

网络出版时间:2016-5-9 15:43:10 网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160509.1543.016.html

## 乌司他丁对爆炸致家兔急性肺损伤的作用及机制

李成恩<sup>1</sup> 郝建<sup>1,2</sup> 李树雯<sup>2</sup> 马宏昊<sup>3</sup> 钱钧<sup>2</sup> 李鲁欢<sup>2</sup> 贺慧博<sup>1</sup> 黄鑫<sup>1</sup>

**摘要** 目的 探讨乌司他丁(UTI)对爆炸致家兔急性肺损伤(ALI)的作用及其机制。方法 选择家兔40只,随机分为5组:正常组、ALI组和UTI低剂量组、UTI中剂量组、UTI高剂量组,每组8只。建立家兔ALI动物模型后,UTI低、中、高剂量组分别注射 $2.5 \times 10^4$ 、 $5 \times 10^4$ 、 $10 \times 10^4$  U/kg UTI溶液,正常组、ALI组注射等量生理盐水。4 h采集血液,24 h采集支气管肺泡灌洗液(BALF)、血液及肺组织标本,并测定肺湿干重比(W/D),ELISA法测定BALF及血清中肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白介素-6(IL-6)、白介素-10(IL-10)的含量,Western blot法和反转录PCR法测定肺组织核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)蛋白和mRNA的表达水平,光镜下观察肺HE切片病理学变化。结果 ALI组W/D、TNF- $\alpha$ 、IL-6以及NF- $\kappa$ B表达量均较正常组升高( $P < 0.05$ ),UTI低、中、高剂量组的W/D、TNF- $\alpha$ 、IL-6表达量均较ALI组降低( $P < 0.05$ ),UTI低、中、高剂量组IL-10表达量较ALI组明显提高( $P < 0.05$ ),且三次比较中,均以UTI高剂量组作用最显著( $P < 0.05$ );肺病理切片显示UTI中、高剂量组肺水肿、炎症反应等较ALI组减轻。结论 UTI可通过调控炎症反应时细胞因子的产生和释放,减轻爆炸致家兔ALI的肺部损伤程度,以高剂量作用最明显,UTI可能成为一个潜在的治疗ALI的药物。

**关键词** 爆炸;急性肺损伤;乌司他丁;核转录因子- $\kappa$ B

中图分类号 R 563

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)06-0795-05

随着我国工业化进程的加快,易燃易爆物品的需求越来越大,在其运输、储存及使用过程中,爆炸事件多有发生。2015年1~2月份国内发生各种安全事件约122起,其中爆炸事件占3.28%<sup>[1]</sup>,以及2015年的8·12天津爆炸事件,这些爆炸事件均给人民的生产、生活、生命安全造成了巨大损伤。在急性肺损伤(acute lung injury, ALI)的临床救治中,其死亡率一直居高不下,这已成为一个世界性医学难

题,如美国每年约有190 600例ALI患者,74 500例死亡<sup>[2]</sup>。ALI是指心源性以外的各种肺内外致病因素导致的急性、进行性、低氧性呼吸衰竭。炎症细胞的激活、细胞因子的释放、肺内失控性炎症反应等是ALI的重要发病机制。肺为含气-液交界面的脏器,爆炸产生的冲击波、有害气体、高温等因素极易造成肺实质、间质的损伤,进而引起多种炎症细胞的激活、炎性介质的释放、血管通透性的增高等,进而造成ALI。研究<sup>[3]</sup>显示蛋白酶抑制剂可有效减轻全氟异丁烯引起的ALI,而作为一种广谱蛋白酶抑制剂,UTI可抑制肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor, TNF- $\alpha$ )、白介素-6(interleukin-6, IL-6)等炎症介质的过度释放、抑制凋亡等作用<sup>[4-6]</sup>。该研究以爆炸致家兔ALI模型为研究对象,观察乌司他丁(Ulinastatin, UTI)对ALI的作用效果,并探讨其作用机制。

### 1 材料与方法

**1.1 实验动物与主要器材** 普通级家兔40只,雌雄各半,重 $(2.25 \pm 0.25)$  kg,购自安徽长临河医药科技有限公司,动物实验前适应性喂养1~2 d,自由饮食饮水。UTI购自广东天普生化医药股份有限公司;兔ELISA试剂盒购自上海源叶生物科技有限公司;逆转录试剂盒(批号00145205)、荧光定量PCR仪(PIKOREAL96)购自美国Thermo公司;TRIzol试剂(批号14105)购自美国Invitrogen公司;核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) Western blot试剂盒(批号148G3026)购自美国Sigma公司;山羊抗兔IgG(批号109525)、山羊抗小鼠IgG(批号109145)购自北京中杉金桥生物技术有限公司;引物合成由美国Invitrogen公司提供。

**1.2 ALI动物模型建立** 家兔40只,随机分为正常组、ALI组、UTI低剂量( $2.5 \times 10^4$  U/kg)组、UTI中剂量( $5 \times 10^4$  U/kg)组、UTI高剂量( $10 \times 10^4$  U/kg)组<sup>[7]</sup>,每组8只,动物实验前禁食12 h,禁水4 h,胸部脱毛以避免兔毛对冲击波强度的影响,兔耳塞入脱脂棉球,双耳部备皮,用于抽血、注射。家兔固定在自制钢质保护箱中,保护箱在兔胸部处开一窗

2016-03-04 接收

基金项目:南京军区医药卫生科研基金(编号:MS143)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学解放军杭州临床学院 杭州 310007

<sup>2</sup>杭州医院心肺康复科 杭州 310007

<sup>3</sup>中国科学技术大学近代力学系 合肥 230027

作者简介:李成恩,男,硕士研究生;

郝建,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: jianhao105@163.com

口,窗口大小与兔子胸部一致,且可调节。其余部位如头部、腹部、四肢等均保护在箱体内,将家兔保护箱放置于空中爆炸容器内并固定。爆源采用工业炸药,炸药制成重为 35 g 的球形药包,爆心距为 35 cm,炸药采用标准 8 号雷管引爆,同时保证家兔胸部中心、药包中心与空中压力传感器位于同一水平线上。传感器距离药包 35 cm,用于记录测点处压力时程曲线,爆炸实验操作全部由专业人员实施<sup>[8]</sup>。爆炸后爆炸容器内立即进行排风换气,迅速取出实验样本至通风环境下,并实施临时简单的抢救:动物致伤后,立刻检查并缝合胸壁破口,吸引器清除呼吸道分泌物,保持呼吸道通畅,胸腔穿刺排气,静推平衡盐溶液,动物改为侧卧位,注意动物的保暖,并记录呼吸、精神状态、应激反应、死亡率等情况。造模完成后,UTI 低、中、高剂量组注射相应剂量的 UTI,正常组、ALI 组注射等量生理盐水。

**1.3 测定血清中 TNF-α、IL-6、IL-10** 水合氯醛(0.35 g/kg)麻醉后,于 4、24 h 点取静脉血 5 ml,3 000 r/min 离心 10 min(室温)后,取上清液,于 -80 °C 冰箱保存。按照 ELISA 说明书测定。

**1.4 测定肺泡灌洗液 (bronchial alveolar lavage fluid, BALF) 中 TNF-α、IL-6、IL-10 含量** 麻醉固定家兔,切开胸腔,分离、剔除肺外组织,游离气管及双侧肺叶,结扎右肺,使用自制灌洗针插入左主支气管,固定后,用 37 °C 生理盐水 10 ml 注入左肺,静置 30 s 后,反复抽吸 3 次,回收 BALF 约 6 ml,3 000 r/min 离心 10 min(室温),取上清液存于 -80 °C 冰箱。按照 ELISA 说明书测定。

**1.5 肺湿干重比测定** 取右肺中叶,生理盐水冲洗,滤纸吸干后称湿重。将湿肺置于 80 °C 烤箱内 72 h,至组织完全脱水,称干重。计算肺湿干重比(W/D), $W/D = \text{湿肺重}(\text{g}) / \text{干肺重}(\text{g})$ 。

**1.6 Western blot 法测定 NF-κB p65** 取肺组织,称重,加入 RIPA 细胞裂解液 1 ml 进行裂解,12 000 r/min 离心 10 min(室温)后,收集上清液,即含有目的蛋白。经过电泳、转膜、封闭、一抗孵育、二抗孵育

等步骤后,得到蛋白条带;实验过程严格按照说明书进行。

**1.7 RT-PCR 法测定 NF-κB p65** 采用 TRIzol 法提取各组组织总 RNA,反转录成 cRNA 并进行荧光定量 PCR。扩增条件:95 °C 预变性 5 min,95 °C 变性 10 s,60 °C 退火与延伸 30 s,40 个循环。选定 GAPDH 为内参基因。根据扩增曲线确定 Ct 值,荧光定量采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算目的基因表达相对值。引物序列如下: NF-κB p65 上游引物: 5'-TGCTCAGCTC-CCTTCTCTGT-3',下游引物: 5'-TACCTCCAGCCT-GCTTCTGT-3'; GAPDH 上游引物: 5'-CACCCACTC-CTCTACCTTCG-3',下游引物: 5'-TGCTGTAGC-CAAATTCGTTG-3'。

**1.8 肺组织病理检查** 取右肺下叶中部,10% 中性福尔马林固定,石蜡包埋、切片,HE 染色,光镜下观察组织病理学改变。

**1.9 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 软件进行分析,计量资料数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。计量资料采用单因素方差分析,组间比较采用 SNK 检验。

**2 结果**

**2.1 肺 W/D、BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-10 的含量比较** BALF 中 TNF-α、IL-6 表达量,与正常组比较,其他 4 组指标的表达量均升高,且 UTI 低、中、高剂量组均较 ALI 组降低,其中高剂量组降低最明显,差异有统计学意义( $F = 554.87, 108.74, P < 0.05$ ); W/D 与 TNF-α、IL-6 表达趋势相同( $F = 28.86, P < 0.05$ ); 而 IL-10 的含量,UTI 低、中、高剂量组高于 ALI 组,且 UTI 高剂量组较低,中剂量组变化更显著( $F = 52.80, P < 0.05$ )。见表 1。

**2.2 4 h 及 24 h 血清 TNF-α、IL-6、IL-10 的含量比较** 4 h 血清 TNF-α、IL-6 值,与正常组比较,其他 4 组指标的表达量均升高( $F = 337.66, 87.10, P < 0.05$ ),UTI 治疗后,UTI 低、中、高剂量组均较 ALI 组明显降低,且随 UTI 量增加,高剂量组降低最显著( $P < 0.05$ ); 24 h 血清 TNF-α、IL-6 表达规律与 4 h

表 1 各组家兔肺 W/D、BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-10 含量比较( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

组别	W/D	TNF-α(ng/L)	IL-6(ng/L)	IL-10(ng/L)
正常	4.62 ± 0.17	48.90 ± 4.77	26.40 ± 2.58	31.82 ± 2.60
ALI	5.81 ± 0.28*	173.98 ± 5.17*	69.60 ± 4.28*	16.33 ± 1.08*
UTI 低剂量	5.53 ± 0.18*#	86.82 ± 4.19*#	48.96 ± 3.02*#	19.21 ± 1.76*#
UTI 中剂量	5.22 ± 0.17*#Δ	83.06 ± 5.28*#	44.39 ± 3.69*#Δ	21.96 ± 1.72*#Δ
UTI 高剂量	4.92 ± 0.21*#Δ	65.72 ± 5.68*#Δ	38.88 ± 3.94*#Δ	25.45 ± 2.19*#Δ

与正常组比较: \*  $P < 0.05$ ; 与 ALI 组比较: #  $P < 0.05$ ; 与低剂量组比较: Δ  $P < 0.05$ ; 与中剂量组比较: P  $P < 0.05$

类似 ( $F = 265.90, 58.94, P < 0.05$ ) ; 而 IL-10 的含量, UTI 低、中、高剂量组较 ALI 组增加, 且高剂量组最明显 ( $F = 20.65, 26.97, P < 0.05$ ) 。见表 2、3。

表 2 4 h 血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 的含量比较 ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

组别	TNF- $\alpha$ (ng/L)	IL-6(ng/L)	IL-10(ng/L)
正常	30.57 $\pm$ 3.37	21.15 $\pm$ 2.48	21.02 $\pm$ 1.77
ALI	140.39 $\pm$ 5.82*	50.46 $\pm$ 2.14*	11.15 $\pm$ 1.71*
UTI 低剂量	66.01 $\pm$ 5.67* #	36.29 $\pm$ 3.81* #	13.68 $\pm$ 1.78* #
UTI 中剂量	55.51 $\pm$ 5.97* # $\Delta$	29.67 $\pm$ 2.96* # $\Delta$	14.20 $\pm$ 2.21* #
UTI 高剂量	41.41 $\pm$ 5.09* # $\Delta$	24.83 $\pm$ 3.56* # $\Delta$	17.20 $\pm$ 2.34* # $\Delta$

与正常组比较: \*  $P < 0.05$ ; 与 ALI 组比较: #  $P < 0.05$ ; 与低剂量组比较:  $\Delta P < 0.05$ ; 与中剂量组比较:  $P < 0.05$

表 3 24 h 血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 的含量比较 ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

组别	TNF- $\alpha$ (ng/L)	IL-6(ng/L)	IL-10(ng/L)
正常	35.01 $\pm$ 3.68	21.24 $\pm$ 1.93	24.35 $\pm$ 1.33
ALI	109.99 $\pm$ 4.91*	41.85 $\pm$ 2.67*	13.25 $\pm$ 2.02*
UTI 低剂量	60.53 $\pm$ 4.11* #	31.73 $\pm$ 2.75* #	15.89 $\pm$ 1.61* #
UTI 中剂量	48.54 $\pm$ 4.58* # $\Delta$	28.42 $\pm$ 2.38* # $\Delta$	16.74 $\pm$ 2.65* #
UTI 高剂量	42.42 $\pm$ 3.25* # $\Delta$	24.45 $\pm$ 2.85* # $\Delta$	19.65 $\pm$ 1.86* # $\Delta$

与正常组比较: \*  $P < 0.05$ ; 与 ALI 组比较: #  $P < 0.05$ ; 与低剂量组比较:  $\Delta P < 0.05$ ; 与中剂量组比较:  $P < 0.05$

### 2.3 Western blot法测定各组 NF- $\kappa$ B 表达水平

ALI 组肺 NF- $\kappa$ B 蛋白表达最明显, 且随 UTI 剂量增大, UTI 低、中、高剂量组的蛋白表达逐渐降低。见图 1。

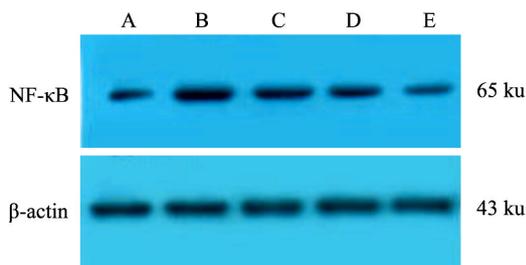


图 1 Western blot 法测定各组 NF- $\kappa$ B 蛋白表达水平

A: 正常组; B: ALI 组; C: UTI 低剂量组; D: UTI 中剂量组; E: UTI 高剂量组

### 2.4 RT-PCR 法测定 NF- $\kappa$ B mRNA 的表达水平

肺组织中 NF- $\kappa$ B mRNA 表达水平随 UTI 量的增多, 逐渐降低, 而 ALI 组表达量最多 ( $F = 182.25, P < 0.01$ ) 。见表 4。NF- $\kappa$ B p65 扩增曲线与熔解曲线见图 2。

2.5 病理切片检查 肉眼观察可见: 正常组兔肺表面呈淡粉红色, 均匀, 包膜弹性佳、光滑, 肺组织表面未见破损病灶, 切面呈均质, 无液体溢出。ALI 组肺

表 4 RT-PCR 测定 NF- $\kappa$ B mRNA 表达水平 ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

组别	GAPDH	NF- $\kappa$ B p65 mRNA 相对表达量
正常	21.837 $\pm$ 0.340	1.007 $\pm$ 0.143
ALI	21.426 $\pm$ 0.340	2.324 $\pm$ 0.134*
UTI 低剂量	21.034 $\pm$ 0.369	1.807 $\pm$ 0.134* #
UTI 中剂量	21.743 $\pm$ 0.317	1.611 $\pm$ 0.119* # $\Delta$
UTI 高剂量	20.684 $\pm$ 0.291	1.257 $\pm$ 0.129* # $\Delta$

与正常组比较: \*  $P < 0.01$ ; 与 ALI 组比较: #  $P < 0.01$ ; 与低剂量组比较:  $\Delta P < 0.01$ ; 与中剂量组比较:  $P < 0.01$

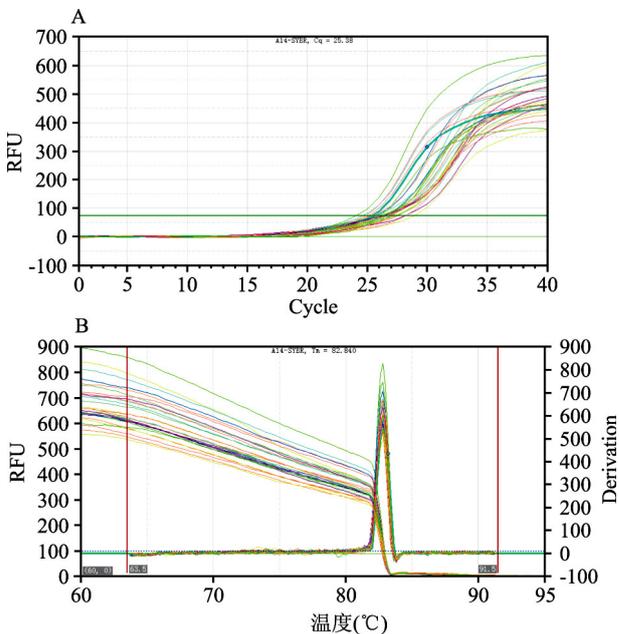


图 2 RT-PCR 时 NF- $\kappa$ B p65 mRNA 的扩增与熔解曲线

A: 扩增曲线; B: 熔解曲线

组织呈暗红色, 可见广泛出血灶, 肺体积增大显著, 切面可见粉红色泡沫状液体。低剂量组与 ALI 组相似, 中、高剂量组肺呈暗红色, 包膜下充血水肿相对轻, 体积较 ALI 组缩小。镜下观: ALI 组肺组织结构受损, 肺泡大小不一, 肺泡间隔增厚, 可见肺不张及代偿性肺气肿, 肺泡腔内出血, 可见大量炎细胞浸润, 肺间质存有大量水肿液, 偶有透明膜形成; 低剂量组肺组织结构及功能损伤也较明显, 中、高剂量组损伤较 ALI 组减轻, 以高剂量组最为明显, 肺间质水肿明显吸收; 正常组为正常肺组织, 结构基本正常。见图 3。

### 3 讨论

爆炸造模后, 家兔口唇、耳部皮肤及黏膜出现发绀、呼吸急促、气喘、部分动物口鼻腔出现泡沫状分泌物, 伴呼吸窘迫、烦躁不安等症状, 肺部出现干湿性啰音, 部分动物短暂性昏迷, 提示动物出现呼吸功能不全; 肺组织呈暗红色, 表面多发出血灶, 双肺肿

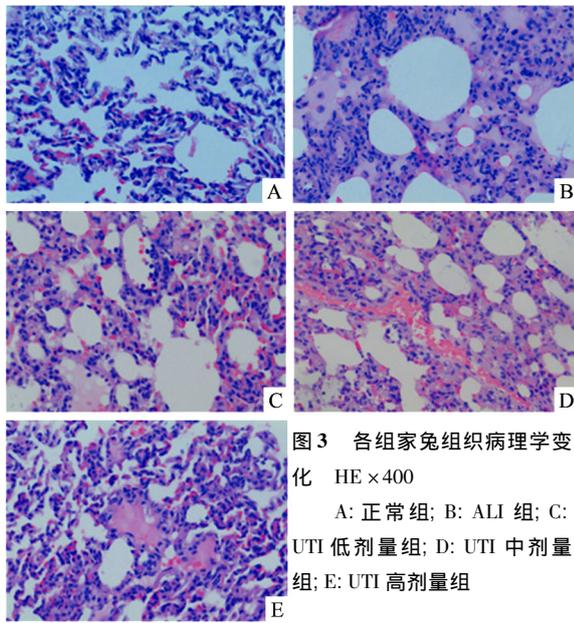


图3 各组家兔组织病理学变化 HE×400  
A: 正常组; B: ALI 组; C: UTI 低剂量组; D: UTI 中剂量组; E: UTI 高剂量组

胀,切面有粉红色泡沫状液体流出,光镜下肺泡壁水肿、增厚、断裂,出现肺不张、肺泡融合及代偿性肺气肿,肺内大量中性粒细胞等浸润,偶见肺透明膜,肺泡和间质水肿明显。而ALI时,肺内血管破损,多种炎性细胞激活、增殖,并释放炎性细胞因子,引起失控性炎症反应,而肺结构的破坏,可诱发肺不张和肺气肿病变,同时可引起肺内组织液的生成和回流失衡,产生肺水肿,这些病变导致了肺通气与血流比例失调,引起呼吸急促、呼吸窘迫等症状,实验结果显示,与正常组比较,ALI组的NF-κB、TNF-α、IL-6及W/D的值均明显增高,提示肺水肿的产生及肺部炎症的发生,家兔心脏解剖及病理未见异常,排除心源性疾病,肺病理变化符合ALI病理变化标准<sup>[9]</sup>,提示爆炸致家兔ALI造模成功。

静息状态下,NF-κB多以p50和p65二聚体的形式与其抑制蛋白相结合,呈无活性状态。TNF-α、IL-6等因素可使其激活,NF-κB活化后进入细胞核,在核内与靶基因的特异序列结合,进而调控TNF-α、IL-6等炎性因子的编码基因,调节炎症介质的产生与释放,这些活化的细胞因子与NF-κB形成正反馈,进一步放大炎症反应,引起ALI疾病的发生和发展。实验结果显示,UTI低、中、高剂量组比ALI组NF-κB水平显著降低,以UTI高剂量组降低最明显,提示UTI能抑制NF-κB信号通路的激活,且随剂量增加,效果更明显。

TNF-α是ALI连锁反应中的重要炎症因子。在反应早期,TNF-α能诱导多形核中性粒细胞(poly-

morphonuclear, PMN)向炎症部位聚集,同时激活内皮细胞释放各种黏附因子,释放IL-6、IL-8等炎性介质,诱发ALI<sup>[10]</sup>。TNF-α可增强PMN的吞噬能力,促进PMN脱颗粒和释放溶酶体,引起PMN呼吸爆发,在此过程中,TNF-α又能激活单核巨噬细胞及PMN自身再次释放TNF-α、IL-1等炎性介质,形成正反馈,进一步释放大量的细胞因子,放大全身或局部炎症反应,最终导致炎症失控。研究<sup>[11]</sup>表明,IL-6为炎性细胞分化的主要调节因子,促进巨噬细胞分化和浸润,上调黏附分子和其他细胞因子的表达,从而加强炎症反应;IL-10是一个以免疫抑制为主的多向免疫调节因子,可直接抑制炎症细胞活化,Tabary et al<sup>[12]</sup>发现IL-10可抑制NF-κB的活性,且同时能抑制单核巨噬细胞、中性粒细胞表达IL-6、TNF-α等,抑制单核巨噬细胞产生趋化等。实验显示ALI组TNF-α及IL-6的表达量显著高于正常组和UTI治疗组,而ALI组的IL-10表达量明显低于UTI治疗组,表明UTI可降低TNF-α、IL-6的表达,增加IL-10的产生。光镜下病理学:与ALI组相比,UTI中、高剂量组的炎性细胞等较少见,肺水肿显著减轻,W/D是反应肺水肿程度的良好指标,结合W/D结果,提示UTI能通过降低炎症介质的释放,增加抗炎因子的分泌,共同作用减轻ALI的炎症反应及肺水肿程度。爆炸致伤后,考虑由于机体损伤过重,IL-10的产生或释放受到抑制,短时间内不足以恢复,故测得IL-10值偏低。

综上所述,在爆炸致家兔ALI模型中,UTI可通过抑制NF-κB的活性,减少TNF-α、IL-6等细胞因子的产生与释放,以及增加IL-10的产生,共同作用减轻炎症反应导致的肺部损伤,尤其是在大剂量使用时,对ALI的治疗效果更明显。

参考文献

[1] 李生才,笑 蕾. 2015年1~2月国内生产安全事故统计分析[J]. 安全与环境学报, 2015, 15(2): 375-7.  
 [2] Maybauer M O, Maybauer D M, Herndon D N. Incidence and outcomes of acute lung injury[J]. N Engl J Med, 2006, 354(4): 416-7.  
 [3] 王丽君,郝 建,赵 建,等. 抑肽酶对全氟异丁烯诱导大鼠急性肺损伤的影响及其机制[J]. 安徽医科大学学报, 2014, 49(11): 1600-4.  
 [4] Sato Y, Ishikawa S, Otaki A, et al. Induction of acute-phase reactive substances during open-heart surgery and efficacy of ulinastatin[J]. Jpn J Thorac Cardiovasc Surg, 2000, 48(7): 428-34.  
 [5] 张 俭,王 辉. 乌司他丁对创伤后急性肺损伤患者炎症水

- 平的影响及其临床疗效的评价[J]. 中国临床药理学杂志, 2014, 30(10): 886-8.
- [6] Zhao X, Sun X, Gao F, et al. Effects of ulinastatin and docataxel on breast tumor growth and expression of IL-6, IL-8, and TNF- $\alpha$  [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30(1): 22.
- [7] 陈晓兵, 许铁, 李小民, 等. 不同剂量乌司他丁对感染性休克兔肺损伤的保护作用及其机制探讨[J]. 临床合理用药杂志, 2011, 4(15): 8-13.
- [8] 范崇熙, 张志培, 程庆书, 等. 胸部爆震伤致急性呼吸窘迫综合征模型的建立及相关因素分析[J]. 中国危重病急救医学, 2011, 23(4): 243-6.
- [9] 钱桂生. 急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合征的诊断与治疗[J]. 解放军医学杂志, 2009, 34(4): 371-3.
- [10] Halbertsma F J, Vaneker M, Scheffer G J, et al. Cytokines and biotrauma in ventilator-induced lung injury: a critical review of the literature [J]. *Neth J Med*, 2005, 63(10): 382-92.
- [11] Choussat R, Montalescot G, Collet J, et al. Effect of prior exposure to *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori* or cytomegalovirus on the degree of inflammation and one-year prognosis of patients with unstable angina pectoris or non-Q wave acute myocardial infarction [J]. *Am J Cardiol*, 2000, 86(4): 379-84.
- [12] Tabary O, Muselet C, Escotte S, et al. Interleukin-10 inhibits elevated chemokine interleukin-8 and regulated on activation normal T cell expressed and secreted production in cystic fibrosis bronchial epithelial cells by targeting the I(k) B kinase  $\alpha/\beta$  complex [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(1): 293-302.

## Effect and mechanism of Ulinastatin on acute lung injury in rabbits induced by blast

Li Cheng'en<sup>1</sup>, Hao Jian<sup>1,2</sup>, Li Shuwen<sup>2</sup>, et al

(<sup>1</sup>Dept of Liberation Army Hangzhou Clinical College of Anhui Medical University, Hangzhou 310007;

<sup>2</sup>Dept of Cardiopulmonary Rehabilitation, Hangzhou 128 Hospital, Hangzhou 310007)

**Abstract Objective** To research the effect and mechanism of Ulinastatin (UTI) on acute lung injury in rabbits induced by blast. **Methods** The model of acute lung injury in rabbits was induced by blast. According to the randomized table, all the rabbits were randomly divided into 5 groups, normal group, ALI group, low-dose UTI group, medial-dose UTI group and high-dose UTI group. When the models of acute lung injury were finished, the rabbits in UTI groups were intravenously injected with different doses of UTI ( $2.5 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^4$ ,  $10 \times 10^4$  U/kg), while the rabbits in normal group and ALI group were injected with normal saline of same doses. The blood was collected after 4 hours and the bronchial alveolar lavage fluid (BALF), blood and some lung tissues were saved after 24 hours. TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 were determined by ELISA method. NF- $\kappa$ B was evaluated by Western blot and the reverse transcription polymerase chain reaction. The wet to dry weight ratios (W/D) were determined. The pathological changes of lung tissues were observed under the microscope. **Results** The levels of W/D, TNF- $\alpha$ , IL-6, NF- $\kappa$ B in ALI group were significantly higher than those in normal group ( $P < 0.05$ ). With the treatment of UTI, the values of W/D, TNF- $\alpha$  and IL-6 in UTI groups of different doses were lower than their measures in ALI group. On the contrary, the IL-10 in ALI group was lower than that in other groups ( $P < 0.05$ ). Between these comparisons, high-dose UTI group was the most significant group ( $P < 0.05$ ). Histopathology of lung tissue showed that pulmonary edema and inflammatory in medial-dose and high-dose UTI group were better than those in ALI group. **Conclusion** UTI could relieve inflammation in the lungs of rabbits with ALI induced by blast through balancing excess release of cytokines and inflammatory mediators, UTI could be a potential drug of ALI.

**Key words** blast injury; Ulinastatin; acute lung injury; NF- $\kappa$ B