

401.

[5] EREAN D, SABIHA A. Weight gain associated with valproate in children [J]. *Pediatric Neurology*, 2000, 22 (1): 361-364.

[6] 温兆春,王如明. 丙戊酸钠诱发癫痫 患儿肥胖的原因及对策[J]. *山东医药*, 2005, 45(2): 7-9.

[7] 王 萍,任榕娜. 丙戊酸钠诱发体质量增加与瘦素影响的研究[J]. *医学综述*, 2006, 24(12): 1526-1527.

[8] GRECO R, LATINI G, CHIARELLI F, *et al.* Leptin, ghrelin, and adiponectin in epileptic patients treated with valproic acid [J]. *Neurology*, 2005, 65(11): 1808-1809.

[9] 金莉莉,汪 昕,马 昱,等. 抗癫痫 药物治疗对血脂水平影响的研究[J]. *中国临床医学*, 2005, 12(3): 528-539.

## 己酮可可碱对肠缺血-再灌注损伤的影响

杨劲松,赵施竹

(河南鹤壁煤业集团总医院药剂科,河南鹤壁 458000)

**[摘要]** 目的 观察多形核中性粒细胞(PMN)在多器官损伤中的作用,PMN活化抑制药己酮可可碱对肠缺血-再灌注损伤的保护作用。方法 采用大鼠肠缺血-再灌注损伤的模型,将大鼠随机分为PTX组( $n=15$ )、缺血-再灌注组(L/R, $n=15$ ),假手术组( $n=15$ )和对照组( $n=15$ )。用戊巴比妥钠( $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )腹腔注射麻醉后,消毒腹部皮肤,铺无菌巾。PTX组和L/R组动物行剖腹术,分离并夹闭肠系膜上动脉,1 h后松夹,PTX组立即给予己酮可可碱( $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,腹腔注射),L/R组给予等量0.9%氯化钠溶液,关闭腹腔。再灌注5 h后采集门、体静脉血,取小肠、肝及左肺组织,行右肺灌洗并收集支气管肺泡灌洗液(BALF)。假手术组仅行剖腹术和肠系膜上动脉分离术,不夹闭肠系膜上动脉,关闭腹腔6 h后取标本。对照组麻醉后立即取标本。观察指标:肠组织病理分级;门、体静脉血内毒素测定;BALF中蛋白含量测定;肠、肺组织中髓过氧化物酶(MPO)含量测定及肝组织中PMN浸润程度。结果 肠缺血-再灌注可导致肠及远端器官肝、肺中PMN聚集明显增加,并伴有这些器官的损伤;己酮可可碱可明显抑制肠缺血-再灌注引起的PMN聚集,同时肠、肝、肺组织损伤的指标明显改善。结论 肠缺血-再灌注造成PMN在肠及远端器官中的聚集增多,是导致多器官损伤的重要原因;己酮可可碱可减轻肠缺血-再灌注引起的多器官损伤,这一作用至少部分是通过抑制PMN的活化和聚集而实现。

**[关键词]** 己酮可可碱;损伤,再灌注;多器官功能衰竭;中性粒细胞

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-0781(2009)01-0030-03

### Effects of Pentoxifylline on Organ Injury caused by Gut Ischemia Reperfusion

YANG Jin-song, ZHAO Shi-zhu (*Department of Pharmacy, Hebi Mining General Hospital, Henan 458000, China*)

**ABSTRACT Objective** To study the role of polymorphonuclear neutrophils (PMNs) in causing multiple organ injury and protective effects of pentoxifylline (PTX), an inhibitor of PMNs activating. **Methods** A rat model of gut ischemia/reperfusion (L/R) was used. **Results** Gut L/R caused the increase of PMNs sequestration in gut and remote organs of lung and liver, along with the organ injury. However, the changes were markedly reversed by PTX ( $P<0.01$ ). PTX also significantly ameliorated the organs injury ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). **Conclusion** PMNs sequestration was the main cause for organ injury by gut L/R, PTX can protect the injury, and the mechanism underlying is at least partly due to its inhibition on PMN activating and sequestration.

**KEY WORDS** Pentoxifylline; Injury, reperfusion; Multiple organ failure; Neutrophil

肠缺血-再灌注损伤(ischemia reperfusion injury, IRI)是外科实践中常见的组织器官损伤之一,在严重感染、创伤、休克、心肺功能不全等疾患的病理演变过

程中起重要作用。肠IRI不仅可以引起消化道局部的组织损害,而且可以导致肠内细菌和毒素移位到体循环,引起网状内皮系统发生系列反应,进而导致大量相关介质和细胞因子的释放,甚至发生多系统器官功能不全综合征<sup>[1,2]</sup>。近年来发现,己酮可可碱(pentoxifylline, PTX)可改善白细胞的变形能力,抑制白细胞的

**[收稿日期]** 2007-12-14

**[作者简介]** 杨劲松(1970-),女,河南鹤壁人,主管药师,学士,研究方向:临床药学。电话:(0)13938008950。

**[通讯作者]** 赵施竹,男,主任医师。研究方向:急救医

粘附、激活,降低其氧自由基生成<sup>[3]</sup>。笔者在本实验拟观察 PTX 对肠 IRI 引起的多器官损伤的作用及对组织中 PMN 浸润聚集的影响。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 健康 SD 大鼠 60 只,体质量 230 ~ 300 g,购于河南大学实验动物中心,雌雄不限,饲以标准鼠饲料。实验前 12 h 开始禁食,不禁水。己酮可可碱注射液(商品名: Pentomer, 德国通益/麦克乐公司生产,规格: 20 mg · mL<sup>-1</sup>水溶液,使用前用 0.9% 氯化钠溶液稀释至 5 mg · mL<sup>-1</sup>)。

**1.2 方法** 动物适应性喂养 1 周。手术前动物禁食过夜,腹腔注射质量分数为 0.2% 硫喷妥钠 30 mL · kg<sup>-1</sup>麻醉后,取右侧卧位,固定于手术台上。左侧腹部、右腹股沟术野备皮、消毒,无菌操作分离右股动脉,插管,接三通管,连接一个含有肝素 0.9% 氯化钠溶液(肝素 10 μg · mL<sup>-1</sup>) 0.3 mL 注射器上(供抽血和给药用)。取腹膜后入路,分离肠系膜上动脉(SMA),用无损伤血管夹夹闭其根部,1 h 后后松夹进行再灌注,依次关闭切口。手术后大鼠分笼饲养。

**1.3 动物模型制作** 动物随机分成 4 组,每组 15 只。  
①假手术组:动物进行上述操作,但不夹闭肠系膜上动脉。  
②模型组:动物进行上述操作,动脉夹夹闭肠系膜上动脉 1 h 松夹。  
③药物治疗组:操作同模型组,在夹闭肠系膜上动脉 30 min 时经股动脉给 PTX 50 mg · kg<sup>-1</sup>。  
④正常组,不进行手术,正常饲养。再灌注 5 h 后采集门、体静脉血,取小肠、肝及左肺组织,行右肺灌洗并收集支气管肺泡灌洗液(BALF)。正常组麻醉后立即取标本。

**1.4 观察指标** 取距回盲部 15 cm 处的肠管 1 cm,常规石蜡包埋,组织切片,通过苏木精-伊红(HE)染色,观察肠黏膜组织细胞学形态;使用 OLYMPAS BX-50 多功能显微镜,选取不同视野观察并照相。运用显微图像分析系统(VIDAS)在每张切片上随机选出黏膜内的两个视野进行计算机显微图像分析,测得其平均吸光度值(A 值)。肠组织病理分级按照 CHIU 等<sup>[4]</sup>的标准,遵照盲法原则进行。门、体静脉血内毒素采用偶氮显色法测定,试剂盒由上海医学化验所提供。BALF 中蛋白含量

采用磺基水杨酸透射比浊法测定。肺组织中髓过氧化物酶(MPO)含量测定参考 KRAWISZ 等<sup>[5]</sup>的方法:放血处死动物,迅速开胸将心肺整块取出,立即以 0.9% 氯化钠溶液 20 mL 经右室流出道进行匀速灌洗;取 400 ~ 600 mg 肺组织,加入含 0.5% 十六烷基三甲基溴化胺的 50 mmol · L<sup>-1</sup> 磷酸钾缓冲液(pH 值 7.4) 4 mL,用超声细胞粉碎机(4 × 10 s)制成组织匀浆,12 000 g 离心 15 min,取 1.0 mL 上清液加 100 mmol · L<sup>-1</sup> 磷酸钾缓冲液 2.9 mL、0.3% 过氧化氢溶液 0.083 mL 及 0.041 mol · L<sup>-1</sup> 二茴香胺溶液 0.834 mL;用 724 型分光光度计在 460 nm 处测定 1 ~ 3 min 时 A 值变化值,按以下公式计算每克湿肺组织的 MPO 活性。MPO 活性 = ΔA<sub>460</sub> × 13.5 / 肺重量(g); ΔA<sub>460</sub> 为反应开始后 1 ~ 3 min 的吸光度变化。肝组织中 PMN 浸润程度用病理切片每 10 个高倍视野中 PMN 的数目表示。

**1.5 统计学方法** 实验数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,计量资料的比较采用方差分析或 t 检验,等级资料的比较采用秩和检验,取 α = 0.05。

### 2 结果

**2.1 HE 染色** 假手术组和正常组肠壁组织均匀,绒毛上皮细胞排列规整。模型组可见肠壁变薄,上皮细胞水肿明显,部分坏死脱落,小肠绒毛短细,绒毛间距变宽;中性粒细胞及淋巴细胞浸润,个别肠黏膜固有层内腺体灶性区域坏死。

**2.2 肠 IRI 对组织中 PMN 聚集的影响** 模型组肠组织 MPO 含量显著高于正常组和假手术组(P < 0.01),肺组织 MPO 含量显著高于正常组(P < 0.01)和假手术组(P < 0.05)。假手术组 MPO 含量显著高于正常组(P < 0.01)。模型组肝 PMN 计数显著高于正常组和假手术组(P < 0.01),见表 1。

**2.3 肠 I/R 导致的组织损伤** 模型组肠病理分级显著高于正常组和假手术组(P < 0.01),见表 2。模型组门静脉内毒素含量显著高于正常组(P < 0.01)和假手术组(P < 0.05),体静脉内毒素含量也显著高于正常组和假手术组(P < 0.05)。模型组 BALF 蛋白含量显著高于正常组(P < 0.01)和假手术(P < 0.05)。假手术组 BALF 蛋白含量显著高于正常组(P < 0.01)。模型

表 1 各组肠缺血-再灌注致多器官损伤指标检测

组别	肠 MPO/ (A · g <sup>-1</sup> )	门静脉内毒素/ (pg · mL <sup>-1</sup> )	体静脉内毒素/ (pg · mL <sup>-1</sup> )	肺 MPO/ (A · g <sup>-1</sup> )	BALF 蛋白/ (10 × mg · L <sup>-1</sup> )	肝 PMN/ (个/10HPF)	血清 GPT/ (U · L <sup>-1</sup> )
药物治疗组	0.069 ± 0.015 * <sup>1</sup> * <sup>2</sup>	10.19 ± 1.65 * <sup>3</sup>	7.12 ± 1.46 * <sup>3</sup>	0.581 ± 0.082 * <sup>1</sup> * <sup>2</sup>	10.267 ± 1.932 * <sup>1</sup> * <sup>2</sup>	19.067 ± 2.732 * <sup>2</sup> * <sup>3</sup>	101.800 ± 10.972 * <sup>1</sup> * <sup>4</sup>
正常组	0.004 ± 0.001	4.43 ± 0.91	3.81 ± 1.23	0.153 ± 0.040	81.744 ± 0.159	11.667 ± 1.566	45.189 ± 3.792
假手术组	0.005 ± 0.001	6.05 ± 0.87	4.24 ± 1.07	0.797 ± 0.159 * <sup>1</sup>	10.644 ± 1.180 * <sup>1</sup>	14.200 ± 1.618	201.667 ± 11.548 * <sup>1</sup>
模型组	0.163 ± 0.031 * <sup>1</sup> * <sup>5</sup>	17.78 ± 4.13 * <sup>6</sup>	14.01 ± 1.71 * <sup>3</sup> * <sup>6</sup>	1.265 ± 0.180 * <sup>6</sup>	19.167 ± 1.591 * <sup>6</sup>	35.120 ± 3.338 * <sup>6</sup>	153.913 ± 12.145 * <sup>1</sup>

$\bar{x} \pm s$

与正常组比较, \*<sup>1</sup> P<0.01, \*<sup>3</sup> P<0.05;与模型组比较, \*<sup>2</sup> P<0.01, \*<sup>4</sup> P<0.05;与假手术组比较, \*<sup>5</sup> P<0.05, \*<sup>6</sup> P<0.01

组血清 GPT 水平显著高于正常组 (P<0.01), 但与假手术组比较差异无显著性。假手术组血清 GPT 水平显著高于正常组 (P<0.01)。

表 2 各组大鼠肠病理分级 只

组别	0 级	1 级	2 级	3 级	4 级	5 级
正常组	3	7	3 <sup>*1</sup>	2 <sup>*1</sup>	0	0
假手术组	8	7	0	0	0	0
模型组	6	9	0	0	0	0
药物治疗组	0	4	6 <sup>*2</sup>	3 <sup>*1</sup>	1	1

与假手术组比较, \*<sup>1</sup> P<0.05;与正常组比较, \*<sup>2</sup> P<0.01

### 2.4 PTX 治疗对组织中 PMN 聚集及脏器损伤的影响

与模型组比较, 药物治疗组肠、肺组织 MPO 含量显著降低 (P<0.01), 肝组织 PMN 计数也显著下降 (P<0.01)。药物治疗组肠病理分级及血清 GPT 水平显著低于模型组 (P<0.05), 其 BALF 蛋白含量也显著低于模型组 (P<0.01)。

### 3 讨论

肠 IRI 是应激状态中必经的病理生理过程<sup>[2]</sup>。目前认为, 肠黏膜低灌注、氧自由基损伤及细胞因子作用是肠黏膜三大主要致伤因素<sup>[3]</sup>。由于缺血, 肠系膜血流量下降, 引起肠微绒毛低灌注, 氧供减少, 导致黏膜水肿。严重时出现肠上皮细胞坏死、微绒毛分离及固有层崩解。另外, 缺血后再灌注时, 通过氧自由基的大量生成, 进一步损伤肠黏膜。由此而产生的肠黏膜萎缩及通透性增大, 导致肠屏障功能损伤、肠源性细菌毒素进入血液而引发失控的炎症反应和脓毒症, 是导致多脏器功能障碍综合征的重要原因<sup>[4]</sup>。PMN 活化、与内皮细胞的粘附、呼吸爆发、释放氧自由基和溶酶体酶造成组织损伤, 是多器官发生功能障碍的共同原因之一; PMN 与内皮细胞的粘附还能造成微循环障碍, 且内皮细胞损伤后血管渗出增加, 组织水肿, 影响氧从血红蛋白向组织扩散, 造成组织低氧, 加重组织损伤。在本研究实验中, 无论肠的损伤还是远端器官肝、肺的损伤, 均伴有 PMN 浸润的增加, 提示 PMN 在肠 IRI 致组织损伤中的作用。肠 IRI 可直接活化 PMN 导致其粘附能力的提高, 这一作用的确切机制尚不清楚。磷脂酶 A2 及补体的激活可能在 PMN 活化<sup>[2,6]</sup>。

作为一种保护性细胞因子, 血管活性肠肽 (VIP) 在肠缺血-再灌注中起保护作用。VIP 能够调节蛋白聚糖的代谢和促进胶原、氨基聚糖的合成, 在人类肠黏膜细胞中能够增加 MMPs 组织抑制因子 TIMP<sub>1</sub> 的表达,

是肠黏膜细胞中 MMPs 的负向因子和 TIMP<sub>1</sub> 的调节剂, 并且 VIP 能拮抗 TNF-α, 起到下调 MMPs 的作用。同时, VIP 还能抑制内源性激活剂血纤维蛋白溶酶激活剂的分泌, 阻碍 MMPs 的活化, 并促进血纤维蛋白溶酶激活物抑制物的合成, 以此降低 MMPs 的激活速度。本研究结果显示, 实验组大鼠肠黏膜 VIP 表达较对照组和正常组增高, 但是 VIP 增高没有 TNF-α 显著。也就是说 TNF-α 和 VIP 的比例失调, 最终可导致 MMP<sub>13</sub> 的高表达, 使肠黏膜受损, 通透性增加, 肠屏障受损。己酮可可碱原用于治疗血栓性疾病, 因其有改善红细胞变形能力的作用。近年来的研究发现<sup>[3]</sup>, PTX 尚具有改善白细胞变形能力, 抑制白细胞表面粘附分子表达上调的作用, 因此可以降低炎症时白细胞在组织中的聚集。PTX 还可抑制白细胞的呼吸爆发和脱颗粒, 从而降低对组织的损伤。在本实验中, PTX 在刚刚开始再灌注时给药, 尽量模拟临床情况, 发现仍对器官损伤有明显的保护作用。而且, PTX 可显著减少 PMN 在肠及远端器官肝、肺中的聚集。结合以前的研究结果<sup>[3]</sup>, 可以认为 PTX 对器官损伤的保护作用是通过减少 PMN 在组织中的聚集来实现。

[DOI] 10.3870/yydb.2009.01.009

#### [参考文献]

- [1] MACFIE J, O'BOYLE C, MITCHELL C J, et al. Gut origin of sepsis: a prospective study investigating associations between bacterial translocation, gastric microflora, and septic morbidity [J]. *Gut*, 1999, 45(2): 223-228.
- [2] 刘海光, 杜丹, 伦明辉, 等. 缺血-再灌注损伤降低肠黏膜屏障功能的初步研究 [J]. *大连医科大学学报*, 2004, 26(1): 17-19.
- [3] 何新华, 李春盛, 桂陪春, 等. 己酮可可碱保护内毒素诱导急性肺损伤的实验研究 [J]. *中国急救医学*, 2000, 20(10): 573-575.
- [4] CHIU C J, MCARDLE A H, BROWN R, et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states [J]. *Arch Surg*, 1970, 101(3): 478-481.
- [5] KRAWISZ J E, SHARON P, STENSON W F. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity [J]. *Gastroenterology*, 1984, 87(10): 1344-1350.
- [6] BAUER T T, MONTON C, TORRES A, et al. Comparison of systemic cytokine levels in patients with acute respiratory distress syndrome, severe pneumonia, and controls [J]. *Thorax*, 2000, 55(1): 46-52.