

· 临床研究 ·

葛根素预处理对心瓣膜置换术患者血中性粒细胞抑制 NF- κ B 及 IL-6、IL-8 表达的影响*

赵晓蓉[#], 魏继承[△], 陈 枫

(泸州医学院附属医院麻醉科, 四川泸州 646000)

摘要:目的 观察葛根素预处理对体外循环(CPB)下心瓣膜置换术患者血中性粒细胞内核因子 κ B(NF- κ B)及白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)表达的影响。方法 选择拟行心瓣膜置换术患者 40 例,随机分为葛根素组(P组)和对照组(C组)各 20 例。P组 CPB 前将葛根素溶于 10 mL 生理盐水中静脉输注,C组给予等量生理盐水。分别于 CPB 前(T_0),主动脉开放后 30 min(T_1),主动脉开放后 1(T_2)、2 h(T_3)经桡动脉抽取血标本,每次 4 mL。流式细胞仪检测血中性粒细胞内 NF- κ B 及 IL-6 和 IL-8 的表达阳性率。结果 主动脉开放后 1、2 h P组 NF- κ B 及 IL-6 和 IL-8 表达阳性率均明显低于 C组($P < 0.05$)。结论 葛根素预处理可减少中性粒细胞内 NF- κ B 活化及 IL-6 和 IL-8 的过度生成。

关键词:葛根素;核因子 κ B;白细胞介素-6;白细胞介素-8;瓣膜置换术;中性粒细胞

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.02.008

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)02-0124-03

Effects of puerarin preconditioning on NF- κ B activity or IL-6 and IL-8 production in neutrophil of patients with RHD during valve replacement surgery under CPB*

Zhao Xiaorong[#], Wei Jicheng[△], Chen Feng

(Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of puerarin preconditioning on expression of nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B), pro-inflammatory cytokines IL-6 and IL-8 in neutrophil of patients during valve replacement under cardiopulmonary bypass(CPB). **Methods** 40 patients with rheumatoid heart disease(RHD) and undergoing valve replacement under CPB were enrolled and randomly divided into experimental group(puerarin group, P group, $n=20$) and control group(NS group, C group, $n=20$). Puerarin 4 mg/kg(in NS 10 mL) in 5%GS 250 mL was infused intravenously in P group, and 10 mL NS was infused the same way in C group before CPB. 4 mL whole blood(WB) sample was then collected at four time points: before CPB(T_0), and 30 min(T_1), 1 (T_2), 2 h(T_3) after aorta declamping. The expression rates(%) of NF- κ B, IL-6 and IL-8 in PMN were assayed with flow cytometry. **Results** The positive expression of NF- κ B and IL-6, IL-8 were significantly lower at T_2 and T_3 in P group than in C group($P < 0.05$). **Conclusion** Puerarin preconditioning may attenuate of NF- κ B activation and over-production of pro-inflammatory cytokines such as IL-6 and IL-8.

Key words: puerarin; NF- κ B; interleukin-6; interleukin-8; valve replacement; neutrophil

大量证据表明中性粒细胞(PMN)激活所导致炎性反应与心肌缺血再灌注损伤关系密切。近来研究显示葛根素预处理具有减轻心肌缺血再灌注损伤的保护作用,体外研究也显示葛根素预处理可抑制人 PMN 诱导激活后细胞内核因子 κ B(NF- κ B)活化及白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)生成。本研究通过观察葛根素预处理对心瓣膜置换术患者血中 PMN 内 NF- κ B 及 IL-6、IL-8 表达的影响,探讨葛根素发挥心肌保护作用可能的细胞及分子机制。

1 资料与方法

1.1 研究对象 本实验为前瞻性、随机对照试验,经泸州医学院附属医院医学伦理委员会批准,患者签署知情同意书。选择拟进行心瓣膜置换术的风湿性心脏病患者 40 例(男/女=15/25,年龄 18~60 岁,体质量 38~65 kg),ASA II~III 级, NY-HA II~III 级,随机分为葛根素组(P组)和对照组(C组)各 20 例。入选患者近期无严重感染,未合并冠心病、糖尿病、明显肾功能不全或呼吸系统危重病等其他重大疾病,术前 24 h 无心肌酶增高,术前未使用、术中不使用可能具有心肌保护作用

的药物(如甲泼尼松龙、七氟醚、腺苷等)。术中发生不良事件如改变手术方式、麻醉并发症或不良反应、心搏骤停、停机困难或心肌缺血时间大于 3 h 者予以剔除。

1.2 麻醉方法与体外循环(CPB) 所有患者术前用药,入室后建立静脉通道,常规静脉注射长托宁 0.1 mg/kg,常规监测无创血压、心率、无创性动脉血氧饱和度(SpO_2)、心电图等。静脉注射咪达唑仑 3~8 mg、维库溴铵 0.1 mg/kg、芬太尼 5~10 μ g/kg 完成麻醉诱导及气管内插管,随后行桡动脉穿刺置管监测有创动脉压(IBP),右颈内静脉穿刺置管监测中心静脉压(CVP)。术中控制呼吸,麻醉维持用咪唑安定、芬太尼、维库溴铵连续泵注。CPB 均采用膜肺及相同预充液,CPB 转流期间灌注流量维持在 $2.2 \sim 2.4 L \cdot (m^2)^{-1} \cdot min^{-1}$,平均动脉压(MAP)维持在 50~80 mm Hg,体温 28~32 $^{\circ}C$,红细胞比容(Hct)控制在 18%~31%,动脉血二氧化碳分压($PaCO_2$)维持在 35~45 mm Hg。复跳后常规使用硝普钠、多巴胺/多巴酚丁胺维持心血管功能稳定。

1.3 预处理方法 P组入室后以 10 mL 生理盐水将葛根素 4

mg/kg 稀释后加入 5% GS 250 mL,CPB 前输入,对照组加等量生理盐水 10 mL。

1.4 临床观察与血标本采集 连续监测并记录两组 CPB 前、主动脉开放后 30 min,1、2 h 的 CVP、MAP、心率、SpO₂、体温、呼吸末二氧化碳分压等。并分别于 CPB 前(T₀)、主动脉开放后 30 min(T₁),1(T₂)、2 h(T₃)抽取动脉血 4 mL。静置于-4℃冰箱备检。

1.5 实验室检测 将两组标本血 PMN 内 NF-κB、IL-6、IL-8 染色后采用流式细胞仪检测表达情况(荧光强度)。

1.6 统计学处理 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组患者一般资料比较采用两个随机独立样本均数 *t* 检验,组间、组内比较采用重复测量方差分析。所有分析采用 SPSS17.0 统计软件,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 手术结果 两组患者性别、年龄、体质量、手术类型、CPB 时间、主动脉阻断时间、手术时间等一般情况比较差异无统计学意义(*P*>0.05),见表 1。两组患者 CPB 及手术经过平稳,除对照组 1 例患者术后行再次开胸止血术外,其余术后皆恢复顺利,未出现手术及麻醉并发症,皆痊愈出院。

2.2 PMN 内 NF-κB 表达 两组 T₂、T₃ 时间点 NF-κB 均明显高于 T₀(*P*<0.05);P 组 T₁、T₂、T₃ 时间点无明显变化(*P*>0.05);C 组 T₃ 明显高于 T₁(*P*<0.05)。两组 T₀、T₁、T₂ 时间点 NF-κB 阳性率比较差异无统计学意义(*P*>0.05),T₃ 时间

点 P 组 NF-κB 阳性率明显低于 C 组(*P*<0.05),见表 2。

2.3 PMN 内 IL-6 表达 两组 T₂、T₃ IL-6 均明显高于 T₀(*P*<0.05);P 组 T₁、T₂、T₃ 时间点差异不明显(*P*>0.05);C 组 T₂、T₃ 明显高于 T₁(*P*<0.05)。两组 IL-6 基础值 T₀、T₁、T₂ 比较差异无统计学意义(*P*>0.05);P 组 T₃ 时间点明显低于 C 组(*P*<0.01);P 组 IL-6 阳性率总体比 C 组低(*P*<0.01),见表 2。

表 1 两组患者一般情况比较($\bar{x} \pm s$)

项目	P 组	C 组	<i>P</i>
年龄(岁)	45.15±11.69	46.90±6.73	>0.05
体质量(kg)	51.75±5.74	52.15±5.25	>0.05
性别(男/女)	8/12	7/13	>0.05
MVR/DVR	12/8	12/8	>0.05
主动脉阻断时间(min)	57.80±21.26	64.80±23.48	>0.05
CPB 时间(min)	117.20±19.34	116.35±20.61	>0.05
手术时间(min)	238.70±54.73	237.85±56.09	>0.05

2.4 PMN 内 IL-8 表达 两组 T₂、T₃ IL-8 均明显高于 T₀(*P*<0.05);P 组 T₁、T₂、T₃ 时间点无明显变化(*P*>0.05);C 组 T₂、T₃ 明显高于 T₁(*P*<0.05)。两组 T₀、T₁、T₂ 时间点无明显差异(*P*>0.01);P 组 T₃ 时间点阳性率明显低于 C 组(*P*<0.01);P 组 IL-8 阳性率总体比 C 组低(*P*<0.01),见表 2。

表 2 两组 PMN 内 NF-κB、IL-6、IL-8 表达阳性率比较($\bar{x} \pm s, \%, n=20$)

时间	NF-κB		IL-6		IL-8	
	P 组	C 组	P 组	C 组	P 组	C 组
T ₀	1.96±1.32	2.22±2.60	1.77±1.06	1.98±1.73	2.37±1.18	2.21±0.93
T ₁	2.90±1.48	3.98±2.74	2.74±1.33	2.88±2.26	2.91±1.02	3.49±1.19
T ₂	4.45±2.53 [△]	5.84±4.52 [△]	4.02±2.12 [△]	5.15±3.39 ^{△*}	4.64±1.69 [△]	5.28±2.18 ^{△*}
T ₃	3.84±2.20 ^{▲△}	7.85±5.36 ^{△*}	4.09±2.22 ^{△#}	6.58±3.71 ^{△*}	4.04±1.66 ^{△#}	6.35±2.94 ^{△*}

:*P*<0.01,▲ :*P*<0.05,与 C 组同时间点比较;△ :*P*<0.05,与同组 T₀ 比较;* :*P*<0.05,与同组 T₁ 比较。

3 讨 论

目前,CPB 下开心手术仍是心脏疾病外科治疗的主要方法。术中因主动脉阻断与开放引起的心肌缺血再灌注损伤的问题,由于其机制的复杂性,至今仍未得到很好解决。在众多机制中,PMN 激活、黏附、浸润、释放炎症介质可能是一个重要环节。

已知 NF-κB 是参与引发机体炎症反应的一个重要转录调控因子,其在缺血再灌注损伤中的作用是近年来缺血再灌注机制研究的重要进展^[1-2]。有研究发现一些药物和方法可不同程度抑制 NF-κB 活化并具有一定的心肌保护作用^[3-5]。也有研究表明葛根素预处理可能通过抑制 PMN 激活后细胞内 NF-κB 表达及炎症反应减轻鼠脑缺血再灌注损伤^[6]。本研究发现葛根素预处理虽不能完全抑制缺血再灌注后 PMN 内 NF-κB 表达的增强,但可明显抑制其增幅。

IL-6 是心肌缺血再灌注炎症起始阶段的重要促炎性细胞因子,主要来自缺血再灌注心肌^[7]。它的升高可致内源性递质释放,诱导急性期炎症反应的发生^[8],可看做“急性时相反应”的一种表现。有研究还表明 IL-6 致心肌损伤机制包括 IL-6 诱导心肌组织中 PMN 浸润,促进心肌细胞表达分子间黏附分子-1(ICAM-1),增强嗜 PMN 和心肌细胞的黏附反应,促进嗜 PMN 释放氧自由基;还可促进诱导型一氧化氮(NO)合酶增

加,使心肌环磷酸鸟苷(cGMP)水平升高,钙内流减少,并抑制对 β₂ 肾上腺素的刺激,降低心肌环磷酸腺苷(cAMP)水平^[9-10]。本研究结果显示葛根素亦可明显降低缺血再灌注后 PMN 内 IL-6 表达增强幅度,提示葛根素预处理可一定程度地抑制 IL-6 的过度生成。一项临床观察也显示葛根素预处理具有心肌保护作用并能明显抑制先天性心脏病患儿开心手术中血清 IL-6 水平的升幅^[11]。

IL-8 是免疫效应细胞生长刺激因子,是 PMN 最强的趋化激活因子,能激活 PMN,促进 CD11b/CD18(Mac-1)的高表达,增强 PMN 与内皮细胞的黏附,趋化 PMN 进入炎症区域,脱颗粒,释放有毒物质^[12]。还可通过抑制 Caspase 酶活性使体外循环期间 PMN 凋亡受到抑制,延长、增强 PMN 的炎症效应^[13]。目前认为由 IL-1、IL-6、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)诱发的炎症反应在很大程度上是通过诱导产生 IL-8 为代表的趋化因子所介导的^[14],其表达与心肌细胞损伤程度成正相关,是引起心肌收缩功能降低和早期心肌重塑的重要原因^[15]。本研究结果显示葛根素亦可明显降低 PMN 内 IL-8 表达增强幅度,提示葛根素预处理可一定程度地抑制 IL-8 的过度生成。临床观察也显示葛根素预处理在明显降低心肌钙蛋白 T 同时能明显抑制先天性心脏病患儿开心手术中血清 IL-8 水平的升幅。此外,PMN 内 IL-6、IL-8 表达的抑制与 NF-κB 活化的抑制相一

致,提示葛根素可能通过抑制 NF- κ B 活化减轻了炎症细胞因子的生成。

参考文献:

- [1] Sun B, Fan H, Honda T, et al. Activation of NF kappa B and expression of ICAM-1 in ischemic-reperfused canine myocardium[J]. *Mol Cell Cardiol*, 2001, 33(1): 109-111.
- [2] Ross SD, Kron IL, Gangemi JJ, et al. Attenuation of lung reperfusion injury after transplantation using an inhibitor of nuclear factor κ B[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2000, 279(3): 328-330.
- [3] 孙图成, 蒋熊刚, 张凯伦, 等. NF- κ B 激活对缺血再灌注心肌 TNF- α 和 IL-1 β 表达的影响[J]. *华中科技大学学报: 医学版*, 2009, 38(6): 752-755.
- [4] 吴黎明, 江挺, 叶榕, 等. 葛根素预处理抑制 NF- κ B p65 蛋白表达减轻在体大鼠心肌缺血再灌注损伤[J]. *心血管康复医学杂志*, 2009, 18(2): 185-188.
- [5] 邹大伟, 潘晓黎, 黄益素, 等. 抑制核因子 κ B 对缺血再灌注大鼠心肌组织的保护作用[J]. *中国老年学杂志*, 2007, 4(7): 705-707.
- [6] 娄海燕, 魏欣冰, 王汝霞, 等. 葛根素对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤炎症反应的抑制作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(2): 366-369.
- [7] Nader ND, Li CM, Khadra WZ, et al. Anesthetic myocardial protection with sevoflurane[J]. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2004, 18(3): 269-274.
- [8] Brull DJ, Sanders J, Rumley A, et al. Impact of angiotensin converting enzyme inhibition on post-coronary artery bypass interleukin 6 release[J]. *Heart*, 2002, 87(3): 252-

255.

- [9] Iahibahi T, Kijima M, Yokoyama K, et al. Expression of cytokine and adhesion molecule mRNA in atherectomy specimens from patients with coronary artery disease[J]. *Jpn Circ J*, 1999, 63(4): 249-254.
- [10] Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion[J]. *Thromb Haemost*, 2007, 97(5): 738-747.
- [11] 周玉娟, 魏继承, 张建军, 等. 葛根素预处理对小儿开心手术中血清肌钙蛋白-T 及 IL-6、IL-8、TNF- α 浓度的影响[J]. *四川中医*, 2010, 28(1): 98-101.
- [12] Takahashi T, Hato F, Yamans T, et al. Activation of human neutrophil by cytokine-activated endothelial cells[J]. *Circ Res*, 2001, 88(4): 422-429.
- [13] Wan IY, Arifi AA, Wan S, et al. Beating heart revascularization with or without cardiopulmonary bypass: Evaluation of inflammatory response in a prospective randomized study[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2004, 127(6): 1624-1631.
- [14] Liu P, Xu B, Cavalieri TA, et al. Attenuation of antioxidative capacity enhances reperfusion injury in aged rat myocardium after MI/R[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004, 287(6): 719-723.
- [15] Sam F, Sewyer DB, Chang DL, et al. Progressive left ventricular remodeling and apoptosis late after myocardial infarction in mouse heart[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000, 279(3): 422-428.

(收稿日期: 2011-06-10 修回日期: 2011-07-28)

(上接第 123 页)

- [2] 全国慢性支气管炎临床专委会. 慢性支气管炎临床诊断及疗效判断标准(1979 年修订)[J]. *中华结核和呼吸系统疾病杂志*, 1980, 3(1): 61-62.
- [3] 姚婉贞, 朱红, 沈宁, 等. 北京市延庆县慢性阻塞性肺疾病流行病学调查结果[J]. *北京大学学报: 医学版*, 2005, 37(2): 121-125.
- [4] Mauskopf JA, Baker CL, Monz BU, et al. Cost effectiveness of tiotropium for chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review of the evidence[J]. *J Med Econ*, 2010, 13(3): 403-405.
- [5] Sullivan SD, Ramsey SD, Lee TA. The economic burden of COPD[J]. *Chest*, 2000, 117(1): 5-9.
- [6] Nishimura S, Zaher C. Cost impact of COPD in Japan: opportunities and challenges[J]. *Respirology*, 2004, 9(4): 466-473.
- [7] 任建萍, 李华, 毛正中, 等. 慢性阻塞性肺疾病患者的经济负担及其影响因素研究[J]. *卫生经济研究*, 2002, 21(1): 16-17.
- [8] Dalal AA, Shah M, D'Souza AO, et al. Costs of COPD exacerbations in the emergency department and inpatient setting[J]. *Respir Med*, 2011, 105(3): 454-460.
- [9] van Wetering CR, Hoogendoorn M, Broekhuizen R, et al. Efficacy and costs of nutritional rehabilitation in muscle-wasted

patients with chronic obstructive pulmonary disease in a community-based setting: a prespecified subgroup analysis of the intercom trial[J]. *J Am Med Dir Assoc*, 2010, 11(3): 179-187.

- [10] 何权赢, 周新, 谢灿茂, 等. 慢性阻塞性肺疾病对中国部分城市患者生命质量和经济负担的影响[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2009, 32(4): 253-257.
- [11] 朱敏立, 蔡柏蔷. 慢性阻塞性肺疾病急性加重与肺癌患者的终末期住院费用[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2009, 32(4): 258-261.
- [12] 张本, 张媛, 杨季云, 等. 成都市社区慢性阻塞性肺疾病患者直接经济负担及其影响因素分析[J]. *卫生研究*, 2007, 36(6): 706-709.
- [13] 闫子海, 肖永红, 刘焕顺, 等. 城镇老年医疗保险患者住院医疗费用分析[J]. *中国老年病学杂志*, 2006, 26(6): 749-750.
- [14] 张素, 邓晓倩, 林可可, 等. COPD 患者住院医疗费用变动情况及其相关因素分析[J]. *中国护理管理*, 2009, 23(1): 38-40.
- [15] Geitona M, Hatzikou M, Steiropoulos P, et al. The cost of COPD exacerbations: a university hospital-based study in Greece[J]. *Respir Med*, 2011, 105(3): 402-405.

(收稿日期: 2011-06-19 修回日期: 2011-07-25)