维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2004)04-0480-02

兔眼前段碱烧伤后房水细胞因子和一氧化氮在眼内炎症反应中的作用

李 立,汤永强,郭华兰

(重庆医科大学第二临床学院眼科,重庆 400010)

【摘 要】目的:探讨兔眼前段碱烧伤后房水中肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)及一氧化氮(NO)于眼内炎性反应严重程度之间的关系。方法:将新西兰白兔随机分为正常对照组和碱烧伤组,并于术后 1、3、7、14、30 天观察术后眼内炎症反应,包括房水细胞计数和分类,同时测定房水 TNF-α、NO_2^-/NO_3^- 含量。采用 SPSS 软件包对实验数据进行方差分析和 q 检验。结果:碱烧伤后不同时间房水中细胞总数、TNF-α 水平及 NO_2^-/NO_3^- 含量均比正常对照组增高,单核巨噬细胞及 TNF-α、NO_2^-/NO_3^- 于 7~14 天高峰。房水中细胞总数、TNF-α 水平及 NO_2^-/NO_3^- 含量与眼内炎性反应严重程度变化规律基本一致,即炎性反应重时含量高。结论:碱烧伤后眼内炎性反应的严重程度与房水细胞因子 TNF-α 水平及 NO 含量变化有密切关系。

【关键词】碱烧伤;房水;眼内炎;TNF-α;NO

【中国图书分类法分类号】R779.66 【文献标识码】A 【收稿日期】2003-04-28

An experimental study on cytokine and nitric oxide content in rabbit aqueous humor after alkali burn

LI Li, et al

(*Department of Ophthalmology, the Second College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the relationship among inflammatory reaction and cytokine levels, nitric oxide(NO) content in aqueous humor after alkali burn. *Methods*: 12 adult New Zealand rabbits were divided into two groups(6 rabbits each): normal control group and alkali burn experimental group. Aqueous humor samples were aspirated on the alkali burn 1, 3, 7, 14 and 30 days, and the total number of white blood cells in the aqueous humor and their subset distribution as well as tumor necrosis factor-α (TNF-α) and NO_2^-/NO_3^- were counted. The data were analyzed using analysis of variance of SPSS software. *Results*: There was a higher number of inflammatory cells and a higher level of TNF-α and NO_2^-/NO_3^- in alkali burn eyes than that in the normal control eyes. The number of mononuclear phagocyte and the levels of TNF-α, the content of NO_2^-/NO_3^- in aqueous humor were the highest in alkali burn group in 7~14 days. The change of TNF-α, NO_2^-/NO_3^- and inflammatory reaction were basically similar, that is, the more serious the reaction, the higher the levels of the content. *Conclusion*: The intraocular inflammation after alkali burn is closely related to the change in cytokine levels and NO content in aqueous humor.

【Key words】Alkali burn; Aqueous humor; Endophthalmitis; Tumor necrosis factor; Nitric oxide

眼部碱烧伤是较严重的化学损伤,损伤重,预后差,目前对它的损伤机制仍不十分清楚,治疗上也无特殊药物。本文研究了眼前段碱烧伤后房水内细胞因子 TNF-α 水平及 NO 含量与眼内炎性反应严重程度之间的关系,为临床治疗奠定一定的基础。

作者介绍:李 立(1963-),男,硕士,副教授,主要研究方向:眼外伤的防治。

1 材料和方法

1.1 动物与分组

选用 2.5~3kg 成年新西兰白兔 12 只(由本校实验动物中心提供),雌雄兼顾,眼部检查无异常。选择右眼为实验眼,随机分成正常对照组和碱烧伤组 2 组。

1.2 试剂

TNF-α 试剂盒由第四军医大学提供,NO 试剂盒由南京聚力生物医学工程研究所提供。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.3 方法

表麻滴瞳表面麻醉，开睑器开睑，把 9mm 直径滤纸圆片浸入 0.5mol/L 的 NaOH 溶液饱和后，取出沥干放置于兔上方角膜处，使其 1/3 在巩膜上，2/3 在角膜上，以此来统一碱烧伤的范围。放置 60s 后取下纸片，用室温生理盐水冲洗 30s。

分别于碱烧伤后 1、3、7、14、30 天用 1ml 注射器从角膜缘做前房穿刺，充分抽取房水，立即做房水细胞计数，并在 HE 染色后作房水细胞分类。其余房水用来测定 TNF－α 及 NO 含量。由于 NO 的化学性质极不稳定，在体内很快转变为亚硝酸根 NO_2^-，NO_2^- 进一步转变为硝酸根 NO_3^-，故通过硝酸还原酶法检测房水中的 NO_2^-/NO_3^- 含量来反映 NO 活性。采用双抗体夹心 ELISA 法测定房水中 TNF－α 的含量。

1.4 统计方法

本研究采用方差分析及 q 检验对实验数据进地统计学处理。

2 结果

表 1 碱烧伤后不同时间房水内细胞总数的变化($\bar{x} \pm s$，细胞数/μl，$n=6$)

组别	1 天	3 天	7 天	14 天	30 天
正常对照组	1.62±0.48	1.73±0.61	1.70±0.53	1.82±0.71	1.69±0.52
碱烧伤组	426.14±21.52	280.27±68.71	264.32±76.32	132.67±7.26	10.32±1.26

表 2 碱烧伤后不同时间房水中性白细胞和单核巨噬细胞变化($\bar{x} \pm s$，细胞数/μl，$n=6$)

组别	嗜中性白细胞					单核巨噬细胞				
	1 天	3 天	7 天	14 天	30 天	1 天	3 天	7 天	14 天	30 天
正常对照组	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
碱烧伤组	342.62±106.43	113.51±26.32	59.23±21.17	11.21±7.26	4.35±1.13	15.67±6.82	72.34±12.15	198.85±76.28	103.15±17.81	7.32±1.37

表 3 碱烧伤后不同时间房水中 TNF－α、NO_2^-/NO_3^- 含量变化($\bar{x} \pm s$，ng/l，$\bar{x} \pm s$，mmol/l，$n=6$)

	组别	1 天	3 天	7 天	14 天	30 天
TNF－α	正常对照组	68.01±7.91	65.43±5.32	67.17±6.52	67.32±7.13	64.36±4.32
	碱烧伤组	132.65±8.92**	194.31±35.43**	217.19±41.12**	201.12±38.43**	70.18±8.21
NO_2^-/NO_3^-	正常对照组	25.47±3.01	24.81±2.06	26.14±1.02	25.69±0.35	25.01±0.57
	碱烧伤组	37.13±1.16*	46.32±3.28**	54.74±1.07**	48.13±2.13**	28.14±0.36

注：* $P<0.05$，** $P<0.01$，与对照组比较

术后眼内炎性反应情况：碱烧伤后不同时间各组房水内细胞总数如表 1 所示，可见从碱烧伤后第 1 天起房水内均有大量的细胞，2 周后逐渐减少；从表 2 可见，碱烧伤后中性白细胞第 1 天比例最高，以后逐渐减少，而单核巨噬细胞在碱烧伤后第 1 天开始增多，在第 7～14 天达高峰。而碱烧伤后第 7～14 天前房炎性反应最严重，此时房水混浊严重，Tyn (+++～++++)，房水中 TNF－α 及 NO_2^-/NO_3^- 含量最多(见表 3)。TNF－α 及 N_2^-/NO_3^- 含量变化与房水炎性细胞变化规律基本一致，即房水中单核巨噬细胞增多时，TNF－α、NO_2^-/NO_3^- 含量也相应增加，都在 7 天左右达高峰，在 30 天单核巨噬细胞数基本正常时，TNF－α、NO_2^-/NO_3^- 含量也基本恢复正常。

3 讨论

细胞因子 TNF－α 在炎症过程中发挥重要作用。细胞因子又称多肽生长因子，它是一类多功能强效的细胞生长调节因子，也是免疫和炎症反应的重要调节剂。TNF－α 是天然免疫和特异性免疫的重要介质，又是特异性炎症和免疫反应间联系的重要因子。TNF－α 主要由活化的单核巨噬细胞产生，并可刺激单核巨噬细胞合成白细胞介素(IL－1、IL－6、IL－8)，它能促进白细胞粘附，并直接增加血渗透性，炎性细胞侵入前房，蛋白质、前列腺素增加，对炎症细胞起着化学趋化作用，使白细胞到达炎症部位，引起白细胞趋化因子 IL－6、IL－8 的释放，进一步加重炎症反应[1]。碱烧伤后由于血房水屏障的破坏，大量炎细胞侵入前房，在烧伤后 7～14 天房水中单核细胞达高峰，活化的单核细胞分泌大量的 TNF－α，而本研究结果表明，碱烧伤后 7～14 天，房水中 TNF－α 的含量最高，与房水中单核巨噬细胞增多的时间基本一致，故我们认为单核巨噬细胞浸润可产生大量的 TNF－α，导致和加重术后眼内炎性反应。因此表明细胞因子 TNF－α 在碱烧伤后眼内炎性反应中作为炎性介质起到了一定的作用。

(下转第 485 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

同感染病种患者临床痊愈率分别为 64% 和 56%，有效率分别为 92% 和 88%，统计学处理均无显著性差异($P>0.05$)；不同菌种感染患者的临床痊愈率分别为 62.5% 和 58.82%，有效率分别为 91.67% 和 88.24%，统计学处理均无显著性差异($P>0.05$)；两组细菌消除率分别为 100% 和 100%；细菌阴转率分别为 100% 和 100%；纸片敏试结果表明加替沙星敏感率为 100%，左氧氟沙星为 95.12%，环丙沙星为 95.12%、司帕沙星为 92.68%、头孢噻肟为 97.56%，统计学处理无显著性差异($P>0.05$)。

本研究中，试验组有 8 例出现不良反应，主要表现为头晕、失眠、恶心、皮疹、轻度肝肾功异常、静脉炎等，不良反应发生率为 30.77%；对照组有 5 例出现不良反应，不良反应发生率为 20%。不良反应均较轻微。试验中未见光敏反应及其他严重不良反应。

本研究中，甲磺酸加替沙星的临床痊愈率较文献报道约低，可能与本研究样本含量相对较少和病例选择相对较重有关，但有效率和文献报道相近[1]。细菌的清除率与国内、外文献报道的对革兰阳性菌的清除率 95.9%、阴性菌清除率 89.7% 相近[2,3]。对葡萄球菌、链球菌、大肠杆菌、肺炎克雷伯菌及其他阴性杆菌均有良好的抗菌活性与文献报道结果相似[4]。不良反应发生率与国外文献报道结果相似[5]。

本研究结果表明，甲磺酸加替沙星葡萄糖注射液临床用于治疗由革兰阳性菌及阴性菌引起的中、重度感染，疗效确切，不良反应较轻。

参 考 文 献

[1] 许铁男. 新喹诺酮类抗菌剂 AM1155[J]. 国外医学抗生素分册，1998；19(4)：302－305.

[2] Piddock LV, Johnson M, Ricci V, et al. Activities of new fluoroquinolones against fluoroquinolone－resistant pathogens of the lower respiratory tract[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1998；42(11)：2956－2960.

[3] 杜 煜，郭惠元. 广谱、高效、低毒的新喹诺酮类抗菌药物加替沙星[J]. 国外医药抗生素分册，2001；22(1)：34－40.

[4] Wakabayashi E, Mitsuhashi S. In vitro antibacterial activity of AM－1155, a novel 6－fluoro－8－methoxy quinolone [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1994；38(3)：594－601.

[5] Banemfeind. A Comparison of the antibacterial activities of the quinolones Bay12－8039, gatifloxacin (AM1155), trovafloxacin, clinafloxacin, levofloxacin and ciprofloxacin[J]. J. Antimicrob Chemother, 1997；40：639－651.

* *

(上接第 481 页)

NO 在碱烧伤后眼内炎症反应中也起到了一定的作用。NO 参与机体组织功能的作用目前正受到关注。一般认为，在炎症时组织中诱生型 NOS 被激活，产生 NO 使血管扩张水肿，局部红斑，炎性渗出增加等。还有研究表明：大部分炎症或自身免疫病灶都有活化的巨噬细胞可以产生分泌大量的 NO 导致周围组织损伤[2]。有研究表明，利用 NO 合成酶抑制剂 N－硝基－L－精氨酸可明显减轻眼内炎性反应[3]。研究表明，随着炎性反应加重，单核巨噬细胞增多，相应的 NO_2^- /NO_3^- 含量也增高，说明 NO 在碱烧伤后眼内炎性反应中起着重要的作用。

因此，我们认为治疗眼前段碱烧伤可以从抑制细胞因子 TNF－α 和减少 NO 含量方面入手，利用相应的抑制剂，及时有效地减少其产生，减轻炎症反应，从而对提高疗效、减少并发症具有重要的临床意义。

参 考 文 献

[1] Fleisher LN, Ferrell JB, McGahan MC. Synergistic uveitic effects of tumor necrosis factor－alpha and interleukin－1 beta [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1992；33(7)：2120－2127.

[2] 蒋 波，楚正绪. 一氧化氮与炎症[J]. 国外医学生理·病理科学与临床分册，1998；18：44－47.

[3] Wang ZY, Hakanson R. Role of nitric oxide(NO) in ocular inflammation[J]. Br J Phammcol, 1995；116：2447－2450.