

地佐辛后处理对大鼠肠缺血再灌注致急性肺损伤的影响

李娟, 蔡垣星, 王彬*

(煤炭总医院麻醉科, 北京 100028)

【摘要】 目的 探讨地佐辛后处理对大鼠肠缺血再灌注所致急性肺损伤的影响以及可能的机制。**方法** 选取健康成年雄性 SD 大鼠 32 只, 采用随机数字表法分为 4 组: CON 组为假手术组; II/R 组制备肠缺血再灌注模型; Dez 组于缺血 1 h 经股静脉注射地佐辛 3 mg 0.6 mL, 再灌注 1 h; 5-HD 组于缺血前 30 min 腹腔注射 5-羟基羧酸钠 10 mg/kg, 随后制备肠缺血再灌注模型, 后续处理同 Dez 组。再灌注 1 h 即刻, 取部分肠组织, 观察肠粘膜形态并进行肠粘膜损伤评分; 取左肺组织, 观察肺组织形态并进行肺损伤评分; 取右肺组织测定丙二醛 MDA 的含量、超氧化物歧化酶 SOD 活性及髓过氧化物酶 MPO 的活性, 取动脉血检测血清中 TNF- α 和 IL-6 的水平。**结果** 地佐辛后处理能减轻肠缺血再灌注引起的远隔脏器肺的损伤, 降低肠粘膜损伤评分、肺损伤评分, 使肺组织丙二醛 MDA 的含量降低, 超氧化物歧化酶 SOD 活性上升, 髓过氧化物酶 MPO 的活性下降, 血清 TNF- α 和 IL-6 的浓度明显下降。使用线粒体 ATP 敏感钾通道抑制剂 5-羟基羧酸钠处理后可以减弱地佐辛对肺损伤的保护效应。**结论** 地佐辛后处理可改善大鼠肠缺血再灌注对远隔脏器肺的损害, 激活线粒体 ATP 敏感钾通道可能是保护机制之一。

【关键词】 地佐辛; 缺血再灌注; 肠; 急性肺损伤; 线粒体 ATP 敏感钾通道; 氧化应激

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016)07-0048-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2016.07.008

Effect of dezocine post conditioning on acute lung injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats

LI Juan, CAI Yuan-xing, WANG Bin*

(Department of Anesthesiology, China Meitan General Hospital, Beijing 100028, China)

【Abstract】 Objective To explore dezocine post conditioning on acute lung injury induced by intestinal ischemia and reperfusion induced in rats. **Methods** According to the random number seed, the healthy male SD rats were randomly divided into 4 groups: Rats in Control group (CON group) were subjected to separate the superior mesenteric artery without being obstructed. Rats in intestinal ischemia-reperfusion group (II/R group) were set intestinal ischemia-reperfusion model and administered saline 0.6 mL intravenously after occlusion. In dezocine post conditioning group (Dez group) rats were administered dezocine 0.6 mL 3 mg intravenously after occlusion. In 5-hydroxydecanoate sodium group (5-HD group) rats were administered 5-hydroxydecanoate sodium (10 mg/kg) by peritoneal injection 30min before occlusion then operated as group Dez. The animals were killed at 1 h of reperfusion with the intestinal tissue removed to calculate the index of quantitative assessment of intestinal mucous membrane injury. Tissues of left lung were obtained for observation of

[作者简介] 李娟(1985-)女, 硕士研究生, 研究方向: 麻醉与循环。Email: huoniaolijuan@sina.com。

[通讯作者] 王彬(1978-)女, 硕士研究生, 研究方向: 麻醉与免疫。Email: 13911836447@163.com。

histopathology with light microscope and the index of quantitative assessment of histologic lung injury was calculated. The concentrations of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) activation and myeloperoxidase level in each group were detected via tissues of left lung. The concentrations of TNF- α and IL-6 were also examined. **Results** Acute lung injury induced by intestinal ischemia and reperfusion induced in rats was improved by dezocine post conditioning. Chiu score, lung injury score, malondialdehyde (MDA) content, myeloperoxidase (MPO) level and the concentrations of TNF- α and IL-6 were descended while superoxide dismutase (SOD) activation was rised. The protective effects of dezocine post conditioning were attenuated by injecting 5-hydroxydecanoate sodium via peritoneal cavity which was a selective mitochondrial ATP-sensitive potassium channel antagonist. **Conclusions** Dezocine post-conditioning protects against lung injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats. One of the protective effects may be related to opening mitochondrial ATP-sensitive potassium channel.

[Key words] Dezocine; Ischemic preconditioning; Intestines; Acute reperfusion injury; Mitochondrial ATP-sensitive potassium channel; Oxidative stress

前期实验研究证明^[1], 肠缺血再灌注确实可以导致远隔脏器肺的损伤。舒芬太尼预处理可减轻肺损伤, 并且 κ 受体参与了舒芬太尼预处理的保护作用。根据文献^[2]报道, 远隔脏器肺损伤发生较早, 主要表现在肺微血管内皮细胞通透性增高以及肺泡巨噬细胞浸润这两方面。近年来地佐辛作为强效镇痛剂广泛应用于临床, 通过激动 κ 受体产生与吗啡相似的镇痛作用^[3]。临床试验证明, 通过激活 ATP 敏感钾通道抑制钙离子内流, 增强机体抗氧化能力抑制氧化应激反应, 预先给予地佐辛可对下肢缺血再灌注引起心肌损伤起到保护作用^[4]。动物实验研究也证实缺血后给予地佐辛可以减轻大鼠再灌注引起的脑组织损伤^[5]。而线粒体 ATP 敏感钾通道是组织缺血再灌注损伤保护效应中多种措施和药物作用的触发点。本研究旨在探讨地佐辛后处理能否对肠缺血再灌注模型所致的肺损伤有影响作用, 以及线粒体 ATP 敏感钾通道是否为地佐辛的作用靶点。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要药品及试剂

地佐辛(批号: 14082041, 扬子江药业, 中国); 丙二醛 MDA、超氧化物歧化酶 SOD 及髓过氧化物酶 MPO 测定试剂盒(北京中杉金桥生物科技有限公司); 免疫组化试剂盒和酶联免疫吸附试剂盒(南京建成生物研究所); 5-羟基萘酸钠(上海组培贸易有限公司)。

1.1.2 实验动物

实验动物由山西医科大学动物实验中心【SCXK(晋)2015-0001】提供, 动物使用许可证: 【SYXK(晋)2015-0004】, 所有动物试验通过了煤

炭总医院伦理委员会的批准(批件号: K14-27)。选取 SPF 级雄性 SD 大鼠(42~49 日龄)32 只, 体重(220~240)g。术前禁食 8 h, 不禁水。参照文献^[6]提供的实验步骤制备 II/R 模型。20% 乌拉坦 0.5 mL/100g 腹腔注射麻醉大鼠, 规范消毒, 取腹正中切口, 待分离出肠系膜上动脉后用微创动脉夹夹闭, 关腹。缺血 1 h 后再次开腹, 松开动脉夹, 恢复血供 1 h。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组与处理

采用随机数字表法, 将 32 只大鼠随机分为: 对照组(CON 组)、肠缺血再灌注组(II/R 组)、地佐辛后处理组(Dez 组)、和 5-羟基萘酸钠组(5-HD 组), 共 4 组, 每组 8 只。CON 组分离出 SMA 不用动脉夹夹闭; II/R 组制备肠缺血再灌注模型, 缺血 1 h 经股静脉注射生理盐水 0.6 mL 后再灌注 1 h; Dez 组于缺血 1 h 经股静脉注射地佐辛 3 mg 0.6 mL, 再灌注 1 h; 5-HD 组于制备模型前 30 min 经腹腔注射 5-HD 10 mg/kg, 后续处理同 Dez 组。

1.2.2 肠黏膜损伤评分

再灌注 1 h 即刻处死大鼠, 取大鼠肠组织, 常规石蜡切片, HE 染色, 采取改良 Chiu 评分法^[7]在光镜下观察组织形态学改变评价肠黏膜损伤程度。

1.2.3 肺组织损伤评分

取左肺组织, 切片, HE 染色, 光镜下每张切片分为 9 个视野, 随机选择 3 个视野, 按照文献^[8], 通过累加各指标相应分数计算肺组织学损伤评分。

1.2.4 肺组织丙二醛 malondialdehyde (MDA) 含量及超氧化物歧化酶 superoxide dismutase (SOD) 及髓过氧化物酶 myeloperoxidase (MPO) 活性的检测

取 100 mg 左肺组织制备匀浆, 严格按试剂盒(北京中杉金桥生物科技有限公司)说明书测定。

1.2.5 血浆肿瘤坏死因子 α (turnor necrosis factor- α , TNF- α) 及白细胞介素-6 (interleukin-6) 水平的检测

处死前采集大鼠动脉血按照酶联免疫吸附法试剂盒(南京建成生物研究所)操作说明测定。

1.3 统计学处理

应用 SPSS16.0 进行数据分析,实验数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。方差齐性组间比较采用单因素方差分析;方差不齐进行 Kruskal-Wallis 秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

与 CON 组比较,II/R 组、Dez 组、5-HD 组三组肠黏膜损伤评分、肺损伤评分明显升高 ($P < 0.05$);与 II/R 组比较,Dez 组肠黏膜损伤评分、肺损伤评分降低, ($P < 0.05$);与 Dez 组比较,5-HD 组肠黏膜损伤评分、肺损伤评分升高 ($P < 0.05$),但与 II/R 组比较,肠黏膜损伤评分、肺损伤评分降低 ($P < 0.05$) (表 1 所示)。各组肠黏膜和肺组织光镜图片见图 1、图 2。

与 CON 组比较,II/R 组、Dez 组、5-HD 组三组肺组织 MDA 的含量升高,SOD 活性下降,MPO 的活性升高,血清 TNF- α 和 IL-6 的浓度明显升高 ($P <$

0.05);与 II/R 组比较,Dez 组肺组织 MDA 的含量降低,SOD 活性上升,MPO 的活性下降,血清 TNF- α 和 IL-6 的浓度明显下降 ($P < 0.05$);与 Dez 组比较,5-HD 组肺组织 MDA 的含量升高,SOD 活性下降,MPO 的活性升高,血清 TNF- α 和 IL-6 的浓度明显升高 ($P < 0.05$),但与 II/R 组比较,肺组织 MDA 的含量降低,SOD 活性下降,MPO 的活性下降,血清 TNF- α 和 IL-6 的浓度下降 ($P < 0.05$) (表 2 所示)。

3 讨论

本研究以及前期研究^[1]均按照文献^[6]提供的步骤制备大鼠肠缺血再灌注的模型,实验表明,II/R 组的肠黏膜损伤评分、肺损伤评分均较 CON 组增高,提示肠缺血再灌注确实诱发了急性肺损伤。前期实验研究证明^[1],舒芬太尼预处理可通过激动 μ 、 δ 和 κ 三种阿片受体来减轻大鼠肠缺血再灌注引起的急性肺损伤。本研究中使用的地佐辛是阿片受体部分激动拮抗剂,既可以激动 κ 受体也是 μ 受体的拮抗剂,其镇痛效果强成瘾性小,广泛应用于术前、术中和术后的镇痛,尤其是术后痛、内脏及癌性疼痛。

与 II/R 组比较,Dez 组肠黏膜损伤评分、肺损伤评分降低,研究结果提示地佐辛后处理可以减轻大鼠肠缺血再灌注所致的急性肺损伤。Dez 组肺组

表 1 四组大鼠肠黏膜损伤评分、肺损伤评分比较
Tab.1 Chiu score and lung injure score of four groups

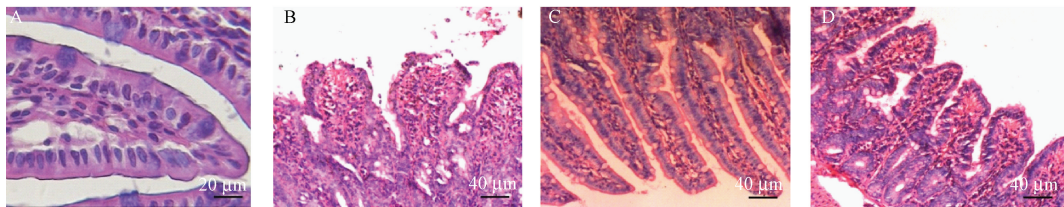
组别 group	CON 组 CON group	II/R 组 II/R group	Dez 组 Dez group	5-HD 组 5-HD group
肠黏膜损伤评分(分) Chiu score	0	8.16 $\pm$ 1.31 ^a	2.93 $\pm$ 1.06 ^b	5.81 $\pm$ 1.07 ^{bc}
肺损伤评分(分) Lung injure score	1.2 $\pm$ 0.3	17.2 $\pm$ 0.4 ^a	10.4 $\pm$ 0.3 ^b	12.5 $\pm$ 0.4 ^{bc}

注:与 CON 组比较,^a $P < 0.05$;与 II/R 组比较,^b $P < 0.05$;与 Dez 组比较,^c $P < 0.05$ 。
Note. ^a $P < 0.05$, compared with the group CON; ^b $P < 0.05$, compared with the group II/R; ^c $P < 0.05$, compared with the group Dez.

表 2 四组大鼠肺组织 MDA 含量、SOD 活性、MPO 活性、血清 TNF- α 和 IL-6 浓度的比较
Tab.2 Malondialdehyde (MDA) content, myeloperoxidase(MPO) level and the concentrations of TNF-a and IL-6 of four groups

组别 group	MDA ($\mu\text{mol/g}$)	SOD ($10^3 \mu\text{g}$)	MPO ($10^3 \mu\text{g}$)	TNF- α (ng/L)	IL-6 (ng/L)
CON 组 CON group	52.17 $\pm$ 4.81	145.92 $\pm$ 0.04	4.33 $\pm$ 0.05	0.87 $\pm$ 0.02	19.40 $\pm$ 5.16
II/R 组 II/R group	73.65 $\pm$ 3.21 ^a	75.13 $\pm$ 0.38 ^a	11.09 $\pm$ 0.27 ^a	2.13 $\pm$ 0.19 ^a	63.23 $\pm$ 4.31 ^a
Dez 组 Dez group	61.33 $\pm$ 1.54 ^{ab}	99.80 $\pm$ 0.16 ^{ab}	6.97 $\pm$ 0.39 ^{ab}	1.15 $\pm$ 0.06 ^{ab}	25.6 $\pm$ 3.81 ^{ab}
5-HD 组 5-HD group	70.26 $\pm$ 1.80 ^{abc}	62.43 $\pm$ 0.90 ^{abc}	9.01 $\pm$ 0.75 ^{abc}	1.94 $\pm$ 0.22 ^{abc}	32.4 $\pm$ 4.79 ^{abc}

注:与 CON 组比较,^a $P < 0.05$;与 II/R 组比较,^b $P < 0.05$;与 Dez 组比较,^c $P < 0.05$ 。
Note. ^a $P < 0.05$, compared with the group CON; ^b $P < 0.05$, compared with the group II/R; ^c $P < 0.05$, compared with the group Dez.

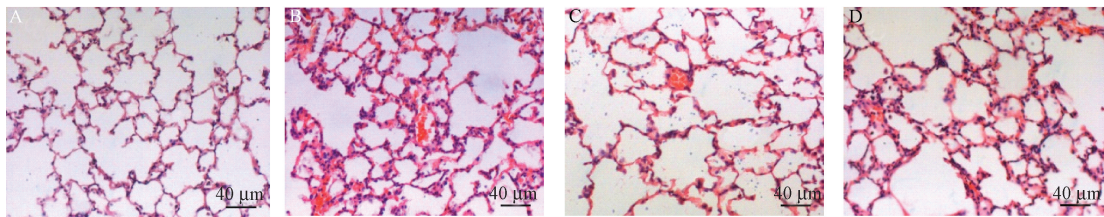


注:A 为 CON 组; B 为 II/R 组; C 为 Dez 组,肠 HE; D 为 5-HD 组
(A: ×40, bar = 20 μm; B、C、D: ×20, bar = 40 μm)。

图 1 各组大鼠肠黏膜组织病理变化情况

Note. (A) CON group; (B) II/R group; (C) Dez group; (D) 5-HD group.

Fig. 1 Pathological changes of the intestinal tissue in four groups



注:A 为 CON 组; B 为 II/R 组; C 为 Dez 组; D 为 5-HD 组。

图 2 各组大鼠肺组织病理变化情况(×20, bar = 40 μm)

Note. (A) CON group; (B) II/R group; (C) Dez group; (D) 5-HD group.

Fig. 2 Pathological changes of the lung tissue in four groups

织 MDA 的含量降低, SOD 活性上升, MPO 的活性下降, 血清 TNF- α 和 IL-6 的浓度明显下降, 提示地佐辛后处理的保护机制可能是通过减少氧自由基生成、抑制炎性介质的释放和减少中性粒细胞的聚集发挥作用。与 Dez 组比较, 给予线粒体 ATP 敏感钾通道抑制剂 5-羟基癸酸钠后, 地佐辛后处理的保护作用减弱, 提示地佐辛后处理的保护作用与激活线粒体 ATP 敏感钾通道有关。实验表明 5-羟基癸酸钠并没有完全逆转只是减弱了地佐辛后处理的保护作用, 提示激活线粒体 ATP 敏感钾通道只是地佐辛作用机制之一。

综上所述, 缺血后静脉给予地佐辛对大鼠肠缺血再灌注引起急性肺损伤有保护效应, 线粒体 ATP 敏感性钾通道可能是其作用位点之一。

参考文献:

[1] 李娟, 曹定睿, 张劲, 等. 舒芬太尼预处理对大鼠肠缺血再灌注致急性肺损伤的影响及阿片受体在其中的作用[J]. 中华麻醉学杂志, 2012, 32 (2) : 235 - 236
[2] Moraes L B, Mu rakami A H, Fontes B, *et al.* Gut ischemia /

reperfusion induced acute lung injury is an alveolar macrophage dependent event[J]. Trauma, 2008, 64 (5) : 1196 - 1200
[3] 张涛, 艾玲, 刘志恒, 等. 地佐辛静脉镇痛对肺叶切除术后 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞的影响[J]. 中国医师进修杂志, 2015, 8: 562 - 563
[4] 王贤东, 刘若兵, 康宏霞. 地佐辛与给药对下肢缺血再灌注诱发心肌损伤的保护作用[J]. 甘肃医药, 2014, 33 (9) : 651 - 653
[5] 孙岳枫, 李波, 吕国义. 地佐辛后处理对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 中风与神经疾病杂志, 2015, 2 (32) : 133 - 134
[6] Koike K, Moore FA, Moore EE, *et al.* Endotoxin after gut ischemia/reperfusion causes irreversible lung injury [J]. Surg Res, 1992, 52: 656 - 662.
[7] Liu KX, Rinne T, He W, *et al.* Propofol attenuates intestinal mucosa injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in the rat [J]. Can Anesth , 2007 , 54 , 366 - 374.
[8] Pirat A, Zeyneloglu P, Aldenir D, *et al.* Pretreatment with simvastatin reduces lung injury related to intestinal ischemia-reperfusion in rats [J]. Anesth Analg, 2006, 102: 225 - 232.

[修回日期] 2016-01-06