

脉络宁注射液对缺血/再灌注骨骼肌丙二醛及谷胱甘肽过氧化物酶的影响

王岱君¹, 田 华², 王金平¹

(1. 潍坊医学院人体解剖学教研室, 山东 潍坊 261053; 2. 潍坊医学院附属医院, 山东 潍坊 261042)

【摘要】 目的 探讨脉络宁注射液对骨骼肌缺血/再灌注(I/R)损伤的保护作用机制。方法 用45只健康成年新西兰大白兔建立后肢骨骼肌I/R损伤模型。将动物随机分为对照组、I/R组和脉络宁组, 每组15只。缺血后4h, 脉络宁组自耳缘静脉注射脉络宁注射液2 ml/kg, 对照组及I/R组注射等量生理盐水, 注射完毕后立即恢复血流灌注。各组于再灌注后2h自术侧抽取股静脉血分离血清, 测定丙二醛(MDA)含量和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性。结果 I/R组血清MDA含量明显高于对照组[(5.81±0.62)μmol/L比(3.67±0.39)μmol/L], GSH-Px活性明显低于对照组[(99.87±9.81)U比(123.49±12.12)U], 差异均有统计学意义(P均<0.01)。脉络宁组血清MDA含量[(3.93±0.60)μmol/L]较I/R组明显降低, GSH-Px活性[(118.22±10.78)U]较I/R组明显升高(P均<0.01); 且均接近对照组水平(P均>0.05)。结论 脉络宁注射液可降低MDA含量, 增加GSH-Px活性, 从而减轻I/R对骨骼肌的损伤。

【关键词】 脉络宁注射液; 缺血/再灌注损伤; 骨骼肌; 丙二醛; 谷胱甘肽过氧化物酶

中图分类号: R285.6 文献标识码: B DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.03.018

骨骼肌缺血/再灌注(I/R)损伤在临床上较为常见, 但迄今仍无十分有效的防治方法, 其机制也未完全阐明。近年来诸多学者转向了中药对其治疗的研究。脉络宁注射液由多种中药精制成, 现主要用于心脑血管病的治疗, 而对骨骼肌I/R损伤的作用少见报道。在我们前期研究^[1-2]的基础上, 本研究通过观察脉络宁注射液对I/R骨骼肌丙二醛(MDA)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的影响, 进一步探讨其对I/R损伤骨骼肌的保护作用。

1 材料与与方法

1.1 动物模型建立与分组: 选择健康成年新西兰大白兔45只, 雌雄不限, 体重(2.21±0.12)kg。按随机数字表法将动物分为对照组、I/R组和脉络宁组, 每组15只。参照Crinnion等^[3]介绍的方法建立肢体I/R损伤动物模型。耳缘静脉注射乌拉坦5 ml/kg(200 g/L)麻醉动物, 于右股三角处沿股血管走行方向切开皮肤, 夹闭股动脉及股静脉, 并用橡皮止血带环扎肢体, 以阻断侧支循环, 造成肢体完全缺血。缺血4h后, 脉络宁组自耳缘静脉注射脉络宁注射液(金陵药业

通信作者: 田 华, Email: tianhua1213@126.com

作者简介: 王岱君(1963-), 男(汉族), 山东省人, 医学硕士, 副教授, Email: wang daijun@126.com.

股份有限公司南京金陵制药厂生产, 批号: 20080946)2 ml/kg; I/R组注射等量生理盐水。注射完毕后立即撤去血管夹和橡皮带以恢复供血, 再灌注2h。对照组大鼠仅暴露右股动脉及股静脉, 不夹闭血管及环扎肢体, 同时同点注射等量生理盐水。

1.2 生化指标检测: 各组于再灌注后2h从术侧股静脉采血3 ml, 离心分离血清, 置于-60℃冰箱中备检。MDA含量测定采用硫代巴比妥酸法(TBA法), GSH-Px活性测定采用二硫代硝基苯甲酸法(DTNB法), 具体操作严格按试剂盒(由南京建成生物工程研究所提供)说明书进行。

1.3 统计学分析: 应用SPSS 12.0统计软件包, 数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, Levene法进行方差齐性检验, 方差齐者用单因素方差分析、LSD检验; 若方差不齐者用Games-Howell法进行分析, P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清MDA含量(表1): I/R组MDA含量较对照组明显增高; 脉络宁组MDA含量较I/R组明显降低(P均<0.01), 接近对照组(P>0.05)。

2.2 血清GSH-Px活性(表1): I/R组GSH-Px活性较对照组明显降低; 脉络宁组GSH-Px活性较I/R组明显升高(P均<0.01), 接近对照组(P>0.05)。

表1 各组兔血清MDA含量及GSH-Px活性比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 动物数 | MDA (μmol/L) | GSH-Px (U) |
|------|-----|------------------------|---------------------------|
| 对照组 | 15 | 3.67±0.39 | 123.49±12.12 |
| I/R组 | 15 | 5.81±0.62 ^a | 99.87±9.81 ^a |
| 脉络宁组 | 15 | 3.93±0.60 ^b | 118.22±10.78 ^b |

注: 与对照组比较, ^aP<0.01; 与I/R组比较, ^bP<0.01

3 讨论

临床上常见的断肢再植、创伤、血栓再通、失血性休克、周围神经挤压伤等都存在骨骼肌I/R损伤, 严重影响了肢体功能恢复, 甚至造成肢体的残废。目前普遍认为氧自由基介导的脂质过氧化是I/R损伤发生的重要原因。机体代谢及损伤过程中可产生超氧自由基, 自由基与细胞膜上饱和脂肪酸反应生成脂质过氧化物, 对细胞膜甚至整个细胞造成损伤, 严重者可导致细胞死亡。

MDA为脂质过氧化产物的一种, 其水平反映了体内脂质过氧化反应的速率和强度, 间接反映体内氧自由基水平^[1,4]。本实验中, I/R后血清MDA明显增高, 表明在再灌注期间氧自由基及其引导的脂质过氧化反应增强, 造成了骨骼肌细胞的严重损伤。GSH-Px是体内广泛存在的一种重要的催化过氧化氢(H₂O₂)分解的酶, 它特异地催化还原

型谷胱甘肽(GSH)对 H₂O₂ 起还原反应,从而清除细胞内有害的过氧化物代谢产物,阻断脂质过氧化连锁反应,起到保护细胞膜结构和功能完整的作用,是抗氧化系统中重要的抗氧化剂。在一定范围内,脂质过氧化增强时,抗脂质过氧化酶活性也相应增强,以对抗脂质过氧化对机体的损伤,因此,GSH-Px 活性可反映机体抗氧化能力^[4-7]。

潘维亮等^[8]观察了 27 例断肢再植或肢体大血管损伤再通患者后发现,患者伤后血中 MDA、肌酸磷酸激酶(CPK)和乳酸脱氢酶(LDH)即明显高于正常水平,并随着 I/R 时间的延长各值逐渐升高。说明在骨髓肌的 I/R 损伤机制中有黄嘌呤氧化酶源性氧自由基损伤及脂质过氧化损伤等现场。本研究中 I/R 组 MDA 水平明显升高,GSH-Px 活性明显下降,说明在 I/R 期氧自由基大量释放、抗氧化能力下降是导致骨骼肌再灌注损伤的根本原因。应用有效的药物抑制或减缓 I/R 时氧自由基的大量释放,提高了机体的抗氧化能力,即可减轻组织细胞的过氧化损伤。

脉络宁注射液为含有牛膝、玄参、麦冬、石斛等多种中药的复方制剂,具有滋补肝肾、养阴清热、活血化瘀的功效。现

代医学研究证明,其具有扩张血管、降低血浆黏度、抑制血小板聚集和内源性 5-羟色胺(5-HT)释放等多种生物效用,尤其增加环磷酸鸟苷(cGMP)浓度及 cGMP/环磷酸腺苷(cAMP)比值^[9]。本研究发现,应用脉络宁注射液干预后,反映体内氧自由基水平的 MDA 含量明显低于 I/R 组,代表体内抗氧化能力的 GSH-Px 活性明显高于 I/R 组;脉络宁组 MDA 与 GSH-Px 水平与对照组比较,其升高与降低均不明显。表明脉络宁注射液能够增加 GSH-Px 活性,提高氧自由基清除能力,减少脂质过氧化物的产生,阻断脂质过氧化连锁反应,减轻脂质过氧化对组织细胞的损伤程度,从而保护组织细胞结构和功能的完整性,对 I/R 骨骼肌具有明显的保护作用。

参考文献

[1] 王岱君,王金平,鞠学红,等. 脉络宁对兔肢体缺血再灌注损伤的防护作用[J]. 中华创伤杂志,2004,20(4):234-237.
 [2] 王岱君,王金平,田华. 脉络宁注射液对肢体缺血/再灌注损伤一氧化氮及一氧化氮合酶的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志,2005,12(1):43-46.
 [3] Crinnion JN, Homer-Vanniasinkam S, Parkin SM, et al. Role of neutrophil-

endothelial adhesion in skeletal muscle reperfusion injury[J]. Br J Surg,1996,83(2):251-254.
 [4] 龚裕强,施小燕,陈毅军,等. 茶多酚对急性呼吸窘迫综合征兔肺抗氧化作用的研究[J]. 中国中西医结合急救杂志,2008,15(2):92-94.
 [5] 蒋军广,谭伟丽,王丽华,等. 银杏叶提取物对老年肺心病患者抗脂质过氧化损伤的影响[J]. 中国危重病急救医学,2006,18(4):246-247.
 [6] Bayrak O, Bavbek N, Karatas OF, et al. Nigella sativa protects against ischaemia/reperfusion injury in rat kidneys[J]. Nephrol Dial Transplant, 2008,23(7):2206-2212.
 [7] 王文静,龙云芳,詹承烈,等. 苯作业工人全血谷胱甘肽过氧化物酶活性的研究[J]. 现代预防医学,1999,26(4):437-438.
 [8] 潘维亮,陈辉,王莹. 血必净注射液在骨髓肌缺血/再灌注损伤中的保护作用[J]. 中国危重病急救医学,2007,19(8):499.
 [9] 杜长军. 脉络宁的药理作用及临床治疗进展[J]. 中国中西医结合杂志,1996,16(7):447-448.

(收稿日期:2009-04-18
 修回日期:2009-05-10)
 (本文编辑:李银平)

• 科研新闻速递 •

免疫调节治疗不同危险的分层脓毒症

评估大剂量糖皮质激素治疗不同危险分层致命性脓毒症的有效性。研究人员采用 88 只 ICR 大鼠进行了前瞻性实验研究。采用盲肠结扎穿孔术(CLP)制备大鼠脓毒症模型。CLP 后 6 h 根据血清白介素-6(IL-6)水平高低,预测性将大鼠分为可能死亡组和可能存活组,两组再随机选取一半动物给予地塞米松(DEX)2.5 mg/kg 或等量生理盐水。未分组前,普遍认为 DEX 治疗脓毒症是没有效果的。分组后,可能死亡组用 DEX 治疗后存活率为 40%,而生理盐水组全部死亡,DEX 治疗组大鼠死亡时间较生理盐水组延长 24~48 h。CLP 术后 24 h 可能死亡组淋巴细胞高于可能存活组,而中性粒细胞低于可能存活组。可能死亡组用生理盐水治疗后 IL-6 和白细胞介素-1 受体拮抗剂(IL-1ra)水平高于可能存活组(IL-6:60 μg/L 比 10 μg/L; IL-1ra:453 μg/L 比 129 μg/L)。有趣的是,DEX 治疗并未降低 IL-6 和 IL-1ra 水平。对于 CLP 脓毒症模型来说,早期危险分层后进行免疫抑制治疗能提高存活率,但是高存活率并未减少炎症介质的释放,提示脓毒症死亡不是由于过度的炎症介质释放导致的。因此,研究者认为,非特异性抗炎/免疫抑制治疗可能需要更严格的危险分层评估才能取得满意的效果。

白慧颖,编译自《Crit Care Med》,2009 年 5 月(电子版);胡 森,审校

器官功能衰竭评分用于预测严重脓毒症患者的预后

为了解器官功能衰竭评分(SOFA)对预测严重脓毒症的预后价值,研究者采用 SOFA 评分预测急诊科严重脓毒症和低灌注患者的预后。患者纳入标准为可疑感染、出现 2~3 项炎症反应证据、快速液体复苏后收缩压低于 90 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)以及血乳酸含量大于 4 mmol/L;年龄小于 18 周岁或需急诊手术者予以排除。于急诊入院时及入重症监护病房(ICU)72 h 分别进行 SOFA 评分,主要预后结果为住院病死率。共计 248 例患者纳入研究,平均年龄(57±16)岁。所有患者采用标准治疗手段,急诊入院时 SOFA 评分为(7.1±3.6)分,入 ICU 72 h 为(7.4±4.9)分,平均住院病死率 21%,SOFA 评分与住院病死率呈正相关。研究者认为,SOFA 评分对急诊入院脓毒症患者可能提供有价值的预后信息。

白慧颖,编译自《Crit Care Med》,2009 年 5 月(电子版);胡 森,审校