

• 研究报告 •

盐酸戊乙奎醚对有机磷农药中毒鼠肝脾中肿瘤坏死因子-α 的影响

欧阳艳红 李松玲 宋维 赵宁 马中富

【关键词】 盐酸戊乙奎醚； 肿瘤坏死因子； 有机磷化合物； 中毒, 农药

急性有机磷农药中毒(AOPP)可激活全身炎症反应,是导致多器官功能障碍综合征(MODS)的病理基础。炎症反应中肿瘤坏死因子-α(TNF-α)发挥了较为重要的作用,并在一定程度上反映了炎症反应的强度。盐酸戊乙奎醚(长托宁)是一种新型抗胆碱药,目前在器官保护及抗炎反应等领域的研究进展迅速,取得了较好效果^[1-4]。本研究中通过建立动物中毒模型,观察盐酸戊乙奎醚对敌敌畏中毒小鼠肝脏、脾脏中 TNF-α mRNA 表达的影响,探讨其抗炎反应方面的机制。

1 材料与方

1.1 实验分组及处理:雄性 BALB/c 小鼠 54 只,体重 25~30 g,按随机数字表法分成正常对照组(6 只)、敌敌畏中毒模型组(24 只)、盐酸戊乙奎醚干预治疗组(24 只)。采用灌胃 35 mg/kg 敌敌畏染毒制备小鼠中毒模型;正常对照组灌胃等量生理盐水;药物干预组在染毒的

同时腹腔注射盐酸戊乙奎醚 1 mg/kg。各组分别于染毒后 2、6、12、24 h 选取 6 只小鼠,取肝脏、脾脏,用生理盐水冲洗后剪碎,迅速装入冷冻管中,置于 -80 ℃液氮中保存待用。

1.2 TNF-α mRNA 表达测定:采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)。

1.2.1 引物设计与合成:小鼠 TNF-α 和内参照 β-肌动蛋白(β-actin)由上海生工生物工程技术服务有限公司提供,引物序列查阅 GeneBank 获得,β-actin (330 bp)的上游引物 3'-AAG ATC ATT GCT CCT CCT GAG-5',下游引物 3'-GAG TCA AAA GCG CCA AAA C-5'; TNF-α (422 bp)的上游引物 3'-AGT CCG GGC AGG TCT ACT TT-5',下游引物 3'-GCA CCT CAG GGA AGA GTC TG-5'。

1.2.2 总 RNA 的提取:按 TRIzol 法提取肝、脾组织中总 RNA(试剂盒由美国 MBI 公司提供),按试剂盒说明书操作。

1.2.3 cDNA 合成:采用美国 MBI 公司的逆转录合成第一链 cDNA 试剂盒,以 Oligo(dT)18 为引物合成第一链 cDNA 反应。

1.2.4 PCR 反应条件:94 ℃预变性 2 min,94 ℃变性 30 s,退火 30 s,72 ℃延伸 45 s,72 ℃延伸 7 min,共 35 个循环。

1.2.5 PCR 产物的检测:取 10 μl 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭染色;用凝胶成像和化学发光图像分析系统测定电泳条带吸光度(A)值,计算 TNF-α 与内参照 β-actin 的 A 值比值作为扩增产物定量相对值。

1.3 统计学处理:采用 SPSS 10.0 统计软件,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用方差分析和 SNK-q 检验, P<0.05 为差异有统计学意义。

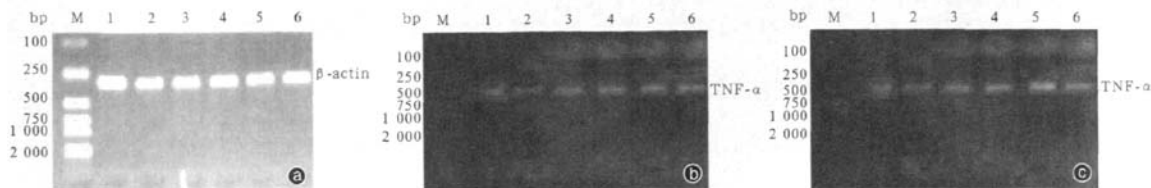
2 结果

表 1、图 1 显示,模型组和盐酸戊乙奎醚干预组染毒后肝、脾中 TNF-α mRNA 表达量均逐渐升高,并于 12 h 达峰值,之

表 1 各组小鼠敌敌畏染毒后不同时间点肝脏和脾脏的 TNF-α mRNA 表达变化($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	肝脏 TNF-α mRNA(A 值)				脾脏 TNF-α mRNA(A 值)			
		染毒 2 h	染毒 6 h	染毒 12 h	染毒 24 h	染毒 2 h	染毒 6 h	染毒 12 h	染毒 24 h
正常对照组	6	0.23±0.01				0.10±0.01			
染毒模型组	6	0.84±0.07*	0.94±0.01*	1.32±0.02*	1.04±0.01*	0.71±0.01*	0.78±0.01*	1.08±0.04*	0.94±0.01*
药物干预组	6	0.47±0.02 ^{ab}	0.64±0.01 ^{ab}	0.78±0.01 ^{ab}	0.68±0.05 ^{ab}	0.42±0.01 ^{ab}	0.62±0.01 ^{ab}	0.60±0.02 ^{ab}	0.54±0.02 ^{ab}

注:TNF-α;肿瘤坏死因子-α;与正常对照组比较,*P<0.05;与染毒模型组比较,^bP<0.05;空白代表无此项



M: Marker, 1~6 依次为正常对照、生理盐水对照及中毒后 2、6、12、24 h; β-actin; β-肌动蛋白, TNF-α; 肿瘤坏死因子-α

图 1 逆转录-聚合酶链反应检测中毒后各时间点 β-actin(a)及肝脏(b)、脾脏(c)中 TNF-α 的 mRNA 表达

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.04.013

基金项目:海南省自然科学基金资助项目(30719)

作者单位:570102 海口,海南省人民医院急救中心(欧阳艳红、李松玲、宋维、赵宁);510080 广东广州,中山大学附属第一医院(马中富)

通信作者:马中富,Email:ma_zf@tom.com

后有所下降,各时间点均明显高于正常对照组(均 $P < 0.05$);盐酸戊乙奎醚干预组肝、脾中 TNF- α mRNA 表达均较模型组显著降低,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

3 讨论

AOPP 时由于大量毒物的作用,使人体处于应激状态,同时伴有缺氧、休克、缺血/再灌注损伤、感染等诱发因素,促使炎症介质释放失控,引发 MODS。细胞因子被认为在 MODS 的调节上发挥了重要作用,其水平反映了 MODS 的严重程度,TNF- α 是机体最重要的促炎细胞因子^[5]。关永东等^[6]探讨了内毒素和 TNF- α 在 AOPP 引发 MODS 中的作用。张在其等^[7]观察了 AOPP 患者血清中 TNF- α 的动态变化。

盐酸戊乙奎醚具有特异而全面的中枢和外周抗毒蕈碱 M1、M3 受体作用,而对毒蕈碱 M2 受体无明显作用,因而对机体的心脏功能影响很小。目前盐酸戊乙奎醚在麻醉前用药、有机磷农药中毒抢救、休克、高血压、呼吸系统疾病及戒毒等领域的研究进展迅速,取得了较好的效果^[1-4],同时在器官保护及抗炎症反应等领域的研究进展迅速,龚平等^[1]通过研究盐酸戊乙奎醚对脓毒性休克患者内脏灌注的影响发现,盐酸戊乙奎醚可显著改善脓毒性休克患者的微循环,纠正隐匿性休克,且不影响心率,取得了较好的效果;雷利荣等^[2]探讨了盐酸戊乙奎醚对腹腔感染脓毒症小鼠肺损伤的保护作用,发现盐酸戊乙奎醚处理后脓毒症小鼠肺组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性明显升高,丙二醛(MDA)及诱导型一氧化氮合酶(iNOS)的 mRNA 表达下降,肺损伤得到明显改善。本研究中通过观察盐酸戊乙奎醚对有机磷中毒

鼠肝、脾中 TNF- α 的影响,探讨其在抗炎症反应方面的作用机制。

本研究结果显示,AOPP 致 MODS 模型小鼠染毒后肝、脾中 TNF- α mRNA 表达较正常对照组明显升高,提示炎症反应参与了 AOPP 引发 MODS 的发生发展过程;盐酸戊乙奎醚干预组肝、脾中 TNF- α mRNA 表达较模型组明显下降,提示盐酸戊乙奎醚可减轻 AOPP 所致炎症反应,起到器官保护作用。

盐酸戊乙奎醚对小鼠 AOPP 中毒致器官损伤的保护机制可能是其具有山莨菪碱等抗胆碱药类似的细胞保护作用。盐酸戊乙奎醚具有解除内脏平滑肌痉挛,抑制呼吸道腺体分泌和舒张支气管平滑肌的作用,能解除小血管痉挛,扩张血管,降低外周血管阻力和心脏前负荷,改善微循环和心功能,能提高细胞对缺血、缺氧的耐受性,稳定细胞膜及溶酶体和线粒体等细胞器的膜结构,减少溶酶体的释放和抑制花生四烯酸代谢产物的产生及休克因子的形成^[8],还可降低毛细血管壁的通透性,减少炎症时的渗出反应,同时由于其扩血管作用,改善了病变局部的内环境,对改善微循环障碍有较好的作用^[1-2]。

胆碱能抗炎通路的机制主要是当迷走传出纤维受到各种因素刺激后,释放出大量乙酰胆碱,与网状内皮系统的巨噬细胞表面的烟碱胆碱能受体 $\alpha 7$ 亚单位结合,从而抑制 $\alpha 7$ 亚单位活化,在蛋白质合成水平抑制活化的单核/巨噬细胞合成 TNF- α 、白细胞介素-6(IL-6)等炎症因子,从而对机体产生保护作用^[8]。盐酸戊乙奎醚可能是通过抑制核转录因子- κB (NF- κB)的活化,在基因转录水平抑制 TNF- α 的表达上调,从而产生抗炎效应。

综上所述,本研究结果表明,盐酸戊乙奎醚能减轻 AOPP 小鼠肝、脾组织炎症反应,通过抑制肝、脾组织 TNF- α 水平,对器官产生保护作用,其具体机制还需进一步研究探讨。

参考文献

- [1] 龚娟,张斌,刘辉,等. 盐酸戊乙奎醚对脓毒性休克患者内脏灌注的影响. 中国危重病急救医学,2008,20:183-186.
- [2] 雷利荣,王森林,贾宝辉,等. 盐酸戊乙奎醚对腹腔感染脓毒症小鼠肺损伤的保护作用. 中国危重病急救医学,2007,19:623-624.
- [3] 李娟,李俊,潘建辉,等. 盐酸戊乙奎醚预先给药对大鼠内毒素性急性肺损伤的影响. 中华麻醉学杂志,2007,27:70-74.
- [4] 聂时南,王忠,许宝华,等. 盐酸戊乙奎醚治疗休克的临床与血流动力学研究. 中国急救医学,2006,26:145-146.
- [5] Abraham E, Wunderink R, Silverman H, et al. Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis syndrome, a randomized, controlled, double-blind, multicenter clinical trial. JAMA,1995,273:934-941.
- [6] 关永东,徐辉,李小利,等. 急性有机磷中毒患者内毒素和肿瘤坏死因子与多器官功能障碍综合征的相关研究. 现代临床医学生物工程学报,2001,7:33-34.
- [7] 张在其,梁仁,黄辉,等. 急性有机磷农药中毒血管活性物质及炎症介质的动态变化及其临床意义. 中国危重病急救医学,2003,15:762-763.
- [8] Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. Nature, 2000, 405:458-462.

(收稿日期:2009-11-01)

(本文编辑:李银平)

• 科研新闻速递 •

重症患者机体多种细胞因子与其预后和微生物类型间的关系

欧洲学者最近研究了临床重症患者肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-10(IL-10)、CD14 和 IL-1 受体拮抗剂(IL-1ra)基因中内含子 2 的分布以及与患者预后和感染细菌类型的关系。研究人员采集了 106 例白人重症患者的血样,应用聚合酶链反应(PCR)检测 TNF- α 、IL-10、CD14 以及 IL-1ra 内含子 2 的分布。结果显示,TNF- α AA 基因型的患者全部存活,而 AG 和 GG 基因型患者死亡的相对危险度(RR)分别为 3.250 和 1.923($P < 0.01$)。革兰阳性菌感染患者中,IL-10 AA 和 AG 基因型是主要类型(均 $P < 0.01$)。与 AG 型相比,AA 型患者患胰腺炎的 RR 和优势比(OR)分别为 1.80 和 3.40;而与 GG 型相比,AA 型患者患胰腺炎的 RR 和 OR 则分别为 7.33 和 20.00。革兰阳性菌感染的脓毒症患者中,出现 CD14 的 OR 为 5.25。IL-1ra 内含子 2 的分布与患者预后无显著相关性。研究人员认为,TNF- α 的基因型与患者预后关系密切,IL-10 和 CD14 与脓毒症的细菌类型间也存在着关系。

杨明星,编译自《J Crit Care》,2010-02-15(电子版);胡森,审校

作者: [欧阳艳红](#), [李松玲](#), [宋雏](#), [赵宁](#), [马中富](#)
 作者单位: [欧阳艳红, 李松玲, 宋雏, 赵宁 \(海南省人民医院急救中心, 海口, 570102\)](#), [马中富 \(中山大学附属第一医院, 广东广州, 510080\)](#)
 刊名: [中国危重病急救医学](#) ISTIC PKU
 英文刊名: [CHINESE CRITICAL CARE MEDICINE](#)
 年, 卷(期): 2010, 22(4)
 被引用次数: 0次

参考文献(8条)

1. Borovikova LV; Ivanova S; Zhang M [Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin](#) 2000
2. [张在其; 梁仁; 黄韬](#) [急性有机磷农药中毒血管活性物质及炎性介质的动态变化及其临床意义](#) [期刊论文]-[中国危重病急救医学](#) 2003(12)
3. [关永东; 徐辉; 李小利](#) [急性有机磷中毒患者内毒素和肿瘤坏死因子与多器官功能障碍综合征的相关研究](#) [期刊论文]-[现代临床医学生物工程学杂志](#) 2001(07)
4. Abraham E; Wunderink R; Silverman H [Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis syndrome, a randomized, controlled, double-blind, multicenter clinical trial](#) 1995
5. [聂时南; 王忠; 许宝华](#) [盐酸戊乙奎醚治疗休克的临床与血流动力学研究](#) [期刊论文]-[中国急救医学](#) 2006(2)
6. [李娟; 李俊; 潘建辉](#) [盐酸戊乙奎醚预先给药对大鼠内毒素性急性肺损伤的影响](#) [期刊论文]-[中华麻醉学杂志](#) 2007(1)
7. [雷利荣; 王焱林; 贾宝辉](#) [盐酸戊乙奎醚对腹腔感染脓毒症小鼠肺损伤的保护作用](#) [期刊论文]-[中国危重病急救医学](#) 2007(10)
8. [龚平; 张或; 刘辉](#) [盐酸戊乙奎醚对脓毒性休克患者内脏灌注的影响](#) [期刊论文]-[中国危重病急救医学](#) 2008(3)

相似文献(10条)

1. 学位论文 [郭圣东](#) [盐酸戊乙奎醚注射液对内毒素诱导的新生大鼠急性肺损伤的保护作用](#) 2007

尽管支持监护手段不断进步,急性肺损伤(ALI)/急性呼吸窘迫综合征(ARDS)病人的死亡率仍然居高不下。目前,国内外学者普遍认为,全身炎症反应(SIR)在ALI/ARDS的发生发展中起关键作用。而机体在引发SIR的同时,又伴发了代偿性抗炎反应(CAR),以对抗炎症介质。如果SIR和CAR处于动态平衡,则有利于ALI的恢复。最近几年来如何促进CAR抑制SIR以重建二者的平衡,阻断炎症介质的瀑布反应已成为ALI/ARDS研究的热点。有关新生儿ALI研究起步较晚,近年来有关新生儿ALI/ARDS的报道越来越多,新生儿ALI与成人和儿童不同,发病快,病程进展迅速,低氧血症更为严重。本文通过观察内毒素致新生大鼠急性肺损伤过程中炎症介质、抗炎介质的变化及盐酸戊乙奎醚注射液干预对炎症介质及抗炎介质的作用,探讨盐酸戊乙奎醚注射液对急性肺损伤的保护作用及机制。

材料与方

腹腔内注射内毒素(LPS)3m/kg建立新生大鼠急性肺损伤(ALI)模型。40只健康7日龄Wistar新生大鼠(18-21g)随机分为四组:对照组(I组,腹腔内注射生理盐水,n=10);损伤组(II组,腹腔内注射内毒素3mg/kg,n=10);损伤前盐酸戊乙奎醚注射液干预组(即预防组,III组,腹腔内注射内毒素前30min肌肉注射盐酸戊乙奎醚注射液5mg/kg,n=10);损伤后盐酸戊乙奎醚注射液干预组(即治疗组,IV组,腹腔内注射内毒素后60min肌肉注射盐酸戊乙奎醚注射液5mg/kg,n=10);四组动物均于四小时后处死,立即开胸,取左肺叶计算肺湿/干比反映肺含水量。取右肺下叶组织切小块置于电镜保存液中,常规制作病理切片备检。取余下的右肺组织制作组织匀浆,在2~4℃冰生理盐水中漂洗,滤纸吸水,干后称重,在冰浴中组织匀浆,低温离心机4000 r/min离心10min,取上清液备检,应用ELISA法测定肺组织中肿瘤坏死因子(TNF- α)和白介素10(IL-10)含量。

结果:内毒素损伤组(II组)新生大鼠肺湿/干比明显增加($p<0.01$),预防组与治疗组比较亦有统计学意义($p<0.05$);损伤组大鼠肺脏大体观察见肺脏体积增大,边缘钝,明显水肿,肺表面可见点、灶状出血。预防组与治疗组大鼠肺脏较损伤组水肿减轻,出血点减少;损伤组新生大鼠电镜下II型肺泡上皮细胞微绒毛减少、消失,线粒体空泡变性,板层小体排空增多;血管基底膜变薄,局部断裂。预防组与治疗组大鼠病变减轻;肺组织匀浆中TNF- α 含量损伤组明显高于预防组、治疗组($p<0.01$),IL-10含水量水平损伤组高于预防组、治疗组,差别有统计学意义($p<0.05$)。TNF- α 、IL-10含水量水平预防组及治疗组比较差别亦有统计学意义($p<0.05$)。

结论:盐酸戊乙奎醚注射液对内毒素(LPS)诱导的新生大鼠急性肺损伤(ALI)有保护作用,损伤前干预作用更明显。其机制可能是:1、使交感神经恢复常态,减少肾上腺素及去甲肾上腺素的释放,解除血管平滑肌痉挛,改善微循环。2、提高细胞对缺血缺氧的耐受性,稳定细胞膜及溶酶体、线粒体等细胞器的膜结构,减少溶酶体的释放,抑制炎症介质TNF- α 的释出,而对抗炎因子IL-10影响轻微。使全身炎症反应(SIR)和代偿性抗炎反应(CAR)处于动态平衡。3、对肺泡II型上皮细胞起保护作用,增加肺泡表面活性物质,从而减轻肺损伤。4、抑制中性粒细胞、巨噬细胞等释放弹性蛋白酶及明胶酶,减轻血管基底膜损伤,降低其通透性,减少渗出。5、解除支气管平滑肌痉挛,减少呼吸道腺体分泌,增加呼吸流量,改善通气。

2. 期刊论文 [魏昕](#), [高亚利](#), [秦红](#), [方才](#) [盐酸戊乙奎醚对瓣膜置换术患者体外循环前后白介素及肿瘤坏死因子的影响](#)

目的 观察盐酸戊乙奎醚对体外循环(CPB)瓣膜置换术患者血浆炎症因子的影响。方法 选择择期体外循环下瓣膜置换术患者20例,随机分为盐酸戊乙奎醚组(A组,n=10)和对照组(B组,n=10)。A组于CPB前10 min静注盐酸戊乙奎醚3 mg,对照组给予等量生理盐水,分别于麻醉诱导前(T0)、CPB 30 min(T1)、主动脉开放后10 min(T2)、CPB后3 h(T3)、24h(T4)抽取桡动脉血,测定血浆肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、和白细胞介素-10(IL-10)浓度。结果 组内比较,B组TNF- α 浓度于T3时点高于T0($P<0.01$),而A组T1、T2时点TNF- α 浓度较T0显著降低,其余时点与术前比较无明显变化。B组IL-6于T4时点高于A组($P<0.05$),IL-10浓度明显低于A组。组间比较,B组TNF- α 浓度于T1~T4各时点均高于A组($P<0.05$)。结论 盐酸戊乙奎醚可部分抑制CPB导致的炎性反应,对CPB后全身炎性反应综合征有一定的预防作用。

3. 期刊论文 段维娜. DUAN Weina 盐酸戊乙奎醚对冠状动脉旁路移植术患者体外循环前、后白介素及肿瘤坏死因子的影响 -中华实用诊断与治疗杂志2009, 23(6)

目的:观察盐酸戊乙奎醚对体外循环冠状动脉旁路移植术患者血浆炎症因子的影响。方法:选择择期体外循环下冠状动脉旁路移植术患者40例,随机分为盐酸戊乙奎醚组20例(A组)和对照组20例(B组)。A组于体外循环前10 min静注盐酸戊乙奎醚3 mg,对照组给予等量生理盐水。测定血浆肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-6、和白细胞介素-10浓度。结果:组内比较B组肿瘤坏死因子- α 浓度于体外循环后3 h高于麻醉诱导前($P<0.01$),而A组体外循环30 min、主动脉开放后10 min肿瘤坏死因子- α 浓度较麻醉诱导前明显降低,其余时点与术前比较无明显变化。B组白细胞介素-6于体外循环后24 h高于A组($P<0.05$),白细胞介素-10浓度明显低于A组。2组间比较,B组坏死因子- α 浓度于体外循环30 min,24 h各时点均高于A组($P<0.05$)。结论:盐酸戊乙奎醚可部分抑制体外循环导致的炎性反应,对体外循环术后全身炎性反应综合征有一定的预防作用。

4. 期刊论文 吴晓静. 王伶俐. 夏中元. WU Xiao-jing. WANG Ling-li. XIA Zhong-yuan 盐酸戊乙奎醚对创伤性急性肺损伤大鼠肿瘤坏死因子 α 表达的影响 -中国急救复苏与灾害医学杂志2009, 4(10)

目的 探讨盐酸戊乙奎醚(长托宁)对大鼠创伤后急性肺损伤的保护作用机制。方法 建立大鼠创伤性急性肺损伤模型。实验动物随机分为正常对照组(N)24只、创伤模型组(T)24只、长托宁干预组(P)24只。检测各组动物血气、乳酸、肺湿/干重(W/D)比值;肺组织髓过氧化物酶活性(MPO);通过ELISA法检测创伤后0.5 h、2 h、4 h、8 h血清中肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的表达情况,用HE染色法在光镜下观察肺组织损伤情况。结果 创伤后TNF- α 0.5 h表达开始升高,2 h达高峰,以后逐渐下降;长托宁治疗后能不同程度降低血清TNF- α 的含量($P<0.01$, $P<0.05$),明显改善创伤性急性肺损伤动物的血气及乳酸值($P<0.05$),减少肺W/D($P<0.01$)和髓过氧化物酶值($P<0.05$),减轻肺组织的损伤程度。结论 长托宁防治创伤性急性肺损伤的作用与其调节炎性介质TNF- α 的作用密切相关。

5. 期刊论文 姜丽华. 孙亚林. 姚尚龙. JIANG Li-hua. SUN Ya-lin. YAO Shang-long 盐酸戊乙奎醚对正常人离体白细胞炎性介质的影响 -临床麻醉学杂志2011, 27(1)

目的 通过对正常人离体白细胞促炎和抗炎处理,观察盐酸戊乙奎醚对正常人离体白细胞炎性介质分泌的影响。方法 严格无菌抽取正常成年人静脉血10 ml,加入淋巴细胞分离液,2 000 r/min离心15 min,取出白细胞,加1 640培养液使白细胞浓度为 10^6 个/ml。平均分为五组,每组6个样本。I组:对照组;II组:加内毒素;III组:加盐酸戊乙奎醚后20 min加内毒素;IV组:加内毒素1 h后加盐酸戊乙奎醚;V组:加阿托品(与盐酸戊乙奎醚等量)20 min后加内毒素。所有组加药后放置培养箱,4 h后加肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-10(IL-10)检测试剂。结果 与I组相比,II、III、IV、V组TNF- α 、IL-6、IL-10水平均明显增高;与II组相比,III、IV组TNF- α 、IL-6、IL-10水平均有不同程度的下降($P<0.01$),且III组下降程度较IV组更明显($P<0.05$),V组TNF- α 、IL-6、IL-10水平虽有所变化,但差异无统计学意义。结论 抗胆碱药能作用于白细胞非神经性胆碱能受体,抑制白细胞炎性介质的分泌,盐酸戊乙奎醚的作用更明显,尤以提前干预为佳。

6. 期刊论文 艾艳秋. 李宁. 张卫. 耿红芳. 金峰. 李丽伟. 杨宝锋 盐酸戊乙奎醚对心脏瓣膜置换术患者CPB期间心肌NF- κ B活性及血浆TNF- α 水平的影响 -中华麻醉学杂志2010, 30(2)

目的 探讨盐酸戊乙奎醚对心脏瓣膜置换术患者CPB期间心肌NF- κ B活性及血浆TNF- α 水平的影响。方法 择期CPB下行心脏瓣膜置换术的患者45例,性别不限,年龄18~64岁,体重指数 $20\sim 22$ kg/m 2 ,NYHA心功能分级II或III级,随机分为3组(n=15):对照组(C组)和不同剂量盐酸戊乙奎醚组(P_1组和P_2组)。P_1组和P_2组于手术开始即刻由中心静脉分别注射盐酸戊乙奎醚0.05和0.1 mg/kg,C组给予等容量生理盐水。于CPB开始前和CPB期间测定心肌NF- κ B的活性和血浆TNF- α 及心肌肌钙蛋白I(cTnI)的浓度,并观察心肌组织病理学结果。结果 与CPB开始前比较,三组CPB期间血浆TNF- α 和cTnI的浓度升高,心肌NF- κ B活性增强($P<0.01$);与C组比较,P_1组和P_2组CPB期间血浆TNF- α 和cTnI的浓度降低,心肌NF- κ B活性减弱($P<0.01$);P_1组和P_2组CPB期间血浆TNF- α 、cTnI的浓度和心肌NF- κ B活性比较差异无统计学意义($P>0.05$)。P_1组和P_2组心肌病理学损伤较C组减轻。结论 CPB前静注盐酸戊乙奎醚0.05、0.1 mg/kg可减轻心脏瓣膜置换术患者心肌再灌注损伤,其机制与抑制心肌NF- κ B活性和血浆TNF- α 浓度的升高,从而减轻炎性反应有关。

7. 学位论文 王晓宇 盐酸戊乙奎醚对脓毒症大鼠肺脏的保护作用 2009

目的:脓毒症(Sepsis)是由感染引起的全身炎症反应综合征(Systemic inflammatory response syndrome, SIRS),多可证实有细菌或高度可疑感染灶存在。急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是脓毒症常见的并发症之一,重度的ALI就是急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)。ALI/ARDS是SIRS在肺部的表现,三者不是孤立、互相分割的疾病,而是严重损伤引起的全身性瀑布式炎症反应发展过程的不同阶段。本研究采用盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP)致脓毒症肺损伤模型,通过观察盐酸戊乙奎醚(penehyclidine hydrochloride, PHC)对相关炎症介质的调节,并结合肺组织病理学变化,探讨盐酸戊乙奎醚对脓毒症肺损伤的保护作用,为临床治疗提供理论依据。

方法:采用盲肠结扎穿孔术(CL P)复制脓毒症肺损伤模型。健康雄性Wistar大鼠36只,随机分为3组,每组12只。①假手术组(Sham组)打开腹腔后仅暴露盲肠,不作结扎穿孔处理。②脓毒症组(CL P组)行盲肠结扎穿孔术。③盐酸戊乙奎醚治疗组(PHC组)行盲肠结扎穿孔术后腹腔注射盐酸戊乙奎醚2mg/kg,假手术组和脓毒症组则腹腔给予等量生理盐水。三组术后均皮下注射生理盐水30~40ml/kg补充术中体液丢失并抗休克。观察各组大鼠术后一般情况变化。术后12h,经颈动脉抽血留取血标本,之后放血处死大鼠,并迅速留取肺组织标本。采集血标本后测定动脉血氧分压(PaO $_2$)、动脉血二氧化碳分压(PaCO $_2$)、pH值。采用放射免疫分析法测定大鼠血清TNF- α 、IL-6等炎症细胞因子的水平。采集肺组织标本后,在光镜和透射电镜下观察肺组织的病理形态学变化。并取右肺下叶,滤纸吸干表面水分后称湿重,再置于80℃恒温箱,烘烤48h至恒重后称干重,计算肺湿/干重比(W/D)。

结果:

1、术后一般情况观察:CLP组大鼠病态明显,蜷缩,活动减少,不饮水,不再合群取暖,竖毛,呼吸急促,分泌物由鼻腔溢出,眼角出现渗出物等。剖腹可见浑浊脓血性渗液、恶臭、肠管水肿、空肠肠管胀气,肠粘连等。Sham组大鼠麻醉清醒后活动基本如常。PHC组大鼠术后表现较轻。

2、血气分析变化:与Sham相比,CLP组大鼠动脉血PaO $_2$ 、pH显著降低($P<0.05$),PaCO $_2$ 显著升高($P<0.05$);PHC组大鼠动脉血PaO $_2$ 、pH显著降低($P<0.05$),PaCO $_2$ 显著升高($P<0.05$)。PHC组与CLP组相比PaO $_2$ 、pH显著升高($P<0.05$),PaCO $_2$ 显著降低($P<0.05$)。

3、光镜结果显示:Sham组肺泡结构完整,肺泡隔均匀一致,可见少量炎性细胞,肺泡腔清晰,无渗出液;CLP组肺泡隔增厚,肺泡结构破坏严重,部分肺泡腔内见渗出、水肿、出血,肺间质可见大量炎症细胞浸润;PHC组较CLP组明显减轻但较假手术组重。

4、电镜结果显示:Sham组肺微血管内皮细胞及基底膜形态结构正常,细胞连接紧密,内皮细胞内可见吞饮小泡。II型肺泡上皮细胞超微结构正常,板层小体结构清晰。微绒毛排列整齐。CLP组肺微血管内皮细胞严重肿胀基底膜缺损、疏松、不清晰,毛细血管壁电子密度降低明显。II型肺泡上皮细胞内线粒体水肿肿胀,嵴断裂或消失。微绒毛排列完全脱落。PHC组肺微血管内皮细胞形态基本正常,基底膜较完整。II型肺泡上皮细胞结构基本正常,微绒毛排列较整齐。

5、各组大鼠肺组织湿干重比(W/D)变化:与Sham相比,CLP组肺组织W/D显著增加(4.5064 \pm 0.2353 vs4.3976 \pm 0.2037, $P<0.05$);PHC组肺组织W/D也显著增加(4.7162 \pm 0.2356 vs4.3976 \pm 0.2037, $P<0.05$);与CLP组相比,PHC组肺组织W/D显著减小(4.7162 \pm 0.2356 vs4.5064 \pm 0.2353, $P<0.05$)。

6、各组大鼠12h血清TNF- α 、IL-6水平的变化: Sham组血清TNF- α 水平显著低于CLP组和PHC组(0.8352 \pm 0.044 vs1.6699 \pm 0.0630, P<0.01; 0.8352 \pm 0.044 vs1.2574 \pm 0.0683, P<0.01); 与CLP组相比, 经PHC治疗后的大鼠血清中TNF- α 水平下降(1.2574 \pm 0.0683 vs1.6699 \pm 0.0630, P<0.0); Sham组血清IL-6水平显著低于CLP组和PHC组(116.2510 \pm 6.7318 vs156.1840 \pm 8.7588, P<0.01; 116.2510 \pm 6.7318 vs119.500 \pm 11.4559, P<0.01); 与CLP组相比, 经PHC治疗后的大鼠血清中IL-6水平下降(119.500 \pm 11.4559 vs156.1840 \pm 8.7588, P<0.01)

结论:

1、CLP法能够成功复制由腹腔感染导致的大鼠脓毒症模型。

2、盐酸戊乙奎醚能够降低血清TNF- α 、IL-6水平, 对脓毒症肺损伤有明显保护作用。

8. 期刊论文 李克寒, 曹劝省, 郭文丽, LI Ke-han, CAO Quan-sheng, GUO Wen-li 盐酸戊乙奎醚对体外循环肺损伤的临床观察 -中国实用医刊2009, 36(9)

目的 探讨盐酸戊乙奎醚(PH)对体外循环肺损伤的保护作用. 方法 选取24例体外循环下心脏手术患者, 随机分成两组. 每组12例: 盐酸戊乙奎醚组(P组), 在麻醉开始前和体外循环开始前经静脉给盐酸戊乙奎醚各一次, 剂量均为0.02 mg/kg; 常规对照组(C组)在相应给药时间予等体积生理盐水静脉注射. 在围术期不同时间点检测肺动态顺应性和氧合指数, 评估肺功能的变化; 同时检测血肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8). 结果 两组患者术后肺顺应性及氧合指数均较术前低(P<0.05); P组术中和术后多个时间点的肺顺应性及氧合指数明显高于对照组(P<0.05). 所有患者血TNF- α 、IL-6、IL-8均较术前明显升高(P<0.05), 但P组明显低于对照组(P<0.05). 结论 盐酸戊乙奎醚对体外循环肺损伤有一定的保护作用.

9. 期刊论文 房玉琴, 苏新娟 盐酸戊乙奎醚对小儿体外循环后肺保护作用的研究 -中国当代医药2010, 17(19)

目的: 通过观察不同剂量盐酸戊乙奎醚对小儿先天性心脏病肺动脉高压体外循环(CPB)后细胞因子释放及肺功能的影响, 探讨其可能存在的肺保护作用. 方法: ASA II~III级的50例先天性心脏病(房缺或室缺)患儿, 将其随机分为盐酸戊乙奎醚组(I组18例和II组20例)、对照组(12例). I、II组静脉穿刺成功后分别注射盐酸戊乙奎醚0.02、0.04 mg/kg, 对照组注同体积0.9%氯化钠溶液. 记录诱导和术中气道峰压. 分别于麻醉诱导后、主动脉开放后30 min、2、24 h采集动脉血, 应用酶联免疫吸附试验法测定血浆肿瘤坏死因子(TNF- α)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的含量. 结果: II组气道峰压在体外循环(CPB)前后无变化. CPB后患儿TNF- α 、MMP-9生成明显增加, II组在主动脉开放30 min、24 h两时点MMP-9、TNF- α 的水平均较对照组明显降低(P<0.05). 结论: CPB前应用0.04 mg/kg盐酸戊乙奎醚能有效抑制细胞因子TNF- α 、MMP-9的释放, 减轻CPB后急性肺损伤, 具有一定的肺保护作用.

10. 学位论文 康颖颖 盐酸戊乙奎醚对大鼠肢体缺血-再灌注继发肺损伤的影响 2007

肢体缺血-再灌注常见于腹主动脉瘤手术、大血管栓塞再通或者损伤修复、断肢再植术、体外循环等, 缺血范围较广, 不仅缺血肢体可发生更严重的损伤, 还可导致远隔器官(如肺)的损伤, 甚至多器官功能障碍. 有学者认为抗胆碱药物有细胞膜保护作用, 能提高细胞对缺血缺氧的耐受性, 稳定溶酶体和线粒体等亚细胞结构, 减少溶酶体酶的释放, 抑制花生四烯酸代谢物的产生和休克因子的形成. 这些都有利于解除小血管痉挛, 扩张血管, 降低心脏的前后负荷, 减少肺损伤后肺水的渗出量. 临床证明体外循环下心内直视手术病人使用盐酸戊乙奎醚对体外循环后的肺损伤有明显的保护作用, 其效果优于阿托品和东莨菪碱, 且较大剂量时效果更好.

本课题通过动物实验, 来初步探讨不同剂量的盐酸戊乙奎醚对缺血-再灌注继发肺损伤的影响的机制, 为临床研究提供相关依据.

对象与方法:

(1) 制备缺血-再灌注大鼠模型大鼠经标号分组称重腹腔注射4%水合氯醛麻醉后置于手术板上, 于双侧股三角处切开皮肤, 分离股动、静脉, 用无创微动脉夹夹闭动脉造成双侧肢缺血, 3小时后, 右颈部开口分离颈内静脉, 建立输液系统, 去除动脉夹恢复双侧肢血流4小时后处死. 大体标本观察呈暗红色, 体积变大, 水肿, 边缘变钝, 可见点灶状出血即说明模型制作成功.

(2) 用药I组(对照组, 即进行同样的麻醉及手术, 只是不进行血管夹闭, 不用药), II组(损伤组, 即建立缺血再灌注模型但不用药), III组和IV组分别于开放前10分钟肌肉注射盐酸戊乙奎醚2mg/kg、9mg/kg.

(3) 观察指标: 取右肺组织用盐水冲去残血, 滤纸吸干水分, 在分析天平上精确称重后于80 $^{\circ}$ C烘干48小时, 再称干重, 计算肺组织含水率=(湿重-干重)/干重 \times 100%. 取左肺上叶组织约1mm \times 3肺组织置于2.5%戊二醛磷酸缓冲液中固定1-4小时, 再经4 $^{\circ}$ C, 1%锇酸后固定1-2小时, 包埋染色后, 行透射电镜观察. 取左肺中叶制成10%组织匀浆用酶联免疫吸附法检测TNF- α 和IL-10的含量.

(4) 统计学分析用SPSS软件系统分析结果, 计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 组间比较采用单因素方差分析, P<0.05为差异有统计学意义.

结果

(1) 一般资料: 四组大鼠月龄、体重、麻醉时间、手术时间、缺血-再灌注时间差异均无显著性(P>0.05).

(2) 肺组织含水率: 损伤组肺组织含水率明显高于对照组(P<0.05), 小剂量组肺组织含水率明显低于损伤组(P<0.05), 大剂量组肺组织含水率明显低于小剂量组(P<0.05).

(3) 电镜结果: 对照组肺毛细血管基底膜较完整, 肺泡II型上皮细胞呈圆形或椭圆形, 胞浆丰富, 游离面微绒毛及板层体较完整; 损伤组及小剂量组可见肺毛细血管基底膜连续性中断, 毛细血管内皮细胞肿胀, 内皮细胞间隙增宽, 肺泡II型上皮细胞微绒毛破坏程度严重, 微绒毛变短、减少甚至消失, II型上皮细胞板层体排空; 大剂量组游离面微绒毛轻度破坏, 损伤程度介于I、II两组之间.

(4) 肺组织匀浆中TNF- α 和IL-10含量: 损伤组肺组织匀浆中TNF- α 含量明显高于对照组(P<0.05), 小剂量组肺组织匀浆中TNF- α 含量明显低于损伤组(P<0.05), 大剂量组肺组织匀浆中TNF- α 含量明显低于小剂量组(P<0.05);

损伤组肺组织匀浆中IL-10含量明显低于对照组(P<0.05), 小剂量组肺组织匀浆中IL-10含量明显高于II组(P<0.05), 大剂量组肺组织匀浆中IL-10含量明显高于小剂量组(P<0.05).

结论: (1) 肢体缺血-再灌注可以引起远隔器官(如肺)的损伤, 甚至导致多器官功能障碍.

(2) 致炎细胞因子TNF- α 是介导缺血-再灌注继发性肺损伤的关键性细胞因子, IL-10具有强大的抗炎作用(3) 大剂量盐酸戊乙奎醚时能有效抑制炎症介质的释放, 保护肺毛细血管基底膜, 并能有效解除血管平滑肌痉挛, 肺血管阻力下降, 有利于减轻肺间质和肺泡内水肿.

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgwzbjyx201004012.aspx

授权使用: qkzgz16(qkzgz16), 授权号: 52ff1613-3d5a-4acb-aa83-9ede0159eea7

下载时间: 2011年5月9日