

后在 40 ℃水浴上氮气吹干,残渣用 250 μl 流动相涡旋溶解。取 10 μl 进入 HPLC-MS 分析,记录色谱图,计算新乌头碱、乌头碱、次乌头碱面积与内标峰面积的比值(fx)。按公式计算回收率(回收率=5fx/4fx×100%)。结果见表 2。

表 2 3 种检测物的精确度和回收率检测结果(n=5)

| 成分   | 浓度 (μg/L) | 日内精密度 RSD(%) | 日间精密度 RSD(%) | 萃取回收率 (%) |
|------|-----------|--------------|--------------|-----------|
| 新乌头碱 | 5.0       | 6.25         | 6.51         | 90.63     |
|      | 50.0      | 4.52         | 5.01         | 84.17     |
|      | 200.0     | 1.93         | 3.64         | 86.32     |
| 乌头碱  | 1.0       | 5.55         | 6.36         | 92.35     |
|      | 8.0       | 6.12         | 6.53         | 94.42     |
|      | 20.0      | 2.82         | 3.68         | 97.01     |
| 次乌头碱 | 2.5       | 5.75         | 5.89         | 95.21     |
|      | 10.0      | 3.68         | 4.34         | 98.06     |
|      | 40.0      | 2.91         | 3.12         | 96.95     |

注:RSD为相对标准偏差

## 2 讨论

本实验中建立了新乌头碱、乌头碱、次乌头碱同时检测的 HPLC-MS 测定方法,具有准确、灵敏、简便、测得数据可靠的优点,对目标化合物及其内标同

时进行选择离子检测,空白血浆无杂质干扰。该方法的灵敏度高,新乌头碱、乌头碱、次乌头碱血浆定量下限分别为 1.0、0.4 和 0.5 μg/L,线性范围宽,线性关系良好;血浆的萃取回收率高,3 种物质的日内、日间精密度 RSD 均小于 10%,适用于草乌的浓度监控、药代动力学和毒代动力学研究,为探讨血液灌流治疗兔急性草乌中毒的实验方法提供可靠的检测方法<sup>[6]</sup>,也可用于急性草乌中毒患者血浓度的监测,对其诊治及预后判断有一定的临床意义。

## 参考文献

- [1] 卢中秋,胡国新.乌头碱急性中毒及诊治研究现状[J].中国中西医结合急救杂志,2005,12(2):119-121.
- [2] 周水红.25 例急性乌头碱中毒的临床总结[J].中国中西医结合急救杂志,2003,10(2):95.
- [3] 张颖,周玉华.乌头碱中毒致心律失常 68 例临床分析[J].中国危重病急救医学,1999,11(5):319.
- [4] 曹占勋.急性草乌和川乌中毒 10 例临床分析[J].中国中西医结合急救杂志,2003,10(6):371.
- [5] 刘刚,邱俏徽,卢中秋,等.急性草乌中毒兔血浆毒性成分及组织病理学改变的研究[J].中国中西医结合急救杂志,2008,15(4):198-200.
- [6] 王志翊,邱俏徽,卢中秋,等.兔急性草乌中毒血液灌流治疗实验方法的建立[J].中国中西医结合急救杂志,2009,16(1):42-44.

(收稿日期:2009-02-03)

(本文编辑:李银平)

## • 科研新闻速递 •

### CD4<sup>+</sup>淋巴细胞对肠上皮细胞凋亡的调控作用及脓毒症小鼠生存率的影响

淋巴细胞直接决定肠上皮细胞是增殖还是分化,但对细胞存活还是死亡的影响还未知。研究表明,在特殊情况下淋巴细胞对脓毒症肠上皮细胞凋亡起着调控作用。正常情况下 Rag-1 和野生型(WT)小鼠的肠上皮细胞凋亡基本相同,但在盲肠结扎穿孔术(CLP)模型中,Rag-1 小鼠肠上皮细胞凋亡是 WT 小鼠的 5 倍。Rag-1 小鼠和 WT 小鼠淋巴细胞的重建都是通过继承性转移减少肠细胞凋亡。细胞亚型分析表明,CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>或 B 淋巴细胞对于肠上皮淋巴细胞抗凋亡起着重要作用。在 CLP 转基因(小)鼠中,Bcl-2 的肠特异性过度表达可明显降低致死率。这种存活的意义是,在转基因 Rag-1 小鼠中过表达时,相关淋巴细胞由于 Bcl-2 的肠特异性过度表达不能调控小鼠的存活。而 Rag-1 小鼠通过继承性转移淋巴细胞过度表达肠特异性 Bcl-2,导致脓毒症死亡率的变化。研究者认为,脓毒症 CD4<sup>+</sup>淋巴细胞并不是在内环境稳定下对肠细胞凋亡起调控作用,它在决定细胞存活和宿主致死率上起着双重作用。CD4<sup>+</sup>淋巴细胞对肠上皮细胞凋亡的调控作用影响脓毒症小鼠的存活率。

曲冰杰,编译自《FASEB J》,2009-01-21(电子版);胡森,审校

### 早期目标性循环优化治疗联合降温疗法救治院外心脏停搏的昏迷患者

院外发生心脏停搏(OHCA)的昏迷患者由于常存在与严重脓毒症相似的复杂病理变化,如心力衰竭、全身炎症反应、凝血机制障碍和脑损伤等,入院后病死率极高。一般认为降温疗法(TH)有助于改善 OHCA 患者的预后,而早期目标性循环优化治疗(EGDHO)也是改善严重脓毒症的有效方法。最近,国外学者观察了在心脏停搏后复苏(PCAR)过程中采用 EGDHO+TH 综合性措施对 6 h 内 OHCA 患者急救的效果。研究者将 2005 年 5 月—2008 年 2 月格拉斯哥昏迷评分(GCS)≤6 分的 OHCA 患者作为入选对象,采用 EGDHO+TH 综合方案进行救治,并将研究者所在医院 2001—2005 年 OHCA 治疗的回顾性病例作为对照。结果显示,采用 EGDHO+TH 综合性措施后,有 72% 的 OHCA 患者可达到 EGDHO 的效果,在 6 h 内恢复自主循环功能,从体温下降到达到目标体温(33 ℃)的时间平均为 2.8 h。采用综合性方案治疗的患者病死率为 50%(9/18),低于既往回顾性病例的病死率 78%(14/18,P=0.15)。研究者认为,在复苏 OHCA 患者过程中,可以采用 EGDHO+TH 的措施进行急救,以尽快恢复自主循环功能。

曲冰杰,编译自《Resuscitation》,2009,80(4):418-424;胡森,审校

表 1 各组患者治疗前后胃黏膜病变观察比较

例/例(%)

| 组别    | 猩红热样变      |            | 马赛克病变       |            | 樱桃红样变      |           | AGML       |                          | 溃疡         |                          |
|-------|------------|------------|-------------|------------|------------|-----------|------------|--------------------------|------------|--------------------------|
|       | 治疗前        | 治疗后        | 治疗前         | 治疗后        | 治疗前        | 治疗后       | 治疗前        | 治疗后                      | 治疗前        | 治疗后                      |
| 对照组   | 3/16(18.8) | 2/15(13.3) | 13/16(81.3) | 5/15(33.3) | 2/16(12.5) | 1/15(6.7) | 4/16(25.0) | 4/15(26.7)               | 2/16(12.5) | 3/15(20.0)               |
| 普萘洛尔组 | 3/20(15.0) | 2/19(10.5) | 15/20(75.0) | 6/19(31.5) | 2/20(10.0) | 1/19(5.3) | 5/20(25.0) | 3/19(15.8) <sup>e</sup>  | 3/20(15.0) | 2/19(10.5) <sup>e</sup>  |
| 联合治疗组 | 4/23(17.4) | 3/22(13.6) | 18/23(78.3) | 8/22(36.4) | 2/23(8.7)  | 1/22(4.5) | 8/23(34.8) | 2/22(9.1) <sup>bcd</sup> | 4/23(17.4) | 1/22(4.5) <sup>bcd</sup> |

注:与本组治疗前比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与对照组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与普萘洛尔组比较,<sup>d</sup> $P < 0.05$

表 2 各组患者出血复发及 PVD、SVD 的变化比较

| 组别    | 例数 | 再出血 |                   | PVD(mm) |                    | SVD(mm) |                   |
|-------|----|-----|-------------------|---------|--------------------|---------|-------------------|
|       |    | 例数  | 复发率(%)            | 治疗前     | 治疗后                | 治疗前     | 治疗后               |
| 对照组   | 16 | 7   | 43.8              | 16.1    | 15.8               | 11.2    | 11.4              |
| 普萘洛尔组 | 20 | 3   | 15.0 <sup>e</sup> | 16.2    | 13.0 <sup>ac</sup> | 11.2    | 8.3 <sup>ac</sup> |
| 联合治疗组 | 23 | 1   | 4.3 <sup>cd</sup> | 16.4    | 12.8 <sup>ac</sup> | 10.8    | 7.9 <sup>ac</sup> |

注:与本组治疗前比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与对照组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与普萘洛尔组比较,<sup>d</sup> $P < 0.05$

预防食管-胃底静脉曲张所引起的出血方面,而肝硬化门脉高压出血的原因除 EVB 外,尚有肝源性溃疡、PHG、AGML。

肝硬化患者伴发 AGML,胃镜下表现为黏膜糜烂、急性浅表性溃疡、弥漫性点状出血等,临床上主要危害为上消化道出血。肝硬化 PHG 表现为黏膜下血管扩张、扭曲、裸露等,易被酸、药物、食物侵蚀破裂而引起出血。肝硬化伴发消化性溃疡主因肝硬化门脉高压时胃壁毛细血管血流增加、黏膜层血流量减少、黏膜防御因子作用削弱,对酸、胃蛋白酶、胆汁、乙醇等攻击因子的敏感性增加;肝功能减退减少了胃液分泌物的灭活,易形成肠源性内毒素血症。内毒素不仅可使组织缺血,还可以收缩肝静脉、升高门脉压力并增加毛细血管通透性,加上肝合

成凝血因子障碍等因素造成肝硬化患者消化性溃疡发生率增高。肝硬化门脉高压所引起的出血是血管扩张、酸等损伤因子腐蚀破坏血管相互作用的结果。

心得安为  $\beta$  受体阻滞剂,主要通过阻滞心脏  $\beta_1$  受体,使心排血量减少,内脏血流量减少,同时阻滞内脏循环的血管舒张性  $\beta_2$  受体,从而使与之抗衡的  $\alpha$  受体相对兴奋,内脏血管收缩,内脏血流量减少,从而降低门脉压力。奥美拉唑为质子泵抑制剂,直接作用于胃酸分泌的最终环节,可抑制胃酸分泌,使胃内 pH 值  $> 6.0$ ,有利于溃疡面止血,抑酸治疗可以预防其对血管的损伤而降低出血发生率<sup>[2]</sup>。据 Walan 等<sup>[3]</sup> 研究报道显示,消化性溃疡的复发多发生在维持治疗的前 3~6 个月。在此期间若加强抑酸治疗,

可显著预防溃疡的复发。周丽雅等<sup>[4]</sup> 研究也得出相似的结果。本研究显示,奥美拉唑维持治疗可降低肝硬化患者酸相关性疾病溃疡及 AGML 发生率,从而降低由其引起的出血。普萘洛尔组、联合治疗组出血复发率显著低于对照组,且联合治疗组显著低于普萘洛尔组。

参考文献

[1] Groszmann RJ, Garcia-Tsao G, Bosch J, et al. Beta-blockers to prevent gastroesophageal varices in patients with cirrhosis[J]. N Engl J Med, 2005, 353(21):2254-2261.

[2] 陈振宏. 奥美拉唑与西咪替丁在急性重型脑损伤中的作用[J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17(9):573.

[3] Walan A, Bianchi-Porro G, Hentschel E, et al. Maintenance treatment with cimetidine in peptic ulcer disease for up to 4 years[J]. Scand J Gastroenterol, 1987, 22(4):397-405.

[4] 周丽雅, 董秀云, 成红艳, 等. 质子泵抑制剂维持治疗对十二指肠球部溃疡一年复发率的影响[J]. 胃肠病学, 2001, 6(1):43-45.

(收稿日期:2008-12-24)  
(本文编辑:李银平)

• 科研新闻速递 •

热休克蛋白 27 减轻组织氧中毒引起的细胞凋亡

热休克蛋白 27(HSP27)是肺部发育的一个重要伴侣蛋白,然而在组织氧过多的情况下,HSP27 在肺上皮细胞中的作用还不清楚。美国学者最近发现,组织氧中毒可降低新生大鼠肺 HSP27 表达。体外培养的人肺上皮细胞在高氧环境中 HSP27 表达显著降低;与对照组 12.6% 的凋亡率比较,暴露于高氧环境 72 h 后,人肺上皮细胞凋亡率降至 9.2%。HSP27 的过度表达还能抑制氧中毒导致的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 9 活化。研究者认为,氧中毒可减少肺上皮细胞 HSP27 的过度表达,进而抑制由高氧导致的人肺上皮细胞凋亡。

王瑞展,编译自《Pediatr Res》,2008-11-26(电子版);胡森,审校

纤维蛋白原 FX06 减轻失血性休克复苏后肺、心及小肠的再灌注损伤

已经证实纤维蛋白原 FX06 可减小缺血/再灌注时心肌梗死面积。失血性休克后液体复苏常导致机体出现再灌注损伤。研究者采用 30 kg 的小型猪在 60 min 内放血使其平均动脉压降至 40 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)制备失血性休克动物模型。60 min 后进行液体再灌注,治疗组和对照组分别快速静脉推注 FX06(2.4 mg/kg, n=8)或磷酸盐缓冲液(PBS, 2.4 mg/kg, n=7)。再灌注后 5 h, PBS 对照组出现急性肺损伤、肺间质水肿和心功能障碍;相反 FX06 治疗组肺和心脏功能较好,组织含氧量也明显优于对照组。FX06 治疗还可明显减少肺、心、肝及小肠中性粒细胞数量及降低血清白细胞介素-6 水平。研究者认为,FX06 治疗可减轻失血性休克后缺血/再灌注导致的多器官损伤。

白慧颖,编译自《Crit Care Med》,2008-12-26(电子版);胡森,审校

- 1503-1512.
- [5] Rouhiainen A, Imai S, Rauvala H, et al. Occurrence of amphoterin (HMGB1) as an endogenous protein of human platelets that is exported to the cell surface upon platelet activation [J]. *Thromb Haemost*, 2000, 84 (6): 1087-1094.
- [6] Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMGB-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice [J]. *Science*, 1999, 285 (5425): 248-251.
- [7] 姚咏明, 刘辉. 对高迁移率族蛋白 B1 作用的新认识 [J]. *中国危重病急救医学*, 2005, 17(7): 385-387.
- [8] 王松柏, 姚咏明, 董宁, 等. JAK/STAT 通路介导脓毒症大鼠肝组织高迁移率族蛋白 B1 mRNA 表达的研究 [J]. *中国危重病急救医学*, 2003, 15(3): 147-149.
- [9] Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1); nuclear weapon in the immune arsenal [J]. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5(4): 331-342.
- [10] Gardella S, Andrei C, Ferrera D, et al. The nuclear protein HMGB1 is secreted by monocytes via a non-classical, vesicle-mediated secretory pathway [J]. *EMBO Rep*, 2002, 3 (10): 995-1001.
- [11] Youn JH, Shin JS. Nucleocytoplasmic shuttling of HMGB1 is regulated by phosphorylation that redirects it toward secretion [J]. *J Immunol*, 2006, 177(11): 7889-7897.
- [12] Qin S, Wang H, Yuan R, et al. Role of HMGB1 in apoptosis-mediated sepsis lethality [J]. *J Exp Med*, 2006, 203(7): 1637-1642.
- [13] Jiang W, Bell CW, Pisetsky DS. The relationship between apoptosis and high-mobility group protein 1 release from murine macrophages stimulated with lipopolysaccharide or polyinosinic-polycytidylic acid [J]. *J Immunol*, 2007, 178(10): 6495-6503.
- [14] Tang D, Shi Y, Kang R, et al. Hydrogen peroxide stimulates macrophages and monocytes to actively release HMGB1 [J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81(3): 741-747.
- [15] Liu S, Stolz DB, Sappington PL, et al. HMGB1 is secreted by immunostimulated enterocytes and contributes to cytomix-induced hyperpermeability of Caco-2 monolayers [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 290 (4): C990-999.
- [16] Tsung A, Klune JR, Zhang X, et al. HMGB1 release induced by liver ischemia involves Toll-like receptor 4 dependent reactive oxygen species production and calcium-mediated signaling [J]. *J Exp Med*, 2007, 204 (12): 2913-2923.
- [17] Tang D, Kang R, Xiao W, et al. The anti-inflammatory effects of heat shock protein 72 involve inhibition of high-mobility-group box 1 release and proinflammatory function in macrophages [J]. *J Immunol*, 2007, 179 (2): 1236-1244.
- [18] 王忠堂, 姚咏明, 盛志勇, 等. HMGB1 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬和 I-A/E 表达的影响 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2008, 24(8): 771-773.
- [19] Kokkola R, Andersson A, Mullins G, et al. RAGE is the major receptor for the proinflammatory activity of HMGB1 in rodent macrophages [J]. *Scand J Immunol*, 2005, 61(1): 1-9.
- [20] 徐娜, 姚咏明, 董宁, 等. 高迁移率族蛋白 B1 对大鼠脾脏树突状细胞表面共刺激因子表达的影响 [J]. *中华创伤杂志*, 2006, 22(8): 579-583.
- [21] 张笑天, 姚咏明, 黄立峰, 等. 烫伤后高迁移率族蛋白 B1 对树突状细胞分泌细胞因子的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15(3): 163-166.
- [22] 姚咏明, 林洪远. 高迁移率族蛋白 B1 在创伤免疫功能紊乱中的作用及其调节机制 [J]. *中国危重病急救医学*, 2008, 20(9): 513-515.
- [23] Messmer D, Yang H, Telusma G, et al. High mobility group box protein 1: an endogenous signal for dendritic cell maturation and Th1 polarization [J]. *J Immunol*, 2004, 173(1): 307-313.
- [24] 许长涛, 姚咏明, 李为民, 等. 高迁移率族蛋白 B1 对小鼠调节性 T 细胞 Toll 样受体 4 表达的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15(3): 167-170.
- [25] 张莹, 姚咏明, 董宁, 等. 高迁移率族蛋白 B1 对小鼠调节性 T 细胞抑制性相关分子表达的影响 [J]. *中华实验外科杂志*, 2007, 24(5): 616-618.
- [26] Orlova VV, Choi EY, Xie C, et al. A novel pathway of HMGB1-mediated inflammatory cell recruitment that requires Mac-1-integrin [J]. *EMBO J*, 2007, 26(4): 1129-1139.

(收稿日期: 2009-01-22)

(本文编辑: 保健媛)

• 科研新闻速递 •

生物学屏障阻碍抗肠外致病性大肠杆菌疫苗研发

美国学者曾发现, 鼻腔免疫接种基因工程产生的荚膜多糖和 O<sup>-</sup> 抗原不再表达的菌株 (CP923) 可产生免疫原性, 并且其产生的抗体可以抑制一个异源致病性大肠杆菌亚群, 并在体外加强中性粒细胞介导的对同源和异种菌株杀菌活性。近日, 他们在鼻腔免疫 CP923 对静脉注射脓毒症模型小鼠影响的研究中发现, 该荚膜多糖和 O<sup>-</sup> 抗原形成的一个生物学屏障能阻挡抗体, 使抗体指向非荚膜和 O<sup>-</sup> 抗原的表位。研究者认为, 要想成功研发出抗肠外致病性大肠杆菌疫苗, 必须克服荚膜多糖和 O<sup>-</sup> 抗原形成一个生物学屏障。

王瑞晨, 编译自《Vaccine》, 2008-11-14(电子版); 胡森, 审校

血管紧张素转换酶抑制剂对炎症反应的影响

最近, 日本科研人员报告血管紧张素转换酶抑制剂依那普利能通过减少炎症细胞因子分泌, 减轻脂多糖引起的大鼠肺损伤。他们采用雄性 Wistar 大鼠, 静脉注射脂多糖制备脓毒症模型, 随机分为腹腔注射依那普利组与正常对照组。结果显示, 依那普利组脂多糖诱导的血管紧张素 I 和促炎细胞因子产生显著减少, 肺间质充血、水肿、炎症及出血状况明显改善。体外实验证实依那普利可减少核转录因子-κB(NF-κB) 磷酸化修饰。研究者认为, 依那普利能减轻内毒素血症导致的炎症反应和急性肺损伤, 有希望用于脓毒症的治疗。

白慧颖, 编译自《Crit Care Med》, 2008-12-26(电子版); 胡森, 审校