

血浆中利伐沙班的浓度。因此,本文在综合以上参考文献报道的基础上加以改良,应用 HPLC-MS/MS 法检测利伐沙班血药浓度,为后续临床研究奠定基础。

本研究在预试验过程中,参考相关文献报道<sup>[4-5]</sup>,选择不同比例的乙腈、甲醇和甲酸水溶液为流动相,结果表明采用乙腈:水(30:70)用甲酸调节 pH 至 3.0,色谱峰峰形良好,响应值高。在血浆提取方法上,固相萃取法<sup>[1]</sup>成本高且操作较繁琐而本试验直接采用乙腈沉淀血浆蛋白的方法操作简单且灵敏度可满足要求。此外,由于盐酸氨溴索与利伐沙班具有相似的色谱特性,本试验选用盐酸氨溴索作为内标物,在分离度以及保留时间方面均优于文献报道的茶苯海明<sup>[6]</sup>。

本试验所建立的 HPLC-MS/MS 法测定利伐沙班血药浓度,简便、快速、准确,适用于临床常规监测和药动学研究。

#### 参考文献

[1] elebier M, Reber T, Koak E, et al. Determination of Rivaroxaban in Human Plasma by Solid-Phase Extraction-High Performance Liquid Chromatography [J]. J Chromatogr Sci, 2015, 54

(2): 216-220.

[2] Lagoutte-Renosi J, Le Poupon J, Girard A, et al. A simple and fast HPLC-MS/MS method for simultaneous determination of direct oral anticoagulants apixaban, dabigatran, rivaroxaban in human plasma [J]. J Chromatogr B, 2018, 1100-1101: 43-49.

[3] Shaikh K, Mungantiwar A, Halde S, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for determination of rivaroxaban in human plasma and its application to a pharmacokinetic study [J]. Eur J Mass Spectrom, 2019 (9): 1-15.

[4] Matos D P B, Rentas S L, Fernandes D A V, et al. Determination of rivaroxaban in patient's plasma samples by anti-Xa chromogenic test associated to High Performance Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry (HPLC-MS/MS) [J]. PLoS One, 2017, 12 (2): e0171272.

[5] Rohde G. Determination of rivaroxaban-a novel, oral, direct Factor Xa inhibitor-in human plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2008, 872: 43-50.

[6] 朱逢佳,沈琦,黄越,等.利伐沙班在老年非瓣膜性房颤患者中的药动学研究[J].中国现代应用药理学,2016,23(8): 978-981.

#### • 基础研究 •

## IL-10 对脓毒症大鼠心肌损伤保护作用的实验研究

福建省肿瘤医院 ICU (福州 350014) 翁金森 林静萍 叶 勇<sup>1</sup> 黄洁萍<sup>2</sup> 林 艳 王 锋<sup>3</sup> 刘景福

**【摘要】目的** 探讨 IL-10 对脓毒症大鼠心肌损伤保护作用及其机制。**方法** 48 只 SD 大鼠随机分为假手术组(sham 组)、模型对照组(CLP 组)和 IL-10 干预组各 16 只。采用盲肠结扎穿刺法(CLP)造模。IL-10 干预组于造模成功后 0.5 h 经尾静脉注入重组人 IL-10 1 μg,术后 12、24 h 用 ELISA 法检测血浆中 TNF-α、IL-1 及 cTnI 的含量,术后 24 h 取大鼠心肌组织,用 Tunel 法检测心肌细胞凋亡。**结果** 脓毒症大鼠血浆中 TNF-α、IL-1 及 cTnI 表达明显增多,并于 12 h 达高峰;IL-10 干预组术后 12、24 h 血浆中 TNF-α、IL-1 及 cTnI 表达较 CLP 组明显降低 ( $P < 0.01$ )。IL-10 干预组术后 24 h 心肌细胞凋亡明显高于 sham 组,但低于 CLP 组 ( $P < 0.05$ )。**结论** 脓毒症可诱导大鼠 TNF-α、IL-1 的表达,导致其心肌损伤的发生,cTnI 表达的上调,使大鼠心肌细胞的凋亡增加;IL-10 可通过下调脓毒症大鼠 TNF-α、IL-1 表达,减轻炎症反应,减少心肌细胞损伤及凋亡,从而保护心肌组织。

**【关键词】** IL-10; 脓毒症心肌损伤; TNF-α; IL-1; cTnI; 细胞凋亡

**【中图分类号】** R542.2 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2019)06-0148-03

脓毒症是由细菌、创伤等因素引发并导致的全身炎症反应综合征,常引起多器官功能障碍(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)及机体的内环境紊乱。据报道,全球每年新发脓毒症患者约 3 150 例,其中死亡约 530 万例。据我国流行病学调查显示,ICU 患者的脓毒症患病率为 37.3%。脓毒症不仅是 ICU 患者主要死亡因素之一,而且严重影响存活脓毒症患者的远期生活质量。心肌损伤及继发的功能不全为脓毒症严重的并发症之一,具有高发病率、

高致死率的特点,对人类的健康造成严重的危害。脓毒症心肌损伤机制复杂,目前普遍认为炎症反应是脓毒症心肌损伤的一个重要因素。研究发现,TNF-α、IL-1 等多种炎症因子参与了心肌损伤<sup>[1]</sup>。IL-10 是一种重要的细胞因子,其主要功能为限制及终止炎症反应,即通过抑制 TNF-α 及 IL-1 等炎症因子的分泌从而对炎症反应有抑制作用<sup>[2]</sup>;但 IL-10 对脓毒症心肌损伤的影响尚不清楚。本研究建立大鼠脓毒症模型,经尾静脉注射 IL-10,采用 ELISA 法检测大鼠血浆 TNF-α、IL-1 及 cTnI 含量,Tunel 法检测其心肌细胞凋亡情

1 通信作者,副主任医师,Email: wjs5227705@sina.com.cn; 2 福建医科大学附属协和医院急诊内科; 3 福建医科大学神经生物学中心

况。探讨 IL-10 对脓毒症心肌损伤的保护作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料：**健康雄性 Sprague-Dawley 大鼠 48 只，体质量 250~280 g，由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供，许可证号 [SYXK (闽) 2015-0007]。重组人 IL-10 (Promega USA)，TNF- $\alpha$ 、IL-1 及 cTnI ELISA 试剂盒购于深圳晶美生物有限公司 (rapidbio 公司)；TUNEL 试剂盒为 Roche 公司产品。

## 1.2 方法：

**1.2.1 动物分组和建模：**48 只 SD 大鼠随机分为假手术组 (sham 组)、模型对照组 (CLP 组) 和 IL-10 干预组各 16 只，3 组大鼠均按造模成功后观察时间点不同随机分为 12、24 h 2 个亚组各 8 只。大鼠室温饲养，自由进食和饮水。采用盲肠结扎穿刺法建立脓毒症大鼠模型<sup>[3]</sup>，假手术组仅翻动盲肠后关腹，IL-10 干预组于造模成功后 0.5 h，经尾静脉注入重组人 IL-10 1  $\mu$ g，术中大鼠用小加热毯保持肛温 37  $^{\circ}$ C。  
**1.2.2 ELISA 法检测血浆中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 及 cTnI：**各组大鼠在造模成功后 12、24 h 2 个时间点，以 2.5% 戊巴比妥钠麻醉后，从大鼠右心室取血 5 mL，加入 EDTA 抗凝管，2 000 r/min 离心 20 min，取上清液按试剂盒说明书要求检

测 TNF- $\alpha$ 、IL-1 及 cTnI 水平。

**1.2.3 TUNEL 法测定心肌细胞凋亡指数：**造模成功后 24 h，取血的同时取心脏组织，以 4% 多聚甲醛溶液固定后制作石蜡切片，用 TUNEL 试剂盒进行心肌细胞的凋亡检测，具体操作按说明书进行。染色后每张切片随机选取 10 个高倍视野，计算凋亡细胞核与总细胞核之比即为心肌细胞凋亡指数 (AI)。

**1.3 统计学分析：**采用 SPSS 22.0 统计软件分析。实验数据以均数 $\pm$ 标准差表示，组内不同观察点比较采用单因素方差分析，组间比较用  $t$  检验， $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 大鼠血浆 TNF- $\alpha$ 、IL-1 及 cTnI 水平：**CLP 组各指标在造模成功后开始增高，12 h 达高峰，明显高于 Sham 组，( $P$  均  $< 0.01$ )；24 h 较前有所下降，但仍高于 Sham 组，( $P$  均  $< 0.01$ )；IL-10 干预组与 CLP 组比较，各指标的升高程度较 CLP 组低，12、24 h 两个观察点亚组比较差异有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.01$ )；IL-10 干预组中各个观察指标的升高趋势与 CLP 组一致，且均高于 Sham 组 ( $P$  均  $< 0.01$ )。具体见表 1。

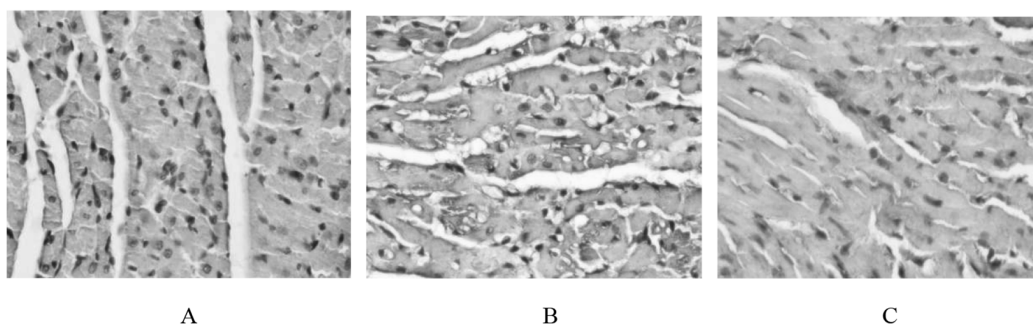
表 1 造模成功后各组大鼠不同时间点血浆中各指标水平 ( $n=8$ ,  $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)

组别	TNF- $\alpha$		IL-1		cTnI	
	12 h	24 h	12 h	24 h	12 h	24 h
Sham 组	45.75 $\pm$ 5.14	40.11 $\pm$ 6.28	34.02 $\pm$ 4.21	30.98 $\pm$ 3.56	36.93 $\pm$ 4.24	33.18 $\pm$ 4.06
CLP 组	350.51 $\pm$ 33.91* <sup>#</sup>	284.82 $\pm$ 25.13* <sup>#</sup>	225.68 $\pm$ 31.54* <sup>#</sup>	160.67 $\pm$ 25.47* <sup>#</sup>	289.37 $\pm$ 37.59* <sup>#</sup>	229.42 $\pm$ 28.79* <sup>#</sup>
IL-10 干预组	269.18 $\pm$ 27.92*	195.05 $\pm$ 28.69*	171.13 $\pm$ 25.77*	121.30 $\pm$ 25.92*	192.38 $\pm$ 30.83*	158.23 $\pm$ 29.43*

注：与 Sham 组比较，\*  $P < 0.01$ ；与 IL-10 干预组比较，<sup>#</sup>  $P < 0.01$ 。

**2.2 心肌细胞凋亡指数情况：**由图 1 可见正常的细胞核呈蓝色，TUNEL 阳性细胞即细胞核呈棕褐色染色。造模成功后 24 h，Sham 组心肌细胞的凋亡率 [ $(1.96 \pm 0.44)\%$ ] 较低，CLP 组的凋亡率 [ $(21.52 \pm 4.14)\%$ ] 较 Sham 组明显

增高 ( $P$  均  $< 0.01$ )，IL-10 干预组心肌细胞的凋亡率 [ $(17.25 \pm 3.61)\%$ ] 较 CLP 组减少 ( $P < 0.05$ )，但仍高于 Sham 组 ( $P < 0.01$ )。见图 1。



注：A、B、C 分别为造模成功后 24 h 的 Sham 组、CLP 组、IL-10 干预组的心肌细胞凋亡情况

图 1 心肌细胞凋亡图谱 (SP  $\times 400$ )

## 3 讨论

脓毒症是由严重的感染、创伤等引起的一种全身炎症反应综合征，也是诱发 MODS 和脓毒症休克的重要原因<sup>[4]</sup>。心脏是脓毒症最常受累的器官之一，脓毒症患者会出现心功

能不全。心脏实质细胞的损伤是心功能不全发生的主要原因，故改善患者心功能，降低其死亡率显得尤为重要。既往研究表明，炎症因子表达参与了脓毒性心肌损伤的全过程<sup>[5]</sup>。

(下转第 162 页)

表 1 两组患者对门诊候诊环境的满意度比较 (例)

组别	例数	满意	基本满意	不满意	满意度/%
音乐候诊组	653	310	314	29	82.47
对照组	519	91	337	91	95.56
Z 值					-10.043
P 值					<0.001

### 3 讨论

随着人民生活水平的提高和医疗行业的发展,患者对整体就诊体验,尤其是医疗环境的要求也在不断提高,当下医院的形象树立已从单纯的医疗技术水平转向技术、环境、体验的综合评价。因此,从全方位、细致的方面不断提高医疗环境管理水平,为患者带来舒适、满意的就诊体验是现阶段的医疗机构规划重点<sup>[8]</sup>。从南丁格尔时代开始,音乐对患者产生的影响就已经受到关注,如今背景音乐的应用正日益受到各级卫生行政部门和医疗机构的重视,如中华医院管理学会在推行“绿色医疗环境”中,明确提倡播放背景音乐。我院响应中华医院管理学会和各级卫生部门的号召,在门诊候诊区域引入背景音乐投放系统,力求改善门诊患者的候诊环境。首先在内科门诊开展背景音乐投放,并进行问卷调查研究,结果显示,音乐候诊组对就诊环境的满意度为 95.56%,明显高于对照组(82.47%)。投放背景音乐后投诉发生率由 3.2% 下降至 1.7%。研究表明,优美悦耳的音乐环境能够调节人的心境,使植物神经系统兴奋性减弱,心率减慢、稳定,达到镇静、解压的效果<sup>[9]</sup>。柔美、舒缓的音乐还能促进身体内脑啡肽的分泌,改善人们的情绪,舒缓病痛的影响,分散患者的注意力,使人感到安静、轻松和愉快<sup>[10]</sup>。通过内科门诊在患者等候就诊期间循环播放轻音乐并穿插播放就诊须知,既舒缓患者的候诊情绪、安抚其等待

过程中的焦急心情,又能以音乐为载体传递就诊注意事项,扩大健康教育知识覆盖面,提升患者就诊满意度,降低投诉发生率,值得在全院各候诊区域推行。

### 参考文献

- [1] 冯敏芳. 差异化健康教育对内科门诊候诊患者就诊依从性及满意度的影响 [J]. 中国农村卫生事业管理, 2017, 37 (2): 196-198.
- [2] 陈旻洁, 张红, 施颖华, 等. 大型综合医院优化门诊服务人员配置的实践与探讨 [J]. 中国卫生质量管理, 2017, 24 (5): 41-43.
- [3] 安洪庆, 李伟, 孔雨佳, 等. 基于倾向指数匹配法的城乡居民候诊时间差异性评价研究 [J]. 中国卫生统计, 2015, 32 (6): 1037-1039.
- [4] 秦鑫, 康健, 金虹, 等. 医院建筑候诊区声环境患者满意度评价体系设计研究 [J]. 华中建筑, 2011, 29 (8): 58-60.
- [5] 武静, 金帅. 五行音乐疗法对情志调节疏导的影响 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2015, 13 (7): 13-14.
- [6] 牛智慧. 运用音乐治疗, 训练重度自闭症儿童的注意力 [J]. 现代特殊教育, 2016 (3): 65-66.
- [7] 彭金歌, 郭滨, 沙文青, 等. 基于 EEG 的音乐舒缓紧张情绪的研究 [J]. 长春理工大学学报: 自然科学版, 2019, 42 (1): 110-116.
- [8] 顾静怡, 殷晓莉. 背景音乐在医院中的应用 [J]. 心理医生月刊, 2012 (9): 372-373.
- [9] 陈利佳, 王少清. 音乐生物反馈疗法对维持性血液透析患者失眠及血压变异性的影响 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2019, 20 (1): 62-64.
- [10] 滕金艳, 李志刚, 白妍, 等. 音乐电针对抑郁模型大鼠下丘脑和结肠黏膜  $\beta$ -内啡肽含量的影响 [J]. 世界中西医结合杂志, 2013, 8 (4): 348-350.

(上接第 166 页)

重代谢紊乱, 或者并发严重的不可逆的靶器官损害, 如糖尿病性心肌病, 糖尿病肾病, 抑或是糖尿病性视网膜病变时, 再也不能像正常人一样生活了, 他还能如此从容吗? 住院期间, 我苦口婆心地对病人进行糖尿病健康教育, 希望提高他对糖尿病的认知和自我管理意识, 让并发症来得晚一些, 提高他的生活质量, 延长他的寿命, 这也许是我当时能为他做的。

在熙熙攘攘、持续流动着人情冷暖的病房里, 每天都在不断上演着生老病死的故事。随着老龄化进程的不断加快, 国家保障全民健康的负担也在不断加重, 也由此耗费了国家大量的医保资源, 很多家庭因病致贫、因病返贫。现慢性病治疗手段仍然十分有限, 我们在治病救人的同时, 更要注重预防疾病。上医治未病, 而非已病。习近平总书记强调: “预防疾病是最经济最有效的健康策略。”

早期对病人进行健康教育, 就可以让老百姓对疾病有更科学的认识, 从而提高疾病的知晓率, 降低致残率、死亡率, 挽救更多的病人和家庭。试想, 如果刘某瓣膜受累早期就行手术治疗, 心脏就不会发展到目前这种不可逆的损害程度。儿子健康, 刘老伯就能老有所依, 过上相对幸福的晚年

生活。可惜他们错过了有效的治疗机会, 任由疾病把他们一步步推向生活的困境。如果李某从小就有科学健康的生活理念, 合理膳食, 科学运动, 就能延缓糖尿病的发生, 不会在这么好的年纪患上糖尿病, 国家也可以减少后续的医保费用, 减轻社会的经济负担。

开展健康知识宣教活动, 引导人们建立科学的生活方式, 应该要从娃娃抓起。例如学校可以开展一些健康知识讲座, 给孩子们普及一些医学常识, 让他们从小养成健康的生活习惯, 成为自身健康管理的第一人, 这些都是我们医生守护健康、为全面小康所担负的责任。正如习近平总书记指出的: “没有全民健康, 就没有全面小康。”

总之, 要实现健康中国, 一是普及疾病预防常识, 提高群众健康素养; 二是建立完善大病保险制度, 提高大病保险保障水平。相信在党和政府的领导下, 在全社会的共同努力下, 健康中国的目标一定会实现!

### 参考文献

- [1] 葛均波, 徐永健, 王辰. 内科学 [M]. 第 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 725.