DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.02.024

慢性缺氧性肺动脉高压血管内皮损伤的研究 博士生论文摘要

A study on vascular endothelial injury in chronic hypoxic pulmonary hypertension

彭文鸿 毛宝龄 邹霞英 辛达临 (第三军医大学附属新桥医院呼吸内科研究所) 重庆, 630037

建立由缺氧和缺氧叠加静注三氯化铁($FeCl_3$)引起的肺动脉高压模型,比较两者在血液中的循环内皮细胞(CEC)数量及形态的变化;探讨缺氧性肺动脉高压时肺组织诱生型一氧化氮合成酶的转录表达变化,及其在肺动脉高压的作用;还观察血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂西拉普利(Cilazapril)对肺动脉高压的治疗作用及血管内皮损伤的保护作用。

对缺氧叠加静注 $FeCl_3$ 等 5组 50只 Wistar大鼠和西拉普利治疗等 4组 40只大鼠进行血气分析、血浆 CEC 血浆 NO_2^- / NO_3^-、血液及组织 ACE 光镜及电镜等检测;应用核酸 RNA斑点杂交技术对缺氧性肺动脉高压的诱生型一氧化氮合成酶(iNOS) mRNA表达进行研究。临床研究对慢性阻塞性肺病(COPD)患者应用微导管检测血流动力学、CEC等。

结果表现:① 缺氧或缺氧叠加 $FeCl_3$ 均可造成肺动脉高压模型,均可引起肺小动脉平滑肌增生肥厚,叠加 $FeCl_3$ 模型的肺动脉压高于单纯缺氧组,肺气肿等改变明显。② 缺氧性肺动脉高压时肺动脉血管内皮损伤明显,内皮细胞线粒体肿胀,吞饮泡增多,细胞间连接松散,且同内皮细胞剥离明显,叠加 $FeCl_3$ 组可见肺动脉内血小板性血栓形成及脱落的内皮。血循环中内皮细胞增加,可呈片状脱落,血浆 NO MDA升高,血清 ACE下降,组织 ACE MDA升高。③ 缺氧后肺组织诱导型一氧化氮合成酶转录升高。④ 西拉普利可显著减轻肺血管损伤,使血循环内皮细胞减少,NO MDA ACE有所恢复。电镜观察血管内皮细胞损伤基本恢复正常。⑤ 临床研究显示,慢性阻塞性肺病并肺心病时肺动脉压力升高,血循环内皮细胞增多,MDA升高, ACE SOD下降。以上结果表明:① 缺氧或缺氧叠加 $FeCl_3$ 均可成功复制出肺动脉高压模型,叠加 $FeCl_3$ 组肺动脉及间质病变重于单纯缺氧模型组,可较好反应 COPD炎症因素的作用。② 缺氧性肺动脉高压时肺动脉内皮细胞损伤明显,致血循环中内皮细胞增加。电镜观察到 VEC脱落增加,说明 CEC可反映 VEC受损情况。③ 缺氧性肺动脉高压时, NO释放增加,诱生型一氧化氮合成酶(iNOS)表达增加,可能是机体代偿反映,其自由基毒性作用可能参与发病过程。④ 西拉普利可通过抑制 ACE活性,抑制氧自由基反应,促进 NO合成,达到保护血管内皮的作用。⑤ 右心导管检查可用于 COPD肺心病的早期诊断和治疗效果观察。⑥ COPD肺心病均有严重的内皮损伤, CEC变化可反映病变的程度及恢复情况。

关键词 缺氧性肺动脉高压;循环内皮细胞;诱生型一氧化氮合成酶

中图法分类号 R594.3

(收稿: 1997-01-24;修回: 1997-02-19)

(编辑 王 红、沈锡庚)

G蛋白在心血管功能调节及急性肺损伤中的作用研究

Study of the role of G protein on the regulation of cardiovascular system functions and acute lung injury

周元国 王正国 朱佩芳 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第四研究室) 重庆, 630042

G蛋白作为耦联于细胞表面受体和细胞内效应器的桥梁,是细胞外信息进入细胞的门户,不论是在生理状态,还是病理状态下,它的水平和活性对维持和控制细胞正常状态均是十分重要的。本研究通过对生理过程的老化模型和药物脱敏、高血压及急性肺损伤等病理模型 G蛋白几种主要亚型 α亚基及其基因表达水平变化的定量观察,并结合施以受体激动剂(去甲肾上腺素)、拮抗剂(TXA2R拮抗剂,酚红和 GR32191)和具有多种作用的药物地塞米松对它们的影响,研究 G蛋白在这些模型中的作用和变化的机理。

实验发现,衰老动物主动脉 $G_{o}\alpha$ 和 $G_{i}\alpha$ 显著下降, $G_{s}\alpha$ 42 × 10^3 u带显著下降,心脏则变化不显著,提示老化所致的心血管功能变化可能与 G蛋白有关,但心脏和主动脉是不同的。相应 G蛋白 mRNA的定量分析未能证明主动脉中 G蛋白的下降是基因表达水平下降引起,从而提示这种减少可能是翻译减慢或 /和降解加快所致。对衰老大鼠培养平滑肌细胞 G蛋白的进一步观察证明,主动脉中 G蛋白基因表达的变化主要是来自平滑肌细胞。

慢性输注 NE使主动脉 G_s、G_i 水平下降,心室、心房 $G_{i}\alpha$ 升高, $G_{s}\alpha$ 先降低后回升至基础水平。提示 $G_{s}\alpha$ 下降、$G_{i}\alpha$ 升高分别是主动脉、心脏 NE脱敏的分子基础。原发性高血压 G蛋白的改变与输入 NE相似,提示高血压的这种改变不是原发而可能是代偿性的。对平滑肌激动剂脱敏的观察证明不仅 G_s 的下调参与了脱敏作用, G_o 显著升高也是脱敏机理之一。

急性肺损伤后肺中 G蛋白 6h以 $G_{i}\alpha$ 升高, $G_{s}\alpha$ 45× 10^3 u

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

带下降为特点,24 h则 $G_{i\alpha}$、$G_{s\alpha}$和 $G_{q\alpha}$均显著下降;72 h仍维持较低水平,说明肺损伤时确有 G蛋白的参与。而早期 G_s下降,G_i升高与脱敏相似,会降低机体的反应能力并使有害信号增强造成组织损伤。后期 G蛋白均下降,特别是 G_q,G_i下降可能是一种自适应性保护反应。对相应 G蛋白 mRNA和胞浆及胞膜 G蛋白水平的观察证明,多数情况下 G蛋白未由细胞膜转位至细胞浆,细胞膜 G蛋白的变化主要是基因表达水平改变所致。急性肺损伤脑组织中 G蛋白也有改变,提示不仅肺是主要受累器官,脑组织也可能受损或参与了肺损伤的发生,这为肺源性脑水肿发病机理提供了新的解释。

地塞米松使正常大鼠肺 $G_{i\alpha}$、$G_{o\alpha}$升高,$G_{s\alpha}$ 52×10^3 u带升高,45×10^3 u带降低,脑 $G_{s\alpha}$降低,也抑制急性肺损伤时 G蛋白变化,使 6 h G_i不升高、而 G_s升高、24 h胞浆中 G_q升高,说明地塞米松对 G蛋白有调节作用,有促进 G_q从膜向浆转位的作用,这可能是地塞米松治疗作用的重要机理之一。

TXA_2受体拮抗剂虽对急性肺损伤有一定保护作用,但不能改善急性肺损伤时 G蛋白下调,其原因不是 TXA_2的作用未被阻断,而可能是其他与 G_q耦联的激动剂仍然存在的缘故。

因此本研究结果提示,早期抑制或降低以传递有害信号为主的 G蛋白如 G_i, G_q或防止 G_s的下降将可能减轻有害信号对机体造成的损伤,后期则可阻止进一步恶化,促进机体的迅速恢复。

关键词 G蛋白;信息传导;地塞米松;去甲肾上腺素;血栓素,血栓素受体,急性肺损伤;脱敏感;酚红;GR_{32191};衰老;大鼠

中图法分类号 Q51; R540.47

(收稿: 1997-01-08;修回: 1997-01-24)

(编辑: 张大春)

严重烧伤早期心肌细胞膜、骨架损伤的实验研究*

Experimental study on injuries of cardiomyocytes membrane and cytoskeleton in the early stages after severe burn

迟路湘** 杨宗城 黎 鳌 (第三军医大学附属西南医院烧伤研究所)重庆,630038

以前的研究结束已阐明心功能降低在烧伤休克的发生发展中具有重要作用。烧伤后心肌损害导致心肌内在固有收缩力降低,心肌细胞由可逆性损伤转变为不可逆性损伤;这一系列病理生理过程至今仍有许多问题未能澄清。心肌细胞质膜及对心肌细胞起支架作用的细胞骨架在维持心肌正常结构和功能起关键作用。因此,我们推测严重烧伤后将引起心肌细胞膜、骨架的明显改变,这种改变可能直接参与烧伤后心肌损害的发生发展和转归过程。本研究主要分两个层次进行:① 选择大鼠 30% Ⅲ度烧伤模型。动态观察烧伤后心肌组织结构和功能的损伤,进一步了解心肌力学特性变化规律;系统地研究伤后心肌细胞膜、骨架损伤特点,探讨其可能的病理生理机理。② 体外离体乳鼠心肌细胞培养。深入了解烧伤后两大主要致伤因素缺氧、烧伤血清对心肌细胞膜、骨架的损伤机理,并由此而产生的损伤效应及意义。主要结果和结论如下:

(1)严重烧伤早期心肌损伤病理学特征表现为心肌收缩带形成,中层"夹心样"坏死,损伤呈非均一性,并证明是心肌微循环障碍所致。

(2)心肌细胞,钙稳态失控,胞浆、线粒体钙聚积异常分布导致心肌"痉挛性"收缩,室壁应力增加,心肌顺应性降低。

(3)心肌能量耗损导致心肌收缩和舒张功能障碍,且发现心肌细胞生物力学特性明显变化,即粘弹性系数下降。证实心肌粘弹性能降低是导致心肌顺应性下降的决定因素。

(4)心肌细胞氧自由基引发的膜脂质过氧化反应加强,胞内钙超载所导致的膜磷脂酶 A_2活化以及心肌细胞膜磷脂降解引起的游离脂肪酸聚积和溶血磷脂的去垢剂样作用是引起膜酶活力降低,膜流动性降低的根本原因。这一系列变化互为因果从而导致了心肌细胞膜结构和功能损害,膜完整性破坏。

(5)心肌细胞膜基板阴离子位点呈较规则的间距(40 nm~80 nm)线性点阵排列。基板破坏导致肌膜通透性增加,心肌组织水肿加剧,膜保护屏蔽功能下降。

(6)心肌细胞骨架由微丝、微管、中间丝组成。烧伤后心肌细胞骨架发生破坏性重构,网络结构和支架作用消失,骨架蛋白荧光强度显著降低。表明心肌代谢和功能耦合严重障碍。

(7)心肌细胞力学模型建立反映了细胞膜及其皮质下骨架变化;所以,心肌细胞膜、骨架损伤决定性影响心肌细胞力学特性。

(8)心肌细胞间隙连接通讯功能保证心肌细胞高度有序、同步收缩。伤后此功能障碍是导致心肌非均一性行为增强的病理基础。

综上所述,作者由此推测引起严重烧伤早期心功能障碍可能的病理生理机制是缺氧、烧伤血清损伤心肌细胞,通常 Ca^{2+}介导为主的膜、细胞骨架损伤为中心,由此而导致心肌细胞结构和功能进一步破坏,心肌收缩、松弛力学特性降低,心功能不全发生。

关键词 烧伤;心肌;细胞骨架;膜;钙

中图法分类号 R644

(收稿: 1997-01-14;修回: 1997-01-24)

(编辑 刘 鹏)

* 国家自然科学基金资助项目,No. 39390700

** 现在心血管内科 重庆,630038

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