

· 论 著 ·

氧化苦参碱减轻肺缺血再灌注损伤的实验研究

陈诗奉, 江跃全, 朱 冰

(重庆医科大学附属第二医院胸心外科 400010)

摘要:目的 探讨氧化苦参碱(OMT)减轻肺缺血再灌注损伤(LIRI)的机制。方法 建立肺缺血再灌注模型,将 32 只大白兔随机分为对照组($n=8$)、缺血再灌注组(I/R 组, $n=8$)、OMT 颈静脉给药组(OMT-1 组, $n=8$)、OMT 左肺动脉给药组(OMT-2 组, $n=8$)。应用 ELISA 法测定各组再灌注后 40、80、120min 不同时间点肺组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-10(IL-10)含量;用 TUNEL 法测定肺泡细胞凋亡(AI);用肺组织损伤定量评价指数(IQA)综合评价 OMT 对 LIRI 的保护作用。结果 I/R 组 TNF- α 、IL-8 含量高于对照组和 OMT-2 组,差异有统计学意义($P<0.01$),与 OMT-1 组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。OMT-2 组 TNF- α 、IL-8 含量低于 OMT-1 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。OMT-1 组和 OMT-2 组 IL-10 含量均显著高于 I/R 组,差异有统计学意义($P<0.01$),但 OMT-1 组低于 OMT-2 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。缺血再灌注 80min 后 I/R 组 AI 值明显高于 OMT-2 组、对照组,差异有统计学意义($P<0.01$),OMT-1 组和 OMT-2 组 IQA 较 I/R 组明显降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。结论 OMT 诱导肺组织中 IL-10 上调,降低 TNF- α 、IL-8 炎症因子的产生,抑制肺泡细胞凋亡及炎症反应,减轻急性 LIRI。

关键词:肺缺血再灌注损伤;氧化苦参碱;IL-10;TNF- α ;IL-8

中图分类号:R365.563

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)04-0411-02

An experimental study of the oxymatrine to attenuate the lung ischemia-reperfusion injury

CHEN Shi-feng, JIANG Yue-quan, ZHU Bing

(Department of Thoracocardiac Surgery, The Second Affiliated Hospital,
Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400010, China)

Abstract: Objective To investigate the protective effects of oxymatrine(OMT) on lung ischemia reperfusion injury(LIRI) in rabbits. **Methods** Models of lung ischemia reperfusion injury in rabbit were used. 32 rabbits were randomly divided into 4 groups: control group(control, $n=8$), ischemia reperfusion group(I/R, $n=8$), OMT1 group(OMT1, $n=8$), OMT2 group(OMT2, $n=8$), lung tissue sample were received at 40min, 80min, 120min time-points after lung ischemia reperfusion. TNF- α , IL-8, IL-10, AI (apoptosis index, AI) and IQA (index of quantitative assessment of histologic lung injury, IQA) were studied in each group. **Results** TNF- α , IL-8 in I/R Group were significantly higher than those of the control group and OMT2 group ($P<0.01$), but in OMT2 Group they were significantly lower than those of OMT1 Group ($P<0.05$). IL-10 in OMT2 Group and OMT1 group were significantly higher than that of I/R Group ($P<0.01$), but in OMT1 Group was significantly lower than that of OMT2 Group ($P<0.05$). AI in I/R Group was significantly higher than that of OMT2 Group and the control group at 80min time-points after lung ischemia reperfusion ($P<0.01$). IQA in OMT1 Group and OMT2 group were significantly lower than that of I/R Group ($P<0.01$). **Conclusion** Oxymatrine can protect against lung ischemia reperfusion injury in rabbits by upregulating levels of IL-10 and down-regulating levels of TNF- α , IL-8, inhibiting the alveolar cells apoptosis and inflammatory responsive, attenuate acute lung ischemia-reperfusion injury

Key words: lung ischemia reperfusion injury; oxymatrine; TNF- α ; IL-8; IL-10

肺缺血再灌注损伤(lung ischemia reperfusion injury, LIRI)过程中致炎因子与抑炎因子失衡是导致心肺血管术后急性肺损伤的主要原因之一。探寻抑制致炎因子的释放或调控其失衡的方法仍然是当前需要解决的问题。本实验应用兔 LIRI 模型,经不同途径给与氧化苦参碱(oxymatrine, OMT)进行干预,试图通过对肺组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-10(IL-10)分析,肺泡细胞凋亡指数(apoptosis index, AI)和肺损伤组织学定量评价指数(index of quantitative assessment of histologic lung injury, IQA)的动态观察,探讨 OMT 减轻 LIRI 的作用及机制。

1 材料与方

1.1 材料 健康日本大白兔 32 只,体重 2.0~2.8kg(重庆中药研究所动物实验室提供);OMT(保定三九济世生物药业有限公司产品,批号:国药准字 H20041843),TNF- α 、IL-8、IL-10

试剂盒(南京建成生物工程研究所提供),细胞凋亡试剂盒(Roche 公司产品)等。

1.2 实验方法 将 32 只大白兔随机分为:(1)对照组($n=8$),仅开胸,不阻断肺门;(2)缺血再灌注组(I/R 组, $n=8$),左肺门阻断 40min 后,持续再灌注 120min;(3)OMT 干预组,按给药途径再分成颈静脉给药组(OMT-1 组, $n=8$)和左肺动脉给药组(OMT-2 组, $n=8$),即分别于左肺门阻断前 10min 及阻断左肺动脉后经其远端泵入 OMT 150mg/kg,其余同 I/R 组。参照 Ymashita 等^[1]方法建立缺血再灌注损伤模型。OMT-2 组为便于肺动脉给药,经胸骨左旁纵切口切开心包,显露左肺动脉插管后再阻断肺门。予肝素抗凝(1mg/kg)。缺血 40min 后再灌注 40、80、120min 后各时间点取肺组织,低温制备 10%匀浆。用 ELISA 法测定肺组织中 TNF- α 、IL-8、IL-10 含量;用 TUNEL 法检测 AI。结果判断:光镜观察细胞核呈棕黄染色

者为细胞凋亡阳性;每张切片光镜(×200)随机读取 5 个视野, AI=阳性细胞数/总细胞数×100%。

1.2.1 IQA^[2] 各组不同时间点取肺下叶组织约 1cm² 大小, 用 10% 甲醛固定, 常规切片, HE 染。每张切片光镜(×200)随机读取 5 个视野, IQA=肺泡内红细胞/中性粒细胞 2 个以上的损伤肺泡数/总肺泡数×100%。

1.3 统计学方法 采用 SPSS15.0 统计软件进行统计学分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析和 *t* 检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺组织中 TNF-α、IL-8、IL-10 测定 见表 1~3。

表 1 各组不同时间点肺组织中 IL-8 水平变化 (pg/mg, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	40min	80min	120min
对照组	8	0.23±0.01	0.25±0.03	0.24±0.02
I/R 组	8	0.49±0.02*	0.47±0.04*	0.51±0.07*
OTM-1 组	8	0.32±0.02	0.36±0.02	0.35±0.01
OMT-2 组	8	0.28±0.04**	0.30±0.02**	0.31±0.02**

*: 与对照组、OMT-2 组比较, *P*<0.01; **: 与 OTM-1 组比较, *P*<0.05。

表 2 各组不同时间点肺组织中 IL-10 水平变化 (pg/mg, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	40min	80min	120min
对照组	8	0.41±0.13	0.45±0.11	0.46±0.05
I/R 组	8	0.24±0.01	0.26±0.02	0.25±0.02
OTM-1 组	8	0.34±0.02*	0.36±0.03*	0.35±0.05*
OMT-2 组	8	0.52±0.20**	0.56±0.21**	0.56±0.19**

*: 与 I/R 组、OMT-2 组、对照组比较, *P*<0.05; **: 与 I/R 组比较, *P*<0.01。

表 3 各组不同时间点肺组织中 TNF-α 水平变化 (pg/mg, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	40min	80min	120min
对照组	8	0.47±0.05	0.45±0.04	0.46±0.05
I/R 组	8	1.47±0.25*	1.43±0.20*	1.45±0.21*
OTM-1 组	8	0.91±0.23	1.19±0.25	1.02±0.20
OMT-2 组	8	0.72±0.20**	0.76±0.21**	0.76±0.19**

*: 与 OMT-2、对照组比较, *P*<0.01; **: 与 OMT-1 组比较, *P*<0.05。

2.2 AI 测定 见表 4。

表 4 各组不同时间点 AI 值比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	40min	80min	120min
对照组	8	11.41±2.05	11.57±2.02	11.36±2.13
I/R 组	8	17.68±2.41*	20.62±4.72*	23.40±3.21*
OTM-1 组	8	15.04±2.31**	16.26±3.27**	17.18±3.01**
OMT-2 组	8	12.74±2.41	13.10±2.24	13.28±2.85

*: OMT-2 组、对照组比较, *P*<0.01; **: 与 I/R 组比较, *P*<0.05。

2.3 IQA 测定 见表 5。

表 5 各组不同时间点 IOA 比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	40min	80min	120min
对照组	8	14.27±4.64	14.27±4.91	14.29±4.74
I/R 组	8	34.26±2.91*	47.65±5.94*	51.72±4.21*
OMT-1 组	8	20.74±3.63**	22.12±6.05**	28.37±4.03**
OMT-2 组	8	16.24±3.17	18.22±5.65	22.29±3.71

*: 与 OMT-1 组、OMT-2 组、对照组比较, *P*<0.01; **: 与 OMT-2 组比较, *P*<0.05。

3 讨 论

本实验成功建立了兔 LIRI 模型, 并通过动态观察致炎细胞因子在肺再灌注过程中的释放与肺泡细胞的损伤, 结果显示两者有密切关联, I/R 组 TNF-α、IL-8 含量持续升高, IL-10 水平明显降低, 表明 TNF-α、IL-8 参与了肺损伤过程中炎症反应全过程^[3-5]。TNF-α、IL-8 均为肺泡巨噬细胞释放的早期前炎性因子, 在肺组织炎症启动中发挥主要作用^[6]。TNF-α 的释放可激活多形核白细胞, 增加中性粒细胞、内皮细胞黏附分子的表达, 促进白细胞黏附于有损伤的微血管壁, 使血管通透性增加。本实验结果显示, I/R 组 IQA 变化明显高于其他 3 组, 表明在 LIRI 损伤过程中缺血缺氧再灌注并复氧, 肺泡内浆液渗出和中性粒细胞的聚集进一步加重肺损伤。

OMT 是从中药中提取的生物碱, 具有抗过敏、抑制炎症介质释放、调节免疫、保护脏器损伤的作用^[7-8]。本实验结果显示 OMT-1 组、OMT-2 组 IL-10 含量升高和 AI 值降低, 与 I/R 组比较差异明显, 表明 OMT 对缺血再灌注肺保护可能与同时上调肺组织中 IL-10 有关。IL-10 是一种内源性多功能炎症抑制因子, 调解体内促炎因子和抑炎因子的平衡^[9]。IL-10 可以抑制前炎性因子 TNF-α、IL-8 产生以及抑制中性粒细胞浸润和激活, 减轻肺损伤。本研究结果显示在缺血再灌注 120min 时, OMT-1 组、OMT-2 组 AI 值和 IQA 均低于 I/R 组, 肺出血减轻, 肺泡内炎性细胞及浆液渗出减少, 肺损伤明显轻于 I/R 组。周中新等^[10]报道 LIRI 过程中蛋白激酶活性被激活, 加重肺损伤。Xu 等^[11]报道 OMT 可能通过阻断磷酸化 p38, 抑制蛋白激酶活性, 遏制 TNF-α 致炎作用, 从而减轻肺损伤。

总之, OMT 在肺缺血再灌注过程中可以通过明显上调抑炎因子 IL-10 的表达, 减轻肺微血管内皮细胞损伤, 使血管壁通透性下降, 减少多核白细胞在组织中释放致炎因子 TNF-α、IL-8, 提高组织抗炎、抗氧化、稳定细胞膜、抑制肺泡细胞凋亡的多靶点作用, 减轻 LIRI。本实验结果还提示 OMT 肺动脉局部灌注(OMT-2 组)肺保护效果优于全身用药(OMT-1 组), 为 LIRI 的保护提供了新思路。

参考文献:

[1] Ymashita H, Akamine S, Sumida Y, et al. Inhaled nitric oxide attenuates apoptosis in ischemia-reperfusion injury of the rabbit lung[J]. Ann Thorac Surg, 2004, 78(1): 292.
 [2] Murata T, Nakazawa H, Mori I, et al. Reperfusion after a two hour period of pulmonary artery occlusion cause pulmonary necrosis[J]. Am Rev Respir Dis, 1992, 146(4): 1048.
 (下转第 414 页)

续表 1 精神分裂症患者再入院相关因素分析

项目	n	%
紧张	29	14.5
青春	23	11.5
单纯	18	9.0
其他	4	2.0
精神诱因		
有	164	82.0
无	36	18.0
家庭支持		
良好	49	24.5
不良	151	75.5
服药情况		
按医嘱服药	37	18.5
坚持服药 5 年以上	13	6.5
擅自减、停药	163	81.5

3 讨 论

3.1 特点 精神分裂症复发与多种因素有关,从本组病例分析有如下特点:(1)本组复发者中年龄以 21~30 岁为多,35 岁以下者占 66.0%;(2)坚持服药时间长者复发率低。本组病例出院 3 年内停药或擅自减药者复发率为 80.0%,而坚持服药 5 年以上者仅 13 例复发(6.5%),与有关文献报道一致^[1],较余晓琼和邓杰^[2]报道结果高;(3)复发者多以明显精神因素为诱因,通常是负性生活事件,本组 55.5%病例复发与此相关,与江开达^[3]研究一致,与 Kaplan^[4]报道也很接近;(4)本组病例有阳性家族史者占 31.5%,提示有家族史者复发率较高,但不能说明阳性家族史者比阴性家族史者易复发,这与文献报道相一致^[5];(5)性格内向者复发率高于性格外向者,分别为 61.0%、39.0%,这也与文献报道一致;(6)社会家庭支持不足或家庭干预过多介入都会影响患者病情,使复发率增高^[6]。(7)精神分裂症类型以妄想及紧张型复发率高,本组 200 例中有 155

例(77.5%),而单纯型及青春型低,只有 41 例(20.5%)。

3.2 对策

3.2.1 有研究表明坚持服药维持治疗是预防精神分裂症患者复发的首要因素。因此,要加强对患者的精神卫生教育,并指导患者亲属了解精神分裂症有关常识,认识疾病预后与维持治疗的关系,从而帮助患者坚持服药。

3.2.2 良好的家庭社会支持是预防精神分裂症患者复发的另一重要因素。家庭、社会成员对患者的理解、关怀和鼓励,可以提高患者对各类社会心理因素的应激能力,有利于患者身心康复,但同时注意,高情感表达(如过度迁就及家庭干预过多介入)也会影响病情^[6]。

3.2.3 协助患者建立有规律的良好生活秩序,开展以生活技能训练为中心的院外康复治疗,解决好患者工作、生活中的实际困难。

3.2.4 培养患者运用心理学技巧进行自我情绪调节,克服性格中不良方面,提高心理素质,以增强对负性生活事件的应激能力。同时在精神刺激发生后给予及时心理疏导等治疗。

3.2.5 建立跟踪随访制度,让患者定期到医院复诊,对有复发倾向的患者给予早期治疗。

参考文献:

- [1] Martin G. 社会康复新进展[J]. 颜文伟,译. 上海精神医学,1990,2(3):104.
- [2] 余晓琼,邓杰. 234 例精神分裂症患者再入院原因分析[J]. 重庆医学,2007,3:494.
- [3] 江开达. 精神医学新概念[M]. 上海:上海医科大学出版社,2000.
- [4] Kaplan HI. Comprehensive textbook of psychiatry[M]. 4th ed. Williams&wilkins: Baltimore,1985:713.
- [5] 沈渔村. 精神病学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,1998. 578.
- [6] 宋立升. 心理教育性家庭干预在精神分裂症中的应用[J]. 国外医学精神病学分册,1990,17:140.

(收稿日期:2009-07-18 修回日期:2009-08-09)

(上接第 412 页)

- [3] Goodman RB, Pugin J, Lee JS, et al. Cytokine-mediated inflammation in acute lung injury[J]. Cytokine & Growth Factor Reviews,2003,14(6):523.
- [4] Jimenez LA, Drost EM, Gilmour PS, et al. PM10-exposed acrophages stimulate a proinflammatory response in lung epithelial cells via TNF- α [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,2002,282(2):L237.
- [5] 向明章,蒋耀光,王如文. 肺缺血再灌注损伤后 TNF- α 、IL-6 的变化及意义[J]. 重庆医学,1999,28(1):5.
- [6] Albrecht C, Schins R P, Hohl D, et al. Inflammatory time course after quartz instillation; role of tumor necrosis factor- α and particle surface[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2004,31(3):292.
- [7] 李兆申,徐永春,屠振春,等. 急性坏死性胰腺炎早期胰腺组织趋化因子的表达及氧化苦参碱的影响[J]. 世界华人消化杂志,2005,13(8):979.
- [8] 庄建伟,房栋,张红光. 氧化苦参碱干预急性出血性胰腺炎大鼠 TNF- α mRNA 和 IL-1 β mRNA 的表达[J]. 现代检验医学杂志,2008,23(4):59.
- [9] Shanley TP, Vasi N, Denenberg A. Regulation of chemokine expression by IL-10 in lung inflammation[J]. Cytokine,2000,12(7):1054.
- [10] 周中新,贾晓民,黄继江,等. 肺缺血再灌注损伤时丝裂原活化蛋白激酶(MAPKS)活性的变化及意义[J]. 重庆医学,2006,35(3):1189.
- [11] Xu GL, Yao L, Gong SQ, et al. Attenuation of acute lung injury in mice by oxymatrine is associated with inhibition of phosphorylated p38 mitogen-activated protein kinase [J]. J Ethnopharmacol,2005,98(1/2):177.

(收稿日期:2009-06-29 修回日期:2009-08-07)