文章编号:1000-5404(2006)16-1713-03

论著

高渗和低渗造影剂对大鼠肾动脉内皮功能的影响及意义

赵景宏[1],黄 岚[1],王军平[2],晋 军[1],宋耀明[1],陈剑飞[1],武晓静[1],周 健[1],于世勇[1] (第三军医大学:[1]新桥医院心血管内科,全军心血管内科中心,重庆 400037;[2]军事预防医学院防原医学教研室、全军复合伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400038)

提 要:目的 探讨不同类型和剂量的造影剂对大鼠肾动脉内皮功能的影响和内皮细胞损伤情况,为造影剂肾病的发生及防治提供研究资料。**方法** 肾动脉血管环在含不同剂量高渗造影剂泛影葡胺和低渗造影剂碘佛醇的IMDM培养液中孵育1 h,Griess法和放免法分别检测培养液中一氧化氮(nitric oxide, NO)和内皮素(endothelin-1, ET-1)的含量,并用化学发光法检测血管内皮细胞乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)的释放情况。**结果** 肾动脉血管环在含泛影葡胺和碘佛醇的培养液中孵育1 h后,NO分泌无明显变化,而ET-1分泌增加,且呈剂量依赖性。孵育4 h后,泛影葡胺90 μl/ml组肾动脉内皮LDH释放显著增加;碘佛醇各剂量组引起的LDH释放增加没有统计学意义。**结论** 高渗造影剂泛影葡胺和低渗造影剂碘佛醇都可以影响肾动脉内皮功能,这一作用可能主要与ET-1分泌增加有关,而NO的分泌没有明显改变。泛影葡胺对肾动脉内皮功能的影响比碘佛醇严重,大剂量的泛影葡胺在一定时间内还可以导致孵育的肾动脉内皮细胞损伤。

关键词:造影剂;肾动脉内皮;一氧化氮;内皮素;乳酸脱氢酶
中图法分类号:R322.121;R322.61;R981.1 **文献标识码**:A

Effect of high osmolar and low osmolar contrast media on function of rat renal artery endothelium *in vitro*

ZHAO Jing-hong[1], HUANG Lan[1], WANG Jun-ping[2], JIN Jun[1], SONG Yao-ming[1], CHEN Jian-fei[1], WU Xiao-jing[1], ZHOU Jian[1], YU Shi-yong[1] ([1]Department of Cardiovascular Diseases, Xinqiao Hospital, [2]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Combined Injury, College of Preuentive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of different types and dosages of contrast media on the function and cell injury of rat renal artery endothelium. **Methods** Renal artery rings were isolated from SD rats and incubated in IMDM medium with 30, 60, 90 μl/ml Diatrizoate or Ioversol. The contents of NO and ET-1 were detected by Griess method and radioimmunoassay. The release of LDH was assessed by colotimetric method. **Results** After being incubated with Diatrizoate or Ioversol for 1 h, the renal artery endothelium did not show significant changes in the release of NO, but the release of ET-1 increased in a dose-dependent manner. When the renal artery endothelium was stimulated with Diatrizoate at dosage of 90 μl/ml for 4 h, the release of LDH was increased markedly. A slight, but insignificant, increased release of LDH induced by Ioversol was observed. **Conclusion** Both Diatrizoate and Ioversol can affect the function of renal artery endothelium by interfering the secretion of ET-1, and the effects of Diatrizoate are more obvious than Ioversol. High-dose Diatrizoate can also induce renal artery endothelial cells injury.

Key words: contrast media; renal artery endothelium; nitric oxide; endothelin; lactate dehydrogenase

近年来,随着介入诊疗的广泛开展,介入诊疗过程中的严重并发症——造影剂肾病(contrast media-induced nephropathy, CMN)已越来越引起人们的重视。但CMN的发病机制并未明确,有研究认为,肾血流动力学改变是其中一个关键因素,而血流动力学的改变与血管活性物质的合成和释放密切相关[1]。临床研究表明,CMN的发病率与造影剂(contrast media, CM)的类型有关,高渗造影剂比低渗造影剂更易导致CMN[2]。本实验通过孵育的大鼠肾动脉,观察高渗造

作者简介:赵景宏(1973-),女,河北省保定市人,博士研究生,主治医师,主要从事动脉血管损伤与修复方面的研究,发表论文10篇。电话:(023)68774621
通讯作者:黄 岚,电话:(023)68755601,E-mail:huanglans@21cn.com
收稿日期:2005-08-31;修回日期:2005-10-28

影剂泛影葡胺和低渗造影剂碘佛醇对肾动脉内皮释放NO和ET-1的影响，并通过LDH检测反映两种类型的造影剂对内皮细胞的损伤情况。

1 材料与方法

1.1 实验取材及分组

雄性健康SD大鼠8只(体质量300～350 g)，戊巴比妥麻醉，迅速分离并结扎肾动脉两端，剪断后取出，除去结缔组织和外膜，切成约1 mm长的血管环，分别置于0.5 ml含10% FBS的IMDM培养液中，按下述分组加入不同类型和剂量的造影剂后在37 ℃、95% O_2、5% CO_2条件下振摇孵育1 h，取培养液检测NO和ET-1；孵育4 h，取培养液检测LDH。实验分组：①对照组：不作干预处理；②泛影葡胺组：培养液中分别含30、60和90 μl/ml的泛影葡胺，共3个亚组；③碘佛醇组：培养液中分别含30、60和90 μl/ml的碘佛醇，共3个亚组。上述标本采集后于-20 ℃冰箱中保存待检。

1.2 NO和ET-1测定

NO检测采用Griess法，通过测定培养液中亚硝酸盐含量，间接测出NO水平，NO测试盒由南京建成生物工程研究所提供，显色后在全自动酶标仪上检测550 nm波长的吸光度。ET-1检测采用放射免疫法，药盒由解放军总医院东亚免疫研究所提供，由自动γ计数仪得出样品浓度。

1.3 培养液中LDH测定

收集培养上清，采用比色法检测LDH，按南京建成检测试剂盒说明书加下列样品：丙酮酸、标准品(样品)、双蒸水、基质缓冲液辅酶Ⅰ溶液，混匀，37 ℃水浴15 min；再加入2,4-二硝基苯肼溶液，混匀，37 ℃水浴15 min；最后加氢氧化钠溶液，混匀，室温放置3 min；440 nm，蒸馏水调零，测各管吸光度。根据公式计算LDH活力。

1.4 统计学处理

实验数据以$\bar{x} \pm s$表示，采用SPSS 10.0统计处理软件进行多组间比较单因素方差分析，两组间比较用q检验。

2 结果

2.1 肾动脉内皮NO和ET-1分泌的变化

肾动脉血管环在含泛影葡胺和碘佛醇的培养液中孵育1 h后，NO分泌没有明显改变，而ET-1分泌增加，并呈剂量依赖性。与对照组相比，泛影葡胺30 μl/ml组即具有显著性差异($P<0.01$)；碘佛醇30 μl/ml组虽然较对照组略有改变，但没有统计学意义($P>0.05$)，60 μl/ml组和90 μl/ml组则具有显著性差异($P<0.01$)，见表1。与对照组比，NO/ET-1的比值随泛影葡胺和碘佛醇剂量的增加而逐渐下降($P<0.01$，$P<0.05$)。

2.2 肾动脉内皮LDH释放的变化

泛影葡胺90 μl/ml组LDH检测值(302.37±29.90)与对照组(215.65±36.02)比有显著差异($P<0.01$)；碘佛醇各剂量组引起的肾动脉内皮LDH释放增加没有统计学意义($P>0.05$)，但泛影葡胺90 μl/ml组LDH测定值与碘佛醇90 μl/ml组(247.95±44.54)比，二者具有显著差异($P<0.05$)。

表1 泛影葡胺和碘佛醇对肾动脉内皮NO和ET-1分泌的影响($n=10$)

组别	NO(μmol/L)	ET(pg/ml)
对照组	53.32±2.23	15.70±5.99
泛影葡胺30 μl/ml组	51.19±3.12	41.01±10.20[a]
泛影葡胺60 μl/ml组	52.31±7.49	56.29±10.96[a]
泛影葡胺90 μl/ml组	51.39±3.35	69.25±24.22[a]
碘佛醇30 μl/ml组	53.72±5.04	22.43±6.64[b]
碘佛醇60 μl/ml组	51.86±2.42	41.44±21.00[ac]
碘佛醇90 μl/ml组	53.17±2.13	56.82±10.39[ad]

a：$P<0.01$，与对照组比较；b：$P<0.01$，与泛影葡胺30 μl/ml组比较；c：$P<0.05$，与泛影葡胺60 μl/ml组比较；d：$P<0.05$，与泛影葡胺90 μl/ml组比较

3 讨论

CMN是医院获得性肾功能衰竭的主要原因之一[3]。近年来由于各种造影检查特别是介入诊疗技术的广泛应用，由CMN导致肾功能衰竭甚至死亡的患者也在逐渐增多，因此CMN越来越引起医务工作者的重视。目前，CMN的发病机制尚未完全明确，肾血流动力学改变导致的肾小管缺血和造影剂的直接毒性作用可能是其中的两个关键因素，这两种因素又相互影响，促进CMN的发生发展[4]。由于CMN有急性肾功能改变的特性，所以，很多学者主要研究了造影剂对肾小管功能的影响和损伤[5,6]。但是，从CMN的两个主要发病环节来看，造影剂对肾血管内皮功能的影响同样不能忽视，血管内皮的损伤和功能改变可能是导致肾小管和髓质缺血的原因之一，进而促进了急性肾功能衰竭的发生和发展。

血管内皮细胞可合成和分泌多种血管活性物质，并通过参与血管活性物质代谢的调节，发挥调节血管张力的作用[7]。在这些活性物质中，NO是一种重要的内皮依赖性舒张因子，可扩张血管平滑肌，并抑制血小板黏附到内皮下组织和聚集反应；ET是一种重要的缩血管物质，它能够促进血管紧张素原转变为血管紧张素，从而引起血管收缩[8]。许多病理情况下血管内皮功能的改变主要与这两种血管活性物质的比例失调有关[9]。

本研究观察了高渗和低渗造影剂对体外孵育的肾动脉内皮分泌NO和ET-1的影响，并选择了30、60、90 μl/ml 3种剂量进行实验：按成人血液总量5 000 ml计算，分别相当于血管内注射了150、300、450 ml的造影剂，且在全身血液平均分布。实验结果表明，30 μl/ml的泛影葡胺即可引发肾动脉ET-1分泌的改变，而60 μl/ml的碘佛醇组才与对照组出现显著性差异。所

以，在体外，无论是高渗还是低渗造影剂都可以在短时间内影响肾动脉内皮功能，造成 ET-1 分泌增加，且呈剂量依赖性。ET-1 分泌增加，则会导致肾动脉血管收缩效应，不同的是，泛影葡胺的作用要比碘佛醇强，这说明它不但肾毒性强，而且对肾血管内皮功能的影响也比低渗造影剂显著。有研究认为，造影剂会引起肾血管 NO 合成增加，导致血管舒张，但这一作用可能与内皮源性 NO 无关，而且被 ET-1 的血管收缩效应所掩盖[10]。我们通过体外研究发现，无论是泛影葡胺还是碘佛醇对肾动脉血管内皮 NO 的分泌没有影响，但这并不代表造影剂对整个肾脏 NO 合成和分泌就没有影响，在肾脏的不同功能区域，NO 的变化可能不尽相同，有待于我们进一步研究。

另外，我们还发现，90 μl/ml 的泛影葡胺作用 4 h 后会导致 LDH 释放显著增加，而碘佛醇各组 LDH 释放虽逐渐增加，但与对照组相比都没有显著性差异。值得注意的是，90 μl/ml 的泛影葡胺组与 90 μl/ml 的碘佛醇组 LDH 测定值也具有显著性差异，这表明，大剂量泛影葡胺对肾动脉血管内皮细胞的损伤要比碘佛醇严重的多。

我们通过体外实验观察了高渗和低渗造影剂的上述作用，而在体内，可能因为机体自身的代偿和调节机制，这一过程会十分复杂。虽然急性肾小管损伤在 CMN 的发生中占有重要地位，但我们认为，造影剂对肾血管内皮功能的影响和损伤同样不能忽视，对这一问题的深入研究，或许可以进一步揭示 CMN 的发病机制。

参考文献：

[1] GOLDENBERG I, MATETZKY S. Nephropathy induced by contrast media: pathogenesis, risk factors and preventive strategies [J]. CMAJ, 2005, 172(11): 1461 - 1471.

[2] ESPLUGAS E, CEQUIER A, GOMEZ-HOSPITAL J A, *et al*. Comparative tolerability of contrast media used for coronary interventions [J]. Drug Saf, 2002, 25(15): 1079 - 1098.

[3] MORCOS S K. Prevention of contrast media nephrotoxicity--the story so far[J]. Clin Radiol, 2004, 59(5): 381 - 389.

[4] PERSSON P B, HANSELL P. Pathophysiology of contrast medium-induced nephropathy[J]. Kidney Int, 2005, 68(1): 14 - 22.

[5] ZAGER R A, JOHNSON A C, HANSON S Y, *et al*. Radiographic contrast media-induced tubular injury: evaluation of oxidant stress and plasma membrane integrity[J]. Kidney Int, 2003, 64(1): 128 - 139.

[6] KATZBERG R W. Contrast medium-induced nephrotoxicity: which pathway? [J]. Radiology, 2005, 235(3): 752 - 755.

[7] TOBOREK M, KAISER S. Endothelial cell functions. Relationship to atherogenesis [J]. Basic Res Cardiol, 1999, 94(5): 295 - 314.

[8] OLDROYD S D, MORCOS S K. Endothelin: what does the radiologist need to know? [J]. Br J Radiol, 2000, 73(876): 1246 - 1251.

[9] HOPFNER R L, McNEILL J R, GOPALAKRISHNAN V. Plasma endothelin levels and vascular responses at different temporal stages of streptozotocin diabetes[J]. Eur J Pharmacol, 1999, 374(2): 221 - 227.

[10] LIMBRUNO U, DE-CATERINA R. Vasomotor effects of iodinated contrast media: just side effects? [J]. Curr Vasc Pharmacol, 2003, 1(3): 321 - 328.

（编辑　汪勤俭）

关于医学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母，也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母，例如均数的符号是字母 $\bar{x}$，卡方的符号是希腊字母 χ^2，自由度的符号是希腊文"ν"，不是拉丁文"V"。样本的相关系数是英文"r"，不能误为希腊文"γ"。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号，都是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加"－"或"＋"表示。例如 Na^+、Ca^{2+}、P^{5-} 等等，不采用 Ca^{++}、P^{---}、$Al^{(3)}$、O^{-2} 表示。核素的核子素（质量数）应写在元素符号的左上角，例如：^{131}I、^{32}P。表示激发状态的 m 写在右上角，例如：$^{99}Tc^{m}$、$^{113}In^{m}$。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称，即不能写成^{131}碘、铟^{113m}、P^{32}、Tc^{99m}。

近几年分子生物学发展很快，并已渗透到许多学科，大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式，要对符号的来源及其内涵有深刻的了解，使用时不致发生错误，例如：RNA 有 rRNA（ribosomal RNA）、tRNA（transfer RNA）、mRNA（messenger RNA）3 类。r、t、m 是表示类型的符号应小写，RNA 应大写。

本刊编辑部