

氯氮平对雄性 C57BL/6 小鼠淀粉酶和促炎性细胞因子表达的影响

赵彤彤^{1,2}, 宁晓帅^{1,2}, 杨亚婷^{1,2}, 张雨龙^{1,2}, 任振华³, 刘寰忠^{1,2}

摘要 目的 研究不同剂量氯氮平对雄性 C57BL/6 小鼠血清及其胰腺组织中淀粉酶(amylase) 和促炎性细胞因子[白细胞介素(IL) -1 β 、IL-6 和肿瘤坏死因子(TNF) - α] 表达的影响。方法 将雄性 C57BL/6 小鼠随机分成对照组、氯氮平(5、10、20 mg/kg) 组, 分别给予 0.9% 氯化钠溶液、氯氮平(5、10、20 mg/kg) 灌胃, 连续灌胃 14 d 后采血测定各组小鼠 amylase 和促炎性细胞因子(IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α) 的水平; 随后取小鼠胰腺组织, 用 Western blot 方法检测胰腺组织 amylase 和促炎性细胞因子(IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α) 蛋白的表达, 用荧光定量 PCR 方法检测胰腺组织 amylase 和促炎性细胞因子(IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α) mRNA 的表达。结果 与对照组相比, 氯氮平 10、20 mg/kg 组血清 amylase 水平明显升高($P < 0.01$ $P < 0.001$); 与对照组相比, 氯氮平三组的血清 IL-1 β 水平剂量依赖性地升高($P < 0.01$ $P < 0.001$); 与对照组相比, 血清 IL-6 水平在氯氮平 5 mg/kg 组有所下降($P < 0.05$)。氯氮平剂量依赖性地升高小鼠胰腺组织 amylase 和促炎性细胞因子(IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α) 蛋白以及 mRNA 的表达水平, 与对照组相比, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。结论 氯氮平可以升高血清 amylase 和促炎性细胞因子 IL-1 β 的水平, 并增加胰腺组织中 amylase 和促炎性细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达, 可能是氯氮平使用后易出现高淀粉酶血症乃至胰腺炎的发生机制之一。

关键词 氯氮平; 淀粉酶; 促炎性细胞因子; 白细胞介素-1 β ; 白细胞介素-6; 肿瘤坏死因子- α

中图分类号 R 749.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)10-1527-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.10.004

精神分裂症是一种常见的、严重危害人类健康的精神疾病^[1], 其中难治性精神分裂症至少占到 20%, 氯氮平是治疗难治性精神分裂症的首选药物^[2]。但

其临床应用受到严重不良反应的限制, 其中就包括胰腺炎^[3]。关于氯氮平导致胰腺损伤的发病机制尚不清楚, 有研究显示促炎性细胞因子在胰腺炎的病程进展中起到重要作用^[4], 而血淀粉酶是临床胰腺炎诊断的首选实验室检查项目^[5]。该研究旨在探讨氯氮平对小鼠血液以及胰腺组织中淀粉酶和促炎性细胞因子表达的影响, 以期有助于初步探索氯氮平导致胰腺损伤的发生机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠, 购于安徽医科大学实验动物中心[许可证号 SCXK(皖)2017-001], 体质量(20 \pm 2) g。分笼饲养于明暗周期为 12 h 昼夜节律, 相对湿度 45% 左右, 室温(22 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 的普通设施中, 普通全价鼠饲料喂养, 自由进食及饮水, 适应性喂养 1 周后进行实验。本实验已获得安徽医科大学伦理委员会批准(编号: LLSC20190743)。

1.1.2 药品与试剂 氯氮平(上海上药信谊药厂有限公司, 批号: H31021152); 水合氯醛(上海生工生物工程有限公司)。RIPA 裂解液和 BCA 蛋白检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司); PVDF 膜(美国 Millipore 公司); ECL 超敏发光试剂盒(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 鼠一抗 α -tubulin 抗体(T6199) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 兔一抗淀粉酶(amylase) (货号: ab21156)、白细胞介素(interleukin, IL) -1 β (货号: ab9722) 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α) (货号: ab6671) 抗体购自英国 Abcam 公司; 兔一抗 IL-6 抗体(12912S) 购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔和山羊抗小鼠 IgG 二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司)。TRIzol 试剂盒(美国 Life Technologies 公司); DEPC-H₂O(上海捷瑞生物工程有限公司); RevertAidTM 第一链 cDNA Synthesis 试剂盒(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Novostart SYBR qPCR SuperMix Plus 试剂盒(上海近

2021-07-21 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81771449); 安徽省转化医学研究院科研基金(编号: 2017zhyx17)

作者单位: ¹ 安徽医科大学附属巢湖医院精神科, 合肥 238000

² 安徽医科大学安徽省精神医学中心, 合肥 238000

³ 安徽医科大学基础医学院解剖教研室, 合肥 230032

作者简介: 赵彤彤, 女, 硕士研究生;

刘寰忠, 男, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: huanzhongliu@ahmu.edu.cn

岸蛋白科技有限公司);其他试剂为分析纯。

1.1.3 主要仪器 电子天平(上海菁海仪器有限公司);pH计(上海梅特勒-托利多仪器有限公司);多功能酶标仪、高速低温离心机、荧光定量PCR仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);电泳仪、电泳槽和转膜仪、化学发光成像仪(上海天能科技有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 模型的制作和标本的处理 48 只雄性 C57BL/6 小鼠按照随机化原则分为四组,分别为对照组、氯氮平(5、10、20 mg/kg)组。氯氮平充分研磨后加入 0.9% 氯化钠溶液,分别配成浓度为 0.5、1、2 mg/ml 的悬浊液,每次灌胃前充分摇匀。每日在给药前先称重每只小鼠的体质量,氯氮平 5 mg/kg 组的小鼠根据体质量灌胃 0.5 mg/ml 的悬浊液,氯氮平 10 mg/kg 组的小鼠根据体质量灌胃 1 mg/ml 的悬浊液,氯氮平 20 mg/kg 组的小鼠根据体质量灌胃 2 mg/ml 的悬浊液,对照组小鼠根据体质量灌胃相应体积 0.9% 氯化钠溶液。上述各组小鼠每日上午 9:00 灌胃 1 次,连续 14 d 给予相应剂量药物。期间各组小鼠饮食自由。末次给药前禁食不禁水 12 h 给药后再禁食 3 h 随后腹腔注射 4% 水合氯醛麻醉小鼠,待小鼠的麻醉状态达到最佳时,剖腹打开小鼠胸腔后完全暴露心脏,然后经心脏穿刺采血置于惰性分离胶促凝管内,低温离心后分离血清置 -80 °C 冰箱中待测;采血后立即取出小鼠胰腺组织液氮骤冷,置于 -80 °C 冰箱保存待用。每组小鼠中的 6 个胰腺组织用于 Western blot 实验,另外 6 个胰腺组织用于荧光定量 PCR 实验。

1.2.2 小鼠血清 amylase、IL-1β、IL-6 和 TNF-α 的测定 血清 amylase 采用比色分析试剂盒(ab102523)测定,血清 IL-1β、IL-6、TNF-α 采用 ELISA 试剂盒(ab197742、ab222503、ab46105)测定。上述试剂盒均购自英国 Abcam 公司,严格按照制造商的说明书操作。

1.2.3 Western blot 测定小鼠胰腺组织 amylase、IL-1β、IL-6 和 TNF-α 的蛋白表达 从每组小鼠各取 6 个胰腺组织,每个胰腺组织加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液后冰上匀浆提取蛋白,在冷冻离心机中以 12 000 r/min 离心 15 min,使用 BCA 蛋白检测试剂盒检测蛋白浓度。根据蛋白浓度计算每个样本的上样量,蛋白样品与上样缓冲液体积比 4:1 混合,总体积不超过 20 μl,用 10% SDS-PAGE 分离蛋白,电泳转移到 PVDF 膜上,转膜后用 4% BSA 室温封

闭 2 h。再将膜溶于含 4% BSA 中的一抗 4 °C 缓慢摇动孵育过夜。洗膜后将膜浸入用二抗稀释液稀释的二抗中,室温下孵育 2 h。参考 ECL 发光试剂盒说明书,使用化学发光仪进行底物显影曝光拍照,采用 ImageJ 图像分析软件分析灰度值,所有蛋白条带灰度值均以对应的 α-tubulin 为基准进行校正,计算相对灰度值。

1.2.4 荧光定量 PCR 测定小鼠胰腺组织 amylase、IL-1β、IL-6 和 TNF-α 的 mRNA 表达 从每组小鼠各取 6 个胰腺组织,剪碎,液氮研磨后,加入 TRIzol 核酸提取液裂解,冰上匀浆,按操作说明提取总 RNA。室温干燥 RNA 沉淀,加入 DEPC 水, -80 °C 保存备用。按逆转录试剂盒说明书在 PCR 仪上进行逆转录反应,制成 cDNA。RT 反应条件为:42 °C 60 min,70 °C 5 min。取出所得的 cDNA 作为荧光定量的模板,构建反应体系,PCR 反应条件为:95 °C 变性 1 min,95 °C 变性 20 s,60 °C 退火 1 min,40 个循环。读取目的基因 amylase、IL-1β、IL-6 和 TNF-α 及对应内参基因 β-actin 的阈值循环数(Ct 值),再采用比较 ΔCt 值的相对定量法计算目的基因表达水平。PCR 引物序列均由上海生工生物工程公司合成(表 1)。

表 1 引物序列

基因	序列(5'-3')	产物长度(bp)
amylase	F: GGACTTTCTGGAGTTCCT	131
	R: GATCCAGAAGGCCAGACAGA	
IL-1β	F: GAAGAAGAGCCCATCCTCTG	98
	R: TCATCTCGGAGCCTGTAGTG	
IL-6	F: AGTCCGGAGAGGAGACTTCA	108
	R: ATTTCCACGATTTCCAGAG	
TNF-α	F: GACAGTGACCTGGACTGTGG	133
	R: TGAGACAGAGGCAACCTGAC	
β-actin	F: AGTGTGACGTTGACATCCGT	120
	R: TGCTAGGAGCCAGAGCACTA	

1.3 统计学处理 采用 SPSS 23.0 进行统计分析。采用单因素方差分析比较四组小鼠的样本均值,方差齐时采用 LSD 法,方差不齐时采用 Dunnett T3 法。数值变量均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,检验水准 $\alpha = 0.05$ (双侧), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 氯氮平对小鼠外周血 amylase、IL-1β、IL-6 和 TNF-α 表达的影响 如表 2 所示,氯氮平给药后小鼠血清 amylase 水平升高($F = 7.890, df = 3, P < 0.001$);与对照组相比,氯氮平 10 mg/kg 和 20

mg/kg 组血清 amylase 水平明显升高 ($P < 0.01$, $P < 0.001$)。氯氮平给药后小鼠血清 IL-1 β 水平升高 ($F = 6.976$, $df = 3$, $P < 0.01$)；与对照组相比,氯氮平 5 mg/kg 和 10 mg/kg 组血清 IL-1 β 水平明显升高 ($P < 0.01$)；氯氮平 20 mg/kg 组与对照组相比升高更加明显 ($P < 0.001$)。氯氮平给药后也影响了小鼠血清 IL-6 的水平 ($F = 4.033$, $df = 3$, $P < 0.05$)；与对照组相比,氯氮平 5 mg/kg 组的 IL-6 水平有所下降 ($P < 0.05$)。氯氮平给药后对小鼠血清 TNF- α 水平无影响,差异无统计学意义 ($F = 0.272$, $df = 3$, $P > 0.05$)。

表2 四组小鼠血清 amylase、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	amylase (mU/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
对照	54.25 \pm 2.76	3.69 \pm 0.69	28.54 \pm 8.37	32.32 \pm 20.29
氯氮平 5 mg/kg	54.38 \pm 3.39	4.70 \pm 0.95**	20.32 \pm 4.17*	32.01 \pm 13.95
氯氮平 10 mg/kg	57.49 \pm 2.07**	4.81 \pm 0.84**	27.55 \pm 5.62	34.34 \pm 14.81
氯氮平 20 mg/kg	58.63 \pm 2.23***	5.10 \pm 0.80***	28.18 \pm 5.69	38.06 \pm 23.20

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

2.2 氯氮平对小鼠胰腺组织 amylase、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 表达的影响 如图1、表3所示,氯氮平能上调小鼠胰腺组织 amylase、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 蛋白表达水平 ($F = 95.042$, $df = 3$, $P < 0.001$; $F = 184.349$, $df = 3$, $P < 0.001$; $F = 332.945$, $df = 3$, $P < 0.001$; $F = 219.696$, $df = 3$, $P < 0.001$)。与对照组相比,氯氮平 5、10、20 mg/kg 组的胰腺组织中 amylase、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.01$)。氯氮平给药后小鼠胰腺组织中 amylase、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的 mRNA 表达水平与它们各自的蛋白表达水平基本一致 ($F = 121.605$, $df = 3$, $P < 0.001$; $F = 125.620$, $df = 3$, $P < 0.001$; $F = 70.350$, $df = 3$, $P < 0.001$; $F = 74.281$, $df = 3$, $P < 0.001$) 与对照组相比,氯氮平 5、10 和 20 mg/kg 组的胰腺组织中 amylase、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的

mRNA 表达水平明显升高 ($P < 0.01$)。见表4。

表3 四组小鼠胰腺组织 amylase、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 蛋白表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	amylase	IL-1 β	IL-6	TNF- α
对照组	0.47 \pm 0.07	0.31 \pm 0.06	0.51 \pm 0.06	0.39 \pm 0.06
氯氮平 5 mg/kg 组	0.87 \pm 0.10***	0.62 \pm 0.04***	0.84 \pm 0.03***	0.74 \pm 0.05***
氯氮平 10 mg/kg 组	1.08 \pm 0.09***	0.78 \pm 0.05***	1.02 \pm 0.03***	0.99 \pm 0.06***
氯氮平 20 mg/kg 组	1.34 \pm 0.11***	1.03 \pm 0.06***	1.33 \pm 0.06***	1.15 \pm 0.06***

与对照组比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

表4 四组小鼠胰腺组织 amylase、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α mRNA 表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	amylase	IL-1 β	IL-6	TNF- α
对照	1.00 \pm 0.05	1.00 \pm 0.07	1.00 \pm 0.06	1.01 \pm 0.15
氯氮平 5 mg/kg	1.30 \pm 0.06***	1.35 \pm 0.02**	1.51 \pm 0.13**	1.52 \pm 0.06**
氯氮平 10 mg/kg	1.55 \pm 0.04***	1.70 \pm 0.09***	1.92 \pm 0.09***	1.85 \pm 0.08***
氯氮平 20 mg/kg	1.94 \pm 0.15***	2.12 \pm 0.18***	2.38 \pm 0.30***	2.31 \pm 0.25***

与对照组比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

3 讨论

近年来随着非典型抗精神病药物的广泛使用,由抗精神病药引起的药物性胰腺炎逐渐引起关注,据美国 FDA 统计数据表明抗精神病药中导致胰腺炎报道最多的药物是氯氮平^[6]。氯氮平的用药起始时间与胰腺炎的发病进一步支持了因果关系,所有患者均表现为血清 amylase 水平的升高^[3]。有研究^[7]显示患者在氯氮平治疗初期即会引起免疫介导的炎症反应,表现为外周血细胞因子的升高。在这期间内,患者被怀疑具有药物相关副作用的风险达到最高。值得注意的是,对于氯氮平一些其他潜在危及生命的副作用已经提出了免疫介导机制。氯氮平治疗后对细胞因子的调节作用并可能伴随着炎症副作用的发生,提示免疫机制可能参与氯氮平副作用的发生^[8]。

血 amylase 是临床胰腺炎诊断的首选实验室检查,本研究结果显示,氯氮平可导致小鼠血清 amylase 呈剂量依赖性升高。目前关于非典型抗精神病药对血 amylase 影响的动物实验较少,国外仅有 1 项奥氮平口服给药的大鼠实验,研究^[9]结果显示奥氮平导致大鼠血清 amylase 明显升高。奥氮平的化学结构和药理作用与氯氮平类似,是抗精神病药物中报告胰腺炎发生率仅次于氯氮平的药物^[10]。国内的一项对氯氮平急性中毒患者的研究^[11]显示,一次性大剂量服用氯氮平导致患者的血 amylase 明显升高乃至出现高淀粉酶血症,这进一步提供了药物本

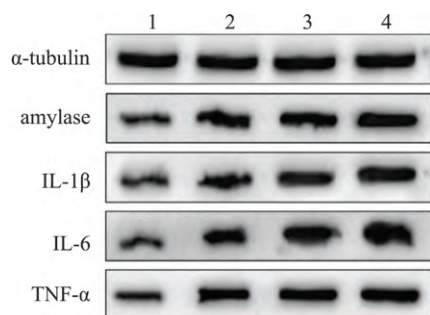


图1 四组小鼠胰腺组织 amylase、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的相对表达量

1: 对照组; 2: 氯氮平 5 mg/kg 组; 3: 氯氮平 10 mg/kg 组; 4: 氯氮平 20 mg/kg 组

身致病作用的证据并支持了亚临床性胰腺炎的可能。

胰腺炎作为一种炎症性疾病,活化的巨噬细胞先诱导胰腺腺泡细胞发生损伤并产生炎症介质的^[5],其中 TNF- α 和 IL-1 β 是一阶段促炎性因子,它们通过再激活巨噬细胞并调节其他炎症介质如 IL-6 的释放来增强炎症反应^[12],因此促炎性细胞因子的检测为评估胰腺损伤的严重程度提供了客观依据。该研究结果显示氯氮平不仅使小鼠胰腺组织中 amylase 的表达显著升高,而且小鼠胰腺组织中促炎性细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的水平也呈剂量依赖性升高。这些结果与经典酒精性胰腺炎小鼠模型中的结果一致,更加支持了胰腺组织中炎症介质的逐渐积累直至胰腺炎的发生,从而表现为临床上具有症状的急性胰腺炎^[13]。

本研究表明氯氮平显著升高了血清 IL-1 β 的水平,这与胰腺组织中 IL-1 β 的表达趋势一致。IL-1 β 已被证实在胰腺炎病程进展中起到核心作用,有研究^[14-15]表明通过使用 IL-1 β 转化酶抑制剂,可以改善急性重症胰腺炎损伤的严重程度。但氯氮平对小鼠血清 IL-6 和 TNF- α 表达的影响却与胰腺组织中的趋势不一致,氯氮平在低剂量组使血清 IL-6 降低了,而氯氮平三组对血清 TNF- α 均无明显影响。实际上,一直以来关于氯氮平对外周血细胞因子的调节作用并没有得出一致趋势的结论^[8],这有待进一步的研究。

参考文献

- [1] 蔡 菡,李泽爱,刘寰忠,等. MK-801 诱导出生早期大鼠精神分裂症模型的行为学研究[J]. 安徽医科大学学报, 2013, 48(7): 768-71.
- [2] Siskind D, McCartney L, Goldschlager R, et al. Clozapine v. first- and second-generation antipsychotics in treatment-refractory schizophrenia: systematic review and meta-analysis[J]. Br J Psychiatry, 2016, 209(5): 385-92.
- [3] Lally J, Kalbani H A, Krivoy A, et al. Hepatitis, interstitial ne-

- phritis, and pancreatitis in association with clozapine treatment: a systematic review of case series and reports [J]. J Clin Psychopharmacol, 2018, 38(5): 520-7.
- [4] Bhatia M, Brady M, Shokuchi S, et al. Inflammatory mediators in acute pancreatitis [J]. J Pathol, 2000, 190(2): 117-25.
- [5] Boxhoorn L, Voermans R P, Bouwense S A, et al. Acute pancreatitis [J]. Lancet, 2020, 396(10252): 726-34.
- [6] Koller E A, Cross J T, Doraiswamy P M, et al. Pancreatitis associated with atypical antipsychotics: from the Food and Drug Administration's MedWatch surveillance system and published reports [J]. Pharmacotherapy, 2003, 23(9): 1123-30.
- [7] Verdoux H, Quiles C, de Leon J. Clinical determinants of fever in clozapine users and implications for treatment management: a narrative review [J]. Schizophr Res, 2019, 211: 1-9.
- [8] Røge R, Møller B K, Andersen C R, et al. Immunomodulatory effects of clozapine and their clinical implications: what have we learned so far? [J]. Schizophr Res, 2012, 140(1-3): 204-13.
- [9] Shah R, Subhan F, Ali G, et al. Olanzapine induced biochemical and histopathological changes after its chronic administration in rats [J]. Saudi Pharm J, 2016, 24(6): 698-704.
- [10] Silva M A, Key S, Han E, et al. Acute pancreatitis associated with antipsychotic medication: evaluation of clinical features, treatment, and polypharmacy in a series of cases [J]. J Clin Psychopharmacol, 2016, 36(2): 169-72.
- [11] 孙振晓,孙宇新,刘化学,等. 氯氮平急性中毒患者血清淀粉酶及心肌酶学变化的研究[J]. 中华临床医师杂志, 2015, (7): 135-7.
- [12] 李文正,夏磊,郝蕊,等. 氯氮平导致胰腺炎作用机制的研究进展[J]. 中国全科医学杂志, 2019, 617(26): 115-9.
- [13] Ren Z, Wang X, Xu M, et al. Binge ethanol exposure causes endoplasmic reticulum stress, oxidative stress and tissue injury in the pancreas [J]. Oncotarget, 2016, 7(34): 54303-16.
- [14] Paszkowski A S, Rau B, Mayer J M, et al. Therapeutic application of caspase 1/interleukin-1 beta-converting enzyme inhibitor decreases the death rate in severe acute experimental pancreatitis [J]. Ann Surg, 2002, 235(1): 68-76.
- [15] Kaplan M, Yazgan Y, Tanoglu A, et al. Effectiveness of interleukin-1 receptor antagonist (Anakinra) on cerulein-induced experimental acute pancreatitis in rats [J]. Scand J Gastroenterol, 2014, 49(9): 1124-30.

Effects of clozapine on the expression of amylase and proinflammatory cytokines in male C57BL/6 mice

Zhao Tongtong^{1,2}, Ning Xiaoshuai^{1,2}, Yang Yating^{1,2}, et al

(¹Dept of Psychiatry, The Chaohu Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 238000;

²Anhui Psychiatric Center of Anhui Medical University, Hefei 238000)

Abstract Objective To investigate the effects of different doses of clozapine on the expression of amylase and pro-inflammatory cytokines [interleukin 1 β (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6), and tumor necrosis factor α (TNF- α)] in

网络出版时间: 2021-8-20 15:41 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210819.1122.005.html>

Er,Cr:YSGG 激光清除 SLA 钛表面牙龈卟啉单胞菌生物膜

余金兰 夏荣 刘春 徐基亮 孙磊

摘要 目的 探究应用不同功率 Er,Cr:YSGG 激光清除喷砂酸蚀(SLA)钛表面牙龈卟啉单胞菌生物膜的效果。方法

在 SLA 试件表面制备牙龈卟啉单胞菌生物膜,并随机分为 3 组,NL 组:不处理;L1 组:0.75 W 的 Er,Cr:YSGG 激光处理;L2 组:1.5 W 的 Er,Cr:YSGG 激光处理。利用扫描电子显微镜观察各组试件表面细菌生物膜情况,同时应用活/死细菌染色和结晶紫染色法来检测各组试件表面细菌情况。结果 扫描电镜和活/死细菌染色在 L1、L2 组几乎观察不到细菌的存在,但扫描电子显微镜下 L1 组试件表面仍覆盖大量细菌生物膜。结晶紫染色法的结果显示 L1、L2 组与 NL 组 OD 值差异有统计学意义,但 L1、L2 之间差异无统计学意义。结论 1.5 W、30 Hz 的 Er,Cr:YSGG 激光可以安全有效地清除 SLA 钛表面牙龈卟啉单胞菌生物膜。

关键词 Er,Cr:YSGG 激光;喷砂酸蚀;牙龈卟啉单胞菌;扫描电子显微镜;种植体周围炎

中图分类号 R 781.42; R 782.12; R 378.84; R 378.99

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)10-1531-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.10.005

种植体周围炎是一种发生在种植体周围的炎症性疾病,表现为种植体周围软组织炎症和骨丧失,是种植失败的常见原因之一,发病率约为 22%^[1-2]。研究^[3]表明,慢性牙周炎病史、吸烟等虽可以增加种植体周围炎的发病风险,但与牙周病类似,菌斑生物膜依旧是其始动因子。因此,治疗种植体周围炎的首要目标是彻底有效地清除种植体表面污染,暴露微结构。近些年,激光已被用于治疗种植体周围炎,它们能消融种植体表面的菌斑、牙石,还可以清除细菌毒素、脂多糖;局部使用不会引起全身反应;减少术中出血、疼痛和术后肿胀^[4-5]。但激光的治疗效果受功率、频率等多种因素影响^[6-7]。该研究旨在探究应用不同功率 Er,Cr:YSGG 激光清除喷砂酸蚀(sandblasted, large-grit, acid-etched, SLA)钛表面牙龈卟啉单胞菌生物膜的效果。

1 材料与方法

1.1 实验设备和试剂 Er,Cr:YSGG 水激光口腔治疗仪(美国 Biolase 公司);商业纯钛(TA1)(东莞

2021-07-07 接收

基金项目:国家重点研发计划项目(编号:2018YFB0407204)

作者单位:安徽医科大学第二附属医院口腔科,合肥 230601

作者简介:余金兰,女,硕士研究生;

夏荣,男,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:xiarongqh@aliyun.com

the serum and pancreatic tissue of male C57BL/6 mice. **Methods** Male C57BL/6 mice were randomly divided into four groups. Mice were treated with clozapine 5, 10 and 20 mg/kg or an equal volume of saline by gavage. Mice blood was collected to examine the levels of amylase and pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6 and TNF- α) after 14 days of consecutive gavage. Then the pancreases of the mice were dissected. Western blot was used to detect the expression of amylase, IL-1 β , IL-6 and TNF- α protein in pancreatic tissue. Fluorescence quantitative PCR method was used to detect the expression of amylase, IL-1 β , IL-6 and TNF- α mRNA in pancreatic tissue. **Results** Compared with the control group, serum amylase levels significantly increased in the 10 and 20 mg/kg clozapine groups ($P < 0.01$ and $P < 0.001$). Compared with the control group, serum IL-1 β level of the three clozapine groups increased in a dose-dependent manner ($P < 0.01$, $P < 0.001$). Compared with the control group, serum IL-6 level decreased in the clozapine 5 mg/kg group ($P < 0.05$). Clozapine dose-dependently increased the expression of amylase, IL-1 β , IL-6 and TNF- α protein and mRNA in pancreatic tissues of mice, and the differences were statistically significant compared with the normal saline group ($P < 0.01$). **Conclusion** Clozapine reliably increased the levels of serum amylase and IL-1 β . Clozapine also increased the expression of amylase and pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6 and TNF- α in pancreatic tissue, which may be one of the pathogenesis of clozapine-induced hyperamylasemia and even pancreatitis.

Key words clozapine; amylase; proinflammatory cytokines; IL-1 β ; IL-6; TNF- α