论著

文章编号:1000-5404(2006)17-1788-03

异丙酚预处理对大鼠肾缺血再灌注细胞因子的影响及损伤的保护作用

刘 甦[1],方针强[2],张艮甫[2] ([1]解放军总医院第一附属医院麻醉科,北京 100037;[2]第三军医大学新桥医院泌尿外科,全军肾脏病中心,重庆 400037)

提 要:目的 探讨异丙酚对肾缺血再灌注时IL-6、IL-8、TNF-α含量的影响及其对损伤的保护作用。**方法** 72只成年SD大鼠随机分为假手术组(S组,$n=24$)、缺血再灌注组(I/R组)和异丙酚处理组(P组)。后两组根据再灌注时间分为再灌注后1、4、24 h 3个亚组($n=8$)。P组阻断左肾动脉前5 min静脉注射异丙酚2.5 mg/kg,继以微量泵输注0.1%异丙酚10 mg·kg^{-1}·h^{-1},持续15 min。S组和I/R组以等容积生理盐水取代异丙酚。观察血尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、血及肾组织中IL-6、IL-8、TNF-α的变化,取肾组织常规切片和HE染色,光镜观察。**结果** P组再灌注后1 h血清IL-6、TNF-α及肾组织中TNF-α、4 h内血清及肾组织IL-8、24 h内肾组织IL-6、血BUN及Cr明显低于I/R组($P<0.05$);光镜下P组的细胞结构尚完整,I/R组细胞损伤严重。**结论** 异丙酚抑制肾缺血再灌注时炎性细胞因子的表达,从而减轻细胞因子介导的炎性损伤,具有肾IRI保护作用。

关键词:肾缺血再灌注;肿瘤坏死因子-α;白细胞介素-6;白细胞介素-8;异丙酚

中图法分类号:R392.11;R692.9;R971.2 **文献标识码**:A

Effect of propofol pretreatment on cytokines and protection of renal ischemia/reperfusion injury in rats

LIU Su[1], FANG Zhen-qiang[2], ZHANG Gen-fu[2] ([1]Department of Anesthesia, The First Hospital of General Hospital of PLA, Beijing 100037, [2]Renal Diseases Research Center, Department of Urinary Surgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of propofol on tumor necrosis factor-alpha (TNF-α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) in rats following renal ischemia/reperfusion and the protection of propofol on renal ischemia-reperfusion injury. **Methods** Seventy-two adult SD rats were randomly divided into three groups: sham operation group, ischemia/reperfusion group (I/R group) and propofol group ($n=24$ in each group). All the indexes of the last two groups were detected on 1, 4 and 24 h after reperfusion. Five minutes before ischemia in propofol group, propofol was infused by vein and isometric physiologic saline to the other two groups. The concentration of IL-6, IL-8, TNF-α in serum and renal tissue, BUN and SCr in serum were measured. Hematoxylin and eosin staining for the renal tissue was processed. **Results** The concentration of IL-6, IL-8, TNF-α in serum and TNF-α in renal tissue in propofol group within 1 h after reperfusion was significantly lower than I/R group ($P<0.05$); The concentration of IL-8 in serum and renal tissue in propofol group within 4 h after reperfusion was significantly lower than I/R group ($P<0.05$); The concentration of IL-6 in renal tissue within 24 h after reperfusion in propofol group were significantly lower than group I/R ($P<0.05$); The concentration of blood urea nitrogen and serum creatinine in propofol group were significantly lower than that in group I/R ($P<0.05$). Under light microscope, the cellular structure remained intact in propofol group, while the cells of I/R group showed swelling, karyorrhexis and karyolysis. **Conclusion** Propofol can effectively suppress the production and release of inflammatory cytokines and therefore protect the kidney from ischemia and reperfusion injury.

Key words: ischemia/reperfusion; tumor necrosis factor-alpha; interleukin-6; interleukin-8; propofol

肾脏是发生缺血再灌注损伤(ischemia/reperfusion injury,IRI)极为常见的器官之一,尤其肾移植,不可避免的要经历一定程度的IRI。肾脏是对IRI非常敏感的器官之一,目前肾脏IRI机制十分复杂,与氧自由基所致的脂质过氧化损伤、肾血管内皮细胞生成和释放的舒张与收缩因子失调等因素有关[1]。近年来,随

作者简介:刘 甦(1975-),男,北京市人,医师,主要从事麻醉临床专业方面的研究。电话:(010)66931253

通讯作者:张艮甫,电话:(023)68755624

收稿日期:2006-05-15;修回日期:2006-07-12

着对细胞因子网络认识的迅速提高，有关器官缺血再灌注（I/R）时细胞因子的作用日益受到重视。几乎所有固有肾脏细胞均有产生细胞因子的能力，同时又是细胞因子生物学作用的靶细胞。如何采取更加简便、有效的措施防治肾脏 IRI 一直是颇受国内外学者关注并有待深入研究的课题。异丙酚是一种新型静脉麻醉药，其除了麻醉作用外，现认为对 IRI 有较强的保护作用。本研究旨在观察异丙酚预处理对大鼠肾缺血再灌注时细胞因子肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）、白细胞介素-8（interleukin-8，IL-8）的影响，从细胞因子角度探讨异丙酚对肾 IRI 的保护作用机制。

1　材料与方法

1.1　实验动物、模型建立及分组

选用 8～12 周成年健康 SD 雄性大鼠（第三军医大学实验动物中心提供）72 只，体质量 260～300 g。2.5% 的戊巴比妥钠 30 mg/kg 腹腔注射麻醉，物理方法降温。分为假手术组（S 组）、缺血再灌注组（I/R 组）和异丙酚处理组（P 组），每组 24 只。后两组用无创动脉夹夹闭左肾动脉，同时切除右肾，45 min 后恢复灌注，根据再灌注时间分为再灌注后 1、4、24 h 3 个亚组，每个亚组 8 只大鼠。S 组做常规暴露左肾手术，不夹闭左肾动脉，余处理同后两组。术前大鼠股静脉置管，P 组阻断左肾动脉前 5 min 静脉注射异丙酚 2.5 mg/kg，继以微量泵输注 0.1% 异丙酚 10 $mg \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$，持续 15 min。S 组和 I/R 组以等容积生理盐水取代异丙酚。

1.2　标本采集及检测方法

所有大鼠于实验结束时开腹取静脉血，同时取左肾下极组织。分别检测：血清尿素氮（blood urea nitrogen，BUN）和血清肌酐（serum creatinine，SCr），采用生化分析仪常规生化分析法测定；血清及肾组织匀浆（上清）IL-6、IL-8、TNF-α 浓度，采用双抗体夹心 ELISA 法测定；部分肾组织用 10% 甲醛固定，常规切片和 HE 染色，光镜下观察肾组织病理变化。

1.3　统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 统计软件行 t 检验。

2　结果

2.1　肾组织病理学改变

I/R 组光镜下大部分肾小管上皮细胞肿胀，出现不同程度变性与坏死，间质有充血、水肿及炎性细胞浸润。P 组与 S 组接近，光镜下仅见部分肾小管上皮细胞轻度肿胀，少量变性与坏死，肾间质无明显改变及炎细胞浸润。

2.2　肾功能变化

缺血再灌注后 P 组和 I/R 组 BUN 和 SCr 均较无缺血再灌注 S 组明显升高（P 组：$P<0.05$；I/R 组：$P<0.01$），且随再灌注时间延长而增加，说明缺血再灌注导致了肾功能障碍；再灌注后同时相点比较，P 组 BUN 和 SCr 均明显低于 I/R 组（表 1）。

表 1　各组肾功能比较（$n=8$）

组别	血清尿素氮（mmol/L）	血清肌酐（μmol/L）
S 组	8.12 ± 0.58	43.66 ± 4.58
I/R 组		
1 h	14.39 ± 0.85[b]	77.36 ± 5.85[b]
4 h	18.66 ± 0.94[b]	96.24 ± 6.63[b]
24 h	20.78 ± 1.01[b]	132.31 ± 9.64[b]
P 组		
1 h	9.54 ± 0.59[ad]	59.89 ± 5.37[ac]
4 h	10.86 ± 0.64[ad]	73.95 ± 6.83[bc]
24 h	12.63 ± 0.74[bd]	89.35 ± 7.09[bd]

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与 S 组比较；c：$P<0.05$，d：$P<0.01$，与同时相 I/R 组比较

2.3　血清及肾组织 IL-6、IL-8、TNF-α 变化

3 组血清 IL-6 浓度无明显变化，仅 P 组再灌注后 1 h 时 IL-6 浓度明显低于 I/R 组（$P<0.05$）。肾组织中 IL-6 浓度在再灌注后随时再灌注时间延长反而降低，以 P 组降低更明显。血清及肾组织中 IL-8 浓度在再灌注后 1h 最高，4 h 时降低，但仍明显高于 S 组，24 h 时与 S 组无明显差别；再灌注后 1、4 h P 组 IL-8 浓度明显低于 I/R 组。3 组血清 TNF-α 浓度变化不明显，仅 P 组再灌注后 1 h 明显低于 S 组和 I/R 组（$P<0.05$）。I/R 组仅再灌注后 1 h 肾组织 TNF-α 浓度明显升高（$P<0.05$），P 组再灌注后 1 h TNF-α 浓度明显低于 I/R 组（$P<0.05$）（表 2）。

表 2　血清及肾组织 IL-6、IL-8、TNF-α 变化（$n=8$）

组别	IL-6		IL-8		TNF-α	
	血清（ng/ml）	肾组织（ng/g）	血清（ng/ml）	肾组织（ng/g）	血清（ng/ml）	肾组织（ng/g）
S 组	0.441 8 ± 0.032 5	2.841 8 ± 0.332 8	6.44 ± 4.30	3.34 ± 1.45	0.065 6 ± 0.003 4	0.419 ± 0.032
I/R 组						
1 h	0.446 9 ± 0.043 1	2.895 0 ± 0.331 5	10.64 ± 5.85[b]	6.31 ± 3.70[b]	0.064 1 ± 0.003 0	0.481 ± 0.075[a]
4 h	0.379 6 ± 0.078 6	2.329 0 ± 0.382 0[a]	8.89 ± 4.78[b]	5.85 ± 3.04[b]	0.065 7 ± 0.003 3	0.428 ± 0.073
24 h	0.421 9 ± 0.089 0	2.431 8 ± 0.309 4[a]	6.46 ± 4.29	3.78 ± 1.46	0.064 8 ± 0.003 3	0.404 ± 0.024
P 组						
1 h	0.331 4 ± 0.031 8[c]	2.218 6 ± 0.286 0[ac]	8.52 ± 5.66[ac]	4.76 ± 3.43[ac]	0.058 7 ± 0.002 9[ac]	0.421 ± 0.046[c]
4 h	0.413 8 ± 0.048 2	1.675 3 ± 0.223 1[bc]	7.03 ± 4.35[ac]	4.09 ± 3.81[ac]	0.062 8 ± 0.003 1	0.419 ± 0.039
24 h	0.426 4 ± 0.063 0	1.690 1 ± 0.300 1[bc]	6.37 ± 4.01	3.36 ± 1.50	0.060 7 ± 0.003 2	0.409 ± 0.043

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与 S 组比较；c：$P<0.05$，d：$P<0.01$，与同时相 I/R 组比较

3 讨论

近年来引起白细胞聚集及急性期反应的一些细胞因子在IRI中的作用日益受到重视。肝I/R时星形细胞表达TNF-α、IL-1、IL-6均增多，血液中除了这些因子外，IL-8、IL-2R、IL-10的增多也有报道[2]。有研究报道全脑IRI时血浆及脑组织中TNF-α、IL-1-β及IL-8含量明显增高，以脑组织中增高尤为突出[3]。TNF-α、IL-6、IL-8等细胞因子相互影响，相互作用形成网络效应。

本研究结果表明肾缺血再灌后1 h肾组织中IL-8、TNF-α及血IL-8水平明显增高，随再灌注时间延长逐渐下降至对照组水平，提示IL-8、TNF-α可能参与了早期肾IRI的过程。与肾组织早期表达TNF-α明显增高相比，血清TNF-α在I/R各时相无显著性变化，提示肾IRI时肾组织中的TNF-α可能主要源于肾组织局部产生。已证实肾缺血时，肾组织局部可产生多种炎症介质，其中包括TNF-α。TNF-α可通过增强中性粒细胞(PMN)上CD11/CD18的表达，诱导血管内皮细胞选择素的表达，增强缺血时PMN与血管内皮细胞(VEC)的黏附，促进PMN的激活、外渗与浸润，导致组织的损伤。TNF-α还可促进肾组织大量产生IL-8。IL-8不仅可介导中性粒细胞的聚集和激活，而且还增强PMN表面CD11/CD18(MCA-1)分子的结合性，增强与VEC的黏附和迁移，使大量PMN在肾组织内聚集和浸润，加剧肾缺血再灌注损伤。

IL-6作为一个重要的急性期反应因子，在创伤、炎症等病理情况下多表现为增加[4]。而本研究的结果显示，I/R组4 h和24 h肾组织中IL-6含量均减少，血液中IL-6含量无明显变化。有报道小鼠肾脏在缺血和短时间再灌注后脂多糖(LPS)可以使IL-6的mRNA表达下调，同时小鼠SCr减少，白细胞聚集和细胞损伤减轻，死亡率下降，推测LPS的这种抗损伤反应与IL-6下调有关[5]。TNF-α可以刺激IL-6的产生，二者又往往协同刺激急性期反应。本研究结果显示，虽然I/R 24 h内肾组织IL-6含量多处于低水平，其原因有待进一步研究，但血液和肾组织中的IL-6含量变化趋势均与TNF-α相吻合，因此认为IL-6可能参与肾IRI。

异丙酚是一种新型静脉麻醉药，其除了麻醉作用外，现认为对IRI有较强的保护作用。大量研究证明，异丙酚能够影响TNF-α的产生和释放，且在低浓度时便有较强的抑制作用。鼠内毒素血症模型中，一次静注异丙酚1 mg/kg并以10 mg/kg的速度维持，能显著减轻IL-6、TNF-α的反应[6]。离体人细胞研究显示，异丙酚降低LPS刺激多形核细胞释放IL-8。在家兔全脑缺血模型中，缺血前静注异丙酚5 mg/kg并以20 $mg \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$速度维持，发现异丙酚能有效抑制IL-8的合成和释放，但是不能影响IL-2的产生，异丙酚可轻微增加IL-4的释放，提高IL-10和IL-1ra含量，减轻内毒素的毒性反应，静脉维持可促进抗炎性细胞因子的产生[7]。

本研究利用肾IRI大鼠模型研究了异丙酚预处理对再灌注后大鼠血清及肾组织中细胞因子IL-6、IL-8及TNF-α的影响。结果显示，若于再灌注前5分钟经静脉注射异丙酚，则缺血再灌注后引起的肾损伤明显减轻，表现为：①仅部分肾小管上皮细胞轻度水肿，少量变性与坏死，肾间质无明显改变及炎性细胞浸润；②与I/R组同时相点比较，再灌注后1h血清IL-6、TNF-α及肾组织中TNF-α水平明显降低，再灌注后4h内血清及肾组织IL-8水平明显下降，再灌注后24h内肾组织IL-6水平明显下降；③与I/R组同时相点比较，血BUN及SCr明显下降。这表明异丙酚能够降低血清及肾组织中IL-6、IL-8及TNF-α水平，从而对IRI显示出良好的防治作用。

综上所述，TNF-α、IL-6、IL-8等细胞因子参与了肾IRI的发生发展过程，本研究仅初步探讨了肾IRI时异丙酚预处理对血及肾组织中TNF-α、IL-6、IL-8的影响，认为异丙酚减轻肾IRI的机制之一可能是异丙酚抑制炎性细胞因子的表达，为临床应用异丙酚防治肾IRI提供了重要的理论依据。目前有关异丙酚对IRI的研究尚不系统，其对IRI的调控机制有待进一步研究。随着研究的不断深入，相信异丙酚在临床上会成为防治肾及其他组织器官IRI的重要药物之一。

参考文献：

[1] CARAMELO G, ESPINOSA F, MANZARBEITIA M R, *et al*. Role of endothelium-related mechanisms in the pathophysiology of renal ischemia/reperfusion in normal rabbits[J]. Circ Res, 1996, 79(5): 1031-1038.

[2] MUELLER A R, PLATZ K D, HAAK M, *et al*. The release of cytokines, adhesion molecules, and extracellular matrix parameters during and after reperfusion in human liver transplantation [J]. Transplantation, 1996, 62 (8): 1118-1126.

[3] 王 涛,文 亮,李大江. 全脑缺血-再灌注损伤后炎性细胞因子的变化及其意义[J]. 中国危重病急救医学, 2000, 12(5): 290-292.

[4] JIANG J X, TIAN K L, CHEN H S, *et al*. Plasma cytokines and endotoxin levels in patients with severe injury and their relationship with organ damage[J]. Injury, 1997, 28(8): 509-513.

[5] HEEMANN U, SZABO A, HAMAR P, *et al*. Lipopolysaccharide pretreatment protects from renal ischemia/reperfusion injury: possible connection to an interleukin-6-dependent pathway [J]. Am J Pathol, 2000, 156(1): 287-293.

[6] TANIGUCHI T, YAMAMOTO K, OHMOTO N, *et al*. Effects of propofol on hemodynamic and inflammatory responses to endotoxemia in rats [J]. Crit Care Med, 2000, 28(4): 1101-1106.

[7] GILLILAND HE, ARMSTRONG M A, CARABINE U, *et al*. The choice of anesthetic maintenance technique influences the antiinflammatory cytokine response to abdominal surgery [J]. Anesth Analg, 1997, 85(6): 1394-1398.

(编辑 栾 嘉)