DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.04.031

论著

文章编号:1000-5404(2000)04-0376-03

内皮素和一氧化氮在烧冲复合伤肺损伤中作用的研究

屈纪富,郑怀恩,林 远,古德全,闫国和 (第三军医大学预防医学系防原医学教研室、全军复合伤研究所,重庆 400038)

提 要:目的 探讨内皮素(ET)和一氧化氮(NO)在大鼠烧冲复合伤肺损伤中的作用机制。方法 大鼠烧冲复合伤后给予ET受体(ETR)拮抗剂和NO合酶(NOS)抑制剂治疗,检测与肺损伤密切相关的指标的变化。结果 烧冲复合伤大鼠血清和肺组织氧自由基丙二醛(MDA)含量、肺组织弹力纤维(EF)和血管性假血友病因子(vWF)含量均出现了显著变化($P<0.05$),给予ETR拮抗剂和NOS抑制剂治疗分别可减轻和加重这些指标的变化($P<0.05$)。结论 ET和NO与大鼠烧冲复合伤肺损伤密切相关,它们可通过多种途径影响大鼠烧冲复合伤肺损伤的发展。

关键词:内皮素;一氧化氮;烧冲复合伤;肺脏
中图法分类号:R642.3;R644 文献标识码:A

Effects of endothelin and nitric oxide on lung injury after combined burn-blast injury in rats

QU Ji-fu, ZHENG Huai-en, LIN Yuan, GU De-quan, YAN Guo-he (Department of Radiation Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To explore the machenism of endothelin(ET) and nitric oxide(NO) effect on lung injury after combined burn-blast injury in rats. **Methods** The indices related to lung injury were measured after rats were inflicted with combined burn-blast injury and administered with endothelin receptor(ETR) antagonist and nitric oxide synthase(NOS) inhibitor. **Results** The content of oxygen radical in serum and the lungs was significantly increased, the amount of pulmonary elastic fiber and von Willebrand Factor were significantly decreased($P<0.05$) after combined burn-blast injury and these indices were affected with the administration of ETR antagonist and NOS inhibitor ($P<0.05$). **Conclusion** ET and NO can afftect the process of lung injury via different pathways after combined burn-blast injury in rats.

Key words: endothelin; nitric oxide; combined burn-blast injury; lungs; rat

内皮素(Endothelin, ET)和一氧化氮(Nitric oxide, NO)是近来发现的调节血管收缩和舒张的重要的血管活性物质。作者以往研究发现,大鼠烧冲复合伤后ET和NO含量可出现显著变化,ETR拮抗剂和NOS抑制剂分别可减轻和加重肺损伤[1]。在此基础上,我们对烧冲复合伤大鼠应用ETR拮抗剂BQ-123和NOS抑制剂硝基左旋精氨甲酯(L-NAME)治疗,检测与肺损伤密切相关的指标的变化,以期阐明大鼠烧冲复合伤后ET和NO的作用机制和途径。

作者简介:屈纪富(1969—),男,四川省乐至县人,博士研究生,主治医师,讲师,主要从事创伤及感染性休克方面的研究,发表论文10篇,现在附属西南医院急救部工作。电话:(023)68754000-73042

收稿日期:1999-03-08;修回日期:1999-08-06

1 材料和方法

1.1 动物分组及致伤

健康Wistar大鼠40只,体重150~250 g,雌雄各半。随机分为:①正常组(Normal);②烧冲复合伤加L-NAME组(L-NAME);③对照组(Control);④烧冲复合伤加BQ-123组(BQ-123),每组10只动物。烧冲复合伤大鼠先用5 kW溴钨灯致15%TBSA Ⅲ度(病理检查证实)光辐射烧伤,再用BST-1型生物激波管致冲击伤[超压峰值(429.3±11.5)kPa],两伤间隔时间为40~60 min。正常组大鼠不致伤,BQ-123组、对照组和L-NAME组大鼠分别在烧冲复合伤后立即腹腔注入BQ-123(1 mg/kg体重)、生理盐水(2 ml/只)和L-NAME(10 mg/kg体重),给药后4 h活杀取材。

1.2 检测指标及试剂

常规制作肺脏石蜡切片,并用链霉菌亲生物素蛋白-过化

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

物酶免疫组化染色法(S-P 方法)进行免疫组化染色(按说明书操作)，结合图像分析测量肺组织血管性假血友病因子(Von Willebrand Factor，vWF)含量；肺脏石蜡切片按 Weigert's 法[2]进行弹力纤维染色，结合图像分析来检测肺组织弹力纤维（Elastic fiber，EF）含量；血清丙二醛(Malondialdehyde，MDA)含量的测定按蔡蕾方法[3]进行；肺组织 MDA 含量的测定按楼淑芬方法[4]进行。S-P 试剂盒和 vWF 抗体购自福州迈新生物技术开发公司，BQ-123 购自北京医科大学心肺内分泌研究室，L-NAME 购自 Sigma 公司。

1.3　图像分析

从每张肺脏 EF 染色和 vWF 免疫组化染色切片中随机选取 5 个视野，输入 TECBIAS-6803 真彩色生物医学图像分析系统，测量其平均积分光密度值（*IOD*），以此表示肺组织 EF 和 vWF 含量。

1.4　统计学分析

所有数据输入微机，用 SPMR 统计程序包中的 PDA-2 程序进行单因素方差分析及均数间的显著性差异检验。

2　结果

烧冲复合伤大鼠血清和肺组织 MDA 含量、肺组织 EF 和 vWF 含量均出现了显著变化（$P<0.05$），给予 ETR 拮抗剂和 NOS 抑制剂治疗分别可减轻和加重这些指标的变化（$P<0.05$），见表 1，2。

表 1　ETR 拮抗剂、NOS 抑制剂对大鼠肺脏 EF 和 vWF 含量的影响

Tab 1　The effects of ETR antagonist，NOS inhibitor on the contents of pulmonary EF and vWF in rats

	Normal	L-NAME	Control	BQ-123
IOD(EF)	0.084±0.020	0.034±0.008*▲	0.035±0.003*	0.053±0.024*▲
IOD(vWF)	1822.4±70.50	14.6±1.67*▲	42.6±5.41*	215.4±11.63*▲

*：$P<0.05$ *vs* normal；▲：$P<0.05$ *vs* control

表 2　ETR 拮抗剂、NOS 抑制剂对大鼠 MDA 含量的影响

Tab 2　The effects of ETR antagonist，NOS inhibitor on the contents of MDA in rats

MDA	Normal	L-NAME	Control	BQ-123
Serum(C_B/nmol·L^{-1})	2.990±0.410	7.030±1.009*▲	6.160±1.407*	4.300±3.847▲
Lung(m_B/nmol·mg^{-1})	99.953±7.311	209.074±32.230*▲	186.46±13.008*	127.656±16.466▲

*：$P<0.05$ *vs* normal；▲：$P<0.05$ *vs* control

3　讨论

烧冲复合伤大鼠给予 ETR 拮抗剂和 NOS 抑制剂后多种与肺损伤有关的指标都发生了显著变化，这提示 ET 和 NO 与烧冲复合伤肺损伤密切相关，其作用机制和途径可能包括以下几个方面。

3.1　影响氧自由基产生和脂质过氧化损伤

生物膜中含有大量的多种不饱和脂肪酸，氧自由基很容易从膜的不饱和脂肪酸中抽提氢而引发脂质过氧化（LPO）反应，而产生 LOO·和 LOOH·，新生的 LOO·和 LOOH·一方面继续氧化不饱和脂肪酸中的双键，另一方面又可裂解为丙二醛(MDA)，也能破坏蛋白、酶、磷脂和核酸的分子结构[5]。MDA 含量是间接反映氧自由基含量及其引发的 LPO 损伤的常用指标[6]。我们发现，大鼠烧冲复合伤后氧自由基含量显著增多，给予 ETR 拮抗剂 BQ-123 治疗后氧自由基含量明显减少，而 NOS 抑制剂 L-NAME 可使氧自由基含量增多更明显，提示 ET 和 NOS 可通过氧自由基和 LPO 途径影响烧冲复合伤肺损伤的发展。这是由于 ET 和 NO 是调节血管收缩和舒张的血管活性物质，烧冲复合伤后肺组织 ET/NO 比值升高将使肺血管收缩作用增强，肺脏出现缺血缺氧性改变[1]，缺血及其随后发生的再灌流将使氧自由基含量增加，LPO 损伤加重；ET 和 NO 还可通过中性粒细胞（PMNs）途径加重 LPO 损伤；另外，ET 也可通过直接和间接途径使氧自由基含量增加[7]。

3.2　影响血管内皮细胞和血管通透性

血管内皮细胞（VEC）受损将使 vWF 释放减少，因此 vWF 含量可间接反映 VEC 受损程度[8]。我们发现，烧冲复合伤大鼠肺组织 vWF 含量显著减少，给予 ETR 拮抗剂和 NOS 抑制剂治疗分别可减轻和加重其变化，提示烧冲复合伤后 VEC 出现了明显损伤，ET 和 NO 分别可加重和减轻 VEC 损伤，这可能是由于细胞毒作用[9]，也可能是通过炎症介质或炎症细胞（如 PMNs 等）间接起作用，其具体原因有待于进一步研究。VEC 是 ET 和 NO 合成、分泌的主要细胞，其受损后将会影响 ET 和 NO 的含量，而 ET 和 NO 又可影响 VEC 受损程度，烧冲复合伤后 ET 和 NO 含量变化与 VEC 受损将相互影响，并形成恶性循环，使血管通透性增加，加重肺损伤。

3.3　直接损伤肺组织

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

EF是肺组织中的一种重要的结构成分，其含量可反映肺损伤程度[10]。烧冲复合伤大鼠肺组织EF含量显著减少，ETR拮抗剂BQ-123和NOS抑制剂L-NAME可显著减轻和加重这种变化，这证实ET和NO可影响大鼠烧冲复合伤肺损伤。烧冲复合伤后肺组织EF含量显著减少是由于肺血管内PMNs数量显著增多所致，因为PMNs可释放各种酶如弹性蛋白酶等，降解弹性蛋白，破坏弹力纤维等结构成分，使肺泡扩张，血管通透性增加，肺损伤加重[10]。

参考文献：

[1] 屈纪富，郑怀恩，林 远，等．烧冲复合伤后内皮素和一氧化氮的变化及其意义[J]．第三军医大学学报，1998，20(4)：314－316.

[2] 凌启波 主编．实用病理特殊染色和组化技术[M]．广州：广东高等教育出版社，1989.19－22.

[3] 蔡 蕾，奚为乎，余嘉丽，等．过氧化脂质荧光测定法的一些干扰因素观察[J]．临床检验杂志，1986，4(4)：170－175.

[4] 楼淑芬，陈宗荣．烧伤焦痂脂类引起大鼠肝线粒体脂质过氧化的实验研究[J]．第三军医大学学报，1995，17(5)：387－388.

[5] Hsu K，Wang D，Wu S Y，*et al*. Ischemia-reperfusion lung injury attenuated by ATP-MgCl2 in rats[J].J Appl Physiol，1994，76(2)：545－552.

[6] Gardner T J. Oxygen radicals and myocardial stunning[J]．J Card Surg，1994，9(3 Suppl)：422－424.

[7] Lopez F A，Riesco A，Espinosa G，*et al*. Effect of endothelin-1 on neutrophil adhesion to endothelial cells[J]．Circulation，1993，88(3)：1 166－1 171.

[8] 屈纪富，郑怀恩，林 远，等．烧伤、冲击伤和烧冲复合伤后内皮素和血管性假血友病因子含量的变化及其意义[J]．第三军医大学学报，1996，18(6)：525－527.

[9] Stawski G，Olsen U B，Grande P. Cytotoxic effect of endothelin-1 during "simulated" ischemia in cultured rat myocytes[J]．Eur J Pharmacol，1991，201(1)：123－124

[10] Qu J F，Zheng H E，Lin Y，*et al*. Study on the changes and significances of vWF and elastic fiber after combined burn-blast injury[M]．Chongqing：Chongqing Publishing House，1996.355－356.

（编辑 冷怀明）

（上接375页）

已发现，人类多种肿瘤如结肠癌、胃癌、肝癌、乳腺癌、头颈部鳞癌等均有EGFR的过度表达，常提示肿瘤细胞分化差，有较强的浸润转移能力，病人存活期短，预后不良。EGFR过度表达是基因扩增或转录增加的结果，常同时伴随有配体表达增加，提示肿瘤存在自分泌环路[1]，肿瘤通过自分泌或旁分泌机制，刺激自身细胞的恶性增殖。

近年来以EGFR为肿瘤治疗靶子，已取得一些可喜成效，给肿瘤细胞转染反义EGRF，可降低EGFR表达，抑制肿瘤细胞的恶性表型，抗EGFR单抗可阻断EGFR表达阳性肿瘤细胞和配体结合，从而抑制肿瘤的增殖。用酪氨酸激酶抑制剂治疗脑胶质瘤，多发性转移癌，也获得一些可喜苗头[2]，上述研究结果均提示EGFR的过度表达与肿瘤发生发展及预后关系密切。

为评价EGFR作为预后标志物在肺癌的应用价值，我们用免疫组化法检测了64例NSCLC患者肺癌组织和转移淋巴结EGFR表达。我们的研究显示：67.1%NSCLC患者EGFR表达阳性，其中鳞癌占80%，腺癌占55.9%。鳞癌以膜型表达为主(71%)，腺癌以胞浆型表达为主（100%），两者相差非常显著，EGFR这种表达形式与肺癌组织学类型的相关意义及生物学价值目前尚不清楚。比较EGFR表达与肺癌临床，病理关系则发现，在中晚期病例，EGFR表达明显高于Ⅰ～Ⅱ期病例（$P<0.01$），分化差的癌细胞EGFR表达高于分化良好的肿瘤细胞（$P<0.01$），淋巴结转移组EGFR表达高于淋巴结阴性组，提示EGFR的过度表达与肺癌细胞的恶性转化、增殖、肺癌的病情发展及淋巴结转移密切相关。体外实验也显示，只有EGFR阳性的癌细胞株才具有侵袭能力[3]，可能通过降低粘附分子E-cadherin表达，增加基膜降解酶分泌，导致瘤细胞侵袭能力增加。我们的结果提示：EGFR有可能作为NSCLC的预后因子。

关键词：肺肿瘤；表皮生长因子受体；免疫组化
中图法分类号：R734.2 文献标识码：B

参考文献：

[1] Ciardello F，Tortora G. Interactions between the epidermal growth factor receptor and type I protein kinase A：Biological significance and therapeutic implications[J]．Clin Cancer Res，1998，4(4)：821－828.

[2] Peyrade F，Taillan B，Lebrum C，*et al*. Tyrosine kinase：Implications in tumor pathology and therapeutic perspectives[J]．Rev Med Interne，1998，19(6)：366－372.

[3] Damstrup L，Rude V B，Spang T M，*et al*. In vitro invasion of small cell lung cancer cell lines correlation with expression of epidermal growth factor receptor[J]．Br J Cancer，1998，78(5)：631－640.

（编辑 冷怀明）

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