLI-9018)。

### 1.3 动物

健康SD大鼠40只,♂,清洁级,体质量(200±20)g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2016-0002。各组实验大鼠在桂林医学院动物实验中心饲养,保持室温为22~26℃、相对湿度为40%~60%,自然光线照明,通风良好,任其自由饮水、摄食,垫料隔日更换1次。在实验开始前3天进行适应性饲养。

## 2 方法

### 2.1 药液的制备

(1)定喘汤。据《摄生众妙方》<sup>[9]</sup>记载的定喘汤方剂组成:苏子6g、黄芩6g、甘草3g、桑白皮3g、杏仁6g、半夏9g、麻黄9g、款冬花9g和白果9g。按5倍方剂量称取各药材,加水1 000 mL,煮沸后文火煎至100 mL,过滤后药液留用;药渣重复加水1 000 mL再次如上煎煮。将2次药液(共200 mL)混合后去药渣,过滤浓缩,制成雾化吸入剂20 mL(每1 mL药液中含生药量为15 g),灭菌后置于4℃冰箱内保存,备用。每天雾化的中药液当天煎煮配制。(2)布地奈德雾化溶液。将规格为1 mg/2 mL的布地奈德混悬液2 mL与0.9%氯化钠注射液8 mL混合均匀,制备成质量浓度为0.1 g/L的雾化溶液,共10 mL。(3)头孢曲松雾化溶液。将2 g注射用头孢曲松钠粉末溶于0.9%氯化钠注射液中,制备成质量浓度为200 g/L的雾化溶液,共10 mL。(4)二氧化硅雾化溶液。取二氧化硅400 mg溶于0.9%氯化钠注射液中,制备成质量浓度为40 g/L的雾化溶液,共10 mL。

### 2.2 分组与给药

将40只大鼠按照随机数字表法分为8组,即空白对照组(不作处理)、生理盐水组(溶剂对照,0.9%氯化钠注射液)、布地奈德组(雾化剂型药物对照)、定喘汤组(非雾化剂型中药汤剂)、头孢曲松组(非雾化剂型抗菌药物)、清开灵组(非雾化剂型中药注射剂,原液)、痰热清组(非雾化剂型中药注射剂,原液)和二氧化硅组(肺损

伤对照药物),每组5只。参考文献方法<sup>[10-11]</sup>并改良后进行雾化给药:除空白对照组外,将其余各组大鼠放入自制的玻璃雾化缸中,缸相对密封,将雾管对准大鼠鼻面部并固定,向压缩雾化器药杯中分别加入相应药液,给药体积均为10 mL。从雾化开始到结束观察大鼠的精神状态、呼吸情况及活动情况。每天雾化给药2次,持续给药56 d<sup>[12-14]</sup>。

### 2.3 外周血中白细胞分类及计数

末次雾化给药1 h后,摘眼球采血,将其中一管外周血样本于室温下静置1 h后,1 000 r/min离心10 min,备用。在另一管外周血样本中取20  $\mu$ L全血,加入到0.38 mL 2%冰醋酸中稀释,待红细胞充分破坏后,充池改良牛鲍计数板中,静置5 min后在低倍镜下进行细胞计数,计数池内四角4个大方格内白细胞总数,根据白细胞数( $L^{-1}$ )=四个大方格内的白细胞总数 $\div 4 \times 10 \times 20 \times 10^6$ 计算出最后结果,压线细胞计数时数上不数下、数左不数右<sup>[15]</sup>。取1滴全血在载玻片上涂片,将血涂片用瑞特染液染色,冲洗干净,自然干燥后待用。选择血涂片体、尾交界处细胞分布均匀、着色良好的区域,滴加香柏油1滴,按一定的方向顺序对所见的每个白细胞进行分类,并用白细胞计数器做好记录,共计数100个白细胞。按分类后细胞所占比例计算出各细胞总数。

### 2.4 支气管肺泡灌洗液中的白细胞计数

采血后过量麻醉处死大鼠,打开胸腔后留取左肺组织,剥离右肺。用磷酸盐缓冲液(PBS)灌洗右肺3次,每次3 mL,使支气管肺泡灌洗液(BALF)的回收率 $> 80\%$ ,然后以1 000 r/min离心10 min,弃上清得到沉淀细胞。用50  $\mu$ L的PBS重悬细胞沉淀,取出10  $\mu$ L的重悬液加入90  $\mu$ L Tris-氯化铵红细胞裂解液(Tris-NHCl<sub>4</sub>)裂解红细胞1~2 min后,取裂解后溶液10  $\mu$ L进行白细胞计数。

### 2.5 肺组织病理学观察及尘细胞计数

取大鼠左肺组织,置于10%中性福尔马林中固定24 h,常规梯度乙醇(100%乙醇、95%乙醇、80%乙醇)脱水,自来水冲洗;苏木精染色5~10 min,自来水冲洗;在0.5%盐酸-乙醇溶液中分化1~2 s,温水浸泡冲洗;置于伊红染液中染色30 s,自来水冲洗;分别在95%乙醇、95%乙醇、100%乙醇、100%乙醇中依次脱水,透明,切片烘干,封片,置于显微镜下观察肺组织病理学变化,从每组中取1张片,通过观察10个不同高倍( $\times 400$ )视野下的尘细胞并对其进行计数,最后求平均值。

### 2.6 肺组织中CD163表达检测

采用免疫组化法。常规制备组织玻片后,脱蜡至水,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液孵育后高压热修复,加入山羊血清孵育,加CD163抗体(1:500),4  $^{\circ}$ C孵育过夜,按照试剂盒说明书进行二抗孵育及DAB显色,常规苏木精复染、盐酸乙醇分化液分化、梯度乙醇脱水、二甲苯透明后,中性

树脂封片,在高倍( $\times 400$ )视野下观察CD163阳性表达细胞百分比,每张切片随机选取5个不重叠视野。以肺组织切片中细胞核或细胞质中出现棕黄色颗粒为阳性表达,根据阳性细胞百分比评分和细胞的染色强弱评分的总得分来综合判定阳性表达情况。阳性细胞的百分比评分标准: $< 1\%$ ,计0分; $1\% \sim 10\%$ ,计1分; $11\% \sim 30\%$ ,计2分; $31\% \sim 60\%$ ,计3分; $> 60\%$ ,计4分。细胞的染色强弱评分标准:基本不着色,计0分;淡黄色,计1分;黄色或棕褐色,计2分;深棕色,计3分。阳性表达情况:总得分0~1分,阴性(-);总得分2~3分,弱阳性(1+);总得分4~5分,阳性(2+);总得分6~7分,强阳性(3+)<sup>[16]</sup>。所有肺组织病理改变观察均由本课题组内两位成员分别负责阅片,其中一位为病理科主任医师。

### 2.7 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行统计分析。对所有计量资料行正态分布检验,若符合正态分布,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,方差齐者采用LSD法进行组间两两比较,不齐者采用Dunnett's *T*3检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 大鼠行为学观察结果

实验阶段8组大鼠均无死亡情况。每次给药后,除空白对照组、生理盐水组、布地奈德组外,其余各组大鼠均出现不同程度的面部搔痒、抓鼻、毛发竖立等表现,且随着雾化时间的延长大鼠相应症状愈加明显,但呼吸无明显改变。

### 3.2 外周血及BALF中细胞分类、计数结果

各组大鼠外周血中白细胞主要有淋巴细胞和中性粒细胞,其中以淋巴细胞为主。与空白对照组比较,生理盐水组大鼠外周血中白细胞、淋巴细胞和中性粒细胞计数以及BALF中白细胞计数差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );与生理盐水组比较,布地奈德组大鼠外周血中白细胞、淋巴细胞、中性粒细胞计数以及BALF中白细胞计数差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),而其余各组大鼠外周血中白细胞、淋巴细胞、中性粒细胞计数以及BALF中白细胞计数均显著升高( $P < 0.05$ )。各组大鼠外周血中白细胞分类计数及BALF中白细胞计数结果见表1。

### 3.3 肺组织HE染色病理学改变观察及尘细胞计数结果

3.3.1 HE染色观察结果 空白对照组、生理盐水组和布地奈德组大鼠支气管及肺组织结构均完整;其他各组大鼠肺组织均有不同程度的肺泡壁增厚,肺泡间质水肿,肺泡腔及肺间质可见数量不等的尘细胞,淋巴细胞增多。其中以二氧化硅组大鼠病变最明显,定喘汤组次之。此外,清开灵组大鼠肺间质厚度不一,肺泡腔少量充血,可见尘细胞及大量淋巴细胞聚集;痰热清组大鼠肺间质充血,肺泡间质可见少量水肿液,支气管管壁纤

毛排列不整齐,出现断裂,淋巴细胞明显增多、散在分布。各组大鼠肺组织切片HE染色观察结果见图1。

表1 各组大鼠细胞计数结果( $\bar{x} \pm s, n=5, \times 10^9 L^{-1}$ )  
Tab 1 The number of cells of rats in each group( $\bar{x} \pm s, n=5, \times 10^9 L^{-1}$ )

组别	外周血中细胞计数			BALF中白细胞计数
	白细胞	淋巴细胞	中性粒细胞	
空白对照组	3.96±0.32	3.57±0.31	0.28±0.08	2.16±0.93
生理盐水组	4.66±0.52	4.27±0.61	0.49±0.32	3.94±0.6
布地奈德组	4.96±0.71	4.40±1.03	0.46±0.36	4.72±0.61
头孢曲松组	8.32±0.89**	6.55±0.43**	0.64±0.17**	25.54±1.09**
定喘汤组	8.98±0.97**	8.19±1.02**	0.86±0.42**	61.00±4.35**
清开灵组	7.44±0.52**	6.61±0.73**	0.59±0.38**	38.94±4.17**
痰热清组	6.86±0.51**	6.23±0.70**	0.56±0.42**	22.78±2.53**
二氧化硅组	12.08±1.51**	11.10±1.37**	1.40±0.69**	66.06±6.08**
F	42.546	33.898	3.021	248.378
P	<0.01	<0.01	0.015	<0.01

注:与空白对照组比较,\* $P<0.05$ ;与生理盐水组比较,\*\* $P<0.05$

Note: vs. blank control group, \* $P<0.05$ ; vs. normal saline group, \*\* $P<0.05$

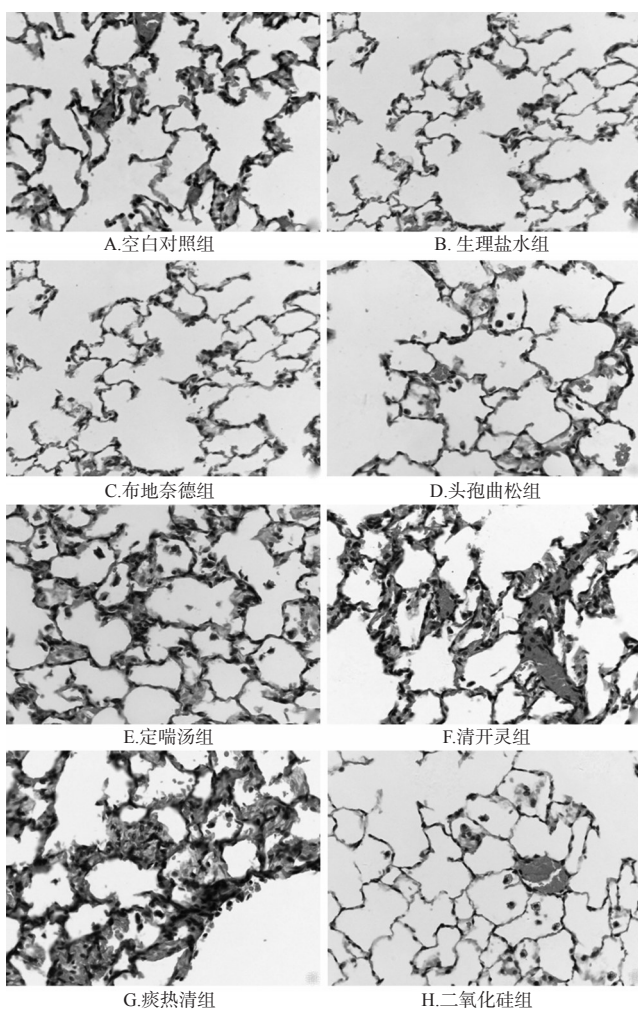


图1 各组大鼠肺组织切片HE染色结果( $\times 400$ )

Fig 1 HE staining of lung tissue sections of rats in each group( $\times 400$ )

3.3.2 尘细胞计数结果 与空白对照组比较,生理盐水

组大鼠肺组织中尘细胞计数差异均无统计学意义( $P>0.05$ );与生理盐水组比较,布地奈德组大鼠肺组织中尘细胞计数差异无统计学意义( $P>0.05$ ),而其余5组大鼠肺组织中尘细胞计数均显著升高( $P<0.05$ )。各组大鼠肺组织中尘细胞计数结果见表2。

表2 各组大鼠肺组织中尘细胞计数结果( $\bar{x} \pm s, n=5$ )  
Tab 2 The number of dust cells in lung tissue of rats in each group( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	尘细胞计数,个/高倍视野
空白对照组	13±3.5
生理盐水组	29±4.1
布地奈德组	28±4.9
头孢曲松组	173±26.9**
定喘汤组	299±12.8**
清开灵组	175±23.5**
痰热清组	90±15.2**
二氧化硅组	392±34.0**
F	212.669
P	0.01

注:与空白对照组比较,\* $P<0.05$ ;与生理盐水组比较,\*\* $P<0.05$

Note: vs. blank control group, \* $P<0.05$ ; vs. normal saline group, \*\* $P<0.05$

### 3.4 肺组织中CD163表达结果

空白对照组、生理盐水组及布地奈德组大鼠肺组织中未见CD163表达,生理盐水组与空白对照组以及布地奈德组与生理盐水组间比较总评分差异均无统计学意义( $P>0.05$ );清开灵组、头孢曲松组、痰热清组大鼠肺组织中CD163均呈阳性表达,二氧化硅组及定喘汤组大鼠肺组织中CD163均呈强阳性表达,以上5组的总评分较生理盐水组均显著升高( $P<0.05$ )。各组大鼠肺组织中免疫组化图见图2,CD163表达测定结果见表3。

### 4 讨论

雾化吸入给药通过呼吸能直接作用于患部,使到达患部的药物分布均匀,可增加病灶的药物浓度,减少体内药物代谢对人体的影响,缩短起效时间,是一种经济、简便的给药方式<sup>[17]</sup>。因雾化吸入糖皮质激素具有疗效可靠、安全性良好和易操作等特点,不仅可用于支气管哮喘的长期控制和急性发作,也可用于急性喉气管支气管炎、肺炎支原体感染等其他呼吸系统疾病的治疗<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,空白对照组、生理盐水组、布地奈德组大鼠支气管及肺组织结构完整,肺组织病理切片免疫组化染色未见CD163表达,布地奈德组大鼠外周血及BALF中白细胞计数与生理盐水组比较差异无统计学意义,提示吸入型糖皮质激素类药物布地奈德对SD大鼠肺组织是安全的。

美国FDA于1997年批准了妥布霉素吸入剂上市,但只用于治疗囊性纤维变性患者因铜绿假单胞菌引起的肺部感染,可降低细菌计数、减少痰液量、改善肺通气

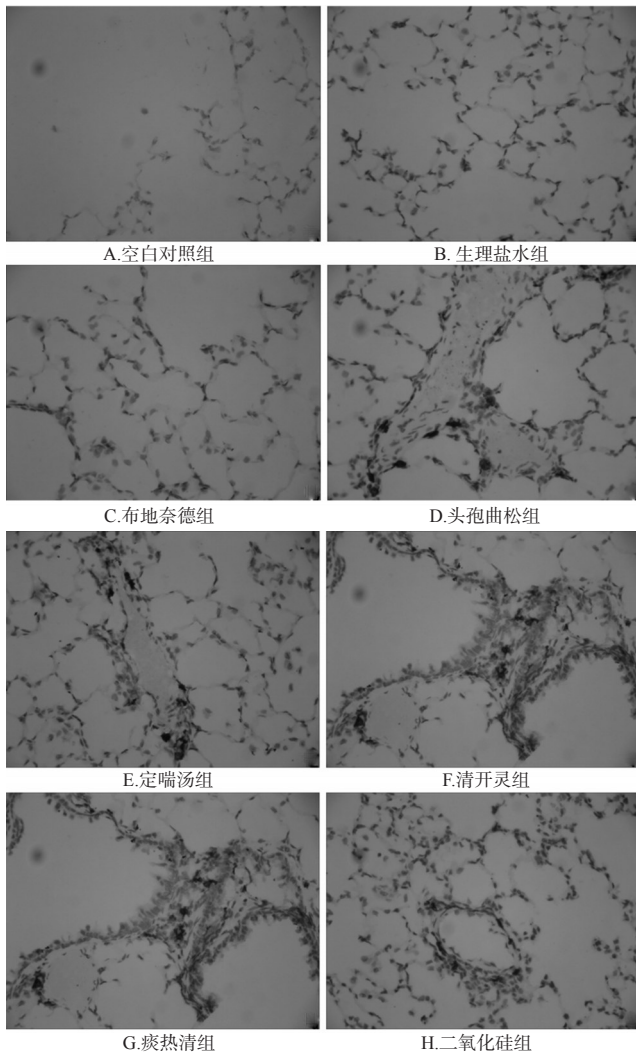


图2 各组大鼠肺组织CD163检测的免疫组化染色图( $\times 400$ )

Fig 2 Immunohistochemical staining of CD163 expression detection in lung tissues of rats in each group( $\times 400$ )

表3 各组大鼠肺组织中CD163表达结果( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Tab 3 The expression of CD163 in lung tissue of rats in each group( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	总评分	表达结果
空白对照组	0.6 $\pm$ 0.49	阴性
生理盐水组	0.8 $\pm$ 0.40	阴性
布地奈德组	0.4 $\pm$ 0.49	阴性
头孢曲松组	4.0 $\pm$ 0.63**	阳性
定喘汤组	6.4 $\pm$ 0.49**	强阳性
清开灵组	4.8 $\pm$ 0.75**	阳性
痰热清组	5.0 $\pm$ 0.63**	阳性
二氧化硅组	6.8 $\pm$ 0.40**	强阳性
F	92.800	
P	0.01	

注:与空白对照组比较,\* $P < 0.05$ ;与生理盐水组比较,\*\* $P < 0.05$

Note: vs. blank control group, \* $P < 0.05$ ; vs. normal saline group, \*\* $P < 0.05$

功能<sup>[19]</sup>。临床上用于雾化吸入的抗菌药物有 $\beta$ -内酰胺类的头孢曲松、氨基糖苷类、抗真菌药物等<sup>[20]</sup>。我国《雾化吸入疗法在呼吸疾病中的应用专家共识》<sup>[1]</sup>指出,由于目前我国尚无专供雾化吸入的抗菌药物制剂,不推荐以静脉药物替代雾化制剂使用。但在我国临床实际中,关于应用抗生素雾化吸入治疗呼吸道感染性疾病的文献很多,均报道取得良好的疗效,而关于雾化吸入抗生素的安全性研究则未见报道。本研究结果显示,头孢曲松组大鼠肺组织HE染色后可见肺泡壁增厚,肺泡间质水肿,肺泡腔及肺间质可见数量不等的尘细胞,淋巴细胞增多。该结果提示,将抗菌药物头孢曲松雾化吸入给药,会造成大鼠肺组织病变。

20世纪80年代以来,国内用中药雾化吸入进行临床诊疗及临床研究较为广泛,大多认为中药雾化吸入治疗呼吸系统疾病效果确定<sup>[21]</sup>。有研究显示,注射剂除了药物成分还含有各种表面活性剂、防腐剂、抗氧化剂及药物溶解剂等辅料,这些辅料静脉注射有可能会引起过敏、溶血等不良反应,还可能诱发哮喘发作<sup>[22]</sup>。也有报道指出,注射剂在生产和使用过程中可产生或混入粒径1~50  $\mu\text{m}$ 的微粒杂质,这些不溶性微粒进入血管有可能引发血栓、肉芽肿、炎症反应等<sup>[23]</sup>。本研究结果显示,雾化吸入中药注射剂消开灵和痰热清后大鼠肺间质厚度不一,肺泡腔少量充血,可见尘细胞及大量淋巴细胞聚集,这提示静脉用中药注射剂用于雾化给药会使肺组织产生一定的病变。这些肺组织的病变,是药品本身的化学成分还是药品的添加剂,亦或者是药品的pH值、渗透压等理化性状造成的,还需要进一步研究。

与中药注射剂相比,中药汤剂的组成更为复杂,少则几味多则数十味药材,有形成分多并且许多成分不明,煎成的汤剂中肉眼即可见到大量的不溶性颗粒。Ghio AJ等<sup>[24]</sup>研究发现,给予38名正常健康志愿者吸入大气污染颗粒物后,BALF中炎性细胞计数明显增多。在本研究中,定喘汤中含有微粒数最多,还有肉眼可见的微粒。HE染色结果也显示,定喘汤组大鼠肺组织病理改变最明显,尘细胞计数最多。可见,中药汤剂用于雾化会对肺组织产生一定的损害。

CD163是一种特异清道夫受体,主要存在于不同器官和组织的巨噬细胞上,尤其是肺巨噬细胞,但仅表达于活化的巨噬细胞与单核细胞表面。在感染性炎症中主要介导细胞内吞作用,其阳性表达提示巨噬细胞活化及肺损伤的存在<sup>[25]</sup>。肺泡巨噬细胞是呼吸系统对抗外来颗粒的第一道防线,吸入空气中的尘粒、细菌等多被巨噬细胞清除,胞质中含有大量尘粒的肺泡巨噬细胞,又称尘细胞<sup>[26]</sup>。部分尘细胞可随痰液咳出,还有部分尘细胞在吞噬颗粒的毒性作用下崩解,颗粒沉积在间质

中,刺激成纤维细胞增生,进一步可形成间质纤维化改变<sup>[27]</sup>。二氧化硅组大鼠吸入尘粒,形成尘细胞后会对大鼠肺组织存在影响。在本研究中,生理盐水组、布地奈德组大鼠的肺组织结构基本正常,肺组织中CD163呈阴性表达。同时,清开灵组、头孢曲松组、痰热清组大鼠肺组织中CD163均呈阳性表达,二氧化硅组及定喘汤组CD163均呈强阳性表达。因此,笔者推测,CD163的高表达及尘细胞计数增加可能与肺组织损伤存在一定的相关性。

本研究只针对SD大鼠吸入不同的药物品种所导致的肺组织损伤进行了研究观察,但并未设计和观察雾化吸入同一品种药物不同浓度、不同时间节点的肺组织病理改变,也未对产生肺组织损害的机制进行更为深入的研究,存在着一定的局限性。但是,本研究结果证明了使用非雾化剂型药物进行雾化治疗存在着安全隐患,长期雾化吸入会导致肺组织损伤。故笔者认为,在临床实践中,还是应当按照药品说明书规定的给药途径进行规范化治疗,不宜将非雾化剂型的药物用于雾化吸入治疗。

## 参考文献

[1] 中华医学会呼吸病学分会《雾化吸入疗法在呼吸疾病中的应用专家共识》制定专家组.雾化吸入疗法在呼吸疾病中的应用专家共识[J].中华医学杂志,2016,96(34):2696-2708.

[2] 赵一鸣,王晓玲,向莉.门诊患儿呼吸道疾病雾化吸入疗法应用现状调查[J].中国实用儿科杂志,2013,28(11):854-857.

[3] 张永进.头孢曲松与布地奈德混悬液雾化吸入联用对支气管肺炎患儿的疗效及其对肺功能的影响[J].抗感染药学,2017,14(7):1383-1384.

[4] 刘茜.定喘活血汤雾化治疗慢性阻塞性肺疾病急性期的临床疗效观察[J].山西中医学院学报,2016,17(6):46-49.

[5] 周晓楠.痰热清注射液应用超声雾化器吸入治疗病毒性肺炎的疗效研究[J].中国医疗器械信息,2018,24(20):72-73.

[6] 陈秀芳,王珍,尹清华,等.癌症患者肺部感染清开灵雾化吸入治疗效果研究[J].中华医院感染学杂志,2016,26(5):1028-1030.

[7] 刘淑芳,李文艳,陈霞.布地奈德联合孟鲁司特对儿童哮喘肺功能免疫功能及生长发育的影响[J].山西医药杂志,2018,47(5):506-508.

[8] 董博宇,杜守颖,李鹏跃,等.痰热清与喜炎平注射液雾化吸入给药对大鼠呼吸系统粘膜刺激性研究[J].实用药物与临床,2016,19(4):405-409.

[9] 姜欣,李建春,金岩,等.定喘汤雾化吸入对DPB的呼吸道微生态影响及改善呼吸困难的实验研究[J].中国微生

态学杂志,2001,13(1):60-61.

[10] SUSETTA F, SANCTIS DE, LEHR HA, et al. Treatment of allergic airway inflammation and hyperresponsiveness by antisense-induced local blockade of gata-3 expression [J]. *J Exp Med*, 2001, 193(11):1247-1260.

[11] STENTON GR, KIM MK, NOHARA O, et al. Aerosolized syk antisense suppresses syk expression, mediator release from macrophages, and pulmonary inflammation[J]. *J Immunol*, 2000, 164(7):3790-3797.

[12] 赵红梅,薛宁,马丽.中药雾化吸入辅助呼吸功能训练对慢阻肺并慢性呼吸衰竭患者的疗效及肺功能的影响[J].中医药导报,2015,21(18):74-76.

[13] 王岩,郑健,潘旭东,等.中药雾化吸入治疗小儿哮喘30例[J].福建中医药,2014,45(1):38-39.

[14] 霍瑞楼.中药雾化吸入治疗稳定期重度慢性阻塞性肺疾病临床对照研究[J].河北中医,2016,38(3):348-352.

[15] 胡燕,刘文,彭涛.两种白细胞稀释液在白细胞计数中的应用[J].西南军医,2018,20(5):566-567.

[16] 李斌,马慧敏,王晓雪,等. Toll样受体7和8在EV71感染死亡病例脑及肺组织中的表达及意义[J].中国当代儿科杂志,2015,17(10):1051-1055.

[17] 洪建国,陈强.儿童常见呼吸道疾病雾化吸入治疗专家共识[J].中国实用儿科杂志,2012,27(4):265-269.

[18] 申昆玲,李云珠,李昌崇,等.糖皮质激素雾化吸入疗法在儿科应用的专家共识[J].临床儿科杂志,2011,29(1):86-91.

[19] 雷婷婷,赵荣生.雾化吸入给药的临床应用现状及研究进展[J].临床药物治疗杂志,2016,14(3):1-5.

[20] RESTREPO MI, KEYT H, REYES LF. Aerosolized anti-biotics[J]. *Respir Care*, 2015, 60(6):761-762.

[21] 莫小林,韦振源.中药雾化液超声雾化的临床应用及实验研究进展[J].首都食品与医药,2012(12):51-52.

[22] 吕秋军,曹萍.药用辅料的不良反应及其安全性管理[J].药物不良反应杂志,2010,12(6):410-414.

[23] 姜姗,倪健.中药注射液不溶性微粒的研究现状与再认识[J].中国药师,2009,12(10):1465-1468.

[24] GHIO AJ, KIM C, DEVLIN RB. Concentrated ambient air particles induce mild pulmonary inflammation in healthy human volunteers[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 162(3Pt1):981-988.

[25] 张伟,蒋耀光,李磊.肺泡巨噬细胞与急性肺损伤[J].创伤外科杂志,2003,5(5):389-391.

[26] 何燕,邓国忠,商天.肝、肺纤维化细胞因子机制相关性探讨[J].中国药房,2005,16(24):1904-1907.

[27] 朱雪,李珂,陈宪海,等.玉屏风散对煤烟相关可吸入颗粒物致肺损伤模型小鼠免疫功能的干预作用[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(8):103-109.

(收稿日期:2018-12-06 修回日期:2019-03-27)

(编辑:林 静)