DOI:10.16016/j.1000-5404.1998.04.015

烧冲复合伤后内皮素和一氧化氮的变化及其意义

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**:探讨烧冲复合作后肺组织内皮素(ET)和一氧化氮(NO)的变化特点及其意义。**方法**:检测伤后不同时间肺组织ET和NO含量的变化,并对伤后大鼠给以内皮素受体(ETR)拮抗剂和一氧化氮合酶(NOS)抑制剂干预治疗,观察肺脏的大体和镜下改变,**结果**:伤后肺组织ET、NO含量及ET/NO比值均出现了明显变化,ET/NO比值变化与伤情呈显著正相关。ETR拮抗剂和NOS抑制剂分别可减轻和加重肺损伤。**结论**:伤后肺组织ET/NO比值升高,ET和NO之间平衡被破坏,这对烧冲复合伤肺损伤的发展具有重要意义。

关键词 烧冲复合伤;肺脏;内皮素;一氧化氮

中图法分类号 R642

内皮素(Endothelin,ET)是新近发现的一种血管活性肽,是体内最强的血管收缩物质,主要由血管内皮细胞(Vascular endothelial cell,VEC)合成和释放[1];一氧化氮(Nitric oxide,NO)也是近来发现的一种新的细胞信使分子,是一种重要的血管舒张因子和抗凝物质[2],它们在很多病理情况下都具有重要意义[3,4],但在烧冲复合伤后的变化规律及意义尚未见文献报道。因此,本实验检测烧冲复合伤后肺组织ET和NO含量的变化,并对伤后大鼠给以内皮素受体(ETR)拮抗剂BQ-123和一氧化氮合酶(NOS)抑制剂硝基左旋精氨甲酯(L-NAME)治疗,观察肺脏的大体和镜下改变,以期阐明烧冲复合伤后ET和NO的变化特点及意义。

1 材料和方法

1.1 动物分组及致伤

健康Wistar大鼠90只,体重150 g~250 g,雌雄各半。致伤组分伤后2、4、12、24、48 h 5个时相点,另设正常对照组(Normal)、BQ-123组和L-NAME组。致伤组大鼠先用5kW溴钨灯致15%TBSAⅢ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 min~60 min。正常对照组不致伤,BQ-123组和L-NAME组分别为烧冲复合伤后立即腹腔注入BQ-123(1 mg·kg^{-1}体重)和L-NAME(10 mg·kg^{-1}体重),给药后4 h活杀取材。

1.2 肺组织ET含量的检测

放血活杀大鼠,开胸,分离肺脏,观察并记录大体病变后,常规取材、固定,制作石蜡切片,HE染色,观察肺脏光镜下病变;并用链霉菌亲生物素蛋白-过氧化物酶免疫组化染色法(S-P方法)进行免疫组化染色(具体操作见说明书),结合图像分析测量肺组织ET含量。S-P试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司,ET抗体购自解放军总医院长城免疫技术研究所。

1.3 肺组织NO含量的检测

肺组织NO含量测定用Greiss法进行(具体操作见说明书)。NO测试盒购自第三军医大学烧伤研究所。

1.4 图像分析

从每张肺脏HE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,测量肺血管内中性粒细胞(PMN)数量、肺泡壁厚度和红细胞体积密度,比较其变化,以此反映肺脏病变。另从每张肺脏免疫组化切片随机选取5个视野,用图像分析系统测量其平均光密度值(积分值),以此表示肺组织ET含量。肺组织ET含量和NO含量的比值即为ET/NO比值。

1.5 统计分析

数据均输入计算机,用本校SPMR统计程序包进行单因素、双因素方差分析和相关系数显著性检验,结果以$\bar{x}\pm s$表示。

2 结果

伤后大鼠肺脏大体病变为大片状出血和明显水肿,光镜下变化主要为出血、水肿和血管内PMN积聚等,见表1。伤后肺组织ET、NO含量和ET/NO比值均出现了显著变化,见表2。统计相关分析表明,伤后肺组织ET/NO比值与肺脏病变呈显著正相关($P<0.05$)。BQ-123组肺脏大体和光镜下病变均较轻,而L-NAME组肺脏病变则较重,见表3。

* 屈纪富,男,29岁,主治医师,硕士,现在附属西南医院急救部

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

表 1　大鼠伤后肺泡壁厚度、肺泡腔红细胞体积密度和肺血管内 PMN 数量的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Changes of the thickness of pulmonary alveolar wall、volume density(VD) of RBC in pulmonary cavitiy and number of PMN in pulmonary vessels of rats after injury($\bar{x}\pm s$)

	Normal	Time after injury(t/h)				
		2	4	12	24	48
Thickness(μm)	3.75±10.50	33.00±5.70*	32.00±13.04*	36.00±8.94*	38.00±16.81*	36.68±8.17*
VD	0	0.194±0.070	0.204±0.049	0.200±0.022	0.190±0.039	0.125±0.051
PMN	7±4.47	42.00±6.71*	45.00±15.00*	27.00±6.71*	45.00±10.61*	40.00±7.75*

*：$P<0.05$ *vs* normal

表 2　大鼠伤后肺组织 ET、NO 含量和 ET/NO 比值的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Changes of the contents of ET、NO and ET/NO ratio in lung tissues of rats after injury($\bar{x}\pm s$)

	Normal	Time after injury (t/h)				
		2	4	12	24	48
ET	250.00±70.71	1025.51±142.36*	1335.34±173.21*	1207.26±121.65*	1089.68±441.59*	908.06±141.420*
NO	51.77±4.52	75.919±8.20	70.178±5.21	10.968±1.25*	11.508±2.76*	19.516±2.03*
ET/NO	4.57±0.96	13.87±2.15*	18.55±1.97*	104.23±10.52*	96.89±9.04*	49.50±8.46*

*：$P<0.05$ *vs* normal

表 3　ETR 拮抗剂、NOS 抑制剂对大鼠伤后肺脏病变的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 3　The effects of ETR antagonist、NOS inhibitor on the pathological changes of lung in rats after injury($\bar{x}\pm s$)

	Normal	L-NAME	BQ-123
Hemorrhage	0	###	++
Edema	0	###	++
VD of RBC	0	0.17±0.06	0.11±0.05
PMN	7±4.47	50.83±19.60*	37.50±10.61*
Thickness(μm)	3.75±0.05	38.67±13.85*	12.50±3.54▲

*：$P<0.05$ *vs* normal；▲：$P<0.05$ *vs* L-NAME

3　讨论

本实验发现，烧冲复合伤大鼠肺组织 ET 含量迅速升高，并维持在较高水平，而 NO 含量在伤后 12 h 显著降低，至伤后 48 h 仍显著低于正常水平，ET/NO 比值在伤后显著升高。作者曾报道，血管内皮细胞(VEC)受损是烧冲复合伤肺组织 ET 含量变化的重要原因[5]，伤后肺组织 NO 含量变化也可能是由于 VEC 受损所致，因为 NO 也主要由 VEC 合成和释放[2]，当然其具体原因仍有待于进一步研究。

烧冲复合伤后大鼠肺组织 ET 和 NO 含量出现了显著变化，ET/NO 比值在伤后显著升高。ET、NO 在烧冲复合伤的病变发展中有什么作用呢？为此，我们首先将伤后肺组织 ET/NO 比值变化与伤后肺脏病变情况进行了相关性分析。结果发现，伤后 ET/NO 比值变化与伤后肺血管内 PMN 数量，肺泡壁厚度和肺泡腔红细胞体积密度变化呈显著正相关，即 ET/NO 比值越高，肺脏病变越重，这提示 ET 和 NO 在烧冲复合伤肺损伤中可能具有一定的作用。ET 是体内最强的血管收缩物质，ET 必须与靶细胞上的特异性受体(ETR)结合才能产生相应的生物学效应。ETR 可分为内皮素 A 受体(ETRA)和内皮素 B 受体(ETRB)，其中 ET 与 ETRA 结合后主要引起血管收缩作用[6]。NO 也是近来发现的一种新的细胞信使分子，是一种重要的血管舒张因子，它可以扩散到血管平滑肌细胞，刺激可溶性鸟苷酸环化酶(GC)产生 cGMP 从而引起血管舒张[2]。为证实 ET、NO 在烧冲复合伤肺损伤中的作用和意义，我们应用内皮素受体(ETR)拮抗剂 BQ-123 和一氧化氮合酶(NOS)抑制剂 L-NAME 对烧冲复合伤大鼠进行干预治疗，观察它们对伤后肺脏病变的影响。结果发现，烧冲复合伤大鼠给以 BQ-123 和 L-NAME 分别可减轻和加重肺损伤。ET 和 NO 是调节血管收缩和舒张最重要的活性物质[7]。ET/NO 比值升高，提示血管收缩绝对或相对加强，可使肺组织处于缺血缺氧状态，从而加重组织损伤。BQ-123 作为

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

一种 ETRA 拮抗剂，它可以特异性阻断 ETRA 的作用，从而减弱肺血管收缩作用，给予 BQ-123 治疗后可阻断 ET 的血管收缩作用，还可减少血小板激活因子(PAF)和血栓素 A_2 等第二介质释放[8]。NOS 是 NO 合成的限速酶，L-NAME 可以竞争性地与 NOS 结合，从而减少 NO 合成，可使血管舒张作用减弱[2]，NO 还是一种重要的抗凝物质，NO 含量减少将使抗凝作用减弱[2]，这可能加剧伤后肺脏血液淤积和微血栓的形成，为弥漫性血管内凝血(DIC)发生发展提供条件，将进一步加重肺组织损伤。

正常情况下，ET 和 NO 之间存在负反馈调节作用，ET 通过其 ETRB 促进 NO 释放，而 NO 则经 cGMP 途径抑制 ET 产生[9,10]。因此，ET 和 NO 含量处于动态平衡，ET/NO 比值是相对恒定的。烧冲复合伤后，肺组织 ET 和 NO 含量出现了明显变化，肺组织 ET/NO 比值显著升高，即 ET 和 NO 之间的平衡被破坏，我们应用 ETR 拮抗剂对烧冲复合伤大鼠给以干预治疗，以恢复 ET 和 NO 之间的平衡，发现大鼠肺脏病变显著减轻，这不仅证实了 ET 和 NO 在烧冲复合伤肺损伤中的作用，而且为烧冲复合伤的防治提供了理论依据。

参考文献

1 Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S *et al*. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature, 1988;332(6163):411

2 Marsden P A, Brevmer B M. Nitric oxide and endothelins: novel autocrine/paracrine regulators of the circulation. Seminars Nephr, 1991;11(2):169

3 Shirakami G, Nakao K, Saito Y *et al*. Acute pulmonary alveolar hypoxia increases lung and plasma endothelin-1 levels in conscious rats. Life Sci, 1991;48(10):969

4 Conger J D, Robinette J B, Schrier R W *et al*. Smooth muscle calcium and endothelium-derived relaxing factor in the abnormal vascular responses of acute renal failure. J Clin Invest, 1988;82(5):532

5 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意义. 第三军医大学学报，1996;18(6):525

6 屈纪富，郑怀恩. 内皮素受体研究进展. 国外医学：生理、病理科学与临床分册，1996;16(3):152

7 盛民立 主编. 血管内皮细胞与疾病. 上海：上海医科大学出版社，1993:47～49

8 Uchida Y, Ninomiya H, Sakamoto T *et al*. ET-1 released histamine from guinea pig pulmonary but not peritoneal mast cell. Biochem Biophys Res Commun, 1992;189(2):1196

9 Boulanger C M, Luscher T F. Release of endothelin from the porcine aorta : inhibition by endothelium- derived nitric oxide. J Clin Invest, 1990;85(6):587

10 Moninier L E, Gouville A C, Mondot S. Hemodynamic and pharmacological evaluation of the vasodilator and vasoconstrictor effects of endothelin-1 in rat. J Pharmacol Exp Ther, 1990;252(3):300

(收稿：1998-01-13；修回：1998-06-16)

(编辑 张大春)

Study of the changes and significances of endothelin and NO after combined burn-blast injury in rats

Qu Jifu, Zheng Huaien, Lin Yuan, Gu Dequan, Yan Guohe (Department of Radiation Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To study the effects of endothelin (ET) and nitric oxide (NO) after combined burn-blast injury. Methods: We investigated the contents of ET and NO in pulmonary tissues after combined burn-blast injury in rats, and administered endothelin receptor (ETR) antagonist and nitric oxide synthase (NOS) inhibitor to observe the pathological changes in pulmonary tissues. Results: The contents of ET、NO and ET/NO ratio in pulmonary tissues changed significantly after injury, ET/NO ratio was significantly positively correlated with the pulmonary pathological changes. ETR antagonist improved the pathological changes and NOS inhibitor aggravated the pathological changes after combined injury. Conclusion: ET/NO ratio increased significantly after injury, the balance between ET nad NO was broken down, which played an important role in the development of injury.

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

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