DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.11.018
第23卷第11期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 11
1290 2001年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2001

论著

文章编号:1000-5404(2001)11-1290-02

ET-1受体拮抗剂、NO供体联合输注防治急性缺血性肾衰的实验研究

刘 宏,吴雄飞,金锡御 (第三军医大学附属西南医院全军泌尿中心肾科,重庆,400038)

提 要:目的 观察ET-1受体拮抗剂、NO供体联合输注对实验性急性缺血性肾衰的防治作用。方法 大鼠急性缺血性肾衰模型,于再灌注同时输注ET-1受体拮抗剂、NO供体,观察肾皮质血流、肾功能、肾脏病理改变。结果 ET-1受体拮抗剂、NO供体联合输注可显著改善缺血再灌注后的肾皮质缺血,减轻肾功能及组织学损害。结论 联合使用ET-1受体拮抗剂、NO供体可通过改善肾血流减轻急性缺血性肾衰后的肾功能损害。

关键词:肾功能衰竭,急性;ET-1;一氧化氮
中图法分类号:R692.5;R914.3;R977.3 文献标识码:A

Experimental studies on the treatment of ischemic acute renal failure with combined infusion of endothelin receptor antagonist and nitric oxide donor in rats

LIU Hong, WU Xiong-fei, JIN Xi-yu (Department of Kidney, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the effects of combined endothelin-1 receptor antagonist (PD145065) and nitric oxide donor (SIN-1) infusion in the treatment of ischemic acute renal faliure (IARF) in rat model. Methods A total of 50 Wistar rats were inflicted with routine operation to establish IARF model and then equally divided into sham operation, control, PD145065 treated, SIN-1 treated and combined infusion groups. Renal cortex blood flow, renal function, pathological changes were evaluated in every group. Results Combined transfusion of PD145065 and SIN-1 markedly improved the blood flow of renal cortex and significantly protected the renal function and morphological changes of rat kidney following renal ischemia-reperfusion injury. Conclusion Combined use of endothelin receptor antagonist and NO donor can alleviate renal impairment after IARF by improving renal blood flow.

Key words: renal failure, acute; endothelin-1; nitric oxide

缺血再灌注后的肾血流改变在急性缺血性肾衰(Ischemic acute renal failure,IARF)的发生发展中有重要作用,再灌注后肾脏局部分泌的内皮素-1(Endothelin-1,ET-1)和NO的比例失衡是造成肾血流改变的重要原因。本研究采用大鼠IARF模型于再灌注同时联合使用非选择性ET受体拮抗剂PD145065和一氧化氮(NO)供体SIN-1输注观察用药后肾皮质血流、肾功能、肾组织形态学等变化,以评价联合用药对大鼠IARF的治疗效果,探索治疗IARF的新途径。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及动物模型

Wistar大鼠50只,体重(250±30)g,雌雄不限,随机分为假手术组、对照组、PD145065治疗组、SIN-1治疗组、联合治疗组共5组,每组10只。常规麻醉下切除右肾,股动脉插管至腹主动脉肾动脉开口上方,连接微量电子蠕动泵,用于再灌注同时腹主动脉灌注生理盐水2 $ml^{-1}\cdot kg^{-1}\cdot h^{-1}$,持续3 h。各组分别处理:①假手术组:不钳夹左肾动脉,右肾切除1 h后按上述剂量腹主动脉灌注生理盐水;②对照组:无损伤血管夹夹闭左肾动脉60 min,再灌注1 h按上述方法腹主动脉灌注生理盐水;③PD145065治疗组:同对照组处理,在灌注生理盐水同时加入PD145065(非选择性ETR拮抗剂,由美国PARKE-DAVIS药物研究所惠赠)1 μmol/kg体重。④SIN-1治疗组:同对照组处理,再灌注灌入生理盐水同时加入SIN-1(NO供体,由德国Hening教授惠赠)100 μmol/kg体重。⑤联合治疗组:同对照组,灌注生理盐水同时以PD145065+SIN-1联合输注,剂量同上。

1.2 肾皮质血流测定

各组于再灌注1、2、24 h用激光多普勒血流计测定肾上、中、下极电压,相加记录平均值作为肾皮质血流指标。

1.3 肾功能测定

各组10只动物置单代谢笼收集24 h尿,于再灌注24 h取静脉血测定血尿素氮(BUN)、血清肌酐(PCr),尿Na^+,血Na^+,24 h尿肌酐,计算内生肌酐清除率(CCr)和滤过钠排泄分数(FENa)。

1.4 光镜及电镜组织学观察

按常规方法。

1.5 统计学处理

采用华西医科大学医用统计程序在电子计算机中行数据t检验。

2 结果

2.1 肾皮质血流变化

假手术组肾皮质血流无显著变化。对照组再灌注1 h肾皮质血流下降至正常1/2,2 h肾皮质血流进一步下降,24 h肾皮质血流仍低于正常。治疗组再灌注后各时相点肾皮质血流均

作者简介:刘 宏(1968-),男,湖北省襄樊市人,博士研究生,主治医师,主要从事急性肾衰及组织器官保存的研究,发表论文6篇。电话:(023):68754188

收稿日期:2001-07-20;修回日期:2001-09-15

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

较对照组有改善, 其中尤以联合治疗组效果显著, 见表 1。

表 1　肾皮质血流变化($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Changes of blood flow in renal cortex($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

	Sham-operated	Control	PD145065	SIN-1	Combined
2 h after R	436.4±85.7	219.1±30.1	266.4±34.7	298.5±47.5	313.5±53.6 *
24 h after R	449.7±91.3	301.6±61.9	379.8±47.2	388.3±57.1	414.7±65.8 *

*: $P<0.01$ *vs* control; R: reperfusion

2.2　肾功能变化

再灌注 24 h 对照组 BUN、PCr、FENa 较假手术组明显升高, CCr 显著降低。SIN-1 治疗组、PD145065 组、联合治疗组均可显著改善再灌注后的肾功能损害, 而以联合治疗组效佳, 见表 2。

表 2　各组肾功能改变($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Changes of renal function in different groups($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Sham-operated	control	PD145065	SIN-1	Combined
PCr(μmol/L)	40.6±3.9	172.6±31.8	92.3±16.4 *	109.4±15.4 *	76.5±15.6 *
BUN(mmol/L)	7.2±1.3	38.4±8.2	19.3±3.6 *	27.8±3.9 *	14.7±3.8 *
CCr(ml·h^{-1}·kg^{-1})	3.2±0.6	1.3±0.2	2.3±0.3	2.1±0.3	2.5±0.5
FE_{Na}(%)	0.86±0.13	3.39±0.11	1.92±0.09 *	2.01±0.07 #	1.38±0.18 *

#: $P<0.05$　*: $P<0.01$ *vs* control

2.3　病理变化

再灌注 24 h 对照组肾脏光镜观察为典型的缺血 60 min 后再灌注的病理改变。联合治疗组肾脏病理改变明显减轻, 主要表现在肾脏局部炎细胞浸润减少, 肾小管扩张减轻, 管型形成减少。

3　讨论

近年来对内皮细胞自分泌、旁分泌作用的研究引起了人们的广泛兴趣, 对内皮细胞分泌的内皮素及内皮依赖的血管舒张因子(EDRF, 即一氧化氮, NO)在肾脏中的作用也进行了深入的研究。内皮素作为最强烈的缩血管物质, 可通过与肾内分布的 ETA、ETB 受体结合, 发挥对肾脏血流动力学、肾小球滤过率(GFR)和水钠代谢平衡的影响。ETA 受体主要表达于血管平滑肌, 介导血管的收缩; ETB 受体主要存在于内皮细胞及肾小管、集合管上皮细胞, 介导 EDRF、前列环素的释出、参与肾脏水钠代谢[1]。而在正常生理状态下, NO 对维持肾脏结构和功能稳定有重要作用, 如调节入球动脉、系膜细胞、球后直小血管功能, 对抗缩血管物质, 调节水钠代谢, 抗血小板凝集, 抗白细胞附壁等[2]。ET 与 NO 均由血管内皮细胞分泌, 二者在功能上互相拮抗, 与其它多种血管活性因子共同构成维持正常血液循环及器官功能的调节系统, 其中 ET/NO 的稳态尤其重要。ET 在导致血管收缩的同时, 通过 ETB 受体, 产生 EDRF 和前列环素, 防止血管的持续收缩, 起反馈调节作用[1]; 而 NO 则可抑制内皮素的释放和活性, 还可促进 ET 从受体脱落, 减少 ET 的作用时间[3]。阻断 NO 产生可以极大地增强内皮素所致血管收缩作用[4]。

缺血缺氧后, ET/NO 分泌严重失衡, 一方面, 缺血缺氧使肾内 ET-1 分泌显著增加[5], 另一方面, 再灌注后肾血管失去对乙酰胆碱(Ach)、缓激肽等内皮依赖舒血管物质的反应, NO 合成受阻而破坏增加[2], ET/NO 比例失衡是导致再灌注后肾脏血液动力学不能恢复正常的重要原因之一。Hellberg[6] 对肾缺血再灌注阶段肾血流的重分布研究表明: 再灌注 1h 外髓血流只及缺血前的 16%, 皮质和内髓分别为 60%和 125%。我们的研究发现, 对照组肾皮质血流在再灌注后 24 h 仍不能完全恢复正常, 而联合使用 ET 受体阻断剂及 NO 供体可显著改善再灌注后的肾血流, 这一现象表明: 再灌注后存在明显的肾脏血液动力学变化, 再灌注后 ET 分泌的增加和 NO 在内皮分泌的减少均参与这一肾血流的变化。

本研究表明, 在 IARF 的治疗中联合应用用 ET 受体拮抗剂和 NO 供体效果优于分别单用, 用药后肾脏血液动力学的改善是导致肾功能损害减轻的原因之一。分析二者联用可能存在以下协同效果: ①发挥 NO 对入球动脉的高亲和力作用, 提高肾小球灌注压。②减轻或消除系膜细胞的收缩, 增加超滤系数。③阻断 ET-1 对出球动脉的收缩, 改善外髓血供。④NO 导致 ET 分泌减少, 与 ET 受体亲和力降低。

ET 拮抗剂和 NO 供体对 IARF 的治疗并不仅限于对血液动力学的改善, Forbes[7] 的研究表明, ET 受体拮抗剂还可抑制局部巨噬细胞及成纤维细胞的浸润。而 NO 供体则可抑制血小板的聚集和白细胞的附壁。我们对治疗组动物肾脏病理标本的观察支持上述论点。其机制有可能与局部粘附分子的表达改变有关, 也可能与循环改善后局部趋化因子的含量减少有关, 这有待于进一步的实验研究。

参考文献:

[1] Verhagen A M, Rabelink T J, Braam B, *et al*. Endothelin A receptor blockade alleviates hypertension and renal lesions associated with chronic nitric oxide synthase inhibition[J]. J Am Soc Nephrol, 1998, 9(5): 755—762.

[2] 刘　宏, 吴雄飞, 金锡御. 内皮衍化舒张因子在急性缺血性肾衰中的作用[J]. 国外医学: 泌尿系统分册, 1996, 16(1): 30—31.

[3] Kakoki M, Hirata Y, Hayakawa H, *et al*. Effects of vasodilatory antihypertensive agents on endothelial dysfunction in rats with ischemic acute renal failure[J]. Hypertens Res, 2000, 23(5): 527—533.

[4] Valdivielso J M, Lopez-Novoa J M, Eleno N, *et al*. Role of glomerular nitric oxide in glycerol-induced acute renal failure[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2000, 78(6): 476—482.

[5] Wilhelm S M, Simonson M S, Robinson A V, *et al*. Endothelin up-regulation and localization following renal ischemia and reperfusion[J]. Kidney Int, 1999, 55(3): 1 011—1 018.

[6] Hellberg P A, Kallskog O, Wolgast M, *et al*. Red cell trapping and post-ischemic renal blood flow, Differences between the cortex, outer and inner medulla[J]. Kidney Int, 1991, 40(3): 625—631.

[7] Forbes J M, Leaker B, Hewitson T D, *et al*. Macrophage and myofibroblast involvement in ischemic acute renal failure is attenuated by endothelin receptor antagonists[J]. Kidney Int, 1999, 55(1): 198—208.

(编辑　汪勤俭)

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