

## · 论著 ·

## 肠内注射卡巴胆碱对缺血-再灌注大鼠血浆炎症介质的影响

姜小国 胡森 石德光 吕艺 黎君友 孙丹 盛志勇

**【摘要】目的** 研究肠内注射拟胆碱药卡巴胆碱对缺血-再灌注大鼠血浆炎症介质的影响及其意义。**方法** 成年雄性 Wistar 大鼠,戊巴比妥钠腹腔麻醉,动脉夹阻断肠系膜上动脉血流(SMAO),1 h 后松夹恢复灌注。大鼠随机分为预防、治疗和对照 3 组,预防组和治疗组分别在夹闭后 30 min 和再灌注后 30 min 肠内注射卡巴胆碱(0.1 mg/kg,稀释至 1 ml 生理盐水中),对照组注射生理盐水。各组分别于夹闭后 1.0、2.5 和 6.0 h 测定血浆中肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-10(IL-10)和皮质醇含量。**结果** 治疗组及预防组血浆 TNF- $\alpha$  含量明显低于对照组( $P$  均 $<0.01$ ),IL-10 和皮质醇含量变化不明显。**结论** 卡巴胆碱肠道给药能抑制肠缺血-再灌注大鼠全身促炎细胞因子的产生,而对抗炎细胞因子的释放及呼吸、循环功能的影响轻微,有助于减轻缺血-再灌注损伤后的全身性炎症反应。

**【关键词】** 卡巴胆碱; 肿瘤坏死因子; 白细胞介素-10; 皮质醇

**中图分类号:** R364.1; R965 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-0603(2004)02-0090-03

**Effects of carbachol injection in intestine on plasma levels of inflammatory medium in rats during gut ischemia/reperfusion** JIANG Xiao-guo\*, HU Sen, SHI De-guang, LÜ Yi, LI Jun-you, SUN Dan, SHENG Zhi-yong. \* Burns Institute, 304 th Hospital of PLA, Beijing 100037, China

**【Abstract】Objective** To investigate the effects of carbachol injection in intestine on plasma levels of tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), interleukin-10(IL-10) and cortisol in rats during gut ischemia/reperfusion. **Methods** Wistar rats were anaesthetized with soluble pentobarbitone, and subjected to superior mesenteric artery occlusion(SMAO) for 60 minutes, followed by reperfusion for 60 minutes. Animals were divided into three groups, pretreated group(carbachol injection in intestine at 30 minutes after SMAO; 0.1 mg/kg), treated group(carbachol injection at 30 minutes from onset of reperfusion), and controls(saline injection). Plasma TNF- $\alpha$ , IL-10 and cortisol levels were determined at 1.0, 2.5 and 6.0 hours after SMAO. **Results** The plasma levels of TNF- $\alpha$  significantly decreased in pretreated and treated groups than those in controls after carbachol injection(both  $P<0.01$ ). However, the levels of IL-10 and cortisol didn't show significant differences among three groups. **Conclusion** The results suggest that carbachol can reduce the proinflammatory cytokine release and have a less inhibitory effect on the anti-inflammatory cytokine. It is indicated that carbachol play a potential role in alleviating systemic inflammatory response during splanchnic ischemia/reperfusion injury.

**【Key words】** carbachol; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; interleukin-10; cortisol

**CLC number:** R364.1; R965 **Document code:** A **Article ID:** 1003-0603(2004)02-0090-03

卡巴胆碱是一种胆碱能激动剂,作用于 M 和 N 胆碱受体,具有促进胃肠动力、扩张血管、增加腺体分泌等作用,以往临床用于治疗术后胃肠胀气和尿潴留。我们以往的研究表明,卡巴胆碱全身给药能够抑制肠缺血-再灌注损伤动物血浆肿瘤坏死因子(TNF)水平,减轻全身炎症反应,但对呼吸、心率有一定的抑制,故而临床应用受到一定的限制<sup>[1]</sup>。本研

基金项目:全军医学科学技术研究“十五”计划指令性课题基金资助项目(01L081)

作者单位:100037 北京,解放军第三〇四医院烧伤所基础部

作者简介:姜小国(1971-),男(汉族),山东省莱州市人,医学硕士,主要从事多脏器功能障碍综合征的实验及临床研究。

通讯作者:胡森,研究员,解放军第三〇四医院烧伤所(Email:hs304@yahoo.com.cn)

究的目的是观察卡巴胆碱肠内给药对炎症介质的影响,为临床应用提供实验依据。

## 1 材料与方 法

**1.1 动物模型及分组:** Wistar 大鼠,中国医学科学院动物中心提供,体质量 230~250 g。实验前适应性饲养 1 周,术前 12 h 禁食,自由饮水。质量分数为 2% 的戊巴比妥钠腹腔麻醉,无损伤动脉夹夹闭肠系膜上动脉起始部,阻断血流 60 min 后,松夹恢复肠系膜血流,制成肠缺血-再灌注损伤模型。动物随机分为预防、治疗和对照 3 组,预防组与治疗组分别在夹闭后 30 min 和再灌注后 30 min 肠内注射卡巴胆碱(Carbamylcholine chloride, Sigma, 0.1 mg/kg,稀释至 1 ml 生理盐水中),对照组注射生理盐水。分别

于夹闭后 1.0、2.5 和 6.0 h 分批处死动物, 无菌取肠系膜上静脉血分离血浆,  $-80^{\circ}\text{C}$  保存。

**1.2 指标检测:** 血浆中 TNF- $\alpha$ 、白细胞介素-10 (IL-10) 和皮质醇含量均采用放射免疫分析法检测, 其中 TNF- $\alpha$ 、IL-10 试剂盒由北京东亚免疫技术研究所提供, 皮质醇试剂盒由北京北方生物技术研究所提供, 严格按试剂盒说明书操作。

**1.3 统计学处理:** 数据均以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, 用 SPSS11.0 软件进行方差分析。

## 2 结果

大鼠肠内注射卡巴胆碱后, 心率、血压及呼吸变化不明显, 生命体征平稳。在 2.5 h 预防组及治疗组血浆 TNF- $\alpha$  含量显著低于对照组 ( $P<0.01$ ), 其中治疗组在 6.0 h 仍低于对照组 ( $P<0.05$ ), 而预防组无意义 (见图 1)。大鼠血浆 IL-10 含量较低, 注射卡巴胆碱后, 3 组血浆 IL-10 含量无显著差异 ( $P$  均  $>0.05$ , 见图 2)。血浆皮质醇含量在缺血-再灌注损伤后均呈升高趋势, 但注射卡巴胆碱后 3 组间皮质醇含量无显著差异 ( $P$  均  $>0.05$ , 见图 3)。

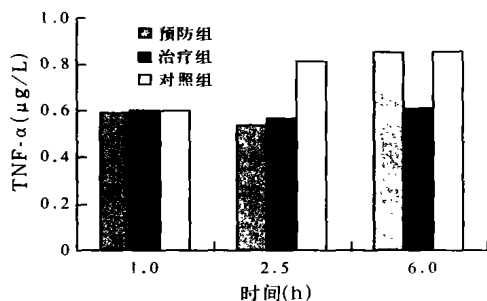


图 1 卡巴胆碱对缺血-再灌注大鼠血浆 TNF- $\alpha$  含量的影响

Fig. 1 Changes in plasma levels of TNF- $\alpha$  in three groups

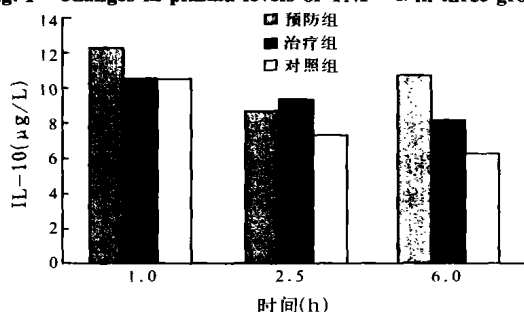


图 2 卡巴胆碱对缺血-再灌注大鼠血浆 IL-10 含量的影响

Fig. 2 Changes in plasma levels of IL-10 in three groups

## 3 讨论

以往的研究表明, 迷走神经在免疫信息向神经信号的转换和传递中起重要作用<sup>(2-6)</sup>。本世纪初, 研究人员在体外实验中观察到, 乙酰胆碱 (ACh) 与 N 受体结合, 可降低巨噬细胞对脂多糖 (LPS) 的免疫活性, 抑制 TNF 转录后蛋白质的合成<sup>(7)</sup>。随后的临

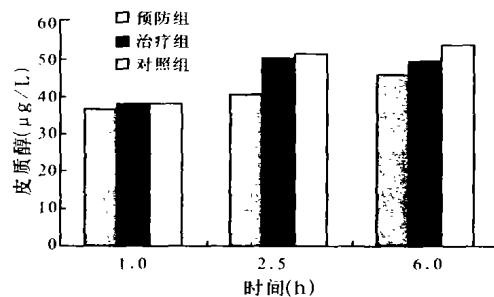


图 3 卡巴胆碱对缺血-再灌注大鼠血浆皮质醇含量的影响

Fig. 3 Changes in plasma levels of cortisol in three groups

床实验证实, 胆碱能物质烟碱对结肠炎有一定的治疗作用<sup>(8-11)</sup>。我们在实验中也观察到, 直接电刺激内毒素休克大鼠传出迷走神经, 可抑制肝、肺组织中炎症介质的产生, 减轻肺的病理损害, 减缓体内氧自由基的释放<sup>(12-14)</sup>。由于此条抗炎通路都涉及到胆碱, 所以专家将其称为胆碱能抗炎通路, 其主要机制是调动机体自身的神经-内分泌免疫系统调节炎症反应。然而, 在临床治疗过程中, 胆碱能抗炎通路存在许多问题, 如直接刺激迷走神经不但造成神经本身的损伤, 而且产生呼吸、心率和血压的变化波动, 对机体产生危害。应用拟胆碱药, 不但可达到同样的抗炎效果, 而且更加安全。本实验中所采用的卡巴胆碱是一种强力拟胆碱药, 与 M 和 N 胆碱受体结合, 具有完全拟 ACh 的作用, 且比 ACh 持久, 对胃肠及膀胱平滑肌的兴奋作用较强。但由于卡巴胆碱对血压、呼吸及心率有一定的抑制作用, 现已较少全身应用。本研究中采用肠道局部用药的方式, 目的是在最大限度地减少药物副作用的基础上, 观察卡巴胆碱的疗效。实验结果表明, 肠内注射卡巴胆碱后, 预防组及治疗组血浆中 TNF- $\alpha$  含量显著降低, 提示卡巴胆碱可明显抑制促炎因子 TNF- $\alpha$  释放, 减轻炎症反应, 其机制可能与卡巴胆碱激动胆碱能 N 受体从而发挥 ACh 样作用有关。同时, 治疗组 TNF- $\alpha$  含量在 6.0 h 较对照组有统计学意义, 而预防组无意义, 可能与卡巴胆碱的半衰期有关。

在机体遭受到严重损伤时, 促炎细胞因子如 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等大量释放, 可导致全身炎症反应综合征 (SIRS) 和多器官功能障碍综合征 (MODS)。在这一病理过程中, 伴有代偿性抗炎反应, 机体产生内源性抗炎介质以对抗促炎介质的释放, 有助于防止 SIRS 和 MODS 的发生和发展<sup>(15,16)</sup>, 如 IL-10 和皮质醇等。然而, 本研究表明, 再灌注损伤后, 虽然血浆中皮质醇和 IL-10 的含量有所升高, 但注射卡巴胆碱后, 预防组和治疗组血浆中 IL-10 和皮质醇含

量与对照组相比无差异,说明卡巴胆碱并不能调节 IL-10 和皮质醇的释放,对它们的影响轻微,提示卡巴胆碱的抗炎作用并不是通过增加血浆皮质醇和 IL-10 等抗炎因子的含量来实现。我们在以往的实验中观察到,卡巴胆碱可明显减轻肠道局部的炎症反应<sup>[17]</sup>。本研究则表明,肠道内注射卡巴胆碱可降低血浆致炎因子的水平,减轻全身炎症反应,提示胃肠道局部给药较全身给药更为安全。另一方面,肠道局部用药除发挥抗炎作用外,还能更为有效地发挥其促进胃肠运动、改善肠黏膜血流的作用,因此在治疗创伤或烧伤休克后胃肠功能障碍时,较全身用药更有意义。

#### 参考文献:

- 姜小国,胡森,石德光,等.卡巴胆碱对肠缺血-再灌注大鼠血浆肿瘤坏死因子- $\alpha$  和白介素-10 含量的影响[J].中国危重病急救医学,2003,15(3):147-149.
- Stitt J T. Passage of immunomodulators across the blood-brain barrier[J]. Yale J Biol Med,1990,63(2):121-131.
- Ban Dam A M, Bround M, Man A, et al. Immunocytochemical detection of prostaglandin E<sub>2</sub> in microvasculature and in neurons of rat brain after administration of bacterial endotoxin[J]. Brain Res,1993,613(2):331-336.
- Banks W A, Katin A J. Blood to brain transport of interleukin links to the immune and central nervous system[J]. Life Sci,1991,48(25):PL117-PL121.
- Eldrum D R, Cleveland J C, Sheridan B C, et al. Cardiac preconditioning with calcium: clinically accessible myocardial protection[J]. Thorac Cardiovasc Surg,1996,112:778-786.
- Day H, Huad A. Differential pattern of c-fos mRNA in rat brain following central and systemic administration of interleukin-1-beta: implications for mechanism of action[J]. Neuroendocrinology,1996,63(2):207-218.
- Borovikova L V, Ivanova S, Zhang M, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin[J]. Nature,2000,405:458-462.
- Antonica A, Magni F, Mearini L, et al. Vagal control of lymphocyte release from rat thymus[J]. Auton Nerv Syst,1994,48:187-197.
- Guslandi M. Nicotine treatment for ulcerative colitis[J]. Br Clin Pharmacol,1999,48:481-484.
- 胡森,晋桦,吕艺,等.山羊低容量性休克和复苏后胃肠黏膜内 pH 值的变化[J].中国危重病急救医学,1997,9(12):708-710.
- Sher M. The influence of cigarette smoking on cytokine levels in patients with inflammatory bowel disease[J]. Inflamm Bowel Dis,1999,5:73-78.
- 石德光,胡森,姜小国,等.电刺激迷走神经对内毒素血症所致急性肺损伤的影响[J].中国危重病急救医学,2002,14(12):732-735.
- Jiang Xiaoguo, Hu Sen, Shi Deguang, et al. Experiment studies of tumor necrosis factor changes in different tissues after stimulating vagus nerve[J]. Chin J Clin Rehab,2003,7(2):334-335.
- Jiang Xiaoguo, Hu Sen, Shi Deguang, et al. The effects of electrical stimulation of vagus nerve on levels of malondialdehyde and tumor necrosis factor- $\alpha$  in rats with endotoxemia[J]. Chin J Modern Med,2003,13(20):35-38.
- De Angelo J. Nitric oxide scavengers in the treatment of shock associated with systemic inflammatory response syndrome[J]. Expert Opin Pharmacother,1999,1(1):19-29.
- Payen D, Faivre V, Lukus Z A C, et al. Assessment of immunological status in the critically ill[J]. Minerva Anesthesiol,2000,66(10):757-763.
- 胡森,姜小国,石德光,等.卡巴胆碱对缺血-再灌注损伤时肠道局部炎症反应的影响[J].中国危重病急救医学,2003,15(12):748-750.

(收稿日期:2003-10-16 修回日期:2003-12-20)

(本文编辑:李银平)

#### · 启事 ·

### 2004 年全国危重病急救医学学术交流会征文通知

中国中西医结合学会急救医学专业委员会拟于 2004 年 6 月末在四川省成都市(暂定)召开 2004 年全国危重病急救医学学术交流会。本届学术会议主要内容有 4 个方面:①讨论国际脓毒症诊断标准并继续讨论及制订我国的脓毒症诊断标准。②介绍国内外危重病急救医学研究的新进展。③各省、市互相交流对 SARS 诊治及有关危重病急救的诊治经验。④多器官功能障碍综合征(MODS)协作组的成立,并制订临床试验观察表。

**征文内容:**由于危重病急救医学是跨学科,跨专业的新兴学科,我国尚未形成危重病急救医学新专业。因此,征文内容广泛涉及各学科各专业,以便互相交流,互相学习,促进我国危重病急救医学新专业的形成。征文内容包括:西医、中医、中西医结合,内、外、妇、儿、脑、麻醉、放射、消化、窥镜等各学科基础与临床研究的论文。主要病种包括:心血管、呼吸、肾脏、营养代谢、胃肠、肝、胆、胰、介入治疗、内分泌、创伤、烧伤、急腹症以及感染性及非感染性全身炎症反应综合征(SIRS)及 MODS、护理技术、临床监测新技术及急救药物等。

**征文要求:**全文 3 000 字以内,附 500 字摘要(必须规范,包括目的、方法、结果、结论),用稿纸正楷打印,标点符号要准确,著者要顺序排列,交稿时务必要同时交寄软盘(Word 排版),并附单位介绍信。来稿不论录取与否概不退还。

**收稿截止日期:**2004 年 5 月 5 日。

**稿件寄交地址:**天津市和平区睦南道 122 号,《中国中西医结合急救杂志》编辑部 王凤琴收,邮编:300050。信封上注明“急救征文”字样。

(中国中西医结合学会急救医学专业委员会)