

右美托咪定对脂多糖致急性肺损伤小鼠 p38MAPK-HSP27 通路炎症反应的影响

康 芦¹, 王德明^{2*}

(1. 湖南医药学院第一附属医院麻醉科, 湖南 怀化 410021; 2. 南华大学附属第二医院麻醉科, 湖南 衡阳 421001)

摘要:目的 探讨右美托咪定对脂多糖致急性肺损伤 (ALI) 小鼠 p38 分裂原激活蛋白激酶 (p38MAPK) - 热休克蛋白 27 (HSP27) 通路炎症反应的影响, 探究右美托咪定治疗 ALI 的作用机制。**方法** 选取 30 只 BALB/cJ 小鼠, 按随机数字表法分为空白对照组 (10 只); 剩余 20 只小鼠建立脂多糖致 ALI 小鼠动物模型, 建模成功后随机分为模型对照组和右美托咪定组, 各 10 只。空白对照组与模型对照组小鼠给予常规生理盐水干预, 右美托咪定组采用右美托咪定干预, 干预 24 h 后评估 3 组小鼠的炎症因子、肺损伤指标及 p38MAPK-HSP27 通路蛋白表达情况; 苏木精-伊红 (HE) 染色评估 3 组小鼠肺组织病理损伤。**结果** 右美托咪定组小鼠肺损伤评分、肺湿重/干重 (W/D) 及血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6 (IL-6)、白介素-1 β (IL-1 β) 水平均高于空白对照组, 但右美托咪定组低于模型对照组; 右美托咪定组小鼠肺组织中 p38MAPK、HSP27 蛋白表达量均高于空白对照组, 但右美托咪定组低于模型对照组 (均 $P < 0.05$)。**结论** 右美托咪定用于脂多糖致 ALI 小鼠中可通过抑制 p38MAPK-HSP27 通路, 减少小鼠体内炎症因子产生, 减轻肺损伤。

关键词: 急性肺损伤; 脂多糖; 右美托咪定; p38 分裂原激活蛋白激酶; 热休克蛋白 27; 炎症反应

中图分类号: R563.9

文献标识码: A

文章编号: 2096-3718.2021.14.0042.03

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 是由各种直接、间接致伤因素导致的肺泡上皮细胞与毛细血管内皮细胞的损伤, 而引起弥漫性肺间质水肿、肺泡水肿等损害肺功能的症状, 最终可造成急性低氧性呼吸功能不全。有研究表明, ALI 的发病机制复杂, 主要归因于过度的炎症反应引起的肺组织破坏, 而肺泡血管内皮细胞与肺成纤维细胞可合成 p38 分裂原激活蛋白激酶 (p38MAPK), 从而激活热休克蛋白 27 (HSP27), 诱导炎症因子产生, 损害肺部组织, 且细胞因子相互介导的级联炎症反应能加重肺组织损伤^[1-2]。右美托咪定属于一种高选择性肾上腺素受体激动剂, 具有镇静、镇痛、催眠及抑制交感神经活性等作用^[3]。为探究右美托咪定治疗 ALI 的作用机制, 本研究将 BALB/cJ 小鼠作为试验对象, 旨在探讨右美托咪定对脂多糖致 ALI 小鼠 p38 分裂原激活蛋白激酶 (p38MAPK) - 热休克蛋白 27 (HSP27) 通路炎症反应的影响, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 BALB/cJ 小鼠, 均为雌性, 体质量 14~16 g, 平均 (15.11 \pm 0.07) g; 所选动物均由南华大学提供, 动物合格证号: SYXK (湘) 2020-0002。本实验方案已经湖南医药学院第一附属医院实验动物伦理委员会批准。

1.1.2 仪器与设备 脂多糖 (美国 Sigma-Aldrich 公司); 盐酸右美托咪定注射液 (江苏恒瑞医药股份有限公司, 国药准字 H20090248, 规格: 2 mL : 200 μ g); 酶联免疫试剂盒 (Beyotime Biotechnology Co., LTD, 中国); BCA 蛋白定量试剂盒 (美国 Thermo Fisher 公司); 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔抗体 (北京华夏远泽科技有限公司); ELC 化学法显色系统 (美国 Thermo Fisher 公司); 蛋白电泳仪、转膜槽、蛋白电泳槽 (美国 Bio-Rad 公司) 等。

1.2 方法 选取 30 只 BALB/cJ 小鼠为试验对象, 随机取 10 只小鼠作为空白对照组; 剩余 20 只小鼠建立脂多糖致 ALI 小鼠动物模型, 建模前常规禁食 12 h, 并于腹腔内注射脂多糖 5 mg/kg, 连续注射 3 d, 若小鼠出现呼吸急促、抱团取暖、口唇发绀或抓取时无力反抗状态时则表明建模成功^[4]。将建模成功后的鼠随机分为两组, 模型对照组和右美托咪定组, 各 10 只。空白对照组与模型对照组小鼠均腹腔注射 0.9% 的氯化钠溶液 (0.1 mL) 干预, 而右美托咪定组小鼠于注射 LPS 前 30 min 腹腔注射右美托咪定 0.1 mL。24 h 后评估各组干预效果。

1.3 观察指标 ①对比 3 组小鼠干预后 24 h 的炎症因子水平。3 组小鼠均于干预后 24 h 以颈椎脱臼法处死, 取尾静脉血 3 mL, 以 3 000 r/min 的转速离心 10 min 分离血清, 后放置在 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中备用, 采用酶联免疫吸附法测定 3 组小鼠的肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6

作者简介: 康芦, 大学本科, 主治医师, 研究方向: 围术期肺保护。

通信作者: 王德明, 博士研究生, 主任医师, 研究方向: 围术期肺保护。E-mail: wh579678@163.com

(IL-6)、白介素-1 β (IL-1 β)水平。②干预后 24 h 进行肺组织苏木精-伊红(HE)染色^[5]。小鼠处死后取肺部组织,放置在浓度为 4% 多聚甲醛中,固定病灶组织,常规石蜡包埋,后制备 4 μ m 切片,并完成 HE 染色,于光学倒置显微镜下观察小鼠肺部组织变化情况,每只小鼠取切片 5 张,每张切片观察 5 个不同的视野;③对比 3 组小鼠干预后 24 h 肺损伤指标,根据小鼠 HE 染色,观察小鼠肺组织并进行肺损伤评分^[6],分值为 0~16 分,分数越高,肺部损伤越重,并取右肺上叶组织,分别称量其湿重与干重,其中左肺上叶清洗后称重为湿重,然后将其置于 80℃ 的烤箱,烘烤 48 h 后测量干重,计算湿重与干重的比值。④对比 3 组小鼠干预后 24 h 的 p38MAPK-HSP27 通路蛋白表达情况。取 3 组小鼠部分左肺部组织,加入细胞裂解液后匀浆 30 min,离心 15 min 后,提取肺部蛋白,利用蛋白质印迹法(Western blotting)^[7]检测 p38MAPK、HSP27 蛋白表达情况,采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度,取蛋白上样品 50 μ g,加入样缓冲液,进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,取 200 mA 凝胶稳流转移至聚偏二氟乙烯膜上后,采用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 缓冲液完成 2 h 封闭,洗膜后加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔抗体,室温孵育 1 h。TBST 洗膜后,加入 ECL 发光液,采用凝胶成像系统报告。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 24.0 统计软件处理数据,计量资料使用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;多组间计量资料比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 炎症因子 右美托咪定组和模型对照组小鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均高于空白对照组,但右美托咪定组低于模型对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 1。

表 1 3 组小鼠炎症因子比较($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	例数	TNF- α	IL-6	IL-1 β
空白对照组	10	84.34 \pm 12.13	33.27 \pm 4.34	58.32 \pm 6.41
模型对照组	10	326.98 \pm 43.25*	174.34 \pm 14.98*	203.59 \pm 15.39*
右美托咪定组	10	123.23 \pm 24.29**	102.15 \pm 10.29**	132.53 \pm 10.63**
F 值		195.384	427.598	404.925
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

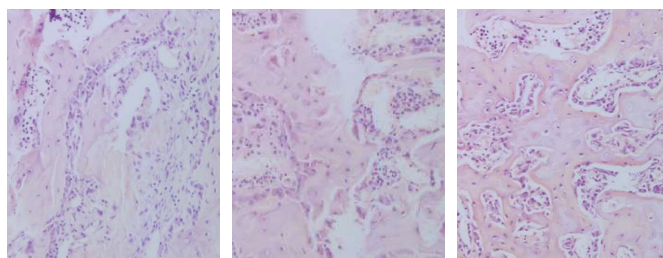
注:与空白对照组比,* $P < 0.05$;与模型对照组比,** $P < 0.05$ 。

TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; IL-6: 白介素-6; IL-1 β : 白介素-1 β 。

2.2 HE 染色 HE 染色结果显示,空白对照组肺组织变化不明显,且结构完整,肺泡腔清晰,未见炎症细胞浸润;模型对照组肺泡结构破坏严重,大量炎症细胞浸润;右美托咪定组显示肺泡结构破坏与出血程度较轻,见图 1。

2.3 肺损伤指标 右美托咪定组和模型对照组小鼠肺损伤评分、W/D 水平均高于空白对照组,但右美托咪定组低于

模型对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 2。



A: 空白对照组 B: 模型对照组 C: 右美托咪定组

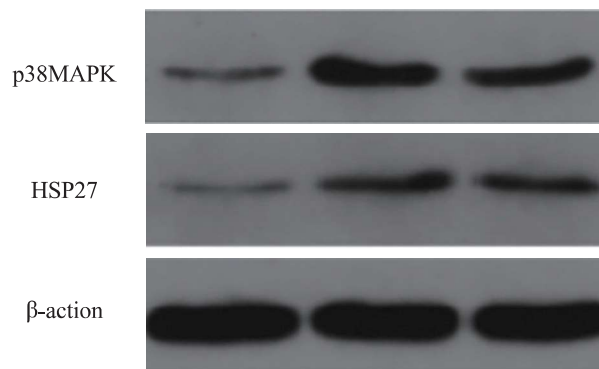
图 1 HE 染色结果($\times 100$)

表 2 3 组小鼠肺损伤指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	肺损伤评分(分)	W/D
空白对照组	10	1.91 \pm 0.32	3.28 \pm 0.43
模型对照组	10	9.30 \pm 0.83*	7.22 \pm 0.81*
右美托咪定组	10	4.61 \pm 0.49**	4.97 \pm 0.73**
F 值		406.720	85.313
P 值		<0.05	<0.05

注:与空白对照组比,* $P < 0.05$;与模型对照组比,** $P < 0.05$ 。W/D: 湿重与干重比。

2.4 p38MAPK-HSP27 通路蛋白表达情况 Western blotting 法结果显示,模型对照组与右美托咪定组小鼠肺组织中 p38MAPK、HSP27 蛋白含量均高于空白对照组,但右美托咪定组低于模型对照组,见图 2。



A: 空白对照组 B: 模型对照组 C: 右美托咪定组

图 2 p38MAPK-HSP27 通路蛋白表达情况

3 讨论

ALI 是临床常见的急危重症,与中性粒细胞的广泛浸润、炎症细胞的过度激活、促炎介质的过量产生有关,患者主要特征有急性肺心源性肺水肿、顽固性低氧血症等,其临床致死率较高,因此,寻求规范化、创新性药物是进一步改善 ALI 患者预后的重点。

右美托咪定是一种有效的 α_2 肾上腺素受体激动剂,其具有高亲和力、半衰期较短的特点,具有一定的选择性,可发挥抗焦虑、镇静、镇痛及神经保护作用,进而稳定血流动力学,缓解气管插管及手术应激反应,是临床重病监护治疗的常用药物^[8]。血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 是临床

锁定解剖钢板内固定术对复杂胫骨平台骨折患者炎症因子水平的影响

徐 林

(涟水县中医院骨科, 江苏 淮安 223400)

摘要: **目的** 探讨复杂胫骨平台骨折患者应用锁定解剖钢板内固定术治疗对其炎症因子水平的影响。**方法** 回顾性分析涟水县中医院2018年6月至2020年6月收治的50例复杂胫骨平台骨折患者的临床资料,按照手术方式的不同分为A组(23例)和B组(27例)。A组患者采用普通解剖钢板内固定术治疗,B组患者采用锁定解剖钢板内固定术治疗,两组患者均于术后随访3个月。比较两组患者术后3个月临床疗效,康复相关指标,术前、术后7d炎症因子水平。**结果** 术后3个月B组患者总优良率高于A组;B组患者住院时间、负重时间、骨折愈合时间均短于对照组,并发症总发生率低于对照组;与术前比,术后7d两组患者血清C-反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平均上升,但B组低于A组(均 $P<0.05$)。**结论** 对复杂胫骨平台骨折患者采用锁定解剖钢板内固定术治疗效果显著,患者术后恢复迅速且并发症发生率低,同时可减轻机体炎症反应,疗效显著优于普通解剖钢板内固定术。

关键词: 复杂胫骨平台骨折;锁定解剖钢板内固定术;炎症因子;愈合

中图分类号: R683.42

文献标识码: A

文章编号: 2096-3718.2021.14.0044.03

作者简介: 徐林,大学本科,副主任医师,研究方向:创伤骨科。

常见的炎症因子,其可通过HSP27通路活化而被诱导产生,从而介导ALI的发生。本研究通过对右美托咪定组小鼠进行右美托咪定干预,并对3组小鼠肺部进行HE染色,结果显示,右美托咪定组小鼠肺损伤评分、W/D及血清TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均低于模型对照组,但高于空白对照组;HE染色显示,空白对照组小鼠肺组织变化不明显,并具有完整结构,肺泡腔清晰,未见炎症细胞浸润变化;模型对照组小鼠肺泡结构破坏严重,大量炎症细胞浸润;右美托咪定组小鼠肺泡结构破坏与出血程度较轻,提示将右美托咪定用于脂多糖致ALI小鼠中可减轻小鼠机体的炎症反应,从而减轻肺泡结构的损害,保护肺功能。

研究表明,p-p38MAPK含量可随ALI炎症反应程度加重而逐渐增加;而MAPK是细胞内重要的信号系统,能调控细胞增生、分化、凋亡及基因表达,当p38MAPK磷酸化后,可调节下游的HSP27表达,进而加重ALI^[9]。本研究通过Western blotting检测显示,模型对照组与右美托咪定组小鼠肺组织中p38MAPK、HSP27蛋白含量均高于空白对照组,但右美托咪定组低于模型对照组,提示右美托咪定能抑制脂多糖致ALI小鼠肺组织p38MAPK-HSP27通路蛋白表达,继而抑制机体炎症反应,达到治疗ALI的目的,可为ALI患者的临床治疗提供新的思路。

综上,右美托咪定用于脂多糖致ALI小鼠中可减轻小鼠机体的炎症反应,抑制p38MAPK-HSP27通路活化,保护肺功能,为ALI的临床治疗提供新思路,值得临床进一步研究。

参考文献

- [1] 热依拉·牙合甫,宫蕊,谢姆孜牙·买买提热夏提,等.大鼠急性肺损伤中炎症因子的表达及病理损伤变化[J].河北医药,2019,41(14):2100-2103,2108.
- [2] 杜娟,陈民佳,文大林,等.大鼠急性肺损伤的肺功能及病理变化特点[J].中华创伤杂志,2018,34(8):748.
- [3] 姜远旭,夏明珠,黄强,等.右美托咪定对脂多糖诱导急性肺损伤大鼠肺泡液体清除的影响[J].国际麻醉学与复苏杂志,2018,39(5):400-404,413.
- [4] 赵诗雯,张宗泽.右美托咪定预处理抑制NLRP3炎症体活性减轻脂多糖诱导的大鼠急性肺损伤[J].武汉大学学报(医学版),2020,41(4):578-582.
- [5] 徐冲敏,宁倩明,叶湛青.右美托咪定在脂多糖诱导急性肺损伤小鼠中对JAK2/STAT3通路影响及意义分析[J].北方药学,2016,13(6):131-132.
- [6] 李霞,王姣.右美托咪啉对脂多糖所致急性肺损伤小鼠的保护作用[J].中国医师杂志,2018,20(9):1352-1354.
- [7] 赵义,彭祖菊,龙明锦,等.右美托咪定抑制脂多糖诱导N9小胶质细胞的炎症因子及凋亡[J].中国煤炭工业医学杂志,2019,22(6):635-639.
- [8] 邴海龙,张希晓,王鹏飞,等.右美托咪定通过c-Fos/NLRP3/caspase-1级联抑制LPS诱发的小胶质细胞炎症反应[J].临床麻醉学杂志,2019,35(8):798-802.
- [9] 阳凤,尹德锋,刘济滔,等.P38MAPK信号通路在大鼠脓毒症致急性肺损伤中的作用及机制研究[J].四川医学,2020,41(4):361-365.