

· 短篇论著 ·

右旋美托咪啶对脓毒血症大鼠急性肺损伤的影响

纪木火 吴晶 李仁奇 田蜜 朱四海 李伟彦 杨建军

【摘要】 目的 观察右旋美托咪啶对脓毒血症大鼠急性肺损伤(ALI)的影响。方法 盲肠结扎穿孔法(CLP)建立脓毒血症模型,雄性SD大鼠20只随机均分为以下两组:CLP组及CLP+右旋美托咪啶组(分别于术前1h及术后1h和6h腹腔注射右旋美托咪啶40 μg/kg)。CLP后24h测定血浆中的IL-6、IL-10、高迁移率族蛋白1(HMGB1)水平及肺组织NF-κB活性;测定动脉血氧分压(PaO₂)并计算氧合指数;检测肺组织湿干重比(W/D)和髓过氧化物酶活性(MPO),并观察肺组织病理学变化。结果 与CLP组相比,CLP+右旋美托咪啶组中血浆IL-6及HMGB1水平明显降低而氧合指数明显升高($P < 0.05$);肺组织MPO活性、W/D、NF-κB活性及病理学损伤也明显减轻($P < 0.05$)。两组中IL-10水平比较无统计学差异。结论 右旋美托咪啶抑制炎症反应从而减轻脓毒血症引起的ALI。

【关键词】 美托咪啶; 脓毒症; 肺疾病

急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(ALI/ARDS)是重症监护病房最主要的死亡原因之一。研究显示通过阻断中枢交感神经活性,如使用α₂肾上腺素能受体激动药可乐定或右旋美托咪啶(Dex)可以降低全身炎症反应从而延长动物生存时间^[1]。然而,其对脓毒血症引起ALI的影响目前还未见有文献报道。本研究拟观察Dex对脓毒血症大鼠ALI的影响,以期为临床治疗提供参考。

一、材料与方

1. 一般材料:健康雄性清洁级SD大鼠20只,体重320~400g(由南京军区总医院动物实验中心提供),随机均分为以下两组:盲肠结扎穿孔法(CLP)组及CLP+Dex组。大鼠白细胞介素-6(IL-6)及白细胞介素-10(IL-10),酶联免疫吸附法(ELISA)检测试剂盒(美国Biosource International公司);大鼠高迁移率族蛋白1(HMGB1)ELISA检测试剂盒(日本Shino-Test公司),Dex(江苏新晨药业)。采用Western blot法测定肺组织NF-κB活性(北京四伯有限公司)。血气分析仪(GEM Premier 3000,广州)。

2. 动物模型制备和药物处理:采用CLP复制脓毒血症模型,术前禁食12h,乌拉坦(1250 mg/kg)腹腔注射麻醉。沿腹正中线做1cm长的切口,游离肠系膜和盲肠,以4-0丝线环形结扎盲肠根部,用18号针头在结扎端贯通穿刺一次,挤出粪便少许,还纳肠段,依次缝合腹膜和皮肤。对照组仅做剖腹、分离盲肠远端、关腹手术。CLP+Dex组于术前1h及术后1h和6h腹腔注射Dex 40 μg/kg;CLP组于对应时间点腹腔注射同等剂量生理盐水0.5 ml。

3. 检测指标及方法:于CLP后24h取股静脉血3 ml,离心10 min后取血清,-80℃保存。采用ELISA法检测血清中IL-6、IL-10及HMGB1的水平;按试剂盒说明书步骤进行操作。此外,CLP 24h后检测肺组织湿干重比(W/D)和髓过氧化物酶活性(MPO);采用Western blot法测定NF-κB活性,计算阳性灰度与内参的比值;并采用HE染色法进行肺组织学评分。测定动脉氧分压并计算氧合指数(氧合指数=动脉氧分压/吸入氧浓度)。

4. 统计学分析:用SPSS 16.0统计软件进行分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用成组 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

二、结果

1. CLP组和CLP+Dex组24h的血浆炎症因子水平(表1):与CLP组比较,CLP+Dex组在CLP后24h血浆及肺组织中IL-6及HMGB1水平明显降低而氧合指数明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);而IL-10两组比较无统计学意义($P > 0.05$)。

2. CLP组和CLP+Dex组24h的肺组织W/D、MPO活性、肺组织损伤评分的比较(表2):CLP+Dex组肺组织W/D、MPO活性、肺组织损伤评分均明显低于CLP组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

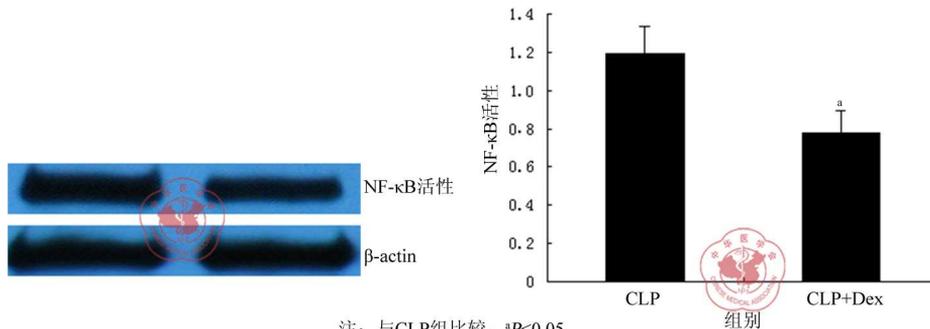
3. CLP组和CLP+Dex组24h的NF-κB活性表达的比较(图1):CLP+Dex组肺组织NF-κB活性明显低于CLP组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2011.21.041

基金项目:江苏省“六大人才高峰”课题(2008093)

作者单位:210002 南京大学医学院临床学院 南京军区南京总医院麻醉科

通讯作者:杨建军,Email:jianjunyang1971@163.com



注:与CLP组比较, ^a*P* < 0.05

图1 NF-κB活性表达

表1 血浆中 IL-6、HMGB1 及 IL-10 比较 (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-6	HMGB1	IL-10
CLP 组	872 ± 107	21 ± 5	102 ± 16
CLP + Dex 组	516 ± 76 ^a	15 ± 3 ^a	112 ± 18

注:与 CLP 组比较, ^a*P* < 0.05

表2 肺组织 W/D、MPO 活性、肺组织损伤评分及氧合指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	W/D	MPO (U/g)	肺组织损伤评分	氧合指数
CLP 组	5.5 ± 0.3	16 ± 5	13.6 ± 1.6	286 ± 26
CLP + Dex 组	5.1 ± 0.2 ^a	8 ± 3 ^a	11.2 ± 1.3 ^a	363 ± 34 ^a

注:与 CLP 组比较, ^a*P* < 0.05

三、讨论

大鼠制模后 8 ~ 12 h 便开始出现活动减少,嗜睡,竖毛;随病程进展上述症状加重,出现呼吸困难,说明造模成功。Dex 作为高选择性 α₂ 肾上腺素受体激动剂,可抑制巨噬细胞和单核细胞炎症因子如 NO、IL-6、TNF-α 等的分泌,具有抗炎反应和抗交感神经活性作用^[2,3]。Taniguchi 等^[4]报道 Dex 可以降低内毒素血症大鼠 IL-6、TNF-α 等水平,抑制肺部中性粒细胞的浸润,并降低大鼠的死亡率。Lai 等^[5]也观察到大剂量 Dex (约 10 倍临床剂量)可以明显抑制内毒素血症大鼠巨噬细胞炎症因子和细胞分子表达的上调。本研究结果观察到 Dex 可以明显抑制炎症反应而改善脓毒血症大鼠 ALI。

脓毒血症是引起 ALI/ARDS 最主要的原因之一,其中过度的炎症反应在 ALI/ARDS 发生发展中起着关键的作用^[6]。TNF-α 及 IL-6 为炎症中重要的启动因子,是导致炎症反应和急性肺损伤发病过程中最早释放的细胞因子,而 HMGB1 是一种重要的晚期炎性介质, HMGB1 可诱导多种促炎介质的表达进而加重肺脏损害^[7]。本研究结果中 CLP + Dex 组中氧合指数明显改善, MPO 活性 (中性粒细胞活化的指标)、W/D (肺组织水肿指标)及肺组织病理学评分明显低于 CLP 组,且 24 h 时血浆 IL-6 及 HMGB1 的浓度也明显低于 CLP 组,而 IL-10 浓度在两组之间差异无统计学意义,说明 Dex 降低炎性介质水平可能不是通过上调 IL-10 浓度实现的。为进一步研究 Dex 发挥抗炎作用的可能机制,我们对肺组织的 NF-κB 活性表达进行了检测,结果 CLP + Dex 组中肺组织 NF-κB 表达明显低于 CLP 组,说明 Dex 可能是通过抑制 NF-κB 活性从而抑制炎症反应来发挥作用的。有研究表明副交感神经兴奋可以降低脓毒血症的炎症反应^[8],而 Dex 可增强延髓 α₂ 受体的活性,从而降低中枢交感神经活性使得副交感神经占主导作用^[9],这也可能是其改善 ALI 的一个原因。

本研究显示 Dex 可以改善脓毒血症大鼠 ALI,可能与 Dex 降低炎性介质浓度从而抑制过度的炎症反应有关。

参 考 文 献

- [1] Hofer S, Steppan J, Wagner T, et al. Central sympatholytics prolong survival in experimental sepsis. Crit Care, 2009, 3: R11.
- [2] Venn RM, Bryant A, Hall GM, et al. Effects of dexmedetomidine on adrenocortical function, and the cardiovascular, endocrine and inflammatory responses in post-operative patients needing sedation in the intensive care unit. Br J Anaesth, 2001, 86: 650-656.
- [3] Memis D, Hekimoglu S, Vatan I, et al. Effects of midazolam and dexmedetomidine on inflammatory responses and gastric intramucosal pH to sepsis, in critically ill patients. Br J Anaesth, 2007, 4: 550-552.
- [4] Taniguchi T, Kidani Y, Kanakura H, et al. Effects of dexmedetomidine on mortality rate and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. Crit Care Med, 2004, 32: 1322-1326.

- [5] Lai YC, Tsai PS, Huang CJ. Effects of dexmedetomidine on regulating endotoxin-induced up-regulation of inflammatory molecules in murine macrophages. *J Surg Res*, 2009, 154:212-219.
- [6] 谷藏言, 田惠玉. 乌司他丁对急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征患者血清一氧化氮、内皮素-1的影响[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 5:1193-1194.
- [7] Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science*, 1999, 285:248-251.
- [8] Tracey KJ. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. *J Clin Invest*, 2007, 117:289-296.
- [9] Pandharipande PP, Pun BT, Herr DL, et al. Effect of sedation with dexmedetomidine vs lorazepam on acute brain dysfunction in mechanically ventilated patients: the MENDS randomized controlled trial. *JAMA*, 2007, 298:2644-2653.

(收稿日期:2010-06-13)

(本文编辑: 吴莹)

纪木火, 吴晶, 李仁奇, 等. 右旋美托咪啶对脓毒血症大鼠急性肺损伤的影响[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 5(21):6434-6436.