

• 论著 •

赤芍对颈动脉球囊损伤术后兔血管内膜增生的干预作用研究

朱慧民¹, 石 涵¹, 樊锦秀², 陈 雅¹

(1. 浙江省台州市中心医院老年医学科, 浙江省台州市老年医学研究所, 浙江 台州 318000;

2. 浙江省医学重点扶植学科老年医学重点实验室, 浙江 台州 318000)

【摘要】 目的 探讨高脂喂养兔颈动脉球囊损伤术后增殖的血管内膜丝裂素活化蛋白激酶磷酸酶-1 (MKP-1)、还原型辅酶 I (NADPH) 氧化酶亚单位 p22phox 表达、血管内皮功能及赤芍提取物的干预影响。方法 喂高脂饲料, 并给予高、中、低剂量赤芍提取物 (75, 50, 25 ml, 分别含生药 75, 50, 25 g) 10 周。采用 Clowes 方法建立兔颈总动脉球囊损伤模型。免疫组化染色测定兔颈动脉新生内膜成分, 增殖细胞核抗原 (PCNA) 及巨噬细胞表达, 血管特殊染色观察 I 型胶原增生, 图像分析系统测定新生内膜面积; 张力换能器及血管环张力曲线 Chart 软件测定血管内皮功能; 放射免疫法测定血浆血管紧张素 I (Ang I) 及醛固酮 (ALD) 含量; 原位杂交染色及逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测增生的血管内膜中 MKP-1 及 p22phox 的 mRNA 表达。结果 赤芍提取物可抑制 I 型胶原增生, 减少 PCNA 阳性细胞数, 减轻新生内膜形成; 降低血浆 Ang I 水平及减弱血管对 Ang I 的收缩反应; 显著降低 p22phox mRNA 表达; 上调高脂喂养兔颈动脉球囊损伤后 MKP-1 mRNA 表达, 其中以高剂量组作用最明显 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 赤芍抑制血管内膜增生作用与保护血管内皮功能有关, 其机制可能涉及抗氧化应激、抗血管内皮炎症反应及阻断丝裂素活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路有关。

【关键词】 赤芍; 血管内膜增生; 丝裂素活化蛋白激酶磷酸酶-1; 还原型辅酶 I 氧化酶亚单位 p22phox; 血管紧张素 I

中图分类号: R285.5; R654.3 文献标识码: A 文章编号: 1008-9691(2008)06-0332-07

An experimental study on preventive effect of Radix Paeoniae Rubra (赤芍) on vascular endothelial proliferation after balloon injury in carotid artery in rabbit ZHU Hui-min¹, SHI Han¹, FAN Jin-xiu², CHEN Ya¹. 1. Department of Geriatrics, 2. Key Laboratory of Geriatric Research, Central hospital of Taizhou, Taizhou 318000, Zhejiang, China

【Abstract】 Objective To observe the interfering effect of Radix Paeoniae Rubra (RPR, 赤芍) extract on mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 (MKP-1), reduced form of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase p22phox mRNA expressions in neo-intimal hyperplasia and its endothelial function after carotid artery balloon injury in cholesterol-fed rabbits. Methods Clowes method was applied to establish a model of balloon injury of common carotid arteries in high cholesterol-fed rabbits, and they were given RPR high-dose extract (75 ml, containing raw drug 75 g), middle-dose (50 ml, 50 g) and low-dose (25 ml, 25 g) respectively for 10 weeks. Immunohistochemical methods were used to observe the contents of the carotid artery neo-intimal hyperplasia, proliferative cellular nuclear antigen (PCNA) and macrophage cell expression; vascular special staining was applied to examine type I collagen proliferation; image analysis system was adopted to measure the neo-intimal area; tension transducer and Chart soft ware of vascular ring tension curve were used to test the vascular endothelial function; radio-immunoassays were adopted to measure the contents of angiotensin I (Ang I) and aldosterone; in situ hybridization and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) were applied to detect mRNA expressions of MKP-1 and NADPH oxidase p22phox in proliferative vascular intima. Results RPR could inhibit type I collagen proliferation, reduce PCNA positive cell number, decrease the formation of neo-intima, lower the plasma Ang I level and weaken the vascular contractile reaction toward Ang I, significantly decrease the expression of p22phox mRNA, up-regulate the expression of MKP-1 mRNA in balloon injury of carotid artery in rabbits fed with high lipid diet, among the groups treated with various dosages of RPR, the high dose group being the most effective ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Conclusion RPR may inhibit the proliferation of vascular endothelium that is related to the protection of vascular endothelium, and its mechanism might involve the stress of anti-oxidation, anti-vascular endotheliitis and the blockage of the signal pathway of mitogen-activated protein kinase (MAPK).

【Key words】 Radix Paeoniae Rubra; endothelial proliferation; mitogen-activated protein kinase phosphatase-1; reduced form of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate oxidase p22phox; angiotensin I

目前冠心病已成为首位死亡原因,虽然某些药物及经皮冠状动脉腔内成形术(PTCA)能减轻疾病症状,延长患者寿命,但由此引起高达 40%~50% 的术后再狭窄发生率及药物副作用限制了其临床应用。活血化瘀类中药赤芍以其价廉易得、毒副作用小而广泛用于冠心病及心血管疾病的防治。我们前期的研究显示,与血管内膜增生有关的单核细胞趋化蛋白-1 有高表达,赤芍通过抑制其表达,具有减轻 PTCA 后内膜增生程度的作用^[1]。本研究中将还原型辅酶 I (NADPH) 氧化酶、肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAS)的激活及细胞增殖信号转导通路丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)着手,观察赤芍对 PTCA 后再狭窄的干预作用及其可能机制,为临床应用提供有价值的理论及实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及药物:3 月龄健康新西兰大白兔 40 只,体重 2.5~2.8 kg,由浙江省医学科学院实验动物中心提供(合格证号:SCXKC11172004-14)。赤芍购自浙江省医药公司,经鉴定为毛茛科植物芍药的干燥根,产于河北省隆化县,赤芍提取物含生药 1 g/ml,由浙江省中医药研究院制作制剂。

1.2 实验分组及给药方法:按随机数字表法将兔分成普通饲料对照组、胆固醇组及赤芍高、中、低剂量组,每组 8 只。除对照组给予普通饲料外,其余 4 组给予高脂饲料喂养 8 周,饮水不限。高脂饲料:基础饲料配方加入 2% 胆固醇及 5% 猪油,赤芍高、中、低剂量组分别在每公斤高脂饲料中加入赤芍提取物 75、50、25 ml(含生药分别为 75、50、25 g)。

1.3 动物模型建立及取材:各组于 8 周末肌肉注射(肌注)速眠宁 0.3 ml/kg 麻醉兔,用 Clowes 法^[2]进行右颈动脉内皮剥脱术。术后 3 d 连续注射青霉素 400 kU/d 预防感染,并继续喂养 2 周,于 10 周末静脉取血后活杀动物,进行血管取材。

1.4 指标测定

1.4.1 血脂测定:总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、载脂蛋白 B(ApoB)、空腹血糖(FBG)。

1.4.2 离体颈动脉血管环对血管活性物质的反应性测定:取动物双侧颈动脉,截取长 2 mm 血管环垂

直悬挂于张力换能器与水浴槽之间[槽内灌满体积分数为 95%O₂+5%CO₂ 饱和的磷酸盐缓冲液(PBS),37℃]。调节静息张力为 2 g,60 min 后依次加入 60 mmol/L 的 KCl、10⁻⁶ mol/L 的血管紧张素 I (Ang I)、10⁻⁶ mol/L 的去甲肾上腺素(NE)、10⁻⁶ mol/L 的乙酰胆碱(Ach)、10⁻⁶ mol/L 的硝酸甘油(NTG),并分别记录张力变化曲线。收缩反应的大小以收缩幅度占 KCl 所引起收缩幅度的百分比(%)表示(以 NE 或 Ang I 刺激引起的张力增加值与 KCl 刺激引起的张力增加值之比表示)。舒张反应大小则以舒张幅度占 NE 所引起收缩幅度的百分比(%)表示(内皮依赖的舒张反应以 Ach 刺激引起的张力下降值与 NE 引起的张力增加值之比表示;非内皮依赖的舒张反应以 NTG 刺激引起的张力下降值与 NE 引起的张力增加值之比表示)。计算公式:收缩幅度=最高值-基础值(基础张力);舒张幅度=最高值-剩余值。颈动脉血管环对血管活性药物反应性各指标的单位按文献[3-4]标注。

1.4.3 血浆 Ang I 及醛固酮(ALD)测定:放射免疫法测定血浆 Ang I 及 ALD 含量。按试剂盒说明书进行操作。

1.4.4 形态学测量及免疫组化染色:使用图像分析仪测定颈动脉腔横截面积(LA)、内弹力层围绕面积(IELA)、外弹力层围绕面积(EELA)。计算内膜增生面积、中膜面积、内膜增生百分比、内膜增生面积与中膜面积比。每个目标血管各取 2 张切片,每张切片选 5 个血管环测定各层面积,最后计算 10 个血管环所得的数据均值作为该标本的最终数值。测定 I 型胶原占总胶原的比例。高倍镜下计数每张切片血管内膜、中膜、外膜 3 层各 5 个高倍视野(×40 物镜)增殖细胞核抗原(PCNA)阳性细胞数及总细胞数,统计 PCNA 的阳性细胞百分比。

1.4.5 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR):从 Genbank 中查出兔、NADPH 氧化酶亚单位 p22phox、三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)、丝裂素活化蛋白激酶磷酸酶-1(MKP-1)的 mRNA 序列,用 Primer 引物设计程序设计,经 Blast 验证(引物由上海生工有限公司合成)。以 Tripure 试剂提取组织总 RNA。使用核酸蛋白测定仪鉴定 RNA 纯度和量,所用 RNA 的吸光度(A₂₆₀/A₂₈₀)值均在 1.8~2.0。用莫洛尼鼠白血病毒(MMLV)逆转录酶(MBI)将提出的 RNA 逆转录为 cDNA。以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增反应。扩增产物经过质量分数为 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳后用凝胶扫描仪观察拍照,以

基金项目:浙江省医药卫生科研基金项目(2004B204);浙江省台州市科技局科技计划项目基金资助(043236)

作者简介:朱慧民(1972-),女(汉族),山东省人,医学博士,副主任医师,现任浙江省医学重点扶植学科(老年医学)学科带头人,Email:hkat@163.com。

GAPDH 的 A 值作为内参照,紫外荧光灯下观察。

1.4.6 原位杂交染色:地高辛标记的 p22phox 寡聚核苷酸探针行原位 cDNA mRNA 分子杂交,按原位杂交检测试剂盒说明书方法操作,显微镜下观察及图像分析,紫蓝色颗粒为阳性着色。

1.5 统计学处理:数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模型评价:镜下观察,对照侧内皮锥虫蓝染色着色极少,而手术侧内皮几乎全部着色,表明损伤侧内皮剥离较完全,而未损伤侧内皮保持完整,提示球囊术已导致内皮损伤;血管平滑肌细胞(VSMC)增殖、胶原增生等病理过程出现,表明新生内膜形成,制模成功(彩色插图 1)。高脂喂养兔颈动脉球囊损伤术后血脂结果表明高脂血症建立。

2.2 术后血管内皮功能及 RAS 影响

2.2.1 离体颈动脉血管环对血管活性物质 Ang I、Ach 的反应性测定(表 1):各组血管环对 Ang I 均有明显的收缩反应。与胆固醇组比较,赤芍各组血管环对 Ang I 的收缩反应均减弱,其中高剂量组尤为显著($P<0.05$);而血管环对内皮依赖性舒张物质 Ach 的舒张反应在赤芍各组均增强,其中赤芍高、中剂量组差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。与普通饲料对照组比较,胆固醇组血管环对内皮依赖性舒张物质 Ach 的舒张反应明显减弱,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2.2 血浆 Ang I 及 ALD 水平(表 2):与胆固醇组比较,赤芍各组 Ang I、ALD 水平均降低,其中高剂量组降低最明显,差异有统计学意义($P<0.05$ 和 $P<0.01$),提示赤芍可降低血浆 Ang I 及 ALD 水平,并具有明显的量-效关系。

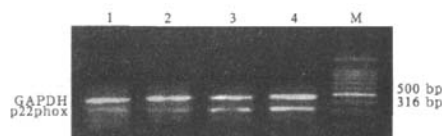
2.3 术后相关基因表达:①RT-PCR 结果显示(表 2;图 2~3):与胆固醇组比较,赤芍各组 p22phox mRNA 表达均降低,以高剂量组最为显著,血管组织 MKP-1 mRNA 表达上调,以高、中剂量组最为显

著(P 均 <0.01);但高、中剂量组间比较差异无统计学意义(P 均 >0.05)。②原位杂交结果显示(彩色插图 4):各组 p22phox 基因的阳性紫蓝色杂交颗粒见于球囊损伤术后血管外膜、中膜及内膜面。与胆固醇组比较,赤芍各组两种基因的阳性杂交颗粒分布稀疏,阳性细胞数明显减少,染色较淡。

表 2 各组兔血浆 Ang I、ALD 水平及血管组织 p22phox、MKP-1 的 mRNA 表达比较($\bar{x}\pm s$)

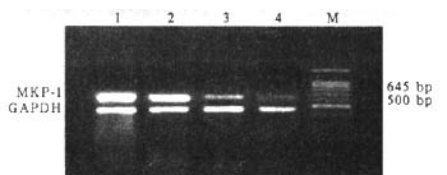
组别	动物数	Ang I ($\mu\text{g/L}$)	ALD ($\mu\text{g/L}$)	p22phox mRNA	MKP-1 mRNA
胆固醇组	8	1 694 $\pm$ 29	255.00 $\pm$ 21.21	0.94 $\pm$ 0.11	0.61 $\pm$ 0.02
赤芍高剂量组	8	1 652 $\pm$ 35 ^{bd}	187.00 $\pm$ 27.68 ^{ce}	0.36 $\pm$ 0.05 ^e	1.29 $\pm$ 0.07 ^e
赤芍中剂量组	8	1 683 $\pm$ 19	205.83 $\pm$ 32.22 ^{bd}	0.55 $\pm$ 0.13	1.18 $\pm$ 0.07 ^e
赤芍低剂量组	8	1 690 $\pm$ 21	244.17 $\pm$ 19.70	0.64 $\pm$ 0.10	0.67 $\pm$ 0.06

注:与胆固醇组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$;与赤芍低剂量组比较,^d $P<0.05$,^e $P<0.01$



1~4 依次:胆固醇组,赤芍高、中、低剂量组;M:Marker

图 2 RT-PCR 法检测各组兔血管组织 p22phox mRNA 表达



1~4 依次:胆固醇组,赤芍高、中、低剂量组;M:Marker

图 3 RT-PCR 法检测各组兔血管组织 MKP-1 mRNA 表达

2.4 形态学比较

2.4.1 赤芍对术后兔颈动脉血管内膜增生的影响:球囊损伤侧内膜可见明显增生,胆固醇组管腔面积较赤芍各组增大;胆固醇组 IELA、EELA 最大,赤芍各组有所减小(P 均 <0.01),但赤芍各组间差异

表 1 各组兔颈动脉血管环对血管活性药物的反应性测定结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	KCl (60 mol/L)	Ang I (%60 mol/L KCl)	NE (%60 mol/L KCl)	Ach (%10 ⁻⁶ mol/L NE)	NTG (%10 ⁻⁶ mol/L NE)
普通饲料对照组	8	0.47 $\pm$ 0.05	0.61 $\pm$ 0.12	0.96 $\pm$ 0.14	0.39 $\pm$ 0.11	0.89 $\pm$ 0.20
胆固醇组	7	0.45 $\pm$ 0.07	0.73 $\pm$ 0.12	1.01 $\pm$ 0.10	0.24 $\pm$ 0.08 ^a	0.78 $\pm$ 0.10
赤芍高剂量组	8	0.46 $\pm$ 0.07	0.55 $\pm$ 0.12 ^b	0.99 $\pm$ 0.11	0.37 $\pm$ 0.11 ^b	0.87 $\pm$ 0.10
赤芍中剂量组	6	0.50 $\pm$ 0.12	0.54 $\pm$ 0.21	0.96 $\pm$ 0.10	0.33 $\pm$ 0.06 ^b	0.85 $\pm$ 0.22
赤芍低剂量组	5	0.48 $\pm$ 0.08	0.64 $\pm$ 0.18	1.01 $\pm$ 0.09	0.28 $\pm$ 0.06	0.82 $\pm$ 0.25

注:与普通饲料对照组比较,^a $P<0.05$;与胆固醇组比较,^b $P<0.05$

无统计学意义(P 均 >0.05)。新生内膜形成在胆固醇组最明显;增生内膜面积在赤芍高、中剂量组均明显减少(P 均 <0.05);中膜面积在实验各组无明显差异(P 均 >0.05);内膜/中膜面积、内膜/内弹力层面积以胆固醇组最大,赤芍高、中剂量组均明显减小($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

2.4.2 管壁增生成分鉴定(彩色插页图 5):胞核棕黄色染色为 PCNA 阳性(增殖期)细胞表达,结果可见各组血管壁 3 层均有阳性染色。与胆固醇组比较,赤芍各组内、中、外膜 PCNA 阳性细胞均减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$),随药物剂量加大减少有增高趋势,但差异无统计学意义(P 均 >0.05)。表明赤芍可降低成形术后管壁细胞增殖程度,从而抑制新生内膜形成。球囊术后增生的内皮成分主要为平滑肌细胞,而巨噬细胞成分主要分布在外膜部位。与胆固醇组比较,赤芍各组外膜巨噬细胞均有减少。

3 讨论

目前已公认 PTCA 后再狭窄的形成包括两个相对独立又互为联系的环节,即血栓形成、内膜增生和血管重塑^[5]。有研究表明,血管内皮功能损伤是血管重塑形成的起始因素,药物对血管的保护作用与改善血管内皮功能有关^[6]。血管内皮通过分泌内皮舒张因子和收缩因子(如内皮素)在调节血管舒缩功能方面起主要作用。多种因素如氧化型低密度脂蛋白、氧自由基、内毒素、细胞因子和生长因子等造成的炎症反应是导致内皮功能障碍的共同环节。内皮受损后促进局部血栓形成,释放内皮素、血管紧张素转换酶等血管活性物质,收缩血管;同时内皮细胞和激活的血小板释放生长因子、细胞因子、黏附分子,进一步影响 VSMC 的增殖、迁移及细胞外基质形成。减少血管内皮损伤可减轻再狭窄的程度。

血管张力除受平滑肌细胞的直接调节外,同时也受内皮细胞间接调节,内皮功能受损可致血管对 Ach 的内皮源性舒张反应减弱。本实验结果也显示,高脂喂养兔球囊损伤颈动脉内皮依赖性舒张反应明显减弱,表明内皮损伤导致血管内皮功能减退。赤芍各组血管环对内皮依赖性舒张物质 Ach 的舒张反应均增强,其中高、中剂量组尤为显著,表明赤芍可使球囊损伤后内皮依赖性舒张功能有所恢复;赤芍各组血管环对 Ang I 的收缩反应也均减弱;提示赤芍可能具有的内皮恢复及改善功能在防止球囊损伤后再狭窄发生中有积极作用。

全身和血管局部组织 RAS 激活在球囊损伤术后的再狭窄过程中起重要作用。RAS 激活后,其主

要活性成分 Ang I 由血管内皮细胞和平滑肌细胞大量合成、分泌,引起血管对 Ang I 的反应升高,使血管强烈收缩,并刺激 ALD 分泌,同时 Ang I 本身作为一种强有力促分裂因子可直接促进体外培养 VSMC 的增殖与迁移。研究表明,在体大鼠颈总动脉球囊损伤术后皮下灌注 Ang I 可加剧损伤后颈动脉内膜增生程度,其作用受血管紧张素 I 1 型受体(AT1)调节^[7]。Pagano 等^[8]证实 Ang I 及 ALD 可促进外膜成纤维细胞 NADPH 氧化酶来源的超氧阴离子(O_2^-)产生。Liu 等^[9]认为血管成形术后血浆及组织中的 Ang I 水平升高,主要通过调节 MAPK 活性而导致平滑肌细胞增殖及新生内膜形成。上述研究表明,RAS 激活对 VSMC 的增殖与迁移、胶原合成及分泌、氧化应激、炎症反应及 MAPK 信号通路激活均有促进作用,增加其抑制对球囊损伤术后再狭窄发生具有特别重要的作用。

本实验结果显示,球囊损伤术后血浆中 Ang I、ALD 水平增高,RAS 激活;而赤芍组血浆 Ang I、ALD 水平均降低,其中高剂量组最为明显,具有明显的量-效关系。表明赤芍可降低血浆 Ang I 水平,其降低是赤芍直接作用于 RAS 所致,还是通过降低血脂水平,使血脂激活 RAS 程度减轻所致,需进一步探讨。但无论是赤芍的直接作用,或是其降低血脂后的间接作用,表现为用药后血浆中 Ang I 水平降低;同时观察到,球囊损伤术后各组兔颈动脉血管环对 Ang I 均有明显的收缩反应,赤芍各组血管环对 Ang I 的收缩反应性均减弱,其中高剂量组尤为显著。提示球囊损伤术后血管组织局部 RAS 可能被激活,加剧了内皮功能减退,而赤芍可降低血管对 Ang I 的收缩反应性,进而抑制血管组织局部 RAS 激活,从而可能在抗再狭窄发生过程中起积极作用。

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)/NADPH 氧化酶是血管平滑肌和内皮细胞超氧化物的主要来源,p22 是其重要的活性亚单位,它可作为第二信使激活多种胞内蛋白激酶,包括表皮生长因子受体、p38MAPK 等这些信号转导级联和氧化还原敏感性转录因子的激活,可诱导多种基因表达,因而参与血管平滑肌的生长和增殖,调节内皮功能,包括内皮源性的血管舒张和致炎性表型的表达及修饰细胞外基质^[10]。PTCA 的机械性损伤导致血管局部发生一系列复杂的病理生理变化,使 VSMC、巨噬细胞等释放多种细胞因子、生长因子、某些血管肽类物质,均可诱导 VSMC 和成纤维细胞通过 NADPH 氧化酶产生 O_2^- 。目前认为 Ang I 是氧化应激诱导剂和

NADPH 氧化酶的重要刺激因子,并对 MAPKs 产生活化作用,进而导致 VSMC 增生^[11]。Görlach 等^[12]报道球囊损伤后血栓迅速激活导致生长因子和血管活性物质释放,氧化酶 p22phox 表达上调,由其产生的大量活性氧可影响 VSMC 增殖及内皮功能。活性氧也可使细胞信号转导有关的蛋白激酶和转录因子活化,通过 Ras/细胞外信号调节激酶(ERK)、核转录因子- κ B (NF- κ B)以及其他尚未阐明的信号通路激活靶基因,调控 VSMC 增殖和分化。Azevedo 等^[13]证实损伤术后氧化应激反应激活与血管炎症及增殖过程相平行。

赤芍抗氧化活性已被证实,本研究结果表明,在 mRNA 水平,损伤后血管壁内膜、中膜与外膜 3 层均有 p22phox 表达,赤芍干预使 p22phox 阳性颗粒分布稀疏并表达下调。提示赤芍可能从基因转录水平抑制氧化应激程度,从而抑制损伤后的内膜增生及外膜胶原增生。

MAPK 是多种生长因子、细胞因子、血管活性肽参与 VSMC 增殖过程的共同通道,在血管平滑肌增生中起重要作用^[14]。血管成形术、LDL、急性血压升高、缺血/再灌注等胞外刺激均可导致其高度激活,它使许多转录因子磷酸化,从而调节与细胞增生和迁移有关的基因转录和翻译而调节细胞生长、增殖、分化及凋亡过程。而新近发现的 MKP-1 是一种双重底物特异性的蛋白磷酸酶,在缺氧、热休克、氧化和机械损伤中起重要的作用,因此它对 MAPK 起着负性调节作用。有研究表明,MKP-1 在调节 VSMC 增殖过程中能通过使 MAPK 脱磷酸化抑制 MAPK 活性,从而抑制细胞增殖,使球囊损伤后下调的 MKP-1 重新上调了对于抑制 MAPK 的激活,进而减轻细胞增殖有重要作用^[15]。

以往人们主要从抑制 MAPK 激活的角度研究 MAPK 与血管重塑的关系,本研究中从 MKP-1 对 MAPK 的调控角度,研究 MAPK 信号途径在损伤介导的内膜增生中的作用。已有研究证实球囊损伤术后 MAPK 激活,同时伴随 MKP-1 mRNA 表达下调,从而导致平滑肌细胞增殖。Ju 等^[16]研究表明血管球囊损伤后 15 min p38MAPK 激活,至 28 d 仍持续升高。Ohashi 等^[17]研究表明,血管损伤后反应与 p38MAPK 的持续激活有关,抑制其活性可减轻此种反应。Lai 等^[18]在大鼠颈动脉球囊损伤后观察到, MKP-1 mRNA 水平在伤后 2 d 开始下降,5 d 达低水平,14 d 又略有回升, MKP-1 活性下降与 ERK 活性增加相关;伤后 MKP-1 表达显著下降,而 MAPK

尤其 p44MAPK 增加,二者具有相关性;在 MKP-1 高表达的大鼠 VSMC,生长停止于 G1 期,因此球囊损伤后的 VSMC 增殖部分与 MKP-1 表达减少而导致 p44MAPK 去磷酸化减少有直接关系。

本实验显示,高脂喂养兔颈动脉球囊损伤后伴随 LDL 升高,氧化应激,炎症反应及 RAS 激活。而目前则认为,活性氧、LDL、Ang I 等诱导的 VSMC 增殖与 MAPK-MKP 激活相关联。根据 Baas 等^[19]的报告,活性氧诱导 VSMC 增殖的关键环节是活化细胞外信号调节酶 ERK, H_2O_2 和 O_2^- 均可诱导 MKP-1 产生。LDL 作为促有丝分裂素原,可能通过 MAPK-ERK 信号通路激活而引起 VSMC 的增殖^[20];同时, MKP-1 在 VSMC 的高表达也抑制 ERK 激活,从而抑制 LDL 导致的细胞增殖^[21]。

综上所述,使球囊损伤后下调的 MKP-1 重新上调了对于抑制 MAPK 的激活,进而减轻细胞增殖。赤芍除有可使高胆固醇兔 TC、TG、LDL 有明显降低,并抑制在体兔颈动脉 VSMC 增殖、减轻胶原沉积等良好作用^[22-23]外,还可能通过上调 MKP-1 mRNA 表达而抑制 PTCA 后的内膜增生。

参考文献

- [1] 朱慧民, 牟华明. 赤芍对球囊损伤术后血管内膜单核细胞趋化蛋白-1 基因表达的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(3): 138-141.
- [2] Clowes AW, Reidy MA, Clowes MM. Kinetics of cellular proliferation after arterial injury. I. Smooth muscle growth in the absence of endothelium[J]. Lab Invest, 1983, 49(3): 327-333.
- [3] Lazzam C, Forster C, Gotlieb A, et al. Impaired vascular reactivity following angioplasty is mainly due to endothelial injury[J]. Exp Mol Pathol, 1992, 56(2): 153-162.
- [4] Weidinger FF, McLenachan JM, Cybulsky MI, et al. Hypercholesterolemia enhances macrophage recruitment and dysfunction of regenerated endothelium after balloon injury of the rabbit iliac artery[J]. Circulation, 1991, 84(2): 755-767.
- [5] 李银平. 冠心病介入治疗后再狭窄的中西医结合防治进展[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2000, 7(5): 316-318.
- [6] 廖端芳, 李元建, 秦旭平, 等. 氧化应激介导血管重构信号通路研究[J]. 医学研究杂志, 2006, 35(4): 29.
- [7] Matsumoto K, Morishita R, Moriguchi A, et al. Inhibition of neointima by angiotensin-converting enzyme inhibitor in porcine coronary artery balloon-injury model[J]. Hypertension, 2001, 37(2): 270-274.
- [8] Pagano PJ, Chanock SJ, Siwik DA, et al. Angiotensin II induces p67phox mRNA expression and NADPH oxidase superoxide generation in rabbit aortic adventitial fibroblasts[J]. Hypertension, 1998, 32(2): 331-337.
- [9] Liu N, Chen G, Wang X. Effects of vasoactive peptides on the development of restenosis[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2001, 81(3): 162-167.
- [10] 贾薇, 袁中华. 动脉粥样硬化中的 4 个 PKC 相关酶[J]. 中国病理生理杂志, 2007, 23(7): 1442-1445.

- [11] Dröge W. Oxidative stress and aging[J]. Adv Exp Med Biol, 2003, 543:191-200.
- [12] Görlach A, Brandes RP, Bassus S, et al. Oxidative stress and expression of p22phox are involved in the up-regulation of tissue factor in vascular smooth muscle cells in response to activated platelets[J]. FASEB J, 2000, 14(11):1518-1528.
- [13] Azevedo LC, Pedro MA, Souza LC, et al. Oxidative stress as a signaling mechanism of the vascular response to injury: the redox hypothesis of restenosis[J]. Cardiovasc Res, 2000, 47(3):436-445.
- [14] Gao F, Tao L, Yan W, et al. Early anti-apoptosis treatment reduces myocardial infarct size after a prolonged reperfusion[J]. Apoptosis, 2004, 9(5):553-559.
- [15] 贾光宏, 马业新. 丝裂素活化蛋白激酶磷酸酶-1 对血管平滑肌细胞增殖的影响及其机制[J]. 咸宁学院学报(医学版), 2004, 18(1):8-10.
- [16] Ju H, Nerurkar S, Sauermelch CF, et al. Sustained activation of p38 mitogen-activated protein kinase contributes to the vascular response to injury[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2002, 301(1):15-20.
- [17] Ohashi N, Matsumori A, Furukawa Y, et al. Role of p38 mitogen-activated protein kinase in neointimal hyperplasia after vascular injury[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20(12):2521-2526.
- [18] Lai K, Wang H, Lee WS, et al. Mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 in rat arterial smooth muscle cell proliferation[J]. J Clin Invest, 1996, 98(7):1560-1567.
- [19] Baas AS, Berk BC. Differential activation of mitogen-activated protein kinase by H_2O_2 and O_2^- in vascular smooth muscle cells[J]. Circ Res, 1995, 77(1):29-36.
- [20] Augé N, Escargueil-Blanc I, Lajoie-Mazenc I, et al. Potential role for ceramide in mitogen-activated protein kinase activation and proliferation of vascular smooth muscle cells induced by oxidized low density lipoprotein[J]. J Biol Chem, 1998, 273(21):12893-12900.
- [21] Metzler B, Li C, Hu Y, et al. LDL stimulates mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 expression, independent of LDL receptors, in vascular smooth muscle cells[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1999, 19(8):1862-1871.
- [22] 朱慧民, 祝彼得. 赤芍防止高脂喂养兔颈总动脉球囊损伤术后血管狭窄的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(6):538-540.
- [23] 朱慧民, 金国健, 林福禧. 赤芍对家兔血管内膜平滑肌细胞增生的影响[J]. 中国中医急症, 2005, 14(4):349-350.
- (收稿日期:2008-04-14 修回日期:2008-09-03)
(本文编辑:李银平)

• 经验交流 •

手术室护理工作不安全因素的对策

李淑贤¹, 许少先²

(1. 宁夏回族自治区人民医院, 宁夏 银川 750021; 2. 宁夏医学院附属医院, 宁夏 银川 750001)

【关键词】 手术室护理; 不安全因素; 对策

中图分类号:R472.3 文献标识码:B 文章编号:1008-9691(2008)06-0337-01

随着医学的发展,新技术、新方法正快速和广泛应用于临床,不安全因素也在不断增加,任何疏忽大意都可以酿成严重的后果。针对临床可能存在的不安全因素,我科提出并制定防范措施,避免了手术室不安全事件的发生,现总结如下,供同行借鉴。

1 不安全因素

手术室护理工作中常见的不安全因素有:①医疗器械准备不足或灭菌不规范。②接送患者时出现无人看护,一旦患者发生坠床或血压突然增高将会造成严重后果。③清点物品不认真、不及时登记,特殊物品不在手术护理记录单上记录,造成物品清点不正确,影响手术正常进行。④接台手术较多时,易造成接错患者。⑤患者体位不当可造成损伤。⑥术中

作者简介:李淑贤(1972-),女(汉族),宁夏回族自治区人,主管护师。

护理记录单记录不规范、不正确,易造成护理纠纷。⑦仪器使用不当易造成患者损伤,延误手术时间。

2 预防措施

2.1 充分准备、严格消毒:器械护士准备好后由洗手护士再次核对,对已消毒灭菌的物品,每周清洁整理一次;过期器械、敷料应重新消毒灭菌,熏蒸消毒物品由器械班每日检查、添加更换、订出各类物品消毒更换日期,落实执行者。

2.2 择期手术:择期手术者由巡回护士去病房接,体现了“以患者为中心”,人性化管理的模式,医护人员交完班直接进入手术间,患者不需等候,杜绝患者独处,避免发生意外。

2.3 科室管理:加强科室管理,严格按照规章制度执行,克服工作不认真、习惯性思维的不良风气,清点物品及时登记,发现物品不符合通知手术医生,认真探

察体腔或切口,确保无误,方可关腹。

2.4 接台手术:接台手术时,由巡回护士拿整体护理记录单与病房护士核对,双方签字后方可将患者接入手术室,送患者时必须由麻醉医生、护士共同送回病房。护工因不能执行医嘱,因此不可接送患者。

2.5 体位摆放:应注意肢体捆绑不可过紧,悬吊时间不可过长,肢体不要过度伸展、旋转、避免引起神经损伤。

2.6 护理记录:记录单要客观、真实、准确、及时、完整,与麻醉记录单保持一致,以免发生医疗纠纷时不能“举证倒置”。

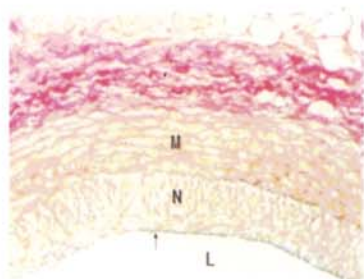
2.7 仪器检查:仪器使用前认真检查其性能。由专人管理、定期保养,体位变动时更要反复检查,防止电极板脱落。仪器使用完及时断电,以免发生意外。

(收稿日期:2008-06-10)

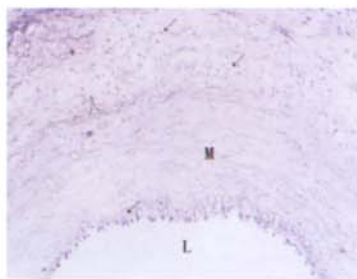
(本文编辑:李银平)

赤芍对颈动脉球囊损伤术后兔血管内膜增生的干预作用研究

(正文见332页)



M:中膜; N:增生内膜; L:血管内弹力板;
箭头示血管内弹力板下的增生内膜
图1 球囊损伤兔颈动脉内膜明显增生
(血管特殊染色, ×150), 弹力及胶原纤维双重
染色可见蓝绿色弹力纤维及红色胶原纤维



M:中膜; L:血管内弹力板;
箭头示阳性颗粒
图4 球囊损伤兔颈动脉 p22phox mRNA
表达(原位杂交, ×200)



M:中膜; L:血管内弹力板;
箭头示PCNA的棕色阳性着色
图5 球囊损伤兔颈动脉PCNA表达
(免疫组化, ×300), 内、中、外膜均有棕色着色

5例复杂肱骨近端骨折患者的治疗分析

(正文见345页)



图1 1例左肱骨近端粉碎性骨折患者
行人工肱骨头置换术前X线检查结果



图2 1例左肱骨近端粉碎性骨折患者
行人工肱骨头置换术后X线检查结果

中国中西医结合急救杂志
CHINESE JOURNAL OF INTEGRATED TRADITIONAL AND WESTERN MEDICINE IN INTENSIVE AND CRITICAL CARE
2008年7月 第14卷 第4期

中国危重病急救医学
CHINESE CRITICAL CARE MEDICINE
2008年7月 第14卷 第4期

中国危重病急救医学
CHINESE CRITICAL CARE MEDICINE
2008年7月 第14卷 第4期

欢迎订阅
欢迎投稿

中华医学会主办
邮发代号: 6-58
全年定价: 117.6元

中国中西医结合学会主办
邮发代号: 6-93
全年定价: 54元

请到当地邮局办理订阅手续, 也可到本刊发行部订阅
刊社地址: 天津市和平区睦南道122号 邮编: 300050
电话: 022-23042150 传真: 022-23306917 Email: cccm@em120.com