实验还发现:烧伤后肾脏 ET-1 mRNA分布有所变化,除正常分布部位阳性明显增强外,系膜细胞、近端小管也呈强阳性,提示烧伤早期受缺血缺氧、体液-机械刺激导致正常组织细胞原来存在的 ET-1基因表达增强,同时促使原来不表达或低丰度表达的 ET-1基因的组织细胞快速大量地表达和分泌 ET-1。这些改变说明烧伤后肾脏本身 ET-1基因表达和分泌显著增强,高浓度的 ET-1可能参与了烧伤后肾血流动力学改变和肾功能改变。例如弓状动脉、叶间动脉、肾小球动脉内皮细胞 ET-1 mRNA表达的 ET-1,必然导致大量成熟 ET-1肽分泌,导致这些血管收缩而致肾缺血;系膜细胞的 ET-1基因增强表达,提示 ET-1对系膜细胞的收缩而致的超滤过系数(kf)下降[7],降低肾小球滤过率(GFR);肾小管的 ET-1基因增强表达,可能在水钠重吸收过程中参与了异常调节。

烧伤早期 ET-1基因表达和分泌释放的机理尚不清楚,但已证实烧伤后发生体液-机械性刺激,缺氧、缺血再灌注,肿瘤坏死因子(TNF)、血栓素 A_2、肾上腺素、白介素-1、白介素-2(IL-1、IL-2)分泌释放增加,内毒素释放入血等,这些因素正是 ET-1分泌的强烈刺激原[8],所以烧伤早期 ET-1分泌增加可能是由于上述因素的复合作用。

参考文献

1 J.萨姆布鲁克, E. F.费里奇, J.曼尼阿蒂斯.分子克隆实验指南.金冬雁,黎孟枫译.第2版.北京:科学出版社,1993. 16~34
2 沈 萍.二种简便分离 RNA的方法.生物化学与生物物理进展,1990;17(6):481
3 蔡文琴.原位杂交组织化学.见:蔡文琴,王伯 主编.实用免疫细胞化学与核酸分子杂交技术.成都:四川科学技术出版社,1994. 406~424
4 Perico N, Remuzzi G. Role of endothelin in glomerular injury. Kidney Int, 1993; 39(Suppl): S76
5 Kon V, Badr K F. Biological actions and pathophysiologic significance of endothelin in the kidney. Kidney Int, 1991; 40(1): 1
6 Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S *et al*. Novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature, 1988; 322(6163): 441
7 Zoja C, Orisio S, Perico N *et al*. Constitutive expression of endothelin gene in cultured human mesangial cells and its modulation by transforming growth factor B, thrombin, and a thromboxane A_2 analogue. Lab Invest, 1991; 64(1): 16
8 Marsen T A, Schramek H, Dunn J. Renal action of endothelin: Linking cellular signaling pathways to kidney disease. Kidney Int, 1994; 45(2): 336

(收稿:1995-12-07;修回:1996-09-25)
(编辑 冷怀明)

Expression of endothelin-1 gene in early stage after severe burns in rats*

Wang Xu, Wu Xiongfei, Gao Jianchuan, Yang Zongcheng, Li Ao (Research Institute of Burns, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract The expression and localization changes of endothelin-1 mRNA (ET-1 mRNA) at different time points after severe burns were observed in the kidneys of rats with northern blot and *in situ* hybridization. It was found that ET-1 mRNA content was significantly increased and its localization was changed. ET-1 was mainly secreted and released by the kidneys themselves (auto- or para-secretion). The reasons for the above findings were briefly discussed.

Key words burns; kidney; endothelin; *in situ* hybridization; rat

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

脾切除后肺炎球菌雾化吸入感染动物模型的建立

Establishment of an overwhelming post-splenectomy infection animal model by exposing to nebulized suspension of pneumococci

冷建军 陈维佩 (第三军医大学基础部应用解剖与手术学教研室)重庆,630038

脾切除患者易感性增高,终生有发生切脾后凶险感染(OPSI)的可能性,但迄今对于 OPSI的发病机理尚未完全明了,没有满意的防治措施。以往有些感染模型多采用经腹腔、静脉或鼻腔、气管内注射接种细菌(肺炎球菌)等方法,在对动物感染的途径上,我们采用超声雾化器将肺炎球菌悬液雾化,使动物在呼吸过程中自主吸入细菌,获得了满意的结果。

(下转 416页)

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

(1) No mutation was seen in the normal bladder mucosa while the point mutation at codon 12 of Ha-ras gene was found in 16 and that of p53 gene found in 9 cases of BTCC; (2) The point mutation in codon 12 of Ha-ras gene increased with progression of the pathological grade ($P < 0.05$); (3) The mortality of the patients with mutation of ras and p53 was higher than those without; (4) Four cases of BTCC exhibited mutation of both ras and p53 genes.

Key words bladder transitional cell carcinoma; oncogen; onco-suppressor gene; prognosis

(上接 386页)

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

超声雾化器(上海合力医疗器械厂,402型),分光光度计(四川分析仪器厂,721型),Ⅲ型肺炎球菌(S. Pneumoniae,北京药品生物检验所)。

1.2 实验动物与分组

Wistar大鼠36只(四川中药研究所动物室提供),雌雄不拘,体重 115 g~ 125 g,随机分为两组:① 假手术组;② 脾切除组。分组术式参照文献[1],术后在同等条件下喂养6个月,进行实验观测。

1.3 制备肺炎球菌悬液

按常规方法培养肺炎球菌,离心弃上清,再用 PBS(0.01 mol/L, pH7.2)洗两次,用分光光度计测 A 值,调整细菌悬液浓度为 5×10^9 /ml,并倍比稀释作血平皿培养计数菌落形成单位(CFU)值验证。

1.4 肺炎球菌雾化吸入

将细菌悬液加入超声雾化器中,以 1 ml/min的速度雾化送入汽雾箱,动物置于汽雾箱中自主呼吸吸入肺炎球菌 30 min,吸入结束后:① 立即在无菌条件下取全肺组织,作组织匀浆,倍比稀释后血平皿 37℃培养 18 h,计数 CFU 克组织值;② 6 h和 24 h取肺组织,10% 福尔马林血管内固定,石蜡包埋,常规切片,HE染色后组织学观察;③ 24 h外周血培养,计数 CFU /ml 值。

2 结果

2.1 肺组织培养 CFU值结果

假手术组动物肺中活菌量为 $6.03\times 10^5\pm 158$ 克组织,脾切除组为 $5.97\times 10^5\pm 245$ 克组织,两组间差异无显著性($P > 0.05$)。

2.2 肺组织学观察

大鼠在吸入肺炎球菌后,均有精神差,活动少,呼吸急促等表现,脾切除组动物症状呈进行性加重,体毛竖立,呼吸时伴有"咕咕"声;组织学观察可见假手术组动物肺组织呈典型肺炎球菌肺炎病变过程,肺泡中有纤维素性渗出,中性粒细胞浸润,红细胞数量少;而脾切除组动物肺泡中充满大量红细胞,中性粒细胞相对较少;尸检还发现有一侧或双侧肾上腺出血。

2.3 外周血培养 CFU值结果

假手术组动物外周血中活菌量仅 (9.14± 15.30) /ml,脾切除组动物外周血中活菌量达 ($1.62\times 10^5\pm 142$) /ml,两组间比较差异非常显著($P < 0.01$)。

3 讨论

肺炎球菌常存在于正常人的口腔及鼻咽腔,在一定条件下可在呼吸道感染致病,有一些实验经腹腔或静脉注射建立感染模型,不符合该菌正常侵入途径,忽略了呼吸道防御机制,特别是经静脉注射直接形成菌血症,不容易控制剂量,致使动物迅速死亡;而经鼻腔或气管内注射,菌液不能散布于气道内均匀进入肺泡中,而且菌液容易自然流出或通过反射喷出,使每个动物接受的菌量不恒定,影响实验结果。采用超声雾化器能将肺炎球菌悬液雾化成直径 0.1 μm~ 0.3 μm 的汽雾颗粒,使动物在自主呼吸过程中吸入细菌,模拟肺炎球菌正常侵入方式,结果表明两组动物吸入的细菌量差异无显著性;采用 5×10^9 /ml的肺炎球菌悬液按 1 ml/min的速度雾化,大鼠在汽雾箱中吸入 30 min后,脾切除组大鼠 24 h后外周血中活菌量达到 10^5 /ml,肾上腺有出血,肺泡中充满大量的红细胞,表明成功建立OPSI的动物模型。

关键词 肺炎球菌;动物模型;脾切除后凶险性感染

中图法分类号 R657.7

参考文献

1 冷建军,陈维佩.脾切除和自体脾组织移植对肺泡巨噬细胞产生过氧化氢功能的影响.第三军医大学学报,1995;17(4):336

2 戴植本,杨 镇.脾脏疾病的外科处理.见:黄志强主编.现代腹部外科学.长沙:湖南科学技术出版社,1994:392~396

(收稿:1995-12-17;修回:1996-08-04)

(编辑 冷怀明、汪勤俭)

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