

新斯的明与山莨菪碱联合应用对肺型氧中毒的保护作用及其机制的研究

张广雨, 杜晶, 刘梦珍, 朱丹妮, 闫慧, 刘冲

Protective effect and mechanisms of neostigmine in combination with anisodamine against pulmonary oxygen toxicity

ZHANG Guangyu, DU Jing, LIU Mengzhen, ZHU Danni, YAN Hui, LIU Chong

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202310049>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

改善糖尿病内皮祖细胞功能的研究进展

Research on the improving function of endothelial progenitor cells in diabetes

药学实践与服务. 2020, 38(1): 18-21 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.201906065

$\alpha 7$ n型乙酰胆碱能受体在小胶质细胞中下调炎症水平的作用及其机制研究

The anti-inflammatory role of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor in microglial cells and its mechanisms

药学实践与服务. 2021, 39(4): 340-344, 358 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202103028

槟榔醇提物对H9C2心肌细胞的抗缺氧保护作用

Protective effect of areca catechu linn ethanol extract against hypoxia in H9C2 cells

药学实践与服务. 2019, 37(4): 294-298 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.04.002

四烯甲萘醌保护成骨细胞氧化损伤的作用研究

Study on the protective effect of menatetrenone against the oxidative stress of osteoblasts

药学实践与服务. 2020, 38(6): 523-527 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202005047

毛蕊花苷对高原缺氧小鼠记忆损伤的改善及机制研究

Ameliorate effect and mechanism of verbascoside on memory impairment in hypoxic mice

药学实践与服务. 2019, 37(1): 23-26 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.01.006

7-羟乙基白杨素对高原脑水肿的作用机制初探

A preliminary study on the mechanism of 7-HEC on high altitude cerebral edema

药学实践与服务. 2022, 40(5): 399-402, 415 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202205090



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

新斯的明与山莨菪碱联合应用对肺型氧中毒的保护作用及其机制的研究

张广雨¹, 杜晶², 刘梦珍¹, 朱丹妮¹, 闫慧¹, 刘冲¹ (1. 海军军医大学药学院, 上海 200433; 2. 济宁医学院药学院, 山东 济宁 276826)

[摘要] 目的 高压氧(HBO)诱导的肺型氧中毒尚无有效的防治措施。该研究旨在阐明新斯的明(NEO)与山莨菪碱(ANI)联合(简称新斯莨菪碱)应用对肺型氧中毒的作用并初步探讨其机制。方法 将 C57BL/6 小鼠暴露于 2.5 ATA 99.9% 氧气 6 h 制备肺型氧中毒模型, 对照组小鼠给予生理盐水腹腔注射, 治疗组小鼠给予 ANI(25 mg/kg, 腹腔注射)和 NEO (50 μg/kg, 腹腔注射), 暴露结束后取肺组织进行检测。HE 染色观察肺组织的病理损伤情况; 伊文思蓝染色通过检测肺通透性以及测定肺湿/干比及肺泡灌洗液中的蛋白含量来衡量肺损伤的严重程度; 同时测定肺组织中炎症因子、氧化应激指标以及铁含量变化情况。结果 与正常组相比, 模型组的肺损伤程度显著加重, 肺通透性、肺湿/干比以及肺泡灌洗液中蛋白含量同步增加; 肺组织中促炎因子 IL-1β、IL-6、TNF-α、IFN-γ 的 mRNA 水平显著增加, 抑炎因子 IL-4、TGF-β 明显降低; 氧化指标 MDA 显著升高、抗氧化指标 GSH 则显著降低; 铁含量升高, 铁死亡的标志物 GPX4 表达量增加, 而给予新斯莨菪碱治疗后能明显逆转上述变化。结论 新斯莨菪碱对肺型氧中毒具有保护作用, 可能通过激活胆碱能抗炎通路, 从而抑制炎症和氧化应激的发生, 进而减少了肺组织中游离铁的含量, 最终抑制细胞铁死亡。

[关键词] 高压氧; 肺型氧中毒; 新斯莨菪碱; 炎症; 氧化应激

[文章编号] 2097-2024(2024)10-0433-06 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202310049

Protective effect and mechanisms of neostigmine in combination with anisodamine against pulmonary oxygen toxicity

ZHANG Guangyu¹, DU Jing², LIU Mengzhen¹, ZHU Danni¹, YAN Hui¹, LIU Chong¹ (1. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 2. School of Pharmacy, Jining Medical University, Jining 276826, China)

[Abstract] **Objective** Pulmonary oxygen poisoning resulting from hyperbaric oxygen, frequently occurs in specialized operations, without any current effective prevention or treatment measures. To elucidate the impact and mechanism of neostigmine (NEO) in combination with anisodamine (ANI) (neoscopolamine) on pulmonary oxygen toxicity. **Methods** The animal model of pulmonary oxygen poisoning was established. C57BL/6 mice were exposed to 2.5 ATA 99.9% oxygen for 6 h. The control group mice were injected with normal saline ip, while the treatment group mice received injections of ANI (25 mg/kg, ip) and NEO (50 μg/kg, ip). Lung tissues were collected and stained with HE to observe any pathological injuries after exposure. Evans blue stain was utilized to identify lung permeability, wet/dry lung ratio, and protein concentration in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) to assess the lung injury's severity. The modifications in inflammatory factors, oxidative stress indicators, and iron content in lung tissue were assessed. **Results** The results showed that the 2.5 ATA 99.9% oxygen-exposed group experienced a significant worsening of lung injury, as well as increased lung permeability, lung wet/dry ratio, and protein content in alveolar lavage fluid when compared to the control group. Moreover, mRNA levels of pro-inflammatory cytokines IL-1β, IL-6, TNF-α, and IFN-γ in the lung tissue of the model group were significantly elevated, while the levels of anti-inflammatory cytokines IL-4 and TGF-β were significantly reduced. The oxidative index MDA also significantly increased, while the antioxidant index GSH significantly decreased. Additionally, the expression of GPX4, a marker of ferroptosis, increased with an increase in iron content. Neoscopolamine treatment successfully reversed those effects. **Conclusion** The combined use of ANI and NEO had a protective effect on pulmonary oxygen poisoning. Neoscopolamine may inhibit inflammation and oxidative stress by activating the cholinergic anti-inflammatory pathway, thereby reducing the content of free iron in lung tissue and finally inhibiting cell ferroptosis.

[Key words] hyperbaric oxygen; pulmonary oxygen toxicity; neoscopolamine; inflammation; oxidative stress

[作者简介] 张广雨, 硕士研究生, 研究方向: 胆碱能药物在炎症反应中的作用, Tel: 13384616588, Email: smmuzgy@163.com

[通信作者] 刘冲, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 心脑血管药理学, Email: wanlc2004@aliyun.com

肺型氧中毒是长期吸入高浓度氧气导致的肺部损伤,表现为肺组织充血、水肿、炎性浸润等,其中以多型核白细胞为主^[1]。活化的多型核白细胞可以激活氧化酶,进而产生和释放大量的炎症介质和氧自由基,进一步介导级联式扩大的炎症反应对肺部造成损伤^[2]。在饱和潜水或重型减压病患者进行加压治疗时,肺型氧中毒已成为最常见的并发症^[3]。然而,目前关于高压氧(HBO)诱导的肺型氧中毒发生机制缺乏深入的探讨。

山莨菪碱(ANI)是一种毒蕈碱(M)受体阻滞剂,新斯的明(NEO)是一种临床常见的胆碱酯酶抑制剂。我们课题组前期研究发现 ANI 和 NEO 以 500 : 1 的比例组成复方,简称新斯莨菪碱,能协同地激活 $\alpha 7nAChR$, 并减轻二者联用所致的不良反应。研究表明激活 $\alpha 7nAChR$ 受体在感染性休克^[4]、类风湿关节炎^[5]、挤压综合征^[6]、脑卒中^[7]等动物模型上均发挥保护作用。然而,在 HBO 诱导的肺型氧中毒的发生、发展过程中,新斯莨菪碱是否可以用于肺型氧中毒的治疗? 其治疗作用的病理生理机制是什么? 这些都尚未阐明。

铁死亡是一种以细胞内铁依赖性的活性氧(ROS)异常增高,导致细胞内 ROS 的生成和降解失衡为特征的细胞死亡方式^[8]。高浓度氧暴露条件下生成的大量 ROS,一方面可直接对肺细胞产生损害,另一方面可参与炎症反应,促进炎症细胞渗透聚集,使各种致炎因子的表达增多,进一步加重肺的急性炎症反应^[9]。

本文探究了新斯莨菪碱对 HBO 诱导的肺型氧中毒是否具有保护效应,并在此基础上,阐明铁死亡在新斯莨菪碱治疗 HBO 诱导的肺型氧中毒中的作用,以期对肺型氧中毒的临床防治提供新的理论指导和思路。

1 材料和方法

1.1 实验动物

雄性 C57BL/6 小鼠,6~8 周龄,小鼠购自上海斯莱克公司。所有小鼠均饲养于 22℃,昼夜循环 12 h 的独立饲养系统中。小鼠自由饮食、自由饮水。所有实验均经海军军医大学实验动物伦理委员会批准并按照指南进行。

1.2 仪器和试剂

小型实验动物氧舱(RDC150-300-6,海军军医大学);台式高速冷冻离心(SCILOGEX);7500RT-PCR 仪器(Applied Biosystems 公司);激光共聚焦显微镜(日本 Olympus 公司);酶标仪(瑞士 Tacan

公司);高速组织研磨仪(上海净信实业发展有限公司);Trizol、BCA 法蛋白定量试剂盒(美国 GLPBIO 公司);苏木精-伊红(上海 Sangon Biotech 公司);戊巴比妥(上海国药集团化学试剂公司);RT-PCR 试剂盒(日本 Takara 公司);组织铁检测试剂盒(北京 Solarbiog 公司);伊文思蓝(美国 Sigma-Aldrich 公司);MDA、GSH 检测试剂盒(上海 Beyotime 公司);Perls stain、抗谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)抗体、抗 β -actin 抗体(英国 Abcam 公司);驴抗兔/驴抗鼠二抗、Odyssey 扫膜仪(LI-COR 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 肺型氧中毒模型的制备

将小鼠置于动物加压舱内,先用纯氧冲洗舱 5 min,然后将压力在 5 min 内调至舱内为 100% O₂、2.5 ATA,维持 6 h,在暴露过程中保持 0.5 L/min 的连续氧流量,每 1~2 h 调整气阀进行快速通气,同时舱内放置碱石灰以避免呼吸产生的 CO₂ 在舱内蓄积。动物实验分组如下:①正常组:腹腔注射给予生理盐水 10 ml/kg,常压饲养;②模型组:HBO 暴露前 30 min 给予生理盐水 10 ml/kg,2.5 ATA 暴露 6 h;③新斯莨菪碱组:HBO 暴露前 30 min 给予 ANI(25 mg/kg)+NEO(50 μ g/kg),2.5 ATA 暴露 6 h。

1.3.2 HE 染色

使用戊巴比妥钠麻醉并处死小鼠,解剖取小鼠左肺组织于 4% 多聚甲醛中固定,然后用石蜡包埋并切成 5 μ m 的薄片。在 200 倍光学显微镜下观察组织炎症、水肿或其他损伤。组织学评分:0 分为正常组织学;1 分代表轻度白细胞浸润和毛细血管充血;2 分代表轻度白细胞浸润、血管周围水肿、肺结构部分破坏和出血;3 分代表强烈的白细胞浸润和肺结构破坏。

1.3.3 伊文思蓝染色

HBO 暴露 6 h 后,将小鼠固定,尾静脉注射 1% 伊文思蓝(50 mg/kg)后放回笼中自由活动,约 30 min 处死动物,用 PBS 灌流后取肺组织,用滤纸擦干肺组织表面水分并对肺组织进行拍照。每 100 mg 肺组织加入 2 ml 甲酰胺,55℃ 孵育 18 h,反应结束后 10 000 \times g 离心 30 min 后取上清液,并在 630、740 nm 处测量吸光度。

1.3.4 肺组织湿干比

将小鼠麻醉处死后,取新鲜左肺组织,滤纸擦干表面血迹后称重记为湿重,随后将肺组织置于 60℃ 干燥箱中,每日测量肺组织重量,直至肺组织重量不再变化,此时肺组织重量为干重。肺含水量(%)=(湿重-干重)/湿重 \times 100%。

1.3.5 肺泡灌洗液蛋白含量测定

用 1 ml 预冷 PBS 经气管插管灌洗肺 3 次, 收集混合的支气管肺泡灌洗液(BALF), 将收集到的 BALF 以 1 500 r/min 离心 10 min 获得其上清液, BCA 法测定试剂盒定量 BALF 中总蛋白。

1.3.6 非血红素铁含量测定

30 mg 肺组织在冷 PBS 中清洗, 在冰上用匀浆器在铁测定缓冲液中匀浆, 在 4℃ 以 16 000×g 离心 10 min, 收集上清液用铁检测试剂盒进行组织铁含量测定。

1.3.7 普鲁士蓝染色

戊巴比妥钠麻醉处死小鼠, 取新鲜肺组织于 4% 多聚甲醛中固定, 固定 48 h 后进行梯度脱水, 二甲苯置换, 浸蜡; 包埋、切片(厚度为 5 μm)。将石蜡切片脱蜡后用 Prussian Blue Stain(等体积的亚铁氰化钾溶液和盐酸溶液混合, 制成铁染色工作液)染色 15 min, 洗涤, 然后用核固红溶液染色 5 min, 洗涤, 封片后在 Olympus 光学显微镜下观察染色切片。

1.3.8 丙二醛(MDA)的测定

取 100 μg 肺组织于 300 μl PBS 溶液中, 匀浆机研磨后, 以 12 000 r/min 离心 10 min 后取上清液待测。所有试剂盒均按照制造商的说明书使用, 按检测工作液与上清 2:1 配好检测体系后 100℃ 水浴 15 min, 冷却后于 532 nm 处测吸光度。

1.3.9 谷胱甘肽(GSH)的测定

取 100 μg 肺组织, 与 700 μl 蛋白去除试剂 S 溶液混匀, 匀浆机研磨后以 12 000 r/min, 离心 10 min 后取上清液进行总谷胱甘肽测定。所有试剂盒均按照制造商的说明书使用, 25℃ 反应 60 min 即可测得氧化性谷胱甘肽(GSSG)含量, 还原 GSH 含量=总谷胱甘肽含量-GSSG×2。

1.3.10 实时定量 PCR

动物出舱后, 解剖取肺组织, 使用 TRIzol 试剂提取组织总 RNA 并逆转录成 cDNA, 进行 PCR 扩增, 采用 2^{-ΔΔCT} 分析目的基因的相对表达量, 引物序列见表 1。

1.3.11 Western blot

提取肺组织蛋白, BCA 法测定蛋白浓度。十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳分离蛋白质, 然后转移到硝酸纤维素膜上, 与 GPX4、β-肌动蛋白共孵育。最后, 根据情况将膜与驴抗兔或驴抗鼠二抗孵育, 使用 Odyssey 扫膜仪获取图像, 通过 Image J 软件对条带进行定量分析。

1.4 统计学处理

实验数据的分析以及数据处理均使用

表 1 实时定量 PCR 引物序列

引物名称	引物序列(5'—3')
IL-6(F)	CCAGAAACCGCTATGAAGTTCC
IL-6(R)	GTTGGGAGTGGTATCCTCTGTGA
IL-1β(F)	GTTCCCATTAGACAACTGCACTACAG
IL-1β(R)	GTCGTTGCTTGGTTCTCCTTGTA
TNF-α(F)	CCCCAAAGGGATGAGAAGTTC
TNF-α(R)	CCTCCACTTGGTGGTTTGCT
GAPDH(F)	GTATGACTCCACTCACGGCAAA
GAPDH(R)	GGTCTCGCTCCTGGAAGATG

注: F: 正向引物; R: 反向引物。

GraphPad Prism 8.0 软件进行。所有值以($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较用单因素方差分析(ANOVA)并 Bonferroni 检验, $P < 0.05$ 视为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 新斯萘苄碱保护了 HBO 暴露引起的肺组织损伤

首先, 探究 HBO 暴露后对肺组织的病理损伤情况以及新斯萘苄碱对 HBO 诱导的肺损伤的作用。将 C57BL/6 小鼠置于 2.5 ATA 的高压氧舱中暴露 6 h 建立肺型氧中毒模型, 然后通过 HE 染色观察肺组织结构变化, 如图 1 所示。正常组小鼠肺泡肺泡壁结构完整, 间隔无增厚, 肺泡腔内无渗出物; HBO 暴露后, 肺泡间隔出现水肿、增厚, 肺泡腔内可见红细胞渗出, 肺间质见大量炎性细胞浸润(图 1B); 给予新斯萘苄碱治疗后, 肺水肿明显减轻, 肺泡内炎性细胞浸润以及红细胞渗出减少, 肺组织病理损伤减轻(图 1C~D)。以上结果表明新斯萘苄碱治疗能减轻肺型氧中毒后肺组织的病理损伤。

2.2 新斯萘苄碱改善肺组织渗透性

从图 2 可以看出, 模型组伊文思蓝染色加深, 表明 HBO 暴露后肺渗透性增加, 而新斯萘苄碱治疗后上述情况明显改善(图 2A~B)。与正常组相比, 模型组肺组织湿干比重明显增加, 而新斯萘苄碱治疗后能够显著降低肺湿干比(图 2C)。此外, HBO 暴露后肺泡灌洗液中蛋白含量升高, 新斯萘苄碱治疗能够有效减少肺泡灌洗液中蛋白的渗出(图 2D)。这些结果表明, 新斯萘苄碱治疗能够有效改善肺型氧中毒后的肺水肿及肺组织渗出。

2.3 新斯萘苄碱抗炎、抗氧化应激作用

从图 3 中可以看出, HBO 暴露后, 肺组织中促

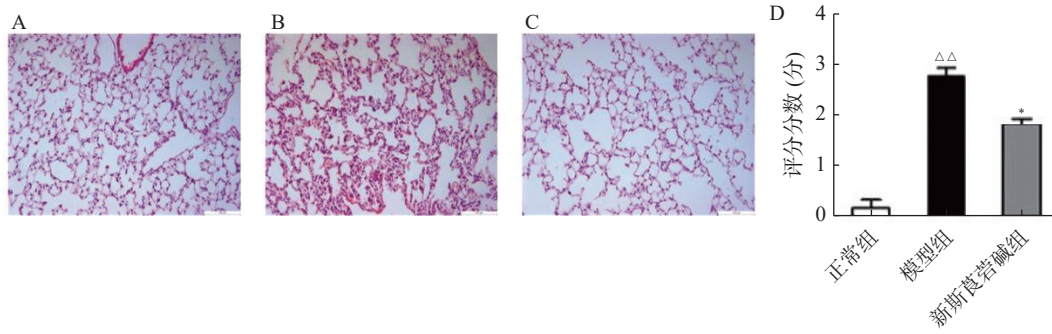


图1 新斯的莨碱对高压氧诱导的肺损伤的作用 ($n=3$, 重复3次)

A-C. 小鼠肺组织 HE 染色; D. 肺组织病理学损伤评分

* $P<0.05$, 与模型组比较; $\Delta\Delta P<0.01$, 与正常组比较。

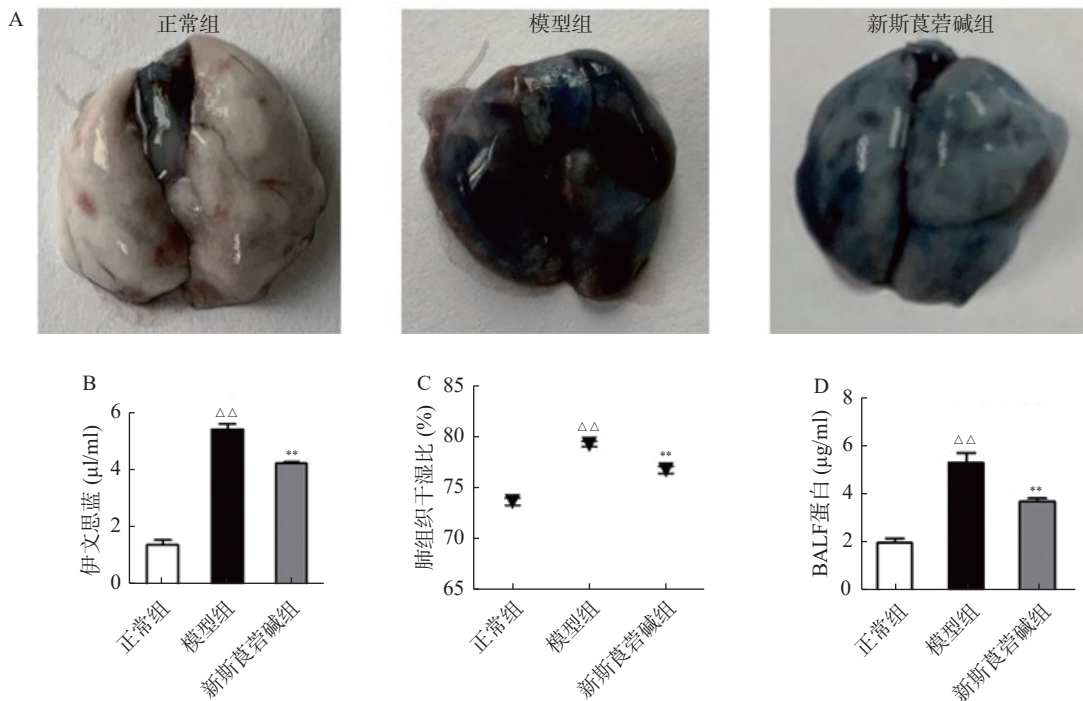


图2 新斯的莨碱对肺组织渗透性的影响 ($n=3$, 重复3次)

A. 不同组别肺组织伊文思蓝染色后; B. 肺组织伊文思蓝定量检测; C. 肺组织干湿比; D. 肺泡灌洗液蛋白含量测定

** $P<0.01$, 与模型组比较; $\Delta\Delta P<0.01$, 与正常组比较。

细胞因子, 如 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 和 $\text{IFN-}\gamma$ 的 mRNA 显著增高, 抗炎因子 IL-4 及 $\text{TGF-}\beta$ 则显著降低, 而新斯的莨碱能显著降低促炎因子的表达, 同时提高抗炎因子的水平(图 3A ~ F)。HBO 暴露后肺组织氧化指标 MDA 升高, 而抗氧化指标 GSH 降低, 给予新斯的莨碱治疗后, 能明显逆转上述变化(图 3G ~ H)。由此说明, 新斯的莨碱能降低 HBO 诱导的肺型氧中毒引起的炎症反应及氧化应激水平。

2.4 新斯的莨碱减轻铁死亡

铁元素是维持正常生理活动所必需的, 但过量的铁会产生对细胞有害的自由基。在病理状态下, 铁蛋白的破坏导致细胞内游离铁的增高, 脂质过氧化反应和游离铁的增高会导致细胞的铁死亡。如

图 4 所示, HBO 暴露后普鲁士蓝染色可见肺组织中铁含量增高, 对肺组织铁离子含量进行检测得到了同样的结果(图 4A ~ C)。GPX4 是一种重要的抗氧化酶, HBO 暴露后 GPX4 的表达降低(图 4D ~ E), 导致机体抗氧化应激能力减弱, 对细胞有害的自由基无法被有效清除。而新斯的莨碱治疗后可以改善 GPX4 的表达, 降低肺组织铁含量, 从而减少细胞铁死亡的发生, 对肺组织起到保护作用。

3 讨论

HBO 已被广泛用于多种疾病的治疗以及潜水作业中, 并发挥了难以替代的作用^[10]。然而, 在饱和潜水或重型减压病患者加压治疗以及临床上用

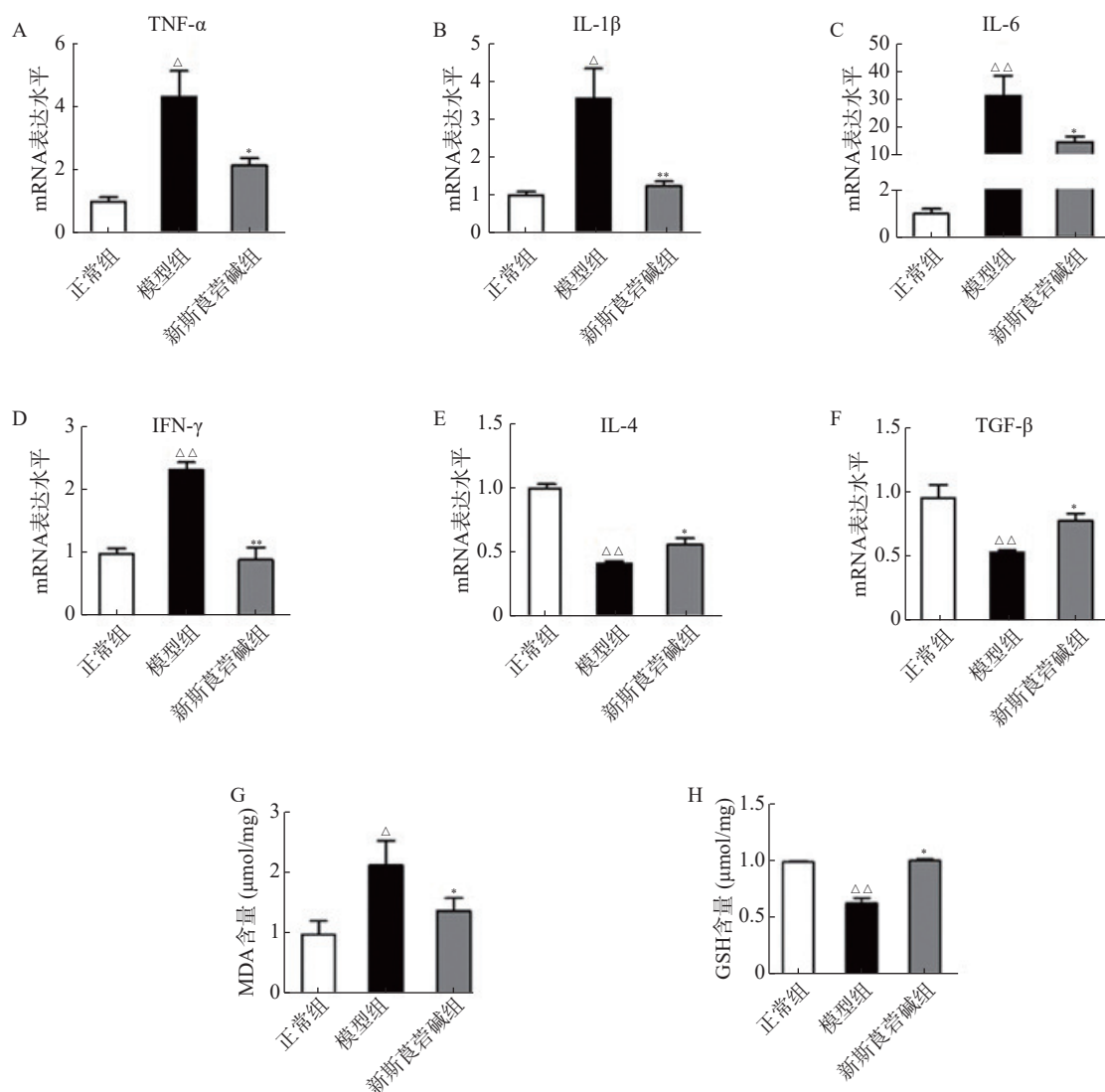


图3 新斯的莨碱治疗对炎症因子 mRNA 水平的影响 (n=3, 重复3次)

A-F. 肺组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IFN- γ 、IL-4 和 TGF- β 的 mRNA 水平的表达; G. MDA 含量; H. GSH 含量
* P <0.05, ** P <0.01, 与模型组比较; Δ P <0.05, $\Delta\Delta$ P <0.01, 与正常组比较。

于治疗新生儿呼吸窘迫时, HBO 诱导的肺损伤已成为最常见的并发症^[11]。研究发现, 当 HBO 环境持续存在时, 将出现小气道功能障碍, 表现为肺活量降低、气体扩散功能减弱和肺顺应性降低^[12]。与之前的报道一致, 本研究结果表明, 与正常组相比, 模型组的肺组织损伤显著加重; 伊文思蓝染色显示 HBO 暴露后染色加深, 肺湿/干比增加, 同时肺泡灌洗液中的蛋白含量也显著增加, 新斯的莨碱治疗后这些变化被显著抑制, 这些结果初步表明新斯的莨碱与 HBO 诱导的肺型氧中毒的发生密切相关。

ANI 属于传出自主神经 M 受体阻断剂, 阻断 M 受体引起交感神经优势。NEO 是一种可逆性胆碱酯酶抑制剂, 可有效延长乙酰胆碱的作用时间, 同时激活胆碱能抗炎通路^[11]。Sun 等^[4] 研究证实, 两药物联合使用, 不仅可以加强胆碱能抗炎通路的

炎症抑制作用, 还可降低 NEO 的不良反应, 达到协同增强作用。本课题组前期的研究发现 ANI 和 NEO 联合使用, 能够通过阻断巨噬细胞上的毒蕈碱型受体, 使更多的乙酰胆碱作用于 $\alpha 7$ 尼古丁乙酰胆碱受体, 进而对胆碱能抗炎通路起到双向活化调节作用, 进一步加强对炎症反应的抑制作用^[7]。本研究发现新斯的莨碱能够显著降低肺组织中促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IFN- γ 的表达。由此说明, 新斯的莨碱可减轻 HBO 导致的肺部炎症反应。

肺型氧中毒包括高压损伤和高浓度氧损伤, 目前认为 ROS 及其代谢产物介导的生化紊乱是导致肺型氧中毒发生发展的主要因素。HBO 环境下会产生大量氧自由基, 可能导致细胞因子释放和炎症反应的增加, 而异常的炎症反应可加剧肺损伤^[13]。

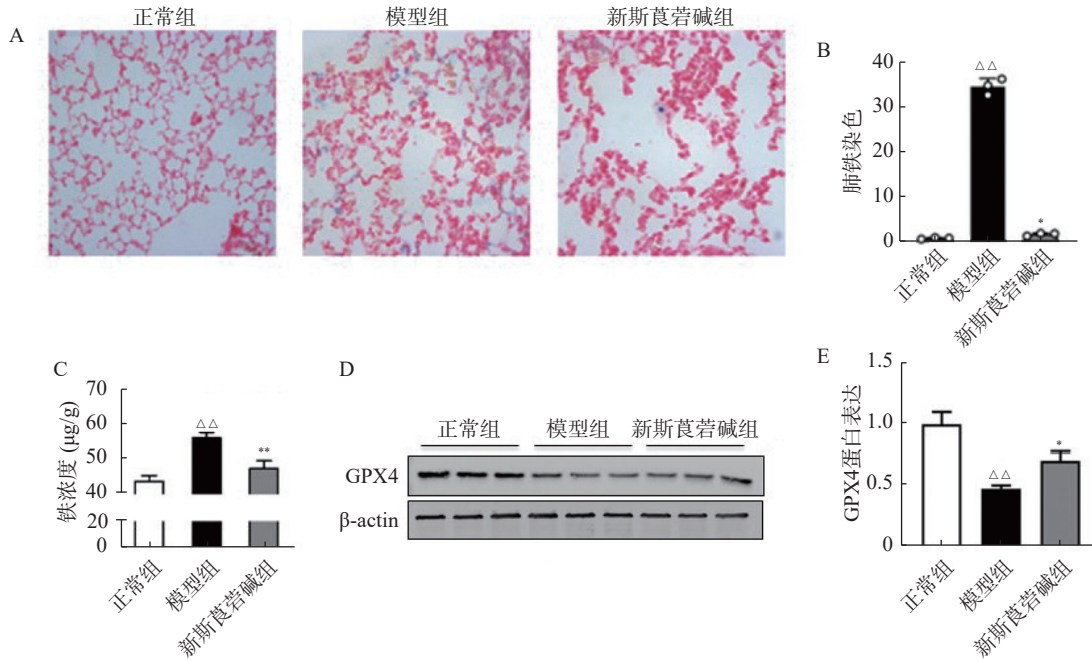


图4 铁死亡途径在新斯的莨菪碱治疗 HBO 诱导的肺型氧中毒的作用 ($n=3$, 重复 3 次)

A. 不同组别肺组织普鲁士蓝染色; B. 肺铁染色; C. 肺组织铁含量; D. 肺组织 GPX4 的表达

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与模型组比较; $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$, 与正常组比较。

研究发现, HBO 暴露后肺组织中氧化指标 MDA 显著升高、抗氧化指标 GSH 则显著降低, 而给新斯的莨菪碱治疗能明显改善肺组织氧化损伤情况。

铁死亡作为一种新发现的细胞死亡方式, 其释放出内源性损伤相关分子(DAMPs)与炎症和氧化应激之间存在着诸多途径的交互作用。GPX4 作为铁死亡的核心调控因子, 近年来受到广泛关注。研究表明 GPX4 的缺乏或功能丧失会加剧铁死亡的发生, 并促使细胞进一步受到氧化应激的影响^[14]。Kang 等^[15]的研究发现在 LPS 诱导的脓毒症模型中, 敲除 GPX4 导致脂质过氧化的加剧并进一步促进铁死亡的发生。本研究发现, HBO 暴露后肺组织中铁含量增高、GPX4 的表达量降低, 而新斯的莨菪碱治疗后可以逆转这些变化。

综上所述, 新斯的莨菪碱可能通过激活胆碱能抗炎通路, 从而抑制炎症的和氧化应激的发生, 进而减少了肺组织中游离铁的含量, 最终抑制细胞铁死亡。下一步我们将通过体外实验, 进一步验证在 HBO 诱导的肺型氧中毒模型中, 新斯的莨菪碱是否通过抑制铁死亡的产生从而减轻肺组织的损伤情况, 以期防治 HBO 诱导的肺型氧中毒提供新的策略。

【参考文献】

[1] VAN OOIJ P J A M, HOLLMANN M W, VAN HULST R A, et al. Assessment of pulmonary oxygen toxicity: relevance to pro-

fessional diving; a review[J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2013, 189(1): 117-128.

[2] KAPADIA V, WYCKOFF M H. Oxygen therapy in the delivery room: What Is the Right Dose?[J]. *Clin Perinatol*, 2018, 45(2): 293-306.

[3] BUI C B, PANG M A, SEHGAL A, et al. Pulmonary hypertension associated with bronchopulmonary dysplasia in preterm infants[J]. *J Reproductive Immunol*, 2017, 124: 21-29.

[4] SUN L, ZHANG G F, ZHANG X, et al. Combined administration of anisodamine and neostigmine produces anti-shock effects: involvement of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33(6): 761-766.

[5] ZHOU J X, KE P, HUAN G, et al. Combined treatment with anisodamine and neostigmine inhibits joint inflammation in collagen-induced arthritis mice[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2014, 20(2): 186-187.

[6] XU Z Q, SHAO B Z, KE P, et al. Combined administration of anisodamine and neostigmine rescued acute lethal crush syndrome through $\alpha 7$ nAChR-dependent JAK2-STAT3 signaling[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 37709.

[7] QIAN J, ZHANG J M, LIN L L, et al. A combination of neostigmine and anisodamine protects against ischemic stroke by activating $\alpha 7$ nAChR [J]. *International journal of stroke: official journal of the International Stroke Society*, 2015, 10(5): 737-744.

[8] LI J, CAO F, YIN H L, et al. Ferroptosis: past, present and future[J]. *Cell Death & Dis*, 2020, 11(2): 88.

[9] TANG D L, CHEN X, KANG R, et al. Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications[J]. *Cell Res*, 2021, 31(2): 107-125.

(下转第 444 页)

- 征研究进展 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2019, 39(4): 306-310.
- [16] CASTANHEIRA M, DESHPANDE L M, MENDES R E, et al. Prevalence of carbapenemase genes among carbapenem-nonsusceptible *Enterobacteriales* collected in US hospitals in a five-year period and activity of ceftazidime/avibactam and comparator agents[J]. *JAC Antimicrob Resist*, 2022, 4(5): dlac098.
- [17] PORRECA A M, SULLIVAN K V, GALLAGHER J C. The epidemiology, evolution, and treatment of KPC-producing organisms[J]. *Curr Infect Dis Rep*, 2018, 20(6): 13.
- [18] HAN R R, SHI Q Y, WU S, et al. Dissemination of carbapenemases (KPC, NDM, OXA-48, IMP, and VIM) among carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* isolated from adult and children patients in China[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 314.
- [19] 朱丰村, 曾云祥, 金晓立, 等. 204 株碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌耐药性分析 [J]. 检验医学, 2023, 38(1): 60-65.
- [收稿日期] 2023-09-26 [修回日期] 2024-06-08
[本文编辑] 李春德

(上接第 438 页)

- [10] DE JONG F J M, WINGELAAR T T, VAN HULST R A. Pulmonary oxygen toxicity in occupational diving[J]. *Occup Med(Lond)*, 2023, 73(5): 231-232.
- [11] ALVA R, MIRZA M, BAITON A, et al. Oxygen toxicity: cellular mechanisms in normobaric hyperoxia[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2023, 39(1): 111-143.
- [12] FISHER A B, FORMAN H J, GLASS M. Mechanisms of pulmonary oxygen toxicity[J]. *Lung*, 1984, 162(5): 255-259.
- [13] ZHANG Q Y, WU D, YANG Y, et al. Dexmedetomidine Alleviates hyperoxia-induced acute lung injury via inhibiting NLRP3 inflammasome activation [J]. *Cell Physiol Biochem: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, 2017, 42(5): 1907-1919.
- [14] MIAO Y, CHEN Y W, XUE F, et al. Contribution of ferroptosis and GPX4's dual functions to osteoarthritis progression[J]. *EBioMedicine*, 2022, 76: 103847.
- [15] KANG R, ZENG L, ZHU S, et al. Lipid peroxidation drives gasdermin D-mediated pyroptosis in lethal polymicrobial Sepsis[J]. *Cell Host & Microbe*, 2018, 24(1): 97-108.
- [收稿日期] 2023-10-25 [修回日期] 2024-05-15
[本文编辑] 李春德