

• 论著 •

氯沙坦对糖尿病大鼠肾小球信号蛋白 JAK2 和 STAT3 表达的影响

史永红 段惠军 何宁 王丽晖 刘青娟 高峰

【摘要】 目的 探讨血管紧张素Ⅰ型受体拮抗剂氯沙坦对糖尿病大鼠肾小球信号蛋白 Janus 酪氨酸蛋白激酶 2(JAK2)与信号转导子和转录激活子 3(STAT3)表达的影响。**方法** 雄性 Wistar 大鼠 60 只,随机分为正常对照组、糖尿病组和氯沙坦治疗组。腹腔注射链脲佐菌素(STZ)诱发糖尿病大鼠模型,每日灌胃氯沙坦 10 mg/kg。采用蛋白质免疫印迹法(Western blot)检测肾小球细胞 JAK2、STAT3 和磷酸化 STAT3(p-STAT3)蛋白的表达,免疫沉淀和 Western blot 检测磷酸化 JAK2(p-JAK2)情况,逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测肾小球细胞 JAK2 和 STAT3 mRNA 的表达。**结果** 在 2 周和 4 周时,糖尿病组较对照组肾小球 JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3 蛋白及其 JAK2 和 STAT3 mRNA 表达明显增强(P 均 <0.01)。氯沙坦治疗组较糖尿病组 p-JAK2 和 p-STAT3 表达降低($P<0.05$)。氯沙坦对 JAK2 和 STAT3 蛋白及其 mRNA 的表达无明显影响。**结论** JAK2 和 STAT3 信号蛋白可能参与了糖尿病早期肾脏的发病过程,氯沙坦对肾脏保护作用可能部分是通过影响 JAK/STAT 信号途径的激活而实现的。

【关键词】 血管紧张素Ⅰ型受体拮抗剂; 糖尿病肾病; Janus 酪氨酸蛋白激酶 2; 信号转导子和转录激活子 3

Effect of losartan on expression of Janus kinase 2 and signal transducer and activator of transcription 3 in glomeruli of diabetic rats SHI Yong-hong, DUAN Hui-jun, HE Ning, WANG Li-hui, LIU Qing-juan, GAO Feng. Department of Pathology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, Hebei, China
Corresponding author: DUAN Hui-jun (Email: duanhuijun@hebm.u.edu.cn)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of losartan on Janus kinase 2 (JAK2) and signal transducer and activator of transcription 3 in glomeruli of diabetic rats. **Methods** Sixty Wistar male rats were randomly divided into control group ($n=20$), diabetes group ($n=20$), and losartan treatment group ($n=20$). Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ, 65 mg/kg). Losartan (10 mg/kg) was administered daily by gavage from the day following the induction of diabetes. The animals were sacrificed in the weeks 2 and 4 after STZ injection. The renal cortical tissues were obtained and glomeruli were isolated. The protein expressions of JAK2, STAT3 and tyrosine phosphorylated STAT3 (p-STAT3) were assessed respectively by Western blot. Immunoprecipitation and Western blot analysis were used to determine tyrosine phosphorylated JAK2 (p-JAK2). JAK2 and STAT3 mRNA were assayed by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** Compared with the control group rats, the respective expression of JAK2, p-JAK2, STAT3, p-STAT3, JAK2 mRNA and STAT3 mRNA was significantly increased in the diabetic glomeruli without losartan treatment (all $P<0.01$). After treatment with losartan, the expression of p-JAK2 and p-STAT3 in the diabetic glomeruli was down-regulated (all $P<0.05$). However losartan had no effect on the expression of JAK2, STAT3, JAK2 mRNA and STAT3 mRNA in the diabetic glomeruli. **Conclusion** JAK2 and STAT3 signal proteins may be involved in the kidney damage associated with diabetes. Regulation of phosphorylation of JAK2 and STAT3 may be responsible for the renal protective effects of losartan in diabetic rats.

【Key words】 angiotensinⅠ type 1 receptor antagonist; diabetic nephropathy; Janus kinase 2; signal transducer and activator of transcription 3

各种细胞因子和生长因子在糖尿病肾病(DN)的发生、发展中起着重要作用。Janus 酪氨酸蛋白激酶/信号转导和基因转录激活子(JAKs/STAT)信

号途径可发挥信号转导和基因转录活化子蛋白的双重作用,介导多种细胞因子和生长因子的细胞内信号转导过程并活化相应靶基因,从而产生生物学效应^[1,2]。体外研究表明,高糖、血管紧张素Ⅰ(AngⅠ)等可激活体外培养的肾小球系膜细胞 JAK/STAT 途径^[3,4]。AngⅠ在 DN 的发生、发展中起重要作用,血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)和 AngⅠ1 型受体拮抗剂具有肾脏保护作用,已成为目前治疗 DN

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(C2004000536)

作者单位:050017 石家庄,河北医科大学病理学教研室

通讯作者:段惠军(Email:duanhuijun@hebm.u.edu.cn)

作者简介:史永红(1970-),男(汉族),河北省保定市人,医学博士,讲师,主要从事糖尿病肾病发病机制研究,获河北省科技进步二等奖 1 项,发表论文 10 余篇。

的首选药物。本研究拟应用糖尿病大鼠模型,观察氯沙坦对其肾小球 JAK2,磷酸化 JAK2(p-JAK2), STAT3 和磷酸化 STAT3(p-STAT3)蛋白表达及 JAK2 mRNA 和 STAT3 mRNA 表达的影响,探讨其肾脏保护作用及防治 DN 的可能机制。

1 材料与方法

1.1 试剂: Wistar 雄性大鼠由河北省实验动物中心提供;链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)购自美国 Sigma 公司;兔抗 JAK2 多克隆抗体(多抗)、兔抗 STAT3 多抗、小鼠抗 p-STAT3(B-7)单克隆抗体(单抗)、小鼠抗 p-Tyr(PY99)单抗和增强化学发光试剂(ECL)均购自美国 Santa Cruz 公司;逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)试剂为 Promega 公司产品;辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔或小鼠,由北京中山公司进口分装;聚偏二氟乙烯膜(PVDF)为 Milipore 公司产品。

1.2 糖尿病大鼠模型的建立和分组: 选取体重为 140~160 g 的雄性 Wistar 大鼠 60 只,随机分成正常对照组($n=20$)、糖尿病组($n=20$)和氯沙坦治疗组($n=20$)。制模动物经腹腔注射 STZ (65 mg/kg,溶于 pH 4.5 枸橼酸缓冲液中),于给药后 48 h 测血糖(Glu),凡 $Glu \geq 16.7$ mmol/L、尿糖为(+++)~(++++)者确定为糖尿病模型;正常对照组只注射等量枸橼酸缓冲液。实验期间动物自由进食、饮水,不使用胰岛素。予氯沙坦灌胃量为 10 mg/kg;另两组给予等量溶剂。糖尿病模型建成后,每周测 Glu 1 次,不符合标准者弃去,分别在给药的第 2 周和第 4 周处死动物。处死前用代谢笼收集动物 24 h 尿,测定尿蛋白(Pro)和尿肌酐(UCr)。经股动脉取血,分离血清,测定 Glu、血尿素氮(BUN)和血肌酐(SCr);部分肾皮质组织用于分离肾小球,提取肾小球总 RNA,同时按蛋白质免疫印迹法(Western blot)要求制备肾小球裂解液(-80 °C 保存备用)。

1.3 血生化指标检测: Glu、BUN、尿 Pro 均用日立 7170A 全自动生化分析仪测定。

1.4 Western blot 检测 STAT3、p-STAT3 和 JAK2 蛋白表达: 处死各组大鼠,分离肾皮质组织,先后通过 80、140 和 200 目不锈钢筛网,收集 200 目筛网上物质,得到肾小球。加入细胞裂解缓冲液 [20 mmol/L Tris-HCl, 2.5 mmol/L 乙二胺四乙酸(EDTA), 体积分数为 10% 的甘油、质量分数为 0.1% 的十二烷基硫酸钠(SDS)、体积分数为 1% 的 Triton X-100 和质量分数为 1% 的脱氧胆酸钠, 10 mmol/L 焦磷酸钠, 50 mmol/L 氟化钠, 1 mmol/L

硫酸钠, 1 mmol/L 苯甲基磺酰氟(PMSF)] 裂解肾小球,冰浴 1 h, 4 °C、14 000 r/min 离心 25 min, Lowry 法测定上清液蛋白浓度。取总蛋白 50 μ g, 用细胞裂解液将每个样本体积补齐, 8% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)后电转移至 PVDF 膜; 体积分数 5% 的脱脂奶粉封闭 PVDF 膜 2 h, 洗膜后加入兔抗 JAK2 和 STAT3 多抗(1:200 稀释), 小鼠抗 p-STAT3 单抗(1:200 稀释), 4 °C 过夜, 洗膜后加 HRP 标记羊抗兔或小鼠 IgG(1:5 000 稀释), 37 °C 孵育 1.5 h; 洗膜后加 ECL, PVDF 膜放入 X 线片暗盒, 压片, 显影, 定影。用美国 Kodak 公司 1 D 数码成像分析系统对 Western 条带行相对定量分析。

1.5 免疫沉淀和 Western blot 检测 p-JAK2: 肾小球细胞裂解物 400 μ g 以葡萄球菌蛋白 A 琼脂糖预澄清处理, 加入 2 μ g 兔抗 JAK2 多抗沉淀靶抗原, 葡萄球菌蛋白 A 琼脂糖收集抗原-抗体复合物; 变性处理样品置 8% SDS-PAGE; 凝胶分离的样品电转移至 PVDF 膜; 先后用鼠抗磷酸化酪氨酸单抗、HRP 耦联的山羊抗小鼠第二抗体检测, ECL 法显示。

1.6 半定量 RT-PCR 分析检测肾小球 JAK2 和 STAT3 mRNA 表达: 一步法总 RNA 提取试剂(Trizol 试剂)提取大鼠肾小球总 RNA, 用紫外-可见分光光度仪测定其纯度和含量。在莫洛尼鼠白血病病毒逆转录酶(MLV)催化下合成 cDNA, 以适量 cDNA 为模板在 TaqDNA 聚合酶催化下进行 PCR 扩增。JAK2 上下游引物为: 5'- TTC TGT GGC CTC AGA TGT GTG - 3' 和 5'- TGA AAG AGG GAC GTT GGT TGA - 3', 扩增片段为 257 bp; STAT3 上下游引物为: 5'- CCT TCC TGC GGT TCA GT - 3' 和 5'- GCT GCA GGT CGT TGG TGT CAC - 3', 扩增片段为 344 bp; 磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)上下游引物为: 5'- TAT CGG ACG CCT GGT TAC - 3' 和 5'- CTG TGC CGT TGA ACT TGC - 3', 扩增产物为 140 bp。所用引物均由上海生工生物公司合成。JAK2 的扩增条件为: 预变性 94 °C 5 min, 进入循环, 94 °C 50 s, 55 °C 60 s, 72 °C 60 s, 32 个循环后 72 °C 延伸 8 min。STAT3 扩增条件为: 预变性 94 °C 5 min, 进入循环, 94 °C 50 s, 58 °C 60 s, 72 °C 60 s, 30 个循环后 72 °C 延伸 8 min。将 PCR 产物在质量分数为 2% 的琼脂糖凝胶中进行电泳, 置于凝胶图像分析系统(Bio-Rad 公司, 美国)进行吸光度(A 值)扫描, 以管家基因 GAPDH 作为内参照校正, 用目的基因与 GAPDH

的比值(A 值比)代表目的基因相对表达含量。

1.7 统计学分析:数据均采用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示;应用 SPSS 11.0 统计软件进行统计分析,组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生化指标变化(表 1):2 周和 4 周时糖尿病组与正常对照组相比,Glu、BUN、尿 Pro 及肾重/体重比均增高(P 均 < 0.05);与糖尿病组相比,氯沙坦治疗组除 Glu 外其余指标均显著下降(P 均 < 0.05)。

表 1 3 组大鼠 Glu、BUN、尿 Pro 和肾重/体重比的表达变化($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Comparison of blood glucose, BUN, Pro, kidney weight/body weight ratio in three groups($\bar{x} \pm s, n = 10$)

时间	组别	Glu(mmol/L)	BUN(mmol/L)	尿 Pro(mg/24h)	肾重/体重($\times 10^{-3}$)
2 周	正常对照组	4.62±1.84	5.12±0.19	5.55±1.55	2.41±0.12
	糖尿病组	23.12±2.15**	8.32±1.73**	11.63±1.55**	4.29±0.10**
	氯沙坦治疗组	23.25±1.91	6.23±1.55**	8.78±1.58**	3.01±0.15**
4 周	正常对照组	7.56±0.67	5.02±1.29	5.31±1.58	2.86±0.65
	糖尿病组	21.37±1.67**	11.09±2.18**	14.55±2.34**	4.38±1.08**
	氯沙坦治疗组	22.14±2.16	8.24±1.36**	10.57±1.58**	3.32±0.75**

注:与正常对照组比较;* $P < 0.05$;与糖尿病组比较,** $P < 0.05$

2.2 Western blot 结果(表 2,图 1):糖尿病组肾小球 JAK2、STAT3 和 p-STAT3 蛋白在 2 周和 4 周时的表达水平均较正常对照组明显增高(P 均 < 0.01)。氯沙坦治疗使 p-STAT3 表达明显降低($P < 0.05$),而对 JAK2 和 STAT3 表达无明显影响。

表 2 3 组大鼠肾小球 JAK2、p-JAK2、STAT3 和 p-STAT3 的表达变化($\bar{x} \pm s, n = 10$)

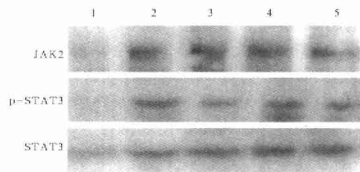
Table 2 Expression of JAK2, p-JAK2, STAT3 and p-STAT3 in glomeruli of three groups($\bar{x} \pm s, n = 10$)

时间	组别	JAK2	p-JAK2	STAT3	p-STAT3
2 周	正常对照组	1.00±0	1.50±0	1.90±0	1.00±0
	糖尿病组	3.44±0.57**	2.71±0.26**	2.31±0.51**	3.14±0.53**
	氯沙坦治疗组	2.89±0.41	1.76±0.35**	2.18±0.38	1.83±0.24**
4 周	正常对照组	1.00±0	1.50±0	1.90±0	1.00±0
	糖尿病组	2.57±0.37**	3.25±0.53**	2.19±0.35**	2.33±0.47**
	氯沙坦治疗组	2.76±0.56	1.82±0.34**	1.95±1.45	1.59±0.35**

注:与正常对照组比较,** $P < 0.01$;与糖尿病组比较,* $P < 0.05$

2.3 免疫沉淀和 Western blot 检测大鼠肾小球 p-JAK2 的结果(表 2,图 2):与正常对照组相比,在 2 周和 4 周时糖尿病组大鼠的肾小球 p-JAK2 表达均显著增高(P 均 < 0.01),氯沙坦治疗可明显下调肾小球 p-JAK2 水平(P 均 < 0.05)。

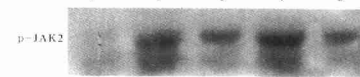
2.4 半定量 RT-PCR 分析结果(图 3,图 4,表 3):正常对照组肾小球 JAK2 和 STAT3 mRNA 有少量基础表达。2 周和 4 周时糖尿病组较正常对照组大鼠肾小球 JAK2 和 STAT3 mRNA 表达均明显上调(P 均 < 0.01)。氯沙坦治疗能使肾小球 JAK2 和 STAT3 mRNA 表达轻度下调,但差异均无显著性。



1 为正常对照组(2 周);2 为糖尿病组(2 周);3 为氯沙坦治疗组(2 周);4 为糖尿病组(4 周);5 为氯沙坦治疗组(4 周)

图 1 Western blot 检测肾小球 JAK2、STAT3 和 p-STAT3 的表达

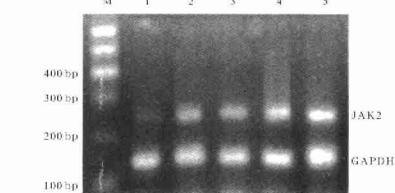
Figure 1 Expression of JAK2, STAT3 and p-STAT3 in glomeruli among three groups(Western blot)



1 为正常对照组(2 周);2 为糖尿病组(2 周);3 为氯沙坦治疗组(2 周);4 为糖尿病组(4 周);5 为氯沙坦治疗组(4 周)

图 2 免疫沉淀和 Western blot 检测肾小球 p-JAK2 的表达

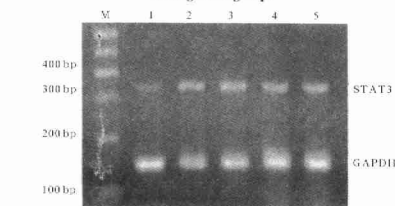
Figure 2 Expression of p-JAK2 in glomeruli among three groups (immunoprecipitation and Western blot)



M 为 DNA Marker;1 为正常对照组(2 周);2 为糖尿病组(2 周);3 为氯沙坦治疗组(2 周);4 为糖尿病组(4 周);5 为氯沙坦治疗组(4 周)

图 3 3 组大鼠肾小球 JAK2 mRNA 的表达变化

Figure 3 Expression of JAK2 mRNA in glomeruli among three groups



M 为 DNA Marker;1 为正常对照组(2 周);2 为糖尿病组(2 周);3 为氯沙坦治疗组(2 周);4 为糖尿病组(4 周);5 为氯沙坦治疗组(4 周)

图 4 3 组大鼠肾小球 STAT3 mRNA 的表达变化

Figure 4 Expression of STAT3 mRNA in glomeruli among three groups

表 3 3 组大鼠肾小球 JAK2 mRNA 和 STAT3 mRNA 的表达变化($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Expression of JAK2 mRNA and STAT3 mRNA in glomeruli of three groups($\bar{x} \pm s, n=10$) A 值

组别	2 周		4 周	
	JAK2 mRNA	STAT3 mRNA	JAK2 mRNA	STAT3 mRNA
正常对照组	0.22±0.09	0.23±0.07	0.22±0.09	0.23±0.07
糖尿病组	0.66±0.15**	0.83±0.21**	0.74±0.18**	0.71±0.15**
氯沙坦治疗组	0.64±0.21	0.81±0.19	0.70±0.23	0.67±0.19

注:与正常对照组比较:** $P<0.01$

3 讨论

JAK/STAT 信号途径是细胞因子信号转导的重要通路之一,对细胞的生理和病理反应发挥着重要调控作用。此信号途径的活化能引起细胞应激、生长、增殖、分化、凋亡等多种生物学效应^[5]。

目前对于此信号途径的研究多限于体外培养细胞。文献[3]报道,高糖或 Ang II 都能激活培养的系膜细胞 JAK/STAT 信号途径,且二者具有协同作用,高糖可影响 Ang II 对此信号途径的激活。抑制 JAK/STAT 途径可减少高糖培养的肾小球系膜细胞转化生长因子- β (TGF- β)和纤维连接蛋白的合成^[6]。本实验结果显示,正常大鼠肾小球 JAK2 和 STAT3 活化较弱,而在糖尿病大鼠模型 2 周和 4 周表达明显高于正常对照组;同时,非磷酸化 JAK2 和 STAT3 蛋白在糖尿病早期肾小球表达明显上调。半定量 RT-PCR 结果显示,糖尿病大鼠肾小球中 JAK2 和 STAT3 mRNA 表达明显增高,表明在糖尿病早期肾小球不仅有 JAK2 和 STAT3 磷酸化增强,且在其蛋白和 mRNA 水平也明显上调。初步提示,在糖尿病早期肾小球细胞信号蛋白 JAK2 和 STAT3 有可能参与了 DN 的发生、发展过程。

ACEI 和 Ang II 受体拮抗剂是目前常用通过干预肾素-血管紧张素系统(RAS)间接拮抗 TGF- β 系统的作用来逆转糖尿病肾脏肥大,减少细胞外基质(ECM)积聚,达到治疗 DN 的药物^[7]。研究表明 Ang II 阻断可影响糖尿病大鼠肾小球 JAK/STAT 信号途径的激活^[8]。本研究结果表明:Ang II 1 型受体拮抗剂氯沙坦在糖尿病 2 周和 4 周可明显降低 p-JAK2 和 p-STAT3 蛋白表达,同时可减轻肾小球肥大,改善肾功能。氯沙坦治疗对早期糖尿病大鼠肾小球 STAT3 mRNA 表达无明显影响。本研究结果提示,氯沙坦对肾脏的保护作用可能部分是通过影响 JAK/STAT 信号途径的激活而实现的。

分子生物学研究表明,STAT3 通过两条途径以磷酸化的方式激活,即有丝分裂原激活的蛋白激酶

(MAPK)通路和 JAKs 通路^[9,10]。JAKs 系非受体型酪氨酸激酶,使 STAT3 酪氨酸 705(Tyr 705)磷酸化而激活 STAT3,MAPK 可使 STAT3 丝氨酸 727 位点磷酸化^[11],活化的 STAT3 进入核内与 DNA 应答元件(response elements)结合,引起基因表达^[12]。本实验结果显示,JAK2 磷酸化增强的同时伴有 STAT3 磷酸化增强,提示 STAT3 的激活增强可能部分是由 JAK2 引起的。有研究表明,Ang II 激活 JAK/STAT 途径是通过与其受体结合而实现的^[13,14]。而 Ang II 阻断可降低 MAPK 活性^[15]。因此,氯沙坦 JAK/STAT 信号途径的抑制作用也可能部分是通过 MAPK 途径实现的。

DN 发病机制复杂,是多种因素综合作用的结果。迄今为止,JAK/STAT 信号转导途径在 DN 发生、发展过程中是如何表达的还不清楚。本研究结果仅提示,在早期糖尿病肾脏 p-JAK2 和 p-STAT3 蛋白及 JAK2 mRNA 和 STAT3 mRNA 表达增高,Ang II 1 型受体拮抗剂氯沙坦可下调 p-JAK2 和 p-STAT3 表达,而对 JAK2 mRNA 和 STAT3 mRNA 无明显影响,其肾脏保护作用可能部分是通过抑制此信号途径的活化来实现的。

参考文献:

- Russell S M, Johnson J A, Noguchi M, et al. Interaction of IL-2R beta and gamma c chains with Jak1 and Jak3: implications for XSCID and XCID[J]. Science, 1994, 266: 1042-1045.
- Su W C, Kitagawa M, Xue N, et al. Activation of stat1 by mutant fibroblast growth factor receptor in thanatophoric dysplasia type I dwarfism[J]. Nature, 1997, 386: 288-292.
- Amiri F, Shaw S, Wang X, et al. Angiotensin II activation of the JAK/STAT pathway in mesangial cells is altered by high glucose[J]. Kidney Int, 2002, 61: 1605-1616.
- Seebach F A, Walte T, Fu X Y, et al. Differential activation of the STAT pathway by angiotensin II via angiotensin type1 and type2 receptors in cultured human fetal mesangial cells[J]. Exp Mol Pathol, 2001, 70: 265-273.
- 姚胜, 姚咏明, 梁华平. 脓毒症时 JAK/STAT 通路的活化及意义[J]. 中国危重病急救医学, 2001, 13: 559-562.
- Wang X, Shaw S, Amiri F, et al. Inhibition of the Jak/STAT signaling pathway prevents the high glucose-induced increase in tgf-beta and fibronectin synthesis in mesangial cells[J]. Diabetes, 2002, 51: 3505-3509.
- Wolf G, Ziyadeh F N. Molecular mechanism of diabetic renal hypertrophy[J]. Kidney Int, 1999, 56: 393-405.
- Banes A K, Shaw S, Jenkins J, et al. Angiotensin II blockade prevents hyperglycemia-induced activation of JAK and STAT proteins in diabetic rat kidney glomeruli[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2004, 286: F653-659.
- Wen Z, Zhong Z, Darnell J E. Maximal activation of transcription by Stat1 and Stat3 requires both tyrosine and serine phosphorylation[J]. Cell, 1995, 82: 241-250.
- David M, Petricoin E, Benjamin C, et al. Requirement for MAP kinase (ERK2) activity in interferon alpha- and interferon

- beta-stimulated gene expression through STAT proteins[J]. Science, 1995, 269: 1721-1723.
- 11 Chung J, Uchida E, Grammer T C, et al. STAT3 serine phosphorylation by ERK-dependent and -independent pathways negatively modulates its tyrosine phosphorylation[J]. Mol Cell Biol, 1997, 17: 6508-6516.
- 12 Ihle J N. STATs: signal transducers and activators of transcription[J]. Cell, 1996, 84: 331-334.
- 13 Marrero M B, Scheiffer B, Paxton W G, et al. Direct stimulation of Jak/STAT pathway by the angiotensin II AT1 receptor[J]. Nature, 1995, 375: 247-250.
- 14 Seebach F A, Walte T, Fu X Y, et al. Differential activation of the STAT pathway by angiotensin II via angiotensin type1 and type2 receptors in cultured human fetal mesangial cells[J]. Exp Mol Pathol, 2001, 70: 265-273.
- 15 Nishiyama A, Yoshizumi M, Rahman M, et al. Effects of AT1 receptor blockade on renal injury and mitogen-activated protein activity in Dahl salt-sensitive rats[J]. Kidney Int, 2004, 65: 972-981.

(收稿日期: 2004-12-01 修回日期: 2005-10-15)

(本文编辑: 李银平)

• 经验交流 •

氯磷定不良反应的临床观察

陈江 刘百灵

【关键词】 中毒, 有机磷农药; 氯磷定; 不良反应

氯磷定早期、足量、酌情重复用药及合理伍用阿托品治疗急性有机磷农药中毒疗效好, 作用快, 半衰期短^[1]。探讨使用氯磷定过程中发生的药物不良反应, 报告如下。

1 临床资料

1.1 病例: 66 例患者均为口服中毒, 其中男 29 例, 女 37 例; 年龄 13~60 岁; 甲拌磷中毒 23 例, 敌敌畏中毒 28 例, 对硫磷中毒 15 例; 63 例服原液 20~400 ml, 未知药量者 3 例。

1.2 治疗方法: 重度中毒者在洗胃、导泻的同时, 尽快给予氯磷定+阿托品, 并配合内科综合治疗。氯磷定用法: 氯磷定加入生理盐水 100 ml 或质量分数为 5% 的葡萄糖 100 ml 中静脉滴注(静滴), 首次剂量 2.0 g, 间隔 1 h, 按 1.0 g/h 给 2~3 次后, 每 2 h 给 1.0 g, 视病情及胆碱酯酶(ChE)活性情况, 延长给药间隔时间, 一般总量不超过 10 g/d^[1]。24 h 后, 依病情每次给 0.5~1.0 g, 每 3~6 h 1 次, 连用 2~3 d, 视中毒症状、排便情况、全身状况酌情减量用药至全血 ChE 活性恢复至 0.50~0.70 以上。阿托品首次 5~10 mg 静脉注射, 以后每 30 min 依病情变化重复给首剂的半量, 尽快阿托品化。阿托品化后给维持量, 每 2~6 h 肌肉注射 0.5~1.0 mg, 至全血 ChE 活

性恢复、中毒症状消失后, 逐渐停药。

1.3 不良反应: 12 例患者静滴氯磷定时出现恶心、呕吐, 清醒患者可有头晕, 不处理或减慢滴速后症状消失。

2 例患者发生头痛, 伴有颜面及躯干部位充血性斑丘疹, 按药物过敏处理可缓解, 再次用药时仍出现上述症状, 程度较轻, 经相同处理缓解, 继续应用氯磷定 2~3 次后无上述症状出现。

1 例患者在他院未用氯磷定, 共用阿托品 78 mg, 达阿托品化后转入我科。转来时呈浅昏迷, 生命体征平稳。开始依上法使用氯磷定, 阿托品给维持量。每次从静滴氯磷定开始到滴入后 20 min, 心率明显增快(从 110~140 次/min 增到 140~170 次/min), 期间血压升高 10~30 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)。使用 3 次后, 减慢氯磷定滴速, 上述症状有所缓解。14 h 后, 用药与间歇期心率、血压均无明显变化。

1 例敌敌畏中毒患者在使用氯磷定时出现急性左心衰竭、肺水肿。入院时呈浅昏迷, 给予气管插管、呼吸机辅助呼吸, 按急性重度中毒给予综合治疗。入院 16 h 用氯磷定 11 g, 意识转清, 生命体征平稳。入院第 13 h 起用 10 g 氯磷定, 患者有恶心、呕吐, 到第 36.5 h 用 16 g 氯磷定后, 患者出现烦躁不安、口唇青紫、呼吸困难、呼吸增快、血压下降、心率增快、咳嗽、咳粉红色泡沫样痰、意识模糊。按照急性左心衰竭处理, 半坐卧位, 给予地塞米松 10 mg、速尿 20 mg、西地兰 0.2~0.4 mg 静脉注射, 30~60 min 患

者症状缓解, 停用氯磷定。共用阿托品 16 mg, 抢救过程中无电解质紊乱, 液体出入量平衡。入院时心电图示心肌缺血, 出院时心电图正常。住院 6 d, 治愈出院。本例患者 16 h 内氯磷定用药量过大。经综合分析, 急性左心衰竭、肺水肿的发生可能与氯磷定有关。有研究显示, 有机磷农药除了抑制 ChE 外, 对机体组织器官特别是对心肌、肝脏、骨骼肌等均有不同程度的损害^[2]。

2 讨论

氯磷定不良反应较小, 仅微见头晕、恶心、呕吐等, 可在数分钟到十几分钟消失^[3], 心电图暂时 ST 段压低和 QT 时间延长^[4]; 静脉注射过快可致乏力、视力模糊、复视、头痛、恶心、心动过速^[5]; 剂量过大可过度抑制 ChE, 致呼吸抑制和癫痫样发作^[4]; 有抗凝血作用, 给药后 1~4 h 凝血时间下降 50% 左右^[3]。

参考文献:

- 1 单沙林, 王汉斌. 急性有机磷农药中毒的正确救治[J]. 中国危重病急救医学, 1999, 11: 314-316.
- 2 黄明康, 钱德才, 梁云金. 38 例急性有机磷农药中毒血清酶学改变及临床意义[J]. 中国危重病急救医学, 1997, 9: 527-528.
- 3 耿洪业, 王少华. 实用治疗药理学[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003. 1623.
- 4 汤光, 李大魁. 现代临床药理学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003. 1051.
- 5 史美甫, 郭涛, 李明, 等. 21 世纪精编临床用药必备[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2003. 990.

(收稿日期: 2005-04-04)

修回日期: 2005-09-25)

(本文编辑: 李银平)

作者单位: 710025 西安, 陕西省航天医院急诊科

作者简介: 陈江(1969-), 女(汉族), 陕西省榆林市人, 主治医师。