

显抑制作用($IC_{50} \approx 0.123 \mu\text{g/ml}$),提示该化合物可通过抑制 T 淋巴细胞活化而可阻断后续的免疫-炎症效应。表皮角质形成细胞是炎症性皮肤病局部治疗的直接靶细胞。结果表明,高浓度组($>0.78 \mu\text{g/ml}$)对 HaCaT 角质形成细胞增殖有明显影响,而低浓度组($\leq 0.78 \mu\text{g/ml}$)的直接影响较小,亦提示此浓度是后续细胞因子试验的上限浓度。TNF- α 是皮肤免疫和炎症过程中具有重要作用的初级细胞因子,与其他细胞因子相互促进与抑制,形成一个自我维持的炎症过程,并且能诱导角质形成细胞分泌 IL-8,触发皮损局部的免疫炎症反应^[6]。IL-8 是多功能性趋化因子,可诱导中性粒细胞趋化,促进 HaCaT 细胞增殖,同时还能促进其他细胞因子的产生。本研究中,静息状态的 HaCaT 细胞在外源性 rhTNF- α 和 312nm UVB 刺激下,IL-8 和 TNF- α 产生分别增加数倍和数十倍,盐酸 13-己基小檗碱能明显抑制它们的产生(IC_{50} 分别为 0.13 和 $0.21 \mu\text{g/ml}$),提示该作用可能是化合物抗炎作用的重要环节。体内 IL-1 β 主要由活化的单核-吞噬细胞产生,通过活化 NF- κB 等途径促进 T 细胞与血管内皮细胞间的黏附,导致 T 细胞溢出血管进入皮肤,同时它也是白细胞的强趋化剂。盐酸 13-己基小檗碱在 $0.01 \sim 1.00 \mu\text{g/ml}$ 浓度范围对小鼠腹腔巨噬细胞 IL-1 β 产生的抑制率超过 50%,进一步反映了该化合物通过抑制炎症介质的产生而发挥抗炎效应的特征。

本研究中用于对照研究的他克莫司为大环内酯类新型免疫抑制剂,具有免疫抑制和抗炎作用,在治疗特应性皮炎和银屑病等炎症性皮肤病中有确切疗效^[7,8]。雷公藤在临床治疗严重型银屑病等疾病具有特色,雷公藤内酯醇是雷公藤抗炎免疫活性的代表化合物。以上两种药在本研究中的阳性结果进一步

证实了它们的功效。通过抑制 IL-8、TNF- α 和 IL-1 β 的产生,继而可影响炎症细胞聚集等皮肤炎症后续事件,表明了盐酸 13-己基小檗碱具有治疗炎症性皮肤病的潜力。该化合物为非甾体结构,其对激素依赖性皮炎具有特殊意义,我们以往的研究已经证实该化合物对 NF- κB 信号途径的活化有明显的干预作用,有关它的抗炎机制的深入研究正在进行之中^[4]。

(志谢:中国药科大学李耐三教授提供研究样品,在此表示感谢)。

参考文献

- O'Neill LA. Targeting signal transduction as a strategy to treat inflammatory diseases[J]. Nat Rev Drug Discov, 2006, 5(7): 549-563
- Albanesi C, Scarponi C, Giustizieri ML, et al. Keratinocytes in inflammatory skin diseases [J]. Curr Drug Targets Inflamm Allergy, 2005, 4(3): 329-334
- 吴建兵,李新宇,郑家润,等.小檗碱衍生物 HB-13 体外抗单纯疱疹病毒的研究[J]. 中华皮肤科杂志, 2007, 40(11): 671-673
- 姜辉,李新宇,涂红琴,等. HB-13 和 HP-13 对 HaCaT 细胞 NF- κB 活化和 p38MAPK 磷酸化的影响[J]. 中华皮肤科杂志, 2009, 42(5): 339-342
- Kastelan M, Massari LP, Pasic A, et al. New trends in the immunopathogenesis of psoriasis [J]. Acta Dermatovenereol Croat, 2004, 12(1): 26-29
- 李新华,张开明,刘玉峰. 肿瘤坏死因子 α 对银屑病患者角质形成细胞白介素 8 产生的影响[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2005, 25(12): 992
- Wollenberg A, Reitamo S, Girolomoni G, et al. Proactive treatment of atopic dermatitis in adults with 0.1% tacrolimus ointment [J]. Allergy, 2008, 63(7): 742-750
- Carroll CL, Clarke J, Camacho F, et al. Topical tacrolimus ointment combined with 6% salicylic acid gel for plaque psoriasis treatment [J]. Arch Dermatol, 2005, 141(1): 43-46 (收稿:2012-04-10)

(修回:2012-04-19)

儿童 OSAHS 患者氧化应激状态的研究

严杨艳 刘国钧 凡启军 林发明 项松洁 蒋昌灿 倪丽艳

摘要 目的 通过研究血浆 8-异前列腺素(8-iso-PGF_{2 α})在阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)患儿中的变

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(Y2110277);浙江省科技厅科研项目(2008C33011);温州市科技局社会发展科学研究项目(Y20080136)

作者单位:325027 温州医学院附属第二医院耳鼻咽喉科

通讯作者:倪丽艳,主任医师,硕士生导师,电子信箱:nily2001@126.com

化探讨 OSAHS 的病理生理机制。**方法** 儿童 OSAHS 患者 51 例,健康对照组 24 例,采用酶联免疫吸附法(ELISA 法)检测两组研究对象血浆 8-iso-PGF_{2α} 水平并进行比较分析。**结果** 儿童 OSAHS 组血浆 8-iso-PGF_{2α} 水平升高($2.5 \pm 0.9 \mu\text{g/L}$),与健康对照组比较有统计学意义($t = -4.639, P < 0.01$);OSAHS 儿童组血浆 8-iso-PGF_{2α} 水平与其呼吸暂停低通气指数(AHI)、最低血氧饱和度 SaO₂(%)、睡眠呼吸障碍事件最长时间(s)、睡眠呼吸障碍事件总时间占睡眠时间百分比(%) 在数量上存在依存关系,具有统计学意义($r^2 = 0.150, P < 0.01$; $r^2 = 0.198, P < 0.01$; $r^2 = 0.217, P < 0.01$; $r^2 = 0.272, P < 0.01$);且儿童 OSAHS 组,其血浆 8-iso-PGF_{2α} 及 AHI 与其伴随的变应性鼻炎呈相关性($\chi^2 = 4.173, P < 0.05$; $\chi^2 = 10.311, P < 0.05$),与夜间憋醒、咽痛、扁桃体肥大、腺样体肥大无明显相关性(P 均 > 0.05)。**结论** 氧化应激水平的升高在 OSAHS 患儿发病中起重要作用,而变应性鼻炎更加重 OSAHS 的发生及体内氧化应激水平。

关键词 儿童 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征 变应性鼻炎 8-异前列腺素 F_{2α} 氧化应激

Research of Oxidative Stress State in Children with OSAHS. Yan Yangyan, Liu Guojun, Fan Qijun, Lin Faming, Xiang Songjie, Jiang Changcan, Ni Liyan. Department of Otorhinolaryngology, The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325027, China

Abstract Objective To explore the pathophysiology mechanism of obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome (OSAHS) by researching the changes of plasma 8-iso-prostaglandin F_{2α} (8-iso-PGF_{2α}) level in children with OSAHS. **Methods** All observed subjects were divided into 2 groups: control group ($n = 24$), OSAHS group ($n = 51$). Plasma 8-iso-PGF_{2α} levels were measured by ELISA and were compared. **Results** The plasma 8-iso-PGF_{2α} level were higher in OSHAS children than those in control subjects ($2.5 \pm 0.9 \mu\text{g/L}$ vs $1.6 \pm 0.6 \mu\text{g/L}, t = -4.639, P < 0.01$). Also, there was a dependent relationship between plasma 8-iso-PGF_{2α} level and AHI, SpO₂ nadir(%), the longest time of sleep disordered breathing(s), the percentage of time take place sleep disordered breathing event(%) in OSAHS group ($r^2 = 0.150, P < 0.01$; $r^2 = 0.198, P < 0.01$; $r^2 = 0.217, P < 0.01$; $r^2 = 0.272, P < 0.01$). In children with OSAHS, there was a correlation between plasma 8-iso-PGF_{2α} level and AHI in the patients with allergic rhinitis ($\chi^2 = 4.173, P < 0.05$; $\chi^2 = 10.311, P < 0.05$), but no statistically significant between plasma 8-iso-PGF_{2α} level and awake at night, pharyngalgia, hypertrophy of tonsils, adenoid hypertrophy. **Conclusion** The increased oxidative stress level has a significant role in children with OSAHS, and allergic rhinitis further aggravated the happen of OSAHS and oxidative stress level in vivo.

Key words Child; Obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome; Allergic rhinitis; 8-iso-PGF_{2α}; Oxidative stress

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome, OSAHS)是儿童时期较为常见的疾病,其发病率约为 1%~3%,是导致儿童心血管疾病和神经认知功能障碍的重要因素,但有关 OSAHS 的发病及最终导致各种严重并发症的发生机制至今尚未完全明确^[1-3]。近年来有研究显示,OSAHS 患者除了存在全身改变,还存在气道局部的炎症和氧化应激状态改变^[4]。8-iso-PGF_{2α} 是近年来新发现的具有生物活性的一类拟前列腺素物质。在体内,8-iso-PGF_{2α} 的合成不依赖环氧酶催化,在体液内含量非常稳定,故被认为是判断活体内自由基氧化强度和临床上作为评价抗氧化疗效的最理想的生化指标^[5]。国外有报道儿童 OSAHS 患者呼出气冷凝液中 8-iso-PGF_{2α} 水平升高,并且可以确切地反应疾病的严重程度,而儿童血浆 8-iso-PGF_{2α} 水平与 OSAHS 氧化应激及炎症的关系,国内外尚未见报道^[6]。为此本研究选取 8-iso-PGF_{2α} 作为氧化应激反应标志物,观察 51 例儿童 OSAHS 患者及 24 例健康对照组体内 8-iso-PGF_{2α} 水平,并对 OSAHS 组患

儿睡眠呼吸监测指标及各临床合并症进行相关性分析,进一步探讨氧化应激、炎症在 OSAHS 中所扮演的角色。

资料与方法

1. 一般资料:选择 2011 年 1~10 月就诊于笔者医院耳鼻咽喉科以夜间睡眠打鼾为主要症状的 OSAHS 患者 51 例,儿童 OSAHS 的诊断依据参照 2007 年乌鲁木齐 OSAHS 专题会议制定的儿童 OSAHS 诊疗指南草案及蔡晓岚等报道的诊断标准^[7,8]。儿童 OSAHS 患者 51 例,其中男性 22 例,女性 29 例,年龄 5~13 岁,平均年龄 7.5 岁;体重指数(BMI)平均为 17.5kg/m^2 ;病程 2~84 个月,平均病程 32 个月。其中合并变应性鼻炎 20 例,夜间憋醒 16 例,咽痛 24 例,肥胖 2 例。儿童变应性鼻炎诊断依据参照儿童变应性鼻炎诊断和治疗指南(2010 年,重庆)^[9]。腺样体肥大堵塞后鼻孔达 2/3 以上的 48 例,扁桃体肥大 51 例,其中左侧Ⅲ度肿大 4 例,Ⅱ度肿大 44 例,Ⅰ度肿大 3 例,右侧Ⅲ度肿大 3 例,Ⅱ度肿大 44 例,Ⅰ度肿大 4 例,腺样体+扁桃体肥大 48 例。选择同期健康体检者 24 例作为健康对照组,其中男性 15 例,女性 9 例,年龄 5~14 岁,平均年龄 7.6 岁,BMI 平均为 16.5kg/m^2 ;其体检指标均正常。所有入选对象均除外感染性疾病、肝肾疾病、风湿免疫疾病、脑血管疾病、恶性肿瘤、糖尿病及冠心病等引起体内血浆

8 - iso - PGF_{2α} 升高的疾病及重要脏器的疾病。且近期 6 个月无创伤手术史。上述两组间年龄和 BMI 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 并除外饮食及药物等干扰因素。

2. 检测方法: 用美国伟康公司 Alice5 多导睡眠连续监测研究对象至少 7h 睡眠, 包括脑电图、口鼻气流、血氧饱和度、胸腹呼吸运动、眼电图、监测仪和下颌肌电图、体位及胫前肌肌电图; 记录并计算下列指标: 睡眠呼吸暂停低通气指数 (AHI), 睡眠呼吸障碍事件时最低 SaO₂、睡眠呼吸障碍事件最长时间, 睡眠呼吸障碍事件总时间占睡眠时间百分比。所有研究对象均在睡眠监测结束、晨醒 10min 内抽取空腹静脉血 2ml, 3000r/min (4℃, 15min), 分别分离血清及血浆, -70℃ 低温保存, 应用酶联免疫吸附法测定血浆 8 - iso - PGF_{2α} 含量。试剂盒购于美国 Cayman 公司。操作步骤严格按照试剂盒要求进行, 根据标准样品定出的吸光度 (A) 值绘出标准曲线, 并采用曲线拟合法求出直线回归方程, 再根据各待测样本的 (A) 值计算出相应标本的 8 - iso - PGF_{2α} 含量。

3. 统计学方法: 应用 SPSS 20.0 统计软件进行数据处理。样本含量用 n 表示, 计量资料符合正态分布用均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 计数资料用百分比或率 (%) 描述。采用 Kolmogorov - Smirnov 检验分析数据是否符合正态分布, Levene 检验分析方差齐性。两组间比较方差齐, 采用两样本的 t 检验, 方差不齐, 采用近似 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。双变量相关分析, 两组数据间关系都表现为直线形式, 采用

直线相关分析, 不是直线形式, 采用曲线拟合方法来刻画两变量间数量上的依存关系。儿童 OSAHS 组各临床合并症与血浆 8 - iso - PGF_{2α} 水平及 AHI 值比较采用 Logistic 回归分析。

结 果

1. 对照组与儿童 OSAHS 组血浆 8 - iso - PGF_{2α} 水平比较: 对照组与 OSAHS 组血浆 8 - iso - PGF_{2α} 水平分别为 $1.6 \pm 0.6 \mu\text{g/L}$ 、 $2.5 \pm 0.9 \mu\text{g/L}$, Levene 检验两组方差不齐, 假设检验时统计量选择近似 t 值, OSAHS 组较对照组明显升高 ($t = -4.639, P < 0.01$)。

2. 儿童 OSAHS 组血浆 8 - iso - PGF_{2α} 与其睡眠呼吸监测各项指标相关分析: 儿童 OSAHS 组血浆 8 - iso - PGF_{2α} 分别与 AHI、最低 SaO₂ (%)、睡眠呼吸障碍事件最长时间 (s)、睡眠呼吸障碍事件总时间占睡眠时间百分比 (%) 间关系都表现为非直线相关, 采用曲线拟合分析各组数据, 均具有统计学意义 ($r^2 = 0.150, P < 0.01$; $r^2 = 0.198, P < 0.01$; $r^2 = 0.217, P < 0.01$; $r^2 = 0.272, P < 0.01$)。

3. 儿童 OSAHS 组血浆 8 - iso - PGF_{2α} 及 AHI 与变应性鼻炎、夜间憋醒、咽痛两两比较采用二项分类 Logistic 回归, 与扁桃体肥大、腺样体肥大两两比较采用多项分类 Logistic 回归, 具体结果见表 1。

表 1 OSAHS 组血浆 8 - iso - PGF_{2α} 及 AHI 与各合并症状的比较分析

指标	n	变应性鼻炎		夜间憋醒		咽痛		扁桃体肥大		腺样体肥大	
		χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P
8 - iso - PGF _{2α}	51	4.173	<0.05	1.512	>0.05	0.017	>0.05	1.185	>0.05	6.573	>0.05
AHI	51	10.311	<0.05	1.221	>0.05	1.580	>0.05	3.841	>0.05	3.207	>0.05

讨 论

儿童 OSAHS 是一种发病率高、对儿童生长发育潜在危害性大的疾病, 而其在流行病学、病因学、病理生理、临床表现、诊断及治疗等方面均与成人有着显著的差异, 是一个独立的临床综合征^[10]。OSAHS 的主要特点为反复缺氧和高碳酸血症, 若不及时诊断治疗则容易造成多器官、多系统的损害, 从而引发一系列的症。但其机制尚不完全明确。多项研究证明 OSAHS 存在氧化应激状态及炎症因子的产生, 这为深入研究 OSAHS 提供了新的见解^[4]。8 - iso - PGF_{2α} 是活性氧损伤细胞膜脂质花生四烯酸使其发生脂质过氧化而形成的稳定的终末产物, 由自由基损伤细胞膜脂质花生四烯酸发生脂质过氧化而产生, 是拟前列腺素类物质中含量最多、性质最稳定的一种具有生物活性的拟前列腺物质, 其结构稳定, 特异性强, 能

灵敏地反应体内氧化应激水平, 并且已在人类的各种体液中测定: 血浆, 尿液, 脑脊液, 心包积液、肺泡灌洗液以及呼吸器冷凝液, 并公认为是评价氧化应激和脂质过氧化反应理想的生物指标^[11-14]。

本研究结果显示 OSAHS 儿童患者血浆中 8 - iso - PGF_{2α} 水平明显高于正常对照者。这与 Biltaqi 等^[6]研究结果一致, 表明儿童 OSAHS 氧化应激水平增强, 但其机制尚未明确阐述, 有学者推测这是由于 OSAHS 慢性间歇性低氧导致低氧 - 复氧过程反复发作, 反复的低氧 - 复氧过程类似于缺血 - 再灌注损伤, 可产生大量活性氧 (ROS), 从而引起机体氧化应激状态的改变。此外, 本研究还发现 OSAHS 儿童患者血浆 8 - iso - PGF_{2α} 水平与 AHI、最低 SaO₂ (%)、睡眠呼吸障碍事件最长时间 (s)、睡眠呼吸障碍事件总时间占睡眠时间百分比 (%) 存在一定的相关性。说

明 8-iso-PGF_{2α} 作为氧化应激的标志物与 OSAHS 儿童患者的各项睡眠监测指标密切相关,其水平的高低可以间接反映 OSAHS 的病情和缺氧程度,在一定程度上可以辅助 OSAHS 病情程度的临床诊断。

对 OSAHS 儿童患者血浆 8-iso-PGF_{2α} 水平及 AHI 与各合并症状进行相关性分析发现,OSAHS 儿童伴有变应性鼻炎症状者,其血浆 8-iso-PGF_{2α} 及 AHI 高于无变应性鼻炎的 OSAHS 儿童患者,而与 OSAHS 患儿伴随的夜间憋醒、咽痛、扁桃体肥大、腺样体肥大无明显相关性,提示变应性鼻炎可以加重 OSAHS 的发生,亦可以加重体内氧化应激反应,但具体是变应性鼻炎加重睡眠呼吸暂停的发生,从而进一步加重氧化应激反应,还是变应性鼻炎同时促进睡眠呼吸暂停及体内氧化应激反应,尚不能确定。

有学者认为炎症可以引起血管内皮受损,使一氧化氮(NO)功能下降失活并被分解释放大量的活性氧,加重氧化应激,表现为体内 8-iso-PGF_{2α} 含量增加。而氧化应激又可激活氧化还原敏感的转录因子-κB(NF-κB)、激活蛋白-1(AP-1)而增加致炎基因的转录,导致致炎因子释放增加,加剧炎症反应。因而,伴有变应性鼻炎的 OSAHS 儿童患者其氧化应激水平较无变应性鼻炎的 OSAHS 儿童患者高。尚有学者认为,儿童变应性鼻炎的白天症状与睡眠呼吸障碍(sleep-disordered breathing, SDB)有关。而 OSAHS 是儿童 SDB 中最严重的疾病。长期以来都认为鼻炎是儿童患 OSAHS 的一个危险因素,尤其是变应性鼻炎。有变应性鼻炎的儿童睡眠障碍的概率比其他正常儿童要高出 3 倍。可见,变应性鼻炎本身可作为导致诱发儿童 OSAHS 的一个独立因素,更由于其局部或全身的炎症又加重了 OSAHS 的发生及患者体内氧化应激水平。可见,变应性鼻炎可以加重睡眠呼吸障碍的发生,而其本身的炎症反应亦与氧化应激相辅相成,共同参与 OSAHS 发生发展。

综上所述,氧化应激水平的升高在 OSAHS 患儿发病中可能起到重要作用,而变应性鼻炎更加重 OSAHS 的发生及体内氧化应激水平。

参考文献

- Marcus CL. Sleep disordered breathing in children [J]. Am Repir Crit Cane Med, 2001, 164: 16-30
- Amin RS, Carroll JL, Grone C, *et al.* Twenty-four-hour ambulatory blood pressure in children with sleep-disordered breathing[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2004, 169(8):950-956
- Kheirandish L, Gozal D. Neurocognitive dysfunction in children with sleep disorders[J]. Dev Sci, 2006, 9(4):388-399
- Carpagnano GE, Lacedonia D, Foschino-Barbaro MP. Non-invasive study of airways inflammation in sleep apnea patients[J]. Sleep Medicine Reviews, 2011, 15(5):317-326
- Morrow JD. Quantification of isoprostane as indices of oxidant stress and the risk of atherosclerosis in humans [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25(2):279-286
- Biltaqi MA, Maquid MA, Ghagar MA, *et al.* Correlation of 8-isoprostane, interleukin-6 and cardiac functions with clinical score in childhood obstructive sleep apnoea [J]. Acta Paediatr, 2008, 97(10):1397-1405
- 中华医学会耳鼻咽喉科学分会, 中华耳鼻咽喉科杂志编委会. 儿童阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊疗指南草案(乌鲁木齐)[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2007, 42(2):83-84
- 蔡晓岚, 刘洪英, 范献良, 等. 儿童阻塞性睡眠呼吸暂停综合征的诊断[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2003, 38(3):161-165
- 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组、小儿学组, 中华儿科杂志编辑委员会. 儿童变应性鼻炎诊断和治疗指南(2010年, 重庆)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2011, 46(1):7-8
- Section On Pediatric Pulmonology, Subcomm IT, Ostarino AT, *et al.* American Academy of Pediatrics Clinical practice guideline diagnosis and management of childhood obstructive sleep apnea syndro[J]. Pediatrics, 2002, 109(33):704-712
- Bobrowska B, Tokarz A, Bialek S, *et al.* Effect of dietary supplementation on the prognostic value of urinary and serum 8-isoprostaglandin F2a in chemically-induced mammary carcinogenesis in the rat[J]. Lipids Health Dis, 2011, 10: 40-46
- Mallat Z, Philip I, Lebre M, *et al.* Elevated levels of 8-iso-prostaglandin F2a in pericardial fluid of patients with heart failure: a potential role for in vivo oxidant stress in ventricular dilatation and progression to heart failure[J]. Circulation, 1998, 97(16):1536-1539
- Montuschi P, Ciabattini G, Paredi P, *et al.* 8-Isoprostane as a biomarker of oxidative stress in interstitial lung diseases[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1998, 158(5):1524-1527
- Caballero BS, Martorell Aragones A, Cerda Mir JC, *et al.* Leukotriene B4 and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of children with episodic and persistent asthma[J]. J Investiq Allergol Clin Immunol, 2010, 20(3):237-243

(收稿:2012-05-09)

(修回:2012-06-05)