DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.08.020
第24卷第8期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 8
2002年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2002

文章编号:1000-5404(2002)08-0919-02

论著

PAF拮抗剂BN50739对大鼠急性肺损伤的作用研究

黄 宏[1],周 萍[1],刘友生[2],陈意生[2],蒋建新[1] (第三军医大学:[1]附属大坪医院野战外科研究所第四研究室,重庆 400042;[2]附属西南医院病理研究所,重庆 400038)

提 要:目的 观察PAF拮抗剂BN50739在治疗烧伤内毒素血症所致的急性肺损伤中的作用,为临床治疗提供依据。方法 采用烧伤复合内毒素血症大鼠模型,于致伤前5 min腹腔注射BN50739。动态观察肺病理改变、血气分析、支气管肺泡灌洗液(BALF)中蛋白含量及肺内TNF表达。结果 BN50739可以明显减轻肺水肿,使BALF中蛋白含量明显低于生理盐水对照组,使伤后1.5 h和6 h血氧分压明显提高。BN50739尚能部分抑制TNF表达。结论 BN50739能部分改善烧伤复合内毒素血症所致的急性肺损伤。

关键词:烧伤;内毒素血症;急性肺损伤;拮抗剂;血小板活化因子
中图法分类号:R392.11;R563.02;R644.06 文献标识码:A

Effect of PAF antagonist BN50739 on acute lung injury in rats

HUANG Hong, ZHOU Ping, LIU You-sheng, CHEN Yi-sheng, JIANG Jian-xin (Research Institute of Field Surgery, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To observe the therapeutic effect of BN50739, a platelet-activating factor (PAF) antagonist on the acute lung injury induced by burn injury combined with endotoxemia. Methods Third degree thermal injury of 20% total body surface area (TBSA) rats were prepared, and intraperitoneal injection of endotoxin were given to induce animal model of acute lung injury. BN50739 at 20 mg/kg was injected into the abdominal cavity of rats in treatment group 5 min before the injury. Histological changes of the lung, blood gas analyses, protein contents in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and expression of TNG in lung tissue were investigated before. Results BN50739 significantly attenuated the pulmonary edema, and decreased lung vascular permeability for protein, and resulted in the decrease of the protein contents in BALF improvement of respiration and increase of the blood PO_2. BN50739 partially inhibited the expression of TNF in rat lung. Conclusion BN50739 might partially improve the acute lung injury induced by burns injury combined with endotoxemia in rat.

Key words: burn injury; endotoxemia; acute lung injury; antagonist; platelet-activating factor

血小板活化因子(Platelet-activating factor, PAF)是一种有独特功能的细胞因子,也是一种脂类炎症介质,具有广泛的生物学活性,并参与了哮喘、内毒素休克、炎症、急性肝、肺损伤及肾炎等多种疾病的病理生理过程。PAF是内毒素血症的一个重要介质,能引起肺血管损伤使其管壁通透性增加,导致肺水肿。此外PAF能引起肺血流动力学改变,通过使肺动脉压增高所致[1]。文献[2,3]报道PAF拮抗剂SRI63-441能显著改善内毒素引起的肺损伤。而关于PAF拮抗剂BN50739对急性肺损伤的作用尚未见报道,故本实验观察了PAF受体拮抗剂BN50739烧伤复合内毒素血症所致的急性肺损伤的治疗作用。

1 材料与方法

选用健康Wistar大鼠72只,体重180~250 g,雄雌不限,随机分为2组。BN50739治疗组(简称治疗组,BNG)和生理盐水对照组(简称对照组,NCG)。动物模型采用凝固汽油造成体表20% III度背部烧伤,然后立即腹腔注射内毒素(1 mg/kg, LPS, Sigma)治疗组于致伤前5 min腹腔一次性注射PAF受体拮抗剂BN50739(法国T. Braquet博士馈赠),剂量为20 mg/kg;生理盐水对照组于伤前5 min腹腔注射等量生理盐水。致伤时乙醚麻醉,肺部取材在1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉下进行,分别于伤后0.5、1、1.5、6、12、24 h活杀动物取材,每时相点活杀动物6只。

1.1 观察指标

1.1.1 光镜观察 肺组织按常规固定,石蜡包埋切片、HE染色、观察。

1.1.2 BALF蛋白含量 打开胸腔,结扎右肺,左下肺用4 ml无菌生理盐水灌洗2次,回收率约为80%~90%。离心5 min,500 g/min,上清液用于蛋白测定(Lowry法)。

1.1.3 血气分析 通过腹腔动脉采血,用自动血气分析仪作血气分析,观察血氧分压(PO_2)变化。

1.1.4 TNF免疫组化染色 新鲜肺组织用4%多聚甲醛固定12 h,4 ℃下常规脱水包理;石蜡切片常规脱蜡水化;0.1%胰酶消化30 min,37 ℃;1%H_2O_2甲醇去内源酶,20 min;加血清,室温置20 min;滴加TNF单抗(1∶50, Sigma),37 ℃置1 h后用PBS洗3次;滴加生物素标记的抗鼠IgG(1∶200)室温置30 min,滴加ABC(卵白素—生物素—过氧化物酶复合物1∶100)30 min后

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39732 10)
作者简介:黄 宏(1966—),女,重庆市人,硕士,助理研究员,主要从事创伤病理方面的研究。电话:(023)68757436
收稿日期:2001-09-25;修回日期:2002-03-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

DAB 显色, 苏木精复染, 常规封片。

2 结果

2.1 肺脏的组织学变化

对照组: 伤后 0.5 h, 肺脏即可见较多肺泡萎陷; 弥漫性毛细血管扩张, 伴局灶性肺出血, 间质毛细血管内可见大量 PMN 滞留, 肺间质水肿, 肺泡隔不同程度增宽, 伴 PMN 浸润, 血管周围出现富含蛋白的水肿液形成的水肿套, 部分肺泡腔内可见蛋白渗出物和 PMN。伤后 1.5 h, 上述病变明显加重。至伤后 6 h, 血管周围水肿套代之以炎细胞套(主要是 PMN 和淋巴细胞), 血管内可见较多单核细胞滞留。伤后 12~24 h, 间质水肿逐渐减轻, 炎细胞套消失, 肺泡腔内可见较多巨噬细胞。

治疗组: 肺组织表现为轻度水肿, 肺泡隔轻度增宽或不增宽, 无明显水肿套形成, 无灶性肺出血, 尽管肺内仍有多量 PMN 滞留, 但滞留时程缩短。

2.2 BALF 蛋白含量测定结果

表 1 各组 BALF 蛋白含量变化($\mu g/ml$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Changes of protein contents in BALF of different groups($\mu g/ml$, $\bar{x} \pm s$)

Group	0.5 h	1 h	1.5 h	6 h	12 h	24 h
NCG	714.2±98.6	1195.0±97.3△	1085.8±189.5△	821.7±50.7△	680.0±200.7	796.7±266.0
BNG	598.5±107.3	565.1±131.9△	537.5±124.5△	533±144.3△	760.0±345.1	744.2±341.0

NCG: Normal control group; BNG: BN50739 treated group; △: $P<0.05$ *vs* BNG

伤后 1~6 h 治疗组 BALF 中蛋白含量明显低于生理盐水对照组($P<0.05$)。

2.3 血气分析测定结果

伤后 1.5 h、6 h 治疗组动脉血氧分压显著高于生理盐水对照组。

表 2 各组动脉血 PO_2 变化(kPa, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Changes of aterial PO_2 in different group (kPa, $\bar{x} \pm s$)

Group	0.5 h	1 h	1.5 h	6 h	12 h	24 h
NCG	13.1±0.8	10.7±1.4	9.4±1.0△	8.9±0.9△	12.6±1.7	13.2±1.3
BNG	13.0±1.2	12.8±0.6	13.4±1.6△	13.8±1.2△	14.0±1.6	12.7±4.4

NCG, BNG: Same as in Tab 1

伤后 1.5 h、6 h 治疗组动脉血氧分压显著高于生理盐水对照组。

2.4 TNF 免疫组化观察结果

伤后 1~24 h 生理盐水对照组各时相点肺组织切片内, TNF 主要分布于血管内及血管外间质的大量单核巨噬细胞上。中性粒细胞无 TNF 分布。治疗组肺组织内仅见少量 TNF 阳性细胞。

3 讨论

急性肺损伤是烧伤内毒素血症的常见并发症, 尽管内毒素可以直接损伤肺血管内皮细胞, 但更多的研究资料表明, 内毒素诱导产生的一系列细胞因子在急性肺损伤中可以发挥着更主要的作用, 如 TNF 和 PAF。文献[1,4]报道给大鼠注射内毒素后, 血浆 PAF 含量迅速增加。给大鼠和山羊注射 PAF 可引起类似内毒素血症的变化, 预先给予 PAF 拮抗剂 SRI63-441, 可阻断内毒素和 PAF 的作用, 减轻其所引起的肺病理变化[1,2]。因此, PAF 在内毒素性肺损伤中起重要作用, 肺损伤程度与血中和组织中的 PAF 浓度呈正相关[1,2], PAF 拮抗剂能减轻肺损伤。

本实验结果显示, BN50739 治疗组肺病理损伤较生理盐水对照组明显减轻, 主要表现为肺间质水肿明显减轻, 血管周围水肿套消失, 肺泡隔变薄, 肺泡腔内无水肿液, 从而降低肺内压力, 使呼吸得以改善, 使动脉血氧分压在损后 1.5~3 h(肺损伤最为严重时)明显高于对照组, 由此提高了动物生存率, 与此同时, BALF 中蛋白含量也明显低于对照组。TNF 免疫组化结果还显示, 治疗组肺组织内 TNF 阳性表达细胞较对照组明显减少。为此得出: PAF 在烧伤内毒素血症肺损伤发生中起重要作用; PAF 受体拮抗剂 BN50739 可以明显减轻内毒素血症时 PAF 介导的肺水肿, 降低肺血管对蛋白质的通透性, 减轻肺损伤, 改善肺功能; BN50739 尚可部分抑制 TNF 在肺内的表达, 也是减轻肺损伤的原因之一。

以往一些研究也表明 PAF 能增加肺血管对蛋白的通透性, 引起通透性肺水肿[5], PAF 拮抗剂能完全阻止 PAF 引起的这一变化[6], 这与本实验结果是一致的。此外, 大量实验还证明 PAF 与 TNF 可以相互促进其合成, BN50739 可以显著降低内毒素血症时血 TNF 水平[7]。而本实验结果也发现 BN50739 能使肺内 TNF 阳性表达细胞减少, 这也是减轻烧伤内毒素血症时肺损伤的原因之一。

参考文献:

[1] Olseanechi R, Chlopicki S. Endotoxemia in rats: role of NO, PAF and TXA^2 in pulmonary neutrophil sequestration and hyperlactataemia[J]. J Physiol Pharmacol, 1999, 50(3): 443-454.

[2] 丁自强, 李少华, 费 侠, 等. SR163-441 对内毒素和血小板激活因子致肺损伤作用的影响[J]. 中国药理学通报, 1990, 6(3): 168-171.

[3] Chang S W. Endotoxin-induced pulmonary leuko stasis in the rat: Role of platelet-activating factor and tumor necrosis factor[J]. J Lab Clin Med, 1994, 123(4): 65-72.

[4] 张雅敏. 急性肺损伤与血小板因子(PAF)的相关性[J]. 天津医科大学学报, 1997, 3(4): 97-100.

[5] Comellas A, Tristano S, Pesce L, *et al*. Effect of platelet activating factor (PAF) on pulmonary circulation in isolated rabbit lung[J]. J Physiol Biochem, 1999, 55(1): 1-6.

[6] Koltaic M. PAF its effects antagonists and possible future clinical implications[J]. Drugs, 1991, 41(1): 23-23.

[7] Rabinovier R, Yue T L. Platelet activating factor shock: Studies with BN50739, a novel PAF antagonist[J]. J Pharmacol Exp, 1990, 255(1): 265-278.

(编辑 张大春)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net