论著

文章编号:1000-5404(2008)04-0284-04

缓激肽B1受体在严重烫伤大鼠内脏血管通透性变化中的作用

赵明月,黄跃生,张 琼,王 广,阮 兢,雷泽源,褚志刚,向 飞 (第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400038)

摘 要:目的 探讨严重烫伤大鼠内脏血管通透性的变化及缓激肽B1受体在其过程中的作用。**方法** 成年SD大鼠90只,体质量250~300 g,分为正常对照组(N组)、假烫伤组(S组)、单纯烫伤组(B组)、假烫伤+缓激肽B1受体特异性抑制剂组(SI组)和烫伤+缓激肽B1受体特异性抑制剂组(BI组)。S组仅补液不烫伤,B组和BI组大鼠均造成30% Ⅲ度烫伤并补液后,分别于伤后0、3、6、12、24 h和48 h取肺、心、肾、小肠,通过伊文思蓝(Evan's Blue, EB)法测定各脏器血管通透性变化。**结果** 与S组比较,B组大鼠各脏器组织中EB含量显著增加,在伤后3 h达高峰,24 h内均处于较高水平,伤后48 h内基本恢复到正常水平;静脉注射缓激肽B1受体特异性抑制剂后,BI组与各时相点单纯烫伤组比较,各脏器EB含量显著降低。**结论** 缓激肽B1受体特异性抑制剂可有效降低严重烫伤大鼠伤后主要脏器血管通透性。

关键词: 烫伤;血管通透性;缓激肽B1受体;缓激肽B1受体特异性抑制剂

中图法分类号: R322.12;R329.27;R644.02 **文献标识码:** A

Role of bradykinin B1 receptor in organic vascular permeability following severe burn

ZHAO Ming-yue, HUANG Yue-sheng, ZHANG Qiong, WANG Guang, RUAN Jing, LEI Ze-yuan, CHU Zhi-gang, XIANG Fei (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Burns, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of organic vascular permeability after severe burn in rats and determine if the selective bradykinin receptor 1 antagonist affects the vascular permeability. Methods Ninety rats were divided into 5 groups: normal group (group N), sham burn group (group S), sham burn plus bradykinin receptor 1 antagonist (BR1A, des Arg^9-Arg^8-BK) group (group SI), burn group (group B), and burn plus BR1A group (group BI). BR1A (1 mol/kg) dissolved in normal saline to 1 mol/L was applied intravenously 20 min before the organ samples were taken. Evan's blue (EB) was injected 10 min before preparation of myocardium from ventricle, lung, kidney and intestinal tissues in dimethylformamide 0, 3, 6, 12, 24, 48 h after burn. The content of dissolved EB was determined by UV spectrophotometer. Results In comparison with group S, the content of EB in all organ tissues in the group B increased significantly, peaked 3 h after burn, kept at the high level in 24 h, and declined close to normal levels 48 h after burn. The content of EB was lower in all organ tissues in group BI than that in group B. Conclusion The selective inhibitor of bradykinin B1 receptor apparently inhibits the increase of vasopermeability.

Key words: burns; vasopermeability; bradykinin B1 receptor; des Arg^9-Arg^8-BK

血管通透性增加是造成严重烧伤患者血容量不足、血流动力学紊乱、休克及多器官功能不全的重要原因之一。以往研究表明血管通透性增加与血管内皮功能紊乱及损伤有关,包括炎症细胞的浸润、炎症介质的释放等[1]。其中组胺和激肽家族是引起血管通透性增加的最重要的炎症因子,但以往临床上运用抗组胺及缓激肽B2受体作用的药物对于降低血管通透性的作用并不十分理想。本实验拟观察严重烫伤大鼠各脏器血管通透性变化特点及激肽B1受体特异性抑制剂对各器官血管通透性的影响,为如何降低烧伤后患者

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目("973"项目)(2005CB522601);全军医学科研"十一五"计划专项课题(06Z033)
Supported by the National Key Basic Research and Development Plan of China ("973" Projects, 2005CB522601) and the Research Project of the "Eleventh Five-Year Plan" for Medical Science Development of PLA (06Z033)

作者简介: 赵明月,女,北京市人,硕士研究生,主要从事烧伤早期脏器损害方面的研究。电话:(023)68754148-8064,E-mail: lunazhao@tmmu.edu.cn

通信作者: 黄跃生,电话:(023)68754173,E-mail:yshuang@public.cta.cq.cn

收稿日期: 2007-10-19;**修回日期:** 2007-11-25

血管通透性开辟一条新的药物治疗途径。

1　材料与方法

1.1　主要材料、试剂及仪器

健康 SD(Sprague-Dawley)大鼠 90 只(第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供),雌雄不限,体质量 250～300 g。des Arg^9-Arg^8-BK (A-P-P-G-F-S-P-L) (10 mg,北京澳科生物技术有限责任公司合成),伊文思蓝(Evan's blue, EB)(100 g/瓶,上海生物制药厂),二甲基甲酰胺溶液(100 ml/瓶,北京鼎国),注射用生理盐水(100 ml/袋,重庆西南药业集团),DU-7 紫外分光光度计(美国 Beckman 公司),恒温水浴箱(北京市长风仪器仪表公司)。

1.2　实验分组及处理方法

90 只大鼠分为 5 组:正常对照组(N 组,6 只)、假烫伤组(S 组,6 只)、假烫伤 + 抑制剂组(SI 组,6 只)、单纯烫伤组(B 组,36 只)、烫伤 + 抑制剂组(BI 组,36 只)。其中,N 组不作任何处理;S 组按照模型常规麻醉、背部脱毛后于 37 ℃水浴中假烫伤;SI 组处理同 S 组,在标本采集前 20 min 股静脉注射生理盐水溶解的 1 mol/L 的 B1 受体特异性抑制剂 des Arg^9-Arg^8-BK(1 mol/kg)[2]; B 组和 BI 组又随机分为伤后 0、3、6、12、24 h 和 48 h 6 个时相点,每个时相点 6 只大鼠。B 组按本所常规方法制备烫伤模型[3],实验前大鼠禁食 6 h,称体质量后腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉,以大鼠体质量计算其 30% 体表面积,背部脱毛,置于 98 ℃水浴中烫伤 18 s,造成 30% TBSA Ⅲ度烫伤(病理切片证实)。烫伤后按 Parkland 公式分次腹腔注射乳酸林格液抗休克,于伤后 0 h 注入 24 h 总量的一半。烫伤后动物分笼饲养,自由饮水、进食;BI 组模型制备同 B 组,于标本采集前 20 min 股静脉注射生理盐水溶解的 1 mol/L 的 B1 受体特异性抑制剂 des Arg^9-Arg^8-BK(1 mol/kg)。各组大鼠在标本采集前 10 min 股静脉注射生理盐水溶解的 1% EB 溶液 20 mg/kg,并相应减少补液量,以确保液体抗休克的一致性。

1.3　标本采集与处理

B 组和 BI 组于各时相点,N 组、S 组和 SI 组于处理后 0 h 采集大鼠心脏、肺、肾脏和小肠,用 EB 比色法[4]测定各脏器血管通透性,称器官组织质量后剪碎,以二甲基甲酰胺液抽提,分光光度计测定上清液 $D(620)$ 值,计算单位干质量组织 EB 含量,以此表示血管通透性。

组织 EB 含量(μg/g) = (ρ_{EB} × 0.5)/[组织湿质量 × (1 − 组织含水量)]

1.4　统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件,对 N、S、SI 组 EB 含量以及 B、BI 组组内各时相点 EB 含量进行单因素方差分析,对 B、BI 组相应时相点 EB 含量行 t 检验。

2　结果

2.1　各脏器 N、S 组和 SI 组血管通透性比较

N、S 组和 SI 组心脏、肺、肾脏和小肠血管通透性差异不显著($P > 0.05$),说明补液、脱毛及过水等处理对脏器血管通透性无明显影响,缓激肽 B1 受体抑制剂对正常大鼠脏器血管通透性也无显著影响(表 1)。

表 1　N、S 组及 SI 组各脏器 EB 含量(μg/g, $n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	心脏	肺	肾脏	小肠
N 组	14.932 ± 1.778	41.186 ± 2.896	18.447 ± 3.626	9.511 ± 5.497
S 组	16.344 ± 1.391	42.376 ± 5.162	20.097 ± 3.605	9.808 ± 3.380
SI 组	15.898 ± 1.996	42.672 ± 5.314	21.177 ± 4.101	11.395 ± 3.529

2.2　心脏血管通透性的变化

烫伤后 3 h,B 组 EB 含量达到高峰($P < 0.01$),随后逐渐下降,但 6、12 h 和 24 h 仍显著高于正常水平($P < 0.05$)。烫伤后 3 h, BI 组 EB 含量也达到高峰,6、12 h 时仍高于 SI 组,但伤后 3、6、12、24 h 均显著低于 B 组($P < 0.01$,表 2)。

2.3　肺血管通透性的变化

烫伤后 3 h,B 组 EB 含量达到高峰, 6、12 h 和 24 h 均显著高于正常水平($P < 0.01$)。烫伤后 6 h, BI 组 EB 含量达到高峰,仅 6 h 高于 SI 组($P < 0.01$),烫伤后 3、6、12、24 h 和 48 h 均显著低于 B 组($P < 0.01$,表 3)。

2.4　肾脏血管通透性的变化

烫伤后 3 h, B 组 EB 含量达到高峰,伤后 6、12 h 和 24 h 均显著高于正常水平($P < 0.01$)。烫伤后 3、6 h, BI 组 EB 含量显著高于 SI 组($P < 0.01$),烫伤后 3、6、12、24 h 均显著低于 B 组($P < 0.01$, 表 4)。

2.5　小肠血管通透性的变化

烫伤后 3 h,B 组 EB 含量显著增加($P < 0.01$),6 h 时仍高于正常水平($P < 0.05$)。烫伤后3 h, BI 组 EB 含量显著高于 SI 组($P < 0.01$),但显著低于 B 组($P < 0.01$,表 5)。

表 2　4 组大鼠烫伤后不同时相点心脏 EB 含量比较(μg/g, $n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	0 h	3 h	6 h	12 h	24 h	48 h
S 组	16.344 ± 1.391	16.344 ± 1.391	16.344 ± 1.391	16.344 ± 1.391	16.344 ± 1.391	16.344 ± 1.391
B 组	16.069 ± 2.215	37.341 ± 2.314[a]	27.319 ± 2.926[a]	26.310 ± 2.080[a]	24.680 ± 1.970[a]	15.218 ± 1.970
SI 组	15.898 ± 1.996	15.898 ± 1.996	15.898 ± 1.996	15.898 ± 1.996	15.898 ± 1.996	15.898 ± 1.996
BI 组	15.793 ± 2.019	32.213 ± 1.984[cd]	23.246 ± 2.532[ce]	19.937 ± 2.076[bd]	18.244 ± 1.303[d]	15.399 ± 2.468

a: $P < 0.01$,与 S 组比较;b: $P < 0.05$,c: $P < 0.01$,与 SI 组比较;d: $P < 0.01$, e: $P < 0.05$,与 B 组比较

表 3　4 组大鼠烫伤后不同时相点肺 EB 含量比较(μg/g, $n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	0 h	3 h	6 h	12 h	24 h	48 h
S 组	42.376 ± 5.162	42.376 ± 5.162	42.376 ± 5.162	42.376 ± 5.162	42.376 ± 5.162	42.376 ± 5.162
B 组	43.914 ± 4.176	87.405 ± 4.465[a]	76.883 ± 3.738[a]	67.438 ± 3.027[a]	58.474 ± 3.677[a]	47.337 ± 5.409
SI 组	42.672 ± 5.314	42.672 ± 5.314	42.672 ± 5.314	42.672 ± 5.314	42.672 ± 5.314	42.672 ± 5.314
BI 组	41.685 ± 5.093	47.453 ± 4.991[c]	55.251 ± 6.440[bc]	41.320 ± 4.299[c]	38.663 ± 2.746[c]	36.078 ± 5.170[c]

a: $P < 0.01$,与 S 组比较;b: $P < 0.01$,与 SI 组比较;c: $P < 0.01$ 与 B 组比较

表4 4组大鼠烫伤后不同时相点肾脏EB含量比较(μg/g,$n=6$, $\bar{x}\pm s$)

组别	0 h	3 h	6 h	12 h	24 h	48 h
S组	20.097±3.605	20.097±3.605	20.097±3.605	20.097±3.605	20.097±3.605	20.097±3.605
B组	21.676±4.568	57.406±5.861[a]	53.414±5.430[a]	43.586±3.527[a]	34.486±2.486[a]	20.939±4.131
SI组	21.177±4.101	21.177±4.101	21.177±4.101	21.177±4.101	21.177±4.101	21.177±4.101
BI组	22.411±5.307	34.294±5.900[bc]	33.906±4.775[bc]	28.929±4.579[c]	25.681±4.511[c]	22.476±3.692

a: $P<0.01$,与S组比较;b: $P<0.01$,与SI组比较;c: $P<0.01$,与B组比较

表5 4组大鼠烫伤后不同时相点小肠EB含量比较(μg/g,$n=6$, $\bar{x}\pm s$)

组别	0 h	3 h	6 h	12 h	24 h	48 h
S组	9.808±3.380	9.808±3.380	9.808±3.380	9.808±3.380	9.808±3.380	9.808±3.380
B组	10.305±3.491	26.215±5.063[b]	16.651±5.112[a]	13.439±2.801	12.201±2.825	9.297±2.368
SI组	11.395±3.529	11.395±3.529	11.395±3.529	11.395±3.529	11.395±3.529	11.395±3.529
BI组	9.877±3.909	18.546±2.853[cd]	14.234±3.573	13.509±3.506	11.717±3.179	11.029±2.099

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$,与S组比较;c: $P<0.01$,与SI组比较;d: $P<0.01$,与B组比较

3 讨论

早期循环血容量不足是造成重度烧伤患者休克期血流动力学紊乱、各重要脏器缺血缺氧损害的重要原因。血管通透性增高是引起严重烧伤早期循环体液丧失的根本原因[5],也是引发烧伤休克的重要因素。内皮通透性增加主要通过细胞途径和细胞旁途径[5]。引起血管内皮损伤及通透性增加的主要致病原因包括炎症细胞的聚集和浸润、氧化损伤、前列腺素家族扩血管、激肽系统和组胺系统的作用,以及其他炎症介质(如补体系统、神经肽、5-HT等)的释放等[6]。因此,临床上曾尝试运用抗组胺及阻断缓激肽B2受体药物降低血管通透性,但疗效并不理想,主要与组胺受体的亚型多、功能复杂且相互关联有关,全部阻断组胺受体可抑制其血管调节作用。而缓激肽B2受体在多种组织均为组成性表达,且被激活后很快内化失活[7],因此认为其仅在炎症早期具有引起血管通透性增加的短暂作用,而在长效抑制血管通透性的变化中作用有限。

近年研究表明,缓激肽B1受体在正常生理状态下除在中枢神经系统组成性表达以外几乎不表达[8],而在创伤、感染、炎症等多种致病因素作用下可快速、持续地诱导其表达[9]。通过激活下游PLC、PKC、PLA及eNOS等多种途径[10],在血管通透性变化、炎症反应及疼痛等过程中发挥作用。目前被认为是维持炎症反应中渗出及疼痛持续发生的主要因素之一[11]。本研究观察了大鼠严重烫伤后各主要脏器血管通透性变化规律,结果显示血管渗透增加主要集中于伤后第1个24 h内,多以3 h和6 h为渗出高峰,约占整个休克期渗出的50%。如果能在第1个24 h内,特别在血管通透性变化高峰时段有效地降低渗出,可望显著降低休克的发生率。

des Arg^9-Leu^8-BK是缓激肽B1受体的一个8肽的竞争性抑制剂,能有效地抑制B1受体的活化,而对B2受体无明显作用[2]。本研究结果表明,烫伤后静脉注射des Arg^9-Leu^8-BK,可显著降低各主要脏器组织3~24 h的EB量,说明抑制缓激肽B1受体的作用确实能有效减少各脏器血管通透性的增加;其中以减低肺和肾血管通透性增加的作用更为明显,可能与其含有丰富的小血管,B1受体含量相对较高有关;对小肠的通透性变化的作用仅以3 h显著,而其余时相点通透性改变并不明显,可能与烫伤后肠道血管应激性收缩,血容量相对减少有关。

综上所述,可推测缓激肽B1受体在大鼠严重烫伤后脏器血管通透性增加过程中发挥着重要的作用,可能是休克期脏器血管通透性增高持续发生的重要因素。因此,进一步明确严重烫伤后大鼠各主要脏器B1受体的表达变化情况,及其引起血管通透性增加的机制,对于寻找抑制血管通透性变化的新措施,提高大面积重度烧伤休克治疗的效果,减少缺血缺氧损害和内脏并发症,进一步提高治愈率,具有十分重要的意义。

参考文献:

[1] 黎 鳌. 黎鳌烧伤学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2001: 440-463.

[2] Pelorosso F G, Brodsky P T, Zold C L, *et al*. Potentiation of des-Arg^9-kallidin-induced vasoconstrictor responses by metallopeptidase inhibition in isolated human umbilical artery[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2005, 313(3): 1355-1360.

[3] 黄跃生, 杨宗城, 肖光夏, 等. 常用烧(烫)伤实验研究动物模型[M]// 黄跃生. 烧伤科特色治疗技术. 北京: 科学技术文献出版社, 2004: 575-576.

[4] Souza D G, Lomez E S, Pinho V, *et al*. Role of bradykinin B2 and B1 receptors in the local, remote, and systemic inflammatory responses that follow intestinal ischemia and reperfusion injury[J]. J Immunol, 2004,

172(4): 2542 - 2548.
[5] 赵克森, 黄巧冰. 血管通透性增高的基本机制[J]. 中国病理生理杂志, 2003,19(4): 549 - 553.
[6] Demling R H. The burn edema process: current concepts[J]. J Burn Care Rehabil, 2005, 26(3): 207 - 227.
[7] Gabra B H, Berthiaume N, Sirois P, *et al*. The kinin system mediates hyperalgesia through the inducible bradykinin B1 receptor subtype: evidence in various experimental animal models of type 1 and type 2 diabetic neuropathy[J]. Biol Chem, 2006, 387(2): 127 - 143.
[8] Calixto J B, Medeiros R, Fernandes E S, *et al*. Kinin B1 receptors: key G-protein-coupled receptors and their role in inflammatory and painful processes[J]. Br J Pharmacol, 2004, 143(7): 803 - 818.
[9] Chen J J, Johnson E J. Targeting the bradykinin B1 receptor to reduce pain[J]. Expert Opin Ther Targets, 2007, 11(1): 21 - 35.
[10] 张　铭, 黄跃生, 张　琼. 不同浓度 NO 对缺氧心肌细胞损害的影响[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(11): 1017 - 1019.
[11] Moreau M E, Garbacki N, Molinaro G, *et al*. The kallikrein-kinin system: current and future pharmacological targets[J]. J Pharmacol Sci, 2005, 99(1): 6 - 38.

(编辑　王　红)

文章编号:1000-5404(2008)04-0287-01

个案与短篇

以假性肠梗阻为首发症状的系统性红斑狼疮 1 例

黄晓梅[1],李开龙[2]　([1]重庆电力医院内科,重庆 400030; [2]第三军医大学大坪医院野战外科研究所肾内科,重庆 400042)

1　临床资料

患者,女性,28 岁,腹痛、呕吐、发热 3 d 入院,查体温 37.7 ℃、脉搏 92 次/min、呼吸 17 次/min、血压 110/80 mmHg。急性病容, 面部无红斑, 心肺无异常, 腹部稍膨隆,上腹及脐周压痛, 反跳痛不明显, 移浊阳性,肠鸣音消失。血常规: WBC 7.6×10^9/L、中性粒细胞 76%、淋巴细胞 22%、Hb 11.5 g/L、PLT 118×10^9/L,肝、肾功正常。腹部平片示部分肠腔扩张和肠管充气影,见多个短小液气平面散在分布,B 超示双肾盂轻度积水。腹部 CT 示十二指肠、小肠和升结肠近端肠壁肿胀,部分肠腔扩张、见气液平面。考虑"肠梗阻"。转外科行剖腹探查术,术中见结肠近端肠管肿胀明显,遂切除该段肠管再吻合。切除肠管病理检查提示浆膜下血管炎。患者术后症状无缓解并持续发热(最高体温 38.9℃),腹水增加,尿量减少,双下肢水肿明显。发热考虑腹腔感染,但腹水培养无细菌生长,血常规为非感染性血象,抗感染治疗体温不降。遂转至上级医院。转院后查血常规: WBC 6.8×10^9/L、中性粒细胞 72%、淋巴细胞 26%、Hb 96.0 g/L、PLT 112×10^9/L;尿常规: Pro (++++)、RBC(+)/HP;尿蛋白定量 7.87 g/24 h;肾功:BUN 15.1 mmol/L、Scr 247 μmol/L、URIC 544.1 μmol/L;血浆总蛋白 36.8 g/L、白蛋白 18.5 g/L、球蛋白 18.2 g/L、AST 60.1 U/L、ALT 58.7 U/L、ALP 168.8 U/L、GGT 58.4 U/L、LDH 278.1 U/L;血脂:TC 1.74 mmol/L,余正常; ESR 92 mm/h; ANA(+)1∶320、抗 dsDNA(+)、抗 μ1RNP(+)、抗 SM(+);补体 C_3 0.14、C_4 0.17; T_4、T_3、TSH 和血皮质醇正常。肾穿刺活检见 28 个完整肾小球、2 个硬化肾小球,肾小球细胞数 130 ~ 160 个/球,3 个细胞性新月体,2 个肾小球 Bowman's 囊壁增厚、分层,系膜细胞及系膜基质中度增殖,毛细血管袢开放欠佳,并见节段性毛细血管袢为血栓形成,内皮下免疫复合物形成,PASM 和 Masson 染色见肾小球基底膜增厚、双轨形成,肾小管管腔内见蛋白及红细胞管型,灶性肾小管萎缩、间质纤维化及炎细胞浸润,间质血管内膜增厚,免疫荧光: IgG(++)、IgA(++)、IgM(+)、C_3(+)、C_4(+)、C_1q(+)在毛细血管袢及系膜区沉积,肾小球 Nephrin 节段缺失。病理诊断:狼疮性肾炎Ⅳ型(G - A/C)。临床诊断:系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎并急性肾功能不全、假性肠梗阻。在给予持续胃肠减压, 抗感染及营养支持治疗的同时,给予甲基强的松龙 1.0 g,静脉滴注,1 次/ d,共 3 d,后改为强的松 40 mg,1 次/d,体温降至正常,同时给予环磷酰胺 0.6 g,静脉滴注,1 次/d,共 2 d。1 周后患者腹部症状消失,尿量增至 2 500 ~ 3 500 ml/d。15 d 后复查血 WBC 11.76×10^9/L,中性粒细胞 67%, Hb 104 g/L, PLT 201×10^9/L;尿常规: Pro(+), RBC 7 ~ 10 个/HP,尿蛋白定量 0.77 g/24 h;ESR 35 mm/h。患者出院 1 个月后复查,血、尿常规和 ESR 正常,血浆白蛋白 32 g/L,B 超双肾盂积水消失。

2　讨论

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)临床表现多样, 可累及多个脏器。假性肠梗阻(intestinal pseudoobstruction,IPO)是一种有肠梗阻症状和体征但无机械性梗阻证据的综合征。以 IPO 为首发表现的 SLE 罕见[1], 容易误诊。Narvaez 等[2]报道, 以 IPO 为首发的 SLE 占 41%, 大多数发生在 SLE 病情活动时, 其中 63% 的患者有输尿管肾盂积水和膀胱容积缩小。本例患者入院时有肠梗阻的临床表现和部分体征,

(下转 291 页)

作者简介:黄晓梅,女,重庆市人,主治医师。电话:(023)63689434
收稿日期:2007-12-26;修回日期:2008-01-14