文章编号:1000-5404(2014)21-2173-05

论著

Sulfiredoxin-1 对星形胶质细胞氧糖剥夺/复氧损伤的保护作用

周云川,周 杨,巫静娴,喻姗姗,赵 涌 (400016 重庆,重庆医科大学基础医学院病理学教研室,神经科学研究中心)

[摘要] **目的** 探讨 Sulfiredoxin-1(Srxn1)对氧糖剥夺/复氧(oxygen-glucose deprivation/ reoxygenation,OGD/R)诱导的星形胶质细胞损伤的保护作用。**方法** ①应用 RNAi 技术将 Srxn1 干扰小发夹 RNA(shRNA)及阴性载体(negative control)转染至星形胶质细胞,Real-time quantitative PCR(QPCR)和 Western blot 检测转染后 Srxn1 的基因和蛋白表达水平;②实验分为 control 组、control + OGD/R 组、negative control(NC) + OGD/R 组、sh-Srxn1 + OGD/R 组($n=3$),细胞转染 72 h 后建立 OGD 模型,6 h 后予以复氧,模拟再灌注模型;③复氧 12 h 后,MTS 法检测细胞活性,Hoechst 33342 检测细胞凋亡率,Western blot 检测细胞 Bcl-2 和 Bax 的蛋白表达水平。**结果** ①shRNA-Srxn1 转染细胞后,与空白组和阴性组比较,干扰组 Srxn1 mRNA 及蛋白表达水平明显降低,分别降低 47% 和 58.5%;②MTS 结果显示,干扰 sh-Srxn1 + OGD/R 组细胞活性较 control + OGD/R 组显著下降[(38.79 ± 2.14) *vs* (69.35 ± 10.54), $P<0.05$];Hoechst 33342 结果显示,干扰 sh-Srxn1 + OGD/R 组细胞凋亡较 control + OGD/R 组明显增加[(51.67 ± 7.64) *vs* (25.00 ± 5.00), $P<0.01$];③Western blot 结果显示,与 control + OGD/R 组比较,干扰 sh-Srxn1 + OGD/R 组细胞 Bcl-2 的表达明显降低($P<0.05$),Bax 的表达明显上调($P<0.05$),Bcl-2/Bax 比值显著降低($P<0.01$)。**结论** Srxn1 对 OGD/R 引起的星形胶质细胞的氧化损伤具有重要的保护作用,这种保护可能与其抗凋亡作用相关。

[关键词] Sulfiredoxin-1;干扰;星形胶质细胞;氧糖剥夺/复氧;凋亡
[中图法分类号] R322.8; R363.21; R394-33 [文献标志码] A

Sulfiredoxin-1 protects astrocytes against injury induced by oxygen-glucose deprivation/reoxygenation

Zhou Yunchuan, Zhou Yang, Wu Jingxian, Yu Shanshan, Zhao Yong (Department of Pathology, Institute of Neuroscience, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the protective effect of sulfiredoxin-1 (Srxn1) on the injured astrocytes induced by oxygen-glucose deprivation/reoxygenation (OGD/R). **Methods** Lentivirus vector encoding Srxn1-shRNAs and a negative control were used to transfect to primary rat cortical astrocytes. Real-time quantitative PCR (q-PCR) and Western blotting were used to detect the expression of Srxn1 at mRNA and protein levels. The OGD/R model of astrocytes was established by OGD for 6 h followed by reoxygenation for 12 h to construct an *in vitro* model of ischemia reperfusion (for transfected cells, the establishment was started in 72 h after transfection). Then the normal control astrocytes were cultured under or not OGD/R, so were the astrocytes transfected by sh-Srxn1 or negative shRNAs. After reoxygenation for 12 h, the expression of Srxn1 was measured by q-PCR and Western blotting. Cell viability was determined by MTS assay. Apoptosis was measured by Hoechst 33342 staining. And the levels of Bcl-2 and Bax were measured by Western blotting. **Results** After transfection of sh-Srxn1, the mRNA and protein expression levels of Srxn1 were significantly decreased by 47.0% and 58.5% than the cells without transfection and negative control group. MTS assay indicated that interference of Srxn1 resulted in a decrease of cell viability compared with control + OGD/R group (38.79 ± 2.14 *vs* 69.35 ± 10.54, $P<0.05$). Hoechst 33342 staning displayed that the apoptotic rate was significantly higher in sh-Srxn1 + OGD/R group than in control + OGD/R group (51.67 ± 7.64 *vs* 25.00 ± 5.00, $P<0.01$). And Western blotting showed that Srxn1 interference resulted in a decrease in Bcl-2

[基金项目] 国家自然科学基金(81271460,81171090,81301125)
[通信作者] 赵 涌,E-mail:blys01@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140918.0832.003.html(2014-09-18)

expression ($P<0.05$), an increase in Bax expression ($P<0.05$), and a significant decrease in the ratio of Bcl-2/Bax ($P<0.01$), when compared with control + OGD/R group. **Conclusion** Srxn1 exerts a protective effect on the oxidative stress injury in the astrocytes induced by OGD/R, which might be due to its anti-apoptosis effect.

[**Key words**] sulfiredoxin-1; interference; astrocytes; oxygen-glucose deprivation/reoxygenation; apoptosis

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81271460, 81171090 and 81301125). Corresponding author: Zhao Yong, E-mail: blys01@163.com

小分子蛋白 Sulfiredoxin-1(Srxn1)属于保守的内源性 Sulfiredoxin 抗氧化家族的成员,是通过进化选择的抗氧化蛋白之一,广泛存在于真核生物中。研究证实,Srxn1 作为一种内源性抗氧化蛋白,可以抵御肺脏组织免受氧化应激损伤[1]。研究发现,Srxn1 作为重要抗氧化蛋白,起神经细胞保护作用。Srxn1 通过对谷胱甘肽化/去谷胱甘肽化的调控,在帕金森病(Parkinson's disease,PD)患者中起脑保护作用[2]。在 A549 细胞和小鼠成纤维细胞的氧化应激损伤中,Srxn1 起着重要的保护作用,其作用可能通过抗凋亡机制实现[3]。我们前期的研究结果显示 Srxn1 在 PC12 细胞中具有显著的抗氧化保护作用[4],但相关保护途径和机制尚不清楚。脑组织损伤过程中,神经胶质细胞的抗损伤能力远大于神经元[5],内源性抗氧化蛋白 Srxn1 是否在其中发挥了作用?通过什么途径完成抗氧化损伤?目前还没有相关文献报道。本实验采用 Sprague-Dawley(SD)大鼠新生 24 h 内乳鼠的大脑星形胶质细胞来建立氧糖剥夺/复氧(oxygen-glucose deprivation/reoxygenation,OGD/R)模型,采用慢病毒干扰 Srxn1 的方法探讨 Srxn1 对星形胶质细胞氧化应激损伤的保护作用,同时对其保护机制作了初步探讨,为其临床应用提供相应的实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

DMEM/F12 培养基、无糖 DMEM 培养基、fetal bovine serum (FBS)购自 Gibco 公司,多聚赖氨酸(P-L-L)、MTS 购自 Sigma 公司,Hank's、trypsin 购自 HyClone 公司,兔抗-Bcl-2 多克隆抗体、兔抗-Bax 多克隆抗体、兔抗-GFAP 多克隆抗体购自 Santa Cruz 公司,兔抗-Srxn1 多克隆抗体购自北京博奥森公司,RNAiso Plus、RT-PCR 试剂盒、SYBR® *Premix Ex Taq*™ 购自 TaKaRa 公司,其余均为国产分析纯。

1.2 星形胶质细胞的原代培养

SD 大鼠新生 24 h 内乳鼠,一共 120 只,不分雌雄,由重庆医科大学实验动物中心提供,细胞提取按照文献[6-7]方法,将含有血清的 DMEM/F12 作为细胞培养基,接种至 75 cm^2 的培养瓶中,细胞密度为 1.5×10^6/瓶。通过快速换液、震荡摇床除去神经元、少突胶质细胞,体外培养 7~9 d 后,传代,用形态学、免疫细胞化学(glial fibrillary acidic protein, GFAP)鉴定所培养的星形胶质细胞纯化率。

1.3 星形胶质细胞的转染

由上海吉玛制药技术有限公司设计、构建并合成 shRNA-Srxn1-LV3 慢病毒载体,shRNA-Srxn1 序列为:CATCCACACCAGACTTGCAGT,shRNA-negative control 序列为:TTCTCCGAACGTGTCACGT。将 shRNAs 按照说明书及 Liu[8] 的方法转染至星形胶质细胞中,转染 72 h 后,倒置荧光显微镜下观察转染效率,qPCR 和 Western blot 检测 Srxn1 的基因和蛋白表达水平。

1.4 实验分组及设计

实验分为 control 组、control + OGD/R 组、negative control (NC) + OGD/R 组、sh-Srxn1 + OGD/R 组($n=3$)。取培养好的星形胶质细胞,negative control(NC) + OGD/R 组和 sh-Srxn1 + OGD/R 组,分别转染阴性慢病毒载体和 Srxn1 干扰慢病毒载体,待细胞感染 72 h 后,建立 OGD 模型;control + OGD/R 组细胞不予慢病毒转染,直接建立 OGD 模型;OGD 处理 6 h 后,细胞复氧复糖培养 12 h,检测相应指标。

1.5 氧糖剥夺/复氧模型的建立

按照文献[6-7]方法,取转染 72 h 左右的细胞,将细胞培养液用无糖 DMEM 培养液代替,放至 37 ℃ 含有 94% N_2、5% CO_2、1% O_2 的三气缺氧箱中,建立体外培养 OGD 模型。6 h 后取出细胞并换回正常 DMEM/F12 培养液,恢复正常培养环境,模拟再灌注,继续培养 12 h,检测相应指标。

1.6 qPCR 检测 Srxn1 的 mRNA 表达水平

根据试剂盒说明书,提取细胞总 RNA,逆转录成 cDNA 作为模板,进行 qPCR 反应。引物序列:Srxn1 上游 5′-CCCAAGGCGGTGACTACTAC-3′,下游 5′-GGCAGGAATGGTCTCTCTCTGTG-3′;β-actin 上游 5′-CACCCGCGAGTACAACCTTC-3′,下游 5′-CCCATACCCACCATCACACC-3′。反应体系:2 μL cDNA 模板,各 1 μL 10 mol/L 的上下游引物,12.5 μL 2 × SYBR® *Premix Ex Taq*™,8.5 μL ddH_2O_2。反应条件:95 ℃ 10 s;95 ℃ 5 s,60 ℃ 15 s,72 ℃ 15 s,39 个循环;72 ℃ 5 s,95 ℃持续。运用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法[9] Bio-Rad CFX Manager Software 软件进行分析。

1.7 Western blot 检测 Srxn1、Bcl-2 和 Bax 的蛋白表达水平

提取细胞总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,变性后根据蛋白浓度上样,进行 SDS 凝胶电泳,切胶,转膜,TBST 洗膜,封闭,加入兔抗-Srxn1 多克隆抗体(1∶400),兔抗-Bcl-2(1∶400)多克隆抗体,兔抗-Bax(1∶400)多克隆抗体,4 ℃ 孵育过夜。复温

20 min 后,TBST 洗膜,加入 1∶1 000 的二抗,室温孵育 1 h,TBST 洗膜,ECL 化学发光检测。运用 Quantity One 软件分析,检测目的条带灰度值与内参 β-actin 条带灰度值,以二者比值来表示蛋白的相对表达量,同时观察 Bcl-2/Bax 比值的变化。

1.8 MTS 检测细胞活性

接种细胞至 96 孔板中,转染 72 h 后予以 OGD/R 处理,避光加入 10 μL/孔的 MTS 溶液,37 ℃孵箱孵育 4 h,酶标仪检测 490 nm 处各孔光密度值,得出的数值即为细胞活力值。

1.9 GFAP/Hoechst 33342 染色检测细胞纯度和凋亡情况

4% 的多聚甲醛固定细胞 30 min,PBS 清洗,滴加封闭血清,37 ℃烤箱作用 30 min,滴加一抗 GFAP(1∶50),4 ℃湿盒过夜。PBS 清洗,滴加荧光二抗 Alexa Fluor 594(1∶100),37 ℃烤箱作用 30 min,PBS 清洗,避光加入 Hoechst 33342 工作液,室温作用 20 min,PBS 清洗,封片,荧光显微镜下发光。凋亡细胞核形态表现为核缩小,染色质凝集,荧光强度比正常细胞高。同时观察细胞 GFAP 阳性率和转染效率。

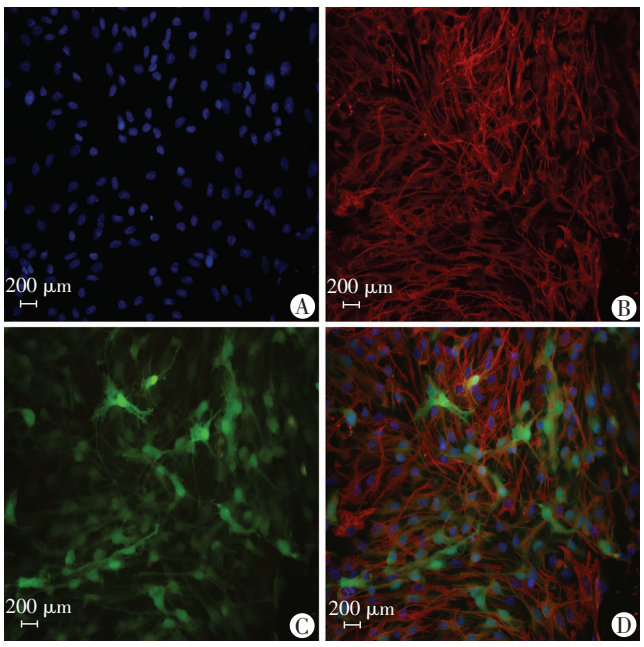
1.10 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差结合 t 检验分析。

2 结果

2.1 大鼠星形胶质细胞纯度鉴定及转染效率鉴定

转染 72 h 后,荧光显微镜下观察可见 shRNA 均匀分布在细胞中,GFP 阳性率达到 80% 以上(绿色荧光);Hoechst 33342/GFAP 免疫荧光染色结果显示,星形胶质细胞阳性率达到 90% 以上(红色荧光)。见图 1。

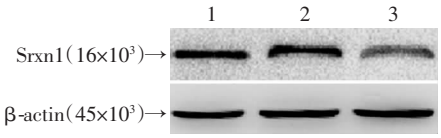


A:Hochest 33342;B:GFAP;C:GFP;D:荧光融合

图 1 星形胶质细胞纯度及转染效率鉴定 (荧光显微镜)

2.2 Western blot 和 qPCR 检测 shRNA-Srxn1 干扰效果

Western blot 和 qPCR 结果显示,与 control 组比较,negative control 组 Srxn1 表达无明显变化,sh-Srxn1 组 shRNA 能有效干扰 Srxn1 的蛋白和 mRNA 表达,干扰分别达到 58.5%、47%,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图 2。



1:control 组;2:negative control 组;3:sh-Srxn1 组

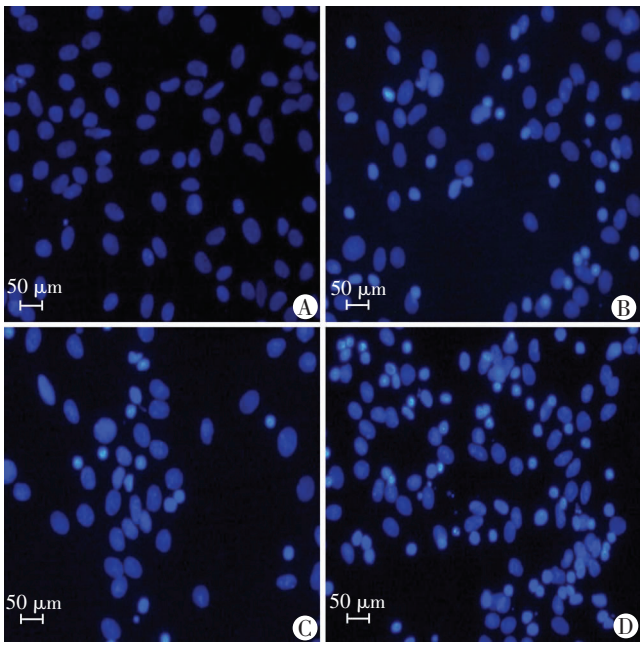
图 2 Western blot 检测 shRNA-Srxn1 干扰效果

2.3 Srxn1 干扰对 OGD/R 损伤后细胞活性的影响

MTS 结果显示,与 control 组[(100 ± 15)%]比较,control + OGD/R 组[(69.35 ± 10.54)%]细胞活性明显降低($P<0.05$);与 control + OGD/R 组比较,negative control + OGD/R 组[(67.80 ± 6.35)%]细胞活性无明显改变,而 sh-Srxn1 + OGD/R 组[(38.79 ± 2.14)%]细胞活性下降更明显($P<0.05$)。

2.4 Srxn1 干扰对 OGD/R 损伤后细胞凋亡的影响

Hoechst33342 检测结果显示,与 control 组[(4.33 ± 2.08)%]比较,control + OGD/R 组[(25 ± 5)%]细胞凋亡增加($P<0.01$),与 control + OGD/R 组比较,negative control + OGD/R 组[(25.0 ± 5.0)%]细胞凋亡无明显改变,而 sh-Srxn1 + OGD/R 组[(51.67 ± 7.64)%]细胞凋亡显著增加($P<0.01$),见图 3。



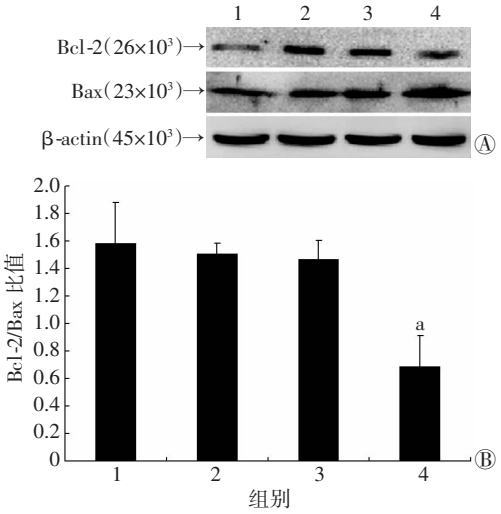
A:control 组;B:control + OGD/R 组;C:negative control + OGD/R 组;D:sh-Srxn1 + PGD/R 组

图 3 Srxn1 干扰对 OGD/R 损伤后细胞凋亡的影响 (荧光显微镜)

2.5 Srxn1 干扰对 OGD/R 损伤后 Bcl-2 和 Bax 表达的影响

Western blot 检测细胞内抗凋亡基因 Bcl-2 和促凋亡基因 Bax 的蛋白表达水平,结果显示,与 control 组比较,control + OGD/R 组 Bcl-2 和 Bax 的表达均上调($P<0.01$,$P<0.05$),Bcl-2/Bax 比值降低不明显;与 control + OGD/R 组比较,negative control + OGD/R 组 Bcl-2 和 Bax 的表达无明显改变,而 sh-

Srxn1 + OGD/R 组 Bcl-2 表达显著下降($P<0.05$),Bax 表达明显上升($P<0.05$),Bcl-2/Bax 比值显著降低($P<0.01$)。见图4。



A:Western blot 检测结果;B:定量分析;1:control 组;2:control + OGD/R 组;3:negative control + OGD/R 组;4:sh-Srxn1 + OGD/R 组;a:$P<0.01$,与 control + OGD/R 组比较

图4 Western blot 检测 Srxn1 干扰对 Bcl-2 和 Bax 表达的影响

3 讨论

近年来,脑缺血再灌注损伤是神经科学领域里的热点、难点之一[10]。有研究发现,氧化应激很可能是造成脑缺血/再灌注不可逆损伤的关键因素[11],最终导致神经细胞的凋亡或坏死。

目前,临床上由于外源性的抗氧化剂、抗凋亡剂等的应用未得到满意的疗效,人们焦点逐渐转向另一条神经保护药物研发策略:探索已知的有内源性保护作用的途径,发现一些新的内源性的神经保护因子或者通路,并积极动员机体的内源性防御系统,中断缺血级联反应,达到治疗效果。Sulfiredoxin-1(Srxn1)在哺乳动物细胞中被 Rhee 首次发现[12],后来更多的研究证实,它是属于保守的内源性 Sulfiredoxin 抗氧化家族的成员,具有抵御组织或细胞免受氧化应激损伤而广泛存在于真核生物中[1-5,13]。

本实验运用大鼠星形胶质细胞建立 OGD/R 模型,模拟体外脑缺血再灌注损伤,应用 shRNA 干扰技术沉默 Srxn1 表达,研究 Srxn1 对神经胶质细胞的保护作用及其机制。慢病毒转染 shRNA-Srxn1 至星形胶质细胞,qPCR 和 Western blot 结果显示,shRNA 能有效抑制 Srxn1 mRNA 和蛋白水平的表达,说明转染干扰模型构建成功。MTS 法对体外培养的星形胶质细胞的增殖活性进行检测,测定 Srxn1 干扰对 OGD/R 损伤后细胞存活率的影响;结果显示,OGD/R 损伤后,细胞活性较 control 组明显下降,且 sh-Srxn1 + OGD/R 组细胞活性较 control + OGD/R 组进一步下降,表明干扰 Srxn1 会降低细胞存活率。

荧光染料 Hoechst 33342 是一种可透过细胞膜并对 DNA 染色的细胞核染色试剂,它在嵌入双链 DNA 后释放强烈的蓝色荧光,常用于细胞凋亡检测。凋亡细胞的膜通透性增强,且凋亡细胞的染色体 DNA 的结构发生了改变,从而 Hoechst 33342 能更有效地与 DNA 结合,使其进入凋亡细胞中的比正常细胞的多,荧光强度比正常细胞强,且细胞核浓缩、凝集。结果显示,OGD/R 损伤后,细胞凋亡较 control 组明显增多,且 sh-Srxn1 + OGD/R 组细胞凋亡较 control + OGD/R 组进一步上升,表明干扰 Srxn1 会增加细胞凋亡率。

Bcl-2 家族成员可以驱动细胞的凋亡,在线粒体途径的凋亡中起着至关重要的作用,它包括抗细胞凋亡基因 Bcl-2 和促细胞凋亡基因 Bax[14-15],它们可以通过控制线粒体膜的通透性来调节凋亡激活物的释放,从而来影响细胞的状态。Bcl-2/Bax 的比值对决定细胞接受刺激信号后存活与否有关键性的作用。Bax 存在于胞浆中,当 Bcl-2/Bax 的比值降低时,Bax 自身可形成同源二聚体,促进细胞凋亡;当 Bcl-2/Bax 的比值相对升高时,Bax 与 Bcl-2 可形成异源二聚体,此时则会抑制细胞凋亡[16-17]。因此,检测细胞 Bcl-2 和 Bax 的表达可以反映细胞的凋亡,Bcl-2/Bax 比值降低表明细胞对凋亡的抵抗性减弱,细胞凋亡增加;反之,细胞凋亡减少。当细胞受到氧化损伤时,体内保护因子 Bcl-2 和损伤因子 Bax 的水平均会反应性增高,当损伤进一步加重时,体内保护因子 Bcl-2 水平则会下降,损伤因子 Bax 水平则进一步增高,Bcl-2/Bax 比值将会降低。Western blot 结果显示,OGD/R 损伤后,细胞内 Bcl-2 和 Bax 的水平较 control 组均明显增加,与 control + OGD/R 组比较,sh-Srxn1 + OGD/R 组 Bax 增加更为明显,Bcl-2 增加受到抑制,Bcl-2/Bax 比值降低显著,这提示 Srxn1 的神经保护作用可能与提高 Bcl-2 表达,减少细胞凋亡有关。

综上所述,Srxn1 作为内源性的抗氧化蛋白,可以保护星形胶质细胞免受 OGD/R 引起的损伤,其机制可能主要是通过抗凋亡作用参与。Srxn1 可能是脑组织氧化应激损伤保护的新靶点。

参考文献:

[1] Singh A, Ling G, Suhasini A N, *et al*. Nrf2-dependent sulfiredoxin-1 expression protects against cigarette smoke-induced oxidative stress in lungs[J]. Free Radic Biol Med, 2009, 46(3): 376-386.

[2] Findlay V J, Tapiero H, Townsend D M. Sulfiredoxin: a potential therapeutic agent? [J]. Biomed Pharmacother, 2005, 59(7): 374-379.

[3] Baek J Y, Han S H, Sung S H, *et al*. Sulfiredoxin protein is critical for redox balance and survival of cells exposed to low steady-state levels of H_2O_2[J]. J Biol Chem, 2012, 287(1): 81-89.

[4] Li Q, Yu S, Wu J, *et al*. Sulfiredoxin-1 protects PC12 cells against oxidative stress induced by hydrogen peroxide[J]. J Neurosci Res, 2013, 91(6): 861-870.
[5] Soriano F X, Leveille F, Papadia S, *et al*. Induction of sulfiredoxin expression and reduction of peroxiredoxin hyperoxidation by the neuroprotective Nrf2 activator 3H-1, 2-dithiole-3-thione[J]. J Neurochem, 2008, 107(2): 533-543.
[6] Wu X, Zhao J, Yu S, *et al*. Sulforaphane protects primary cultures of cortical neurons against injury induced by oxygen-glucose deprivation/reoxygenation *via* antiapoptosis[J]. Neurosci Bull, 2012, 28(5): 509-516.
[7] 吴雪梅, 巫静娴, 喻姗姗, 等. 莱菔硫烷对神经元氧糖剥夺/复氧损伤的保护作用[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(18): 1907-1911.
[8] Liu S B, Zhang N, Guo Y Y, *et al*. G-protein-coupled receptor 30 mediates rapid neuroprotective effects of estrogen *via* depression of NR2B-containing NMDA receptors[J]. J Neurosci, 2012, 32(14): 4887-4900.
[9] Song S, Zhou J, He S, *et al*. Expression levels of microRNA-375 in pancreatic cancer[J]. Biomed Rep, 2013, 1(3): 393-398.
[10] Chen Y, Wu X, Yu S, *et al*. Neuroprotection of tanshinone IIA against cerebral ischemia/reperfusion injury through inhibition of macrophage migration inhibitory factor in rats[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e40165.
[11] Papadia S, Soriano F X, Leveille F, *et al*. Synaptic NMDA receptor activity boosts intrinsic antioxidant defenses[J]. Nat Neurosci, 2008, 11(4): 476-487.
[12] Rhee S G, Jeong W, Chang T S, *et al*. Sulfiredoxin, the cysteine sulfinic acid reductase specific to 2-Cys peroxiredoxin: its discovery, mechanism of action, and biological significance[J]. Kidney Int Suppl, 2007(106): S3-S8.
[13] Noh Y H, Baek J Y, Jeong W, *et al*. Sulfiredoxin translocation into mitochondria plays a crucial role in reducing hyperoxidized peroxiredoxin Ⅲ[J]. J Biol Chem, 2009, 284(13): 8470-8477.
[14] Siskind L J, Mullen T D, Romero-Rosales K, *et al*. The BCL-2 protein BAK is required for long-chain ceramide generation during apoptosis[J]. J Biol Chem, 2010, 285(16): 11818-11826.
[15] Moldoveanu T, Follis A V, Kriwacki R W, *et al*. Many players in BCL-2 family affairs[J]. Trends Biochem Sci, 2014, 39(3): 101-111.
[16] Oltrai Z N, Millimau C L, Korsmeyer S J. Bcl-2 heterodimerizes *in vivo* with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death[J]. Cell, 1993, 74(4): 609-619.
[17] Liu W Y, He W, Li H. Exhaustive training increases uncoupling protein 2 expression and decreases Bcl-2/Bax ratio in rat skeletal muscle[J]. Oxid Med Cell Longev, 2013, 2013: 780719.

(**收稿**:2014-05-01;**修回**:2014-09-15)
(编辑 栾 嘉)

文章编号:1000-5404(2014)21-2177-01

个案与短篇

哌拉西林钠/舒巴坦钠治疗下呼吸道感染87例临床分析

符之月[1],李雨晴[2] (571400 海南 琼海,海南省琼海市人民医院:呼吸内科[1],药学部[2])

[**关键词**] 哌拉西林/舒巴坦;下呼吸道感染;不良反应
[**中图法分类号**] R563.05 [**文献标志码**] B

哌拉西林钠/舒巴坦钠是一种由哌拉西林和β-内酰胺酶抑制剂舒巴坦组成的复方制剂。哌拉西林属青霉素类广谱抗生素,要通过干扰细菌细胞壁的合成而起杀菌作用,主要用于铜绿假单胞菌和各种革兰阴性杆菌所致的感染,但易被细菌产生的β-内酰胺酶水解而产生耐药性。舒巴坦为不可逆竞争型β-内酰胺酶抑制剂,可抑制β-内酰胺酶Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ等型酶(对Ⅰ型酶无效)对青霉素、头孢菌素类的破坏[1],两药联合配比后起到协同抗菌作用。本研究拟对哌拉西林钠/舒巴坦钠治疗下呼吸道感染患者的疗效及安全性进行观察评价。

1 资料与方法

1.1 病例选择

选择本院2011年4月至2014年2月收治的下呼吸道感染以静滴哌拉西林钠/舒巴坦钠进行抗菌治疗的患者87例。患者临床症状、体征、影像学及实验室检查均符合下呼吸道感染。其中,男性57例,女性30例,年龄(74.32±13.91)岁;慢性阻塞性肺疾病急性加重49例,肺炎29例,支气管哮喘急性发作期合并肺部感染3例,支气管扩张并感染2例,右肺癌合并肺部感染2例,肺炎合并急性胆囊炎1例,喘息性支气管炎1例。

1.2 治疗及观察方法

静滴哌拉西林钠/舒巴坦钠(苏州二叶制药有限公司生产,规格每支为1.5 g,其中哌拉西林1 g,舒巴坦0.5 g)1.5~3.0 g,2次/d;疗程均为7~14 d。治疗无效者,改用其他抗菌药物继续治疗。治疗前后和治疗中进行痰细菌培养、X线胸片、尿常规、血常规及肝、肾功能等检查。

1.3 疗效标准

将患者的临床治疗效果分为痊愈、有效、无效3个等级。根据《抗菌药物临床研究指导原则》[2]制定标准:症状、体征、实验室检查和病原学检查恢复正常为痊愈;病情好转,但有一项没完全恢复的为有效;治疗72 h之后病情未缓解甚至加重的为无效。总有效率=(痊愈+有效)例数/总例数×100%。

(下转2182页)

[**通信作者**] 李雨晴,电话:(0898)62830535,E-mail:liyuqing6666@126.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140922.1549.001.html(2014-09-22)