DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.02.001

内皮素受体拮抗剂防治烧伤后肾功能损害的实验研究*

论著

吴雄飞** 杨宗城 黎 鳌 (第三军医大学附属西南医院烧伤研究所) 重庆,400038

提 要 目的: 观察内皮素受体拮抗剂对烧伤后肾功能损害的防治作用。方法: 凝固汽油烧伤 Wistar大鼠背部皮肤制成 30% TBSAⅢ度烧伤模型,烧伤后 5 min自股动脉分别输入生理盐水、选择性内皮素 A受体(ETA)拮抗剂 PD147953和非选择性内皮素受体(ETR)拮抗剂 PD145065。观察肾皮质血流和肾功能改变。结果: 特异性阻断内皮素-1(ET-1)/内皮素-3(ET-3)作用可明显改善烧伤后肾缺血,减轻肾功能损害,以非选择性 ETR拮抗剂效果更好。结论: ET-1或 ET-3升高及两种受体亚型的上调是烧伤后肾缺血肾功能受损的重要因素,外源性提供 ETR拮抗剂阻断 ET-1/ET-3生物作用是防治烧伤后肾功能损害的又一新途径。

关键词 烧伤;内皮素受体;拮抗剂;肾损害

中图法分类号 R644

我们既往的实验证实: 烧伤后肾静脉血和肾组织内皮素(Endothelin-1, ET-1)明显升高,肾组织 ETA、ETB两种受体亚型上调,且与烧伤后肾功能损害密切相关[1]。因而我们设想外源性输入内皮素受体(ETR)拮抗剂阻断 ET-1肾内的生物学效应可能改善肾缺血和肾功能,目前国内外尚未见类似报道。本实验拟在大鼠烧伤后肾损害模型上观察 ETR拮抗剂是否改善烧伤后肾血流量及肾功能,对比单独拮抗 ETA与同时拮抗 ETA、ETB有何不同,进一步证实内皮素及受体的改变参与烧伤后肾损害的发生发展,并探索治疗烧伤后肾损害的新途径。

1 材料与方法

1.1 主要试剂来源

选择性 ETA受体拮抗剂(仅阻滞 ETA受体,不影响 ETB受体) PD147953以及非选择性 ETR拮抗剂(对 ETA、ETB均同时阻滞) PD145065均由美国 PARKE-DAVIS药物研究所惠赠。

1.2 动物模型

Wistar大鼠(四川省中药研究所) 90只,体重 250± 30 g,雌雄不限,随机分为对照组、PD147953治疗组和 PD145065治疗组 3组,每组 30只,按烧伤后 1、3、24 h分 3个时相点,每个时相点 10只。1%戊巴比妥钠(30 mg·kg^{-1})腹腔注射麻醉,背部剪毛,20%硫化钠脱毛。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。3%凝固汽油涂布背部脱毛皮肤,燃烧 20 s扑灭,造成 30% TBSAⅢ度烧伤。伤后 5 min用微量灌注泵自股动脉按下列分组分别持续灌注 3 h:① 对照组灌注生理盐水 2 ml·kg^{-1};② PD147953治疗组按对照组处理的同时,加入 PD147953 1μmol·kg^{-1}体重灌注;③ PD145065治疗组按对照组处理的同时,加 PD145065 1μmol·kg^{-1}体重灌注。

1.3 观察指标及方法

1.3.1 肾皮质血流测定 各组于再灌注 1、3、24 h用激光多普勒血流计测左肾上、中、下极电压值,相加,记录平均值作为血流指标。

1.3.2 肾功能测定 各组 24 h时相组 10只动物及 10只伤前动物置单代谢笼收集 24 h尿,于烧伤后 24 h取静脉血测定血尿素氮(BUN)、血清肌酐(SCr)、尿 Na^+、血 Na^+,计算内生肌酐清除率(CCr)和滤过钠排泄分数(FENa)。

1.4 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上行数据分析。

2 结果

2.1 肾皮质血流变化

对照组烧伤后 1 h肾皮质血流下降至正常的 1/2,烧伤后 3 h肾皮质血流进一步下降,烧伤后 24 h肾皮质血流仍显著低于正常。PD147953及 PD145065治疗组于烧伤后 3、24 h肾皮质血流明显高于对照组,其中 PD145065改善肾皮质血流更加明显,见表 1。

* 国家自然科学基金资助项目, No. 39290700-03

** 吴雄飞,男,36岁,副教授,副主任医师,博士

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

表 1 大鼠烧伤后肾皮质血流变化 ($\bar{x}\pm s$, mV)

Tab 1 The changes of rat renal cortical blood flow postburn($\bar{x}\pm s$, mV)

Group	Before injury	Time postburn (t /h)		
		1	3	24
Control	422.12± 85.6	214.32± 43.1	143.1± 25.3	299.74± 43.6
PD147953	416.83± 68.1	294.76± 49.2△	247.83± 42.1△△	358.85± 57.4△△
PD145065	450.12± 86.6	365.14± 63.8△△	336.57± 51.3△△	389.18± 59.9△△

△: $P<0.05$, △△: $P<0.01$ *vs* control

2.2 肾功能变化

烧伤后 24 h对照组 BUN和 SCr较伤前均明显升高 ($P<0.01$),施用 ETR拮抗剂可以较对照组明显降低 BUN、SCr,其中以 PD145065更为显著。烧伤后 24 h对照组 CCr较伤前明显降低 ($P<0.01$), FENa明显升高 ($P<0.01$),施用 ETR拮抗剂可以较对照组显著升高 CCr,降低 FENa,其中以 PD145065更为显著,见表 2

表 2 内皮素受体拮抗剂对大鼠烧伤后肾功能的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Influence of endothelin receptor antagonists in rat renal function postburn($\bar{x}\pm s$)

	Before injury	Control	PD147953	PD145063
SCr(C_B/μmol· L^{-1})	42.6± 6.8	184.75± 36.4	113.15± 26.5△	86.8± 15.3△△
BUN(C_B/mmol· L^{-1})	7.08± 2.4△△	39.4± 7.3	21.76± 4.32△	17.92± 3.9△△
CCr(q_V/ml h^{-1}· 100 g^{-1})	0.32± 0.06△△	0.13± 0.02	0.2± 0.04△	0.24± 0.04△△
FENa(%)	0.9± 0.1△△	3.62± 0.20	2.18± 0.1△	1.95± 0.06△△

△: $P<0.05$, △△: $P<0.01$ *vs* control

3 讨论

ET主要通过缩血管、调节肾小管分泌排泄和影响系膜细胞生物学与其它肾脏调节因素一起维持肾血流量 (RBF)、肾小球滤过率 (GFR)和水钠代谢的平衡。在遭受创伤和缺血缺氧等因素的影响下将导致循环及肾内 ET-1大量分泌释放和 ETR上调,这时过量的 ET-1和 ETR上调便作为一种致病因子引发或参与肾脏的病理生理学改变[2]。我们在 ET与烧伤后肾损害的系列研究中已先后证实,烧伤后肾内 ET-1 mRNA表达明显增强,成熟的 ET-1肽大量分泌[3,4],而且血管平滑肌 ETA mRNA水平也明显上升,肾小球内皮细胞及肾小管集合管 ETB mRNA水平也显著升高[5],这种肾内 ET-1升高及 ETR上调与烧伤后肾缺血和肾功能受损密切相关[1]。为了直接证实 ET-1与烧伤后肾缺血和肾功能的关系, ETR两种受体亚型在调节烧伤后肾缺血和肾功能中各自的作用,探索综合防治烧伤后肾功能损害的新途径,我们设计了本实验。结果发现:从腹主动脉肾动脉开口上方灌注 ETR拮抗剂能显著改善烧伤后的肾皮质缺血,降低 BUN、SCr、FENa,提高 CCr,明显改善肾功能。表明 ET-1的升高和 ETR上调确实参与了烧伤后肾缺血和肾功能障碍。采用 ETR拮抗剂能有效阻滞 ET与 ETR结合后产生的生物学效应,为今后临床采用新方法综合防治烧伤肾功能损害提供了实验基础。

本实验采取腹主动脉肾动脉开口上方持续灌注的用药方法,避免了静脉用药导致的全身分布和降解,提高了肾脏 ETR拮抗剂的相对浓度。

ETR拮抗剂分为选择性 ETA受体拮抗剂和非选择性 ETR拮抗剂。前者选择性拮抗 ETA受体,主要阻滞 ET-1与 ETA受体结合,抑制强大的血管收缩作用。后者对 ETA、ETB受体均有拮抗作用,既阻断 ET-1与 ETA结合,也阻断 ET-1, ET-3与 ETB受体结合,由于 ET-3和 ETB主要参与肾小管水钠代谢的调节,因而非选择性 ETR拮抗剂除了阻滞肾血管收缩外,还调节肾小管功能。目前人工合成的 BQ123作为一种典型的选择性 ETA受体拮抗剂广泛应用于各种涉及 ETA疾病的研究,例如 BQ123能有效防治缺血性急性肾衰[6]。1992年 Cody等[7]报告了与内皮素 C末端类似的一种线性肽 PD142893,对 ETR具有非选

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

择性竞争拮抗作用.我们在本实验使用了两种 ETR拮抗剂,一种是选择性 ETA受体拮抗剂 PD147953,它较 BQ123效力强 20倍;另一种为非选择性 ETR拮抗剂 PD145065,它比 BQ123与 ETA受体结合效力强 10倍,较 PD142893与 ETB受体结合效力强 3倍[8,9].本实验结果提示:单独拮抗 ETA受体可以部分改善肾皮质血流和肾功能,同时拮抗 ETB受体可进一步加强这种效应,与国外部分缺血性急性肾衰的实验结果吻合.本实验发现单独拮抗 ETA受体不如同时拮抗 ETA ETB受体疗效好,至少说明 ETB受体或和 ET-3在烧伤后肾损害的发生发展中有一定作用.有关 ETB受体和 ET-3在肾功能调节方面的作用是今后进一步研究的课题.

根据文献和我们以往的实验结果,我们认为 ETR拮抗剂防烧伤后肾功能损害的机制为:① 阻断肾内大量分泌的 ET-1与肾小血管平滑肌上调的 ETA受体结合,缓解强烈持久的肾缺血;② 阻断 ET-1与系膜细胞上显著上调的 ETA受体结合,防止系膜细胞收缩,维持肾小球超滤过系数(kf),进而维持 GFR;③ 阻断 ET-1/ET-3与肾小管集合管上调的 ETB受体结合平衡水钠代谢.

参考文献

1 吴雄飞,杨宗城,黎　鳌.严重烧伤早期大鼠肾脏内皮素及受体、一氧化氮变化与肾功能关系的实验研究.第三军医大学学报,1995;17(4):343

2 Simonson M S. Endothelins: multifunctional renal peptides. Physiol Rev, 1993; 73(2): 375

3 吴雄飞,杨宗城,黎　鳌.严重烧伤早期肾组织内皮素-1及其基因表达的动态变化.第三军医大学学报,1997;19(2):148

4 王　旭,吴雄飞,高建川等.严重体表烧伤早期大鼠肾脏内皮素-1的基因表达.第三军医大学学报,1996;18(5):364

5 王　旭,吴雄飞,高建川等.严重烧伤早期大鼠肾脏内皮素受体 mRNA变化的研究.第三军医大学学报,1996;18(6):473

6 Chan L, Chittinandana A, Shapiro J I *et al*. Effect of endothelin-receptor antagonist on ischemic acute renal failure. Am J Physiol, 1994; 266(1pt2): F135

7 Cody W L, Doherty A M, He J X *et al*. Design of a functional hexapeptide antagonist of endothelin. J Med Chem, 1992; 35(17): 3301

8 Cody W L, Doherty A M, He J X *et al*. The rational design of a highly potent combined ETA and ETB receptor antagonist (PD145065) and related analogues. Med Chem Res, 1993; 3(2): 154

9 Doherty A M, Cody W L, Depue P L *et al*. Structure activity relationships of C-terminal endothelin hexapeptide antagonists. J Med Chem, 1993; 369(18): 2585

(收稿:1997-02-24;修回:1998-03-02)

(编辑　冷怀明)

An experimental study of protective effects of endothelin receptor antagonists on renal function after burns in rats*

Wu Xiongfei, Yang Zongcheng, Li Ao (Research Institute of Burns, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To observe the protective effects of endothelin receptor (ETR) antagonists on renal function after burns. Methods: After the Wistar rats were inflicted with 30% TBSA full-thickness skin burns, the selective endothelin A receptor antagonist PD147953 and non-selective ETR antagonist PD145065 were continuously infused into the abdominal aorta for 3 hours. Then the changes in renal cortical blood flow and renal function were observed. Results: After severe burns, ETR antagonists could markedly improve renal cortical blood flow and provide significant protection to renal function in rats. Conclusion: The increase of ET and up-regulation of ETR play important roles in the pathogenesis of renal function impairment postburn. Infusion of exogenous ETR antagonists might be a new method for prevention and treatment of acute renal failure postburn.

Key words burn; endothelin receptor antagonist; renal impairment; rat

* This project was supported by the National Natural Science Foundation of China　No. 39290700-03

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