

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.22.030

苦豆子总生物碱对溃疡性结肠炎大鼠中 HSP70 的影响^{*}李 华¹, 骆文婷¹, 陈泽伟¹, 郑慰武², 谢文源², 龙亚秋², 邓虹珠^{1△}

(1. 南方医科大学南方医院药学部, 广州 510515; 2. 广东省中医院急诊科, 广州 510120)

摘 要:目的 观察苦豆子总生物碱对溃疡性结肠炎(UC)大鼠中 HSP70 的影响。方法 选取 55 只大鼠平均分成 5 组, 即空白对照组、模型组、SASP 组、苦豆子碱高剂量组、苦豆子碱低剂量组, 除空白对照组外, 其余各组采用 TNBS 复制 UC 大鼠模型, 模型复制的同时给予 SASP 或苦豆子碱治疗, 3 周后观察粪便隐血、DAI、HSP70 等。结果 与空白对照组比较, 模型组 HSP70 下降, 治疗组 HSP70 升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 苦豆子碱可能通过提高保护性蛋白水平, 维持促炎因子与抗炎因子处于平衡状态, 从而调节肠道局部免疫应答和缓解炎症程度。

关键词:苦豆子总生物碱; 热休克蛋白; 溃疡性结肠炎**中图法分类号:**R674.42**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2018)22-3428-03

溃疡性结肠炎(UC)为慢性非特异性自身免疫性疾病, 是一种发生于结肠部位的慢性溃疡性病变, 与遗传、免疫、感染、环境等多种因素有关, 以腹泻、黏液、脓血便、腹痛和里急后重等为主要症状。流行病学表明, 我国 UC 年患病率为 11.6/10 万^[1]。近年来随着人们生活水平的提高, 饮食结构、生活习惯的改变, 环境的变化, 该病在我国的发病率有逐年增高。由于 UC 病程长, 病变范围广, 患者生活质量严重受限, 且有 5%~10% 的 UC 患者易发生癌变, 临床上至今尚无特异性根治措施, 被 WHO 列为现代难治病之一。因该病西药治疗不良反应多或价格昂贵, 患者不易坚持长期用药, 且复发率较高, 而中医疗法不良反应较小, 具有简捷、长效、价廉、安全的特点, 显示出独特优势, 具有广阔的应用前景^[2]。

据笔者前期研究, 苦豆子总生物碱(TASA)能改善三硝基苯磺酸(TNBS)致 UC 的动物模型的结肠炎性反应^[3-6]。本研究采用 TNBS 诱导的 UC 大鼠, 随机分组、造模处理, 从热休克蛋白 70(HSP70)探讨 TASA 对 TNBS 诱导的 UC 的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 选取 SPF 级 SD 大鼠 55 只, 雄性, 购自南方医科大学实验动物中心, 饲养于南方医科大学南方医院药学部动物所。将大鼠分为 5 组, 每组 11 只: 即空白对照组(A 组)、模型组(B 组)、柳氮磺吡啶(SASP)组(C 组)、TASA 高剂量组(D 组), TASA 低剂量组(E 组), B 组、C 组、D 组、E 组采用 TNBS 复制 UC 大鼠模型。

1.2 主要试剂 TNBS(批号 2016715)购自南方医科大学试剂中心, 0.80 mL TNBS+0.25 mL 50%乙醇备用造模。SASP(批号 151201)购自广东省中医

院; TASA(含槐定碱 25.17%)由广东医科大学药学院提供; 联苯胺(批号 060201)购自中国远航试剂厂; 过氧化氢(批号 151217)购自广东恒健制药有限公司; 冰醋酸(批号 20160423)购自南方医科大学试剂中心。

1.3 方法

1.3.1 模型复制及处理 采用 TNBS/乙醇法造模。造模前大鼠禁食 24 h(不禁水), 经 10 水合氯醛腹腔麻醉后, 将 TNBS/乙醇液(TNBS 100 mg/kg+50%乙醇 0.25 mL)用橡胶输液管由大鼠肛门轻缓注入深约 8 cm 肠腔内留置, 次日即出现症状, 大鼠懒动、厌食, 出现血便和体质量减轻等, 与临床症状极为相似, 空白对照组注入等量生理盐水。造模同时: C 组灌胃给予 SASP(400 mg/kg), D 组灌胃给予 TASA(60 mg/kg), E 组灌胃给予 TASA(15 mg/kg)。

1.3.2 观察指标 每天在给予处理前观察大鼠精神状态、毛发光泽、活动状态等变化并记录体质量变化、大便性状和便血情况(邻联苯胺法 FOB 试纸检测)。对后 3 项指标进行 DAI 评分。DAI=(体质量下降分数+大便性状分数+便血分数)/3。HSP70 检测: 处死动物, 腹主动脉采血, 1 500 r/min 离心 5 min 留血清, 酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血清 HSP70 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 One-Way ANOVA; 方差齐性时各组之间多重比较采用 LSD 检验; 方差不齐时采用近似方差分析 Welch 法, 各组之间多重比较采用 Dunnett t_3 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大便隐血评分比较 实验中期隐血评分:

* 基金项目: 广东省科技计划项目(2014A020212398)。

△ 通信作者, E-mail: longqiuxinxin@163.com。

与 A 组比较, B 组、C 组、D 组、E 组差异有统计学意义($P<0.05$); 实验后期隐血评分: 与 B 组比较, A 组、C 组、D 组、E 组差异有统计学意义($P<0.05$), 见表 1。

2.2 各组 DAI 评分比较 实验中期 DAI 评分: 与 A 组比较, B 组、D 组、E 组差异有统计学意义($P<0.05$); 与 B 组比较, A 组、C 组、D 组差异有统计

学意义($P<0.05$)。后期 DAI 评分: 与 B 组比较, A 组、C 组、D 组、E 组差异有统计学意义($P<0.05$), 见表 2。
2.3 各组 HSP70 水平比较 与 A 组比较, B 组、C 组、D 组、E 组差异有统计学意义($P<0.05$), 与 B 比较, A 组、C 组、D 组、E 组差异有统计学意义($P<0.05$), 见表 3。

表 1 大鼠大便隐血评分比较($\bar{x}\pm s$, 分)

时间	A 组	B 组	C 组	D 组	E 组
实验中期	0	1.67±0.50*	1.30±0.48*	1.30±0.48*	1.36±0.50*
实验后期	0 [△]	1.56±1.10	0.60±0.70 [△]	0.60±0.70 [△]	0.64±0.81 [△]

注: 与 A 组比较, * $P<0.05$; 与 B 组比较, [△] $P<0.05$

表 2 大鼠 DAI 评分比较($\bar{x}\pm s$, 分)

时间	A 组	B 组	C 组	D 组	E 组
实验中期	1.18±0.40 [△]	3.00±0.71*	1.70±0.95 [△]	2.40±0.52* [△]	2.45±0.52*
实验后期	1.09±0.30 [△]	2.44±0.53*	1.50±0.53 [△]	1.40±0.52 [△]	1.36±0.50 [△]

注: 与 A 组比较, * $P<0.05$; 与 B 组比较, [△] $P<0.05$

表 3 5 组大鼠 HSP70 水平比较($\bar{x}\pm s$, $\mu\text{g/L}$)

组别	A 组	B 组	C 组	D 组	E 组
HSP70	71.75±11.0 [△]	51.36±9.3*	103.07±16.6* [△]	98.30±7.0* [△]	102.97±15.4* [△]

注: 与 A 组比较, * $P<0.05$; 与 B 组比较, [△] $P<0.05$

3 讨 论

苦豆子别名苦豆根、苦甘草、布亚(维吾尔语)等, 是豆科槐属植物苦豆子的干燥全草、根及种子, 生长于中亚、西亚一带和我国西北省区荒漠区内较潮湿的地段。在我国主要分布于新疆、内蒙古、陕西、山西、宁夏、甘肃、西藏等地区。苦豆子始载于我国最早的药学文献《神农本草经》, 现收载于《中国药典》《全国中草药汇编》《新疆中草药》《维吾尔药志》等。全株味苦性寒, 具有清热解毒、祛风燥湿、止痛杀虫等作用。苦豆子主要成分为生物碱, 有槐果碱、苦参碱、氧化苦参碱、槐定碱、槐胺碱等; 民间常用于菌痢、肠炎。

据笔者前期研究, TASA 能显著改善 TNBS 和葡聚糖硫酸钠(DSS)致 UC 的动物模型的一般体征, 抑制患鼠体质量下降, 减轻结肠病理学改变, 能够使免疫抑制患鼠体质量增加, 胸腺指数、脾脏指数增加; 初步作用机制研究说明主要通过抗炎和免疫调节等多种途径抑制结肠炎性反应^[3-6]。TASA 是苦豆子治疗 UC 的主要活性部位, 已取得国家专利“TASA 在制备治疗 UC 药物中的应用及结肠靶向制剂的制备方法”(ZL200410052029.0), 拥有自主知识产权。

HSP 是一组在结构上高度保守的多肽, 每种应激均可诱导产生 HSP, 因此 HSP 又称为应激蛋白^[7-8]。HSP 的功能: (1) HSP 是高度保守的蛋白质, 参与广泛的生物过程。HSP70 作为分子伴侣在许多细胞过

程发挥作用, 包括蛋白生物活性的调节、分泌蛋白的跨膜转位等^[9]。(2) 提高细胞抗应激能力。(3) 调节细胞凋亡。(4) HSP 的抗氧化作用。(5) HSP 的免疫学作用: 包括参与抗原加工递呈; 参与抗感染免疫(HSP 能够明显减弱炎症过程中蛋白的渗出, 抑制炎症反应); 参与自身免疫等。

本研究结果表明, 模型组 HSP70 下降, 治疗组 HSP70 升高, 提示 TASA 可能通过提高保护性蛋白水平, 维持促炎因子与抗炎因子处于平衡状态, 从而调节肠道局部免疫应答和缓解炎症程度。本研究进一步丰富了 TASA 治疗 UC 的作用机制。

HSP 作为生物体在非正常刺激下所产生的蛋白质, 其研究已成当今生命科学的热点。HSP 的功能十分广泛, 在疾病中的意义重大。总之, HSP 以不同的形式在免疫中有免疫效果, 其在疾病中的应用前景广阔。因为生命在应对环境变化的过程中, 机体产生 HSP 来适应生存, 所以开展对 HSP 的研究是有意义的^[8]。

参考文献

[1] 中华中医药学会脾胃病分会. 溃疡性结肠炎中医诊疗共识意见[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(6): 891-895.
[2] 任彦, 王文荣. 溃疡性结肠炎中医治疗进展[J]. 中医研究, 2015, 28(1): 74-76.
[3] 周毅, 邓虹珠. 苦豆子总碱对大鼠实验性结肠炎细胞因子

- IL-10 表达的影响研究[J]. 国际消化病杂志, 2007, 27 (6):465-469.
- [4] 周毅,邓虹珠,邓子华,等. 苦豆子总碱对大鼠实验性结肠炎 CD4⁺CD25⁺,CD8⁺CD28⁻ 表达的影响[J]. 中国临床康复, 2006, 10(47):89-91.
- [5] 陈建国,邓虹珠. 苦豆子总碱对大鼠实验性结肠炎 SOD, MDA,NO,MPO 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2006, 31 (4):323-325.
- [6] 姚惠芬,周毅,邓虹珠,等. CD40 和 CD40L 在溃疡性结肠炎大鼠血清中的表达及意义[J]. 山东医药, 2006, 46 (35):7-8.
- [7] TANG D,KANG R,XIAO W,et al. The anti-inflammatory effects of heat shock protein 72 involve inhibition of high-mobility-group box 1 release and proinflammatory function i macrophages[J]. J Immunol, 2007, 179 (2): 1236-1244.
- [8] 陈明帅,徐超,宋兴超,等. 热休克蛋白的研究进展[J]. 经济动物学报, 2016, 20(1):44-53.
- [9] SAIBIL H. Chaperone machines for protein folding,unfolding and disaggregation[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2013 (14):630-642.
- (收稿日期:2018-03-12 修回日期:2018-05-28)
- 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.031

血浆纤溶指标对脑出血血肿的影响

全 裔

(桂林医学院附属医院检验科,广西桂林 541001)

摘 要:**目的** 探究血浆纤溶指标对脑出血血肿的影响,为脑出血血肿的治疗提供依据。**方法** 选取 2015 年 3 月至 2017 年 3 月在该院行颅内血肿微创穿刺清除术的 152 例脑出血患者为观察组,选取同期到该院体检的 148 例健康体检者为对照组。分别检测并比较观察组患者血肿和外周血标本,以及对照组健康者外周静脉血标本中的 D-二聚体、纤溶酶原水平。**结果** 观察组患者外周血和血肿中测得 D-二聚体和纤溶酶原水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);观察组与对照组外周血中 D-二聚体和纤溶酶原水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);观察组血肿和对照组外周血中 D-二聚体和纤溶酶原的水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);观察组患者血肿和外周血中纤溶酶原呈正相关,D-二聚体无相关性。**结论** 血浆中纤溶酶原的检测在一定程度上能够反映血肿内的纤溶酶原水平,对临床上脑出血血肿的治疗具有重大意义。

关键词:脑出血; 血肿; D-二聚体; 纤溶酶原

中图法分类号:R446.11

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)22-3430-03

脑出血又称脑溢血,是急性脑血管疾病中最为严重的一种,是由于脑部的细小动脉管壁变薄并进一步破裂导致的,具有发病急、病情凶险以及病死率高等特点^[1]。该病常见发病原因主要有高血压、动脉瘤、脑血管畸形、动脉硬化,以及特异性动脉炎等,其中高血压是最主要的病因。此外,情绪激动、不良嗜好(酗酒、吸烟等)、过度劳累,以及气候变化等都是引起该病的主要诱因^[2]。血肿是由于患者病变脑血管破裂出血形成的,往往伴随水肿的出现,从而压迫周围脑组织并使其发生坏死,导致不可逆的损害。因此,有效清除血肿以减轻对周围组织的压迫对治疗效果具有重要意义^[3]。目前,临床上主要应用颅内血肿微创穿刺清除术来治疗脑出血,尿激酶常作为血肿液化剂对血肿进行溶解和引流^[4]。由于尿激酶的作用靶点是纤溶酶原,且国内缺少对尿激酶使用及理论基础等的研究,因此,本文主要探讨血浆纤溶指标对脑出血血肿的影响,以便为临床治疗中尿激酶的使用和改善治疗效果提供参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 3 月至 2017 年 3 月本

院收治的 152 例脑出血患者,以及在本院进行体检的 148 例健康体检者作为研究对象,其中,152 例脑出血患者作为观察组,148 例健康体检者作为对照组。观察组患者男 85 例,女 67 例,年龄 38~82 岁,平均年龄(67.10 ± 2.32)岁;出血量 8.20~55.00 mL,平均出血量(24.20 ± 10.45)mL。对照组男 80 例,女 68 例,年龄 37~80 岁,平均年龄(65.20 ± 2.13)岁。两组在性别、年龄方面差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。患者纳入标准:术前均经 CT 检查确诊为脑出血;发病不超过 7 d;近 1 年无血栓及出血病史;同意参与研究患者。排除标准:有心肝肾功能病史;并发其他系统肿瘤者;近 1 个月内服用影响纤溶活性的药物及抗凝药物者;拒绝参与研究者。健康检查者纳入标准:经 CT 检查头部正常;无心肝肾疾病。本院伦理委员会已批准本研究,患者及其家属知情并签署同意书。

1.2 方法 观察组:经家属同意后,根据患者入院时的一般情况、临床表现及血肿性状、大小等对患者行颅内血肿微创穿刺清除术。术前采取患者外周血标本待用。术中抽吸患者混合血肿液,首次抽吸时留取