DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.06.022

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

屈纪富* 郑怀恩 林 远 程天民 古德全 闫国和 徐有奇 (第三军医大学预防医学系防原医学教研室)
重庆, 630038

提 要 观察了单纯烧伤、冲击伤和烧冲复合伤大鼠伤后不同时间血浆和肺组织内皮素(ET)含量、肺组织血管性假血友病因子(vWF)含量的变化,并结合3类损伤后的肺脏病理变化,探讨了伤后ET和vWF的变化特点及其意义。结果显示本实验条件下的伤情程序依次为:烧冲复合伤>单纯冲击伤>单纯烧伤;3类损伤组血浆和肺组织ET含量均出现显著变化,到达峰值和下降程度各组有所不同;肺组织vWF含量明显降低($P<0.05$),并与肺血管内中性粒细胞数量呈显著负相关($r=-0.9523$, $P<0.05$)。对伤后ET和vWF的变化规律及其意义进行了讨论。

关键词 烧冲复合伤;肺脏;内皮素;血管性假血友病因子
中图法分类号 R64

内皮素(Endothelin, ET)是一类新发现的血管活性肽,是体内最强的血管收缩物质[1],血管性假血友病因子(von Willebrand Factor, vWF)常被认为是血管内皮细胞(VEC)的标志,它们主要是由VEC合成,在很多病理情况下具有重要意义[2],但在烧冲复合伤后的变化特点及其意义未见文献报道。本实验观测比较单纯烧伤(单烧)、单纯冲击伤(单冲)和烧冲复合伤(烧冲)3类损伤后血浆和肺组织ET含量、肺组织vWF含量的变化,以期阐明伤后这些变化的特点和意义。

1 材料与方法

1.1 动物分组及致伤

健康Wistar大鼠68只,体重150 g~250 g,雌雄各半。分设单烧组(Bu)、单冲组(Bl)和烧冲组(C),各组分伤后2、4、12、24和48 h 5个时相点,另设正常对照组。单烧组用5 kW溴钨灯致15% TBSAIII度(病理检查证实)光辐射烧伤,单冲组用BST-1型生物激波管致冲击伤[超压峰值(429.3±11.5) kPa],烧冲组按上述方法先致冲击伤后致烧伤,两伤间隔时间为40 min~60 min。伤后动物自由饮食,不作治疗处理。

1.2 血浆ET含量的检测

动物麻醉后,开腹,由腹腔静脉抽血约2 ml,迅速置入预冷的含有10% EDTA二钠30μl和400 IU(40μl)抑肽酶的试管中混匀,4℃,3000 r/min离心10 min,分离血浆,-20℃保存待测。血浆ET含量用放免法检测(操作按说明书进行),ET放免药盒购自解放军总医院长城免疫技术研究所。

1.3 肺组织ET和vWF含量的检测

取血后开胸活杀大鼠,分离肺脏,观察并记录宏观病变后,常规取材、固定,制作石蜡切片,HE染色,观察肺脏镜下变化;并用链霉菌亲生物素蛋白过氧化物酶染色法(SP方法)进行免疫组化染色(操作按说明书进行),结合图像分析测量肺组织ET和vWF含量。SP试剂盒和vWF抗体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。

1.4 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真彩色图像分析系统,测量肺血管内中性粒细胞(PMN)数量,比较其变化,以间接反映一个方面的病变程度。另从每张肺脏免疫组化染色切片随机选取5个视野,用图像分析测量其平均光密度(A)值,以其积分值表示伤后肺组织ET和vWF含量。

1.5 统计分析

所有数据输入计算机,用本校SPMR统计程序包进行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

各组肺脏大体病变为:单烧组伤情最轻,未见明显出血,主要为充血和水肿,单冲组伤情较重,可见斑片状出血和明显水肿,而烧冲组伤情最重,见大片状出血和明显水肿,并且出血吸收明显慢于两单伤组。伤后肺脏镜下变化主要为肺出血、肺水肿和肺血管内PMN积聚等,其病变程度依次为:烧冲组>单冲组>单烧组,见表1。3类损伤组血浆和肺组织ET含量均出现明显变化,见表2、3,肺组织vWF含量明显降低,见表4,并与肺血管内PMN数量呈显著负相关($r=-0.9523$, $P<0.05$)。

* 现在附属西南医院急诊科 重庆, 630038

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

表 1 伤后肺血管内中性粒细胞数量 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 The number of PMN in pulmonary vessels after injuries ($\bar{x}\pm s$)

Group	Time after injuries (h)				
	2	4	12	24	48
Bu	25.83± 19.08*△	20.00± 14.49*△	21.67± 9.31*	24.00± 8.22*	11.00± 2.24*△
Bl	30.00± 9.49*△	42.00± 12.55*	24.00± 8.22*	33.00± 16.43*	22.00± 10.95*△
C	42.00± 6.71*△	45.00± 15.00*	27.00± 6.71*▲	45.00± 10.61*△	40.00± 7.75*△

Normal: 7.00± 4.47; *: $P<0.05$ *vs* normal; △: $P<0.05$ *vs* other groups; ▲: $P<0.05$ *vs* Bu

表 2 伤后血浆内皮素含量 (ρ_B /pg·ml^{-1})

Tab 2 The contents of ET in plasma after injuries (ρ_B /pg·ml^{-1})

Group	Time after injuries (h)				
	2	4	12	24	48
Bu	476.804± 96.644	558.891± 99.717	369.756± 84.554	659.200± 39.171*	983.004± 100.593*
Bl	261.757± 46.957	293.487± 60.119	744.752± 95.162*	627.859± 105.369*	598.347± 117.172*
C	412.050± 43.491	731.193± 162.075*	487.315± 64.820	536.279± 95.107*	300.279± 86.756

Normal: 297.325± 34.961; *: $P<0.05$ *vs* normal

表 3 伤后肺组织内皮素积分值 (A)

Tab 3 The scores of ET in pulmonary tissue after injuries (A)

Group	Time after injuries (h)		
	4	24	48
Bu	1233.33± 251.66*	1060.00± 194.94*	733.33± 404.15*
Bl	601.50± 100.26*△	712.72± 264.58*	1133.33± 115.47*▲
C	1335.34± 173.21*	1089.68± 441.59*	908.06± 141.42*

Normal: 250.00± 70.71; *: $P<0.05$ *vs* normal; △: $P<0.05$ *vs* other groups; ▲: $P<0.05$ *vs* Bu

表 4 伤后肺组织血管性假血友病因子积分值 (A)

Tab 4 The scores of vWF in pulmonary tissue after injuries (A)

Group	Time after injuries (h)		
	4	24	48
Bu	210.32± 3.56*△	256.15± 3.27*	1514.54± 7.26*△
Bl	30.68± 2.65*	786.04± 9.93*△	1029.43± 21.60*△
C	23.87± 1.97*	221.52± 9.44*	804.35± 18.18*△

Normal: 1805.09± 35.59; *: $P<0.01$ *vs* normal; △: $P<0.01$ *vs* other groups

3 讨论

3.1 伤后 ET和 vWF含量的变化及原因

在实验中发现,正常情况下,肺组织 vWF含量非常丰富,伤后显著降低,各组变化的趋势一致,均在伤后 4 h处于最低,然后逐渐升高,但 48 h仍显著低于正常水平。这可能是由于 3类损伤都可致 VEC损伤,使其中 vWF释放入血[3];另外,伤后机体处于应激状态,也可使 VEC中 vWF释放入血,故肺组织 vWF含量降低。三类损伤组肺组织 vWF含量变化程度差别有显著性,并与血管内积聚的 PMN数呈显著负相关。这间接提示肺组织 vWF含量变化与伤情有关,伤后 VEC损伤可能是 vWF含量变化的主要原因之一。单烧组和烧冲组伤后 24 h肺组织 vWF含量低于单冲组,可能是由于烧伤血清中炎症介质通过直接和间接途径加重 VEC损伤所致[4]。

3类损伤组 ET含量均发生显著变化,其中血浆 ET含量均显著升高,其峰值差别不显著,但到达峰值的时间不同,烧冲组最早,为伤后 4 h,单冲组为 12 h,单烧组最晚,为 48 h。肺组织 ET含量显著升高,以烧冲组伤后 4 h为最高 (为正常组的 5.03倍)。单烧组亦较高 (为正常组的 4.9倍),但 48 h下降程度明显高于单冲组和烧冲组。伤后 ET含量变化也与伤情有关,烧冲组血浆 ET含量伤后 4 h即达高峰,这可能与其伤情较重有关。单冲组伤情轻于烧冲组,其血浆 ET含量达高峰时间也较晚,为伤后 12 h,而单烧组伤情最轻,其血浆 ET含量在高峰也最晚,为伤后 48 h。当然,单烧组伤后 48 h血浆 ET含量升高也可能是由于其受损较轻,恢复较快,加之烧伤血清中的各种炎症介质通过直接或间接途径刺激所致[4]。

ET含量升高主要是因为其表达增多和清除减少所致,因为机体中并无 ET储存[5]。其具体原因可能

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

是:①机体严重的缺血缺氧[2]。②细胞因子作用[6]。③血液动力学紊乱和应力 (shear stress)刺激[7]。④肺组织降解 ET的能力下降[8]。这些原因都与伤情有关,因此,伤情越重, ET含量变化也越明显。

3.2　ET和 vWF含量异常变化对机体的影响

ET为缩血管物质,其含量升高必将使血管收缩作用加强,肺组织出现缺血缺氧现象,而后者又可使 ET合成和释放增加,这种恶性循环使缺血缺氧加重,氧自由基增多,加重组织损伤。

ET含量升高所致的血管收缩本身可促使血液高凝状态的形成;VEC受损后其中的 vWF释放入血,使血浆 vWF含量升高,也可使凝血系统功能增强,血液呈高凝状态;另外, VEC受损后, vWF释放入血,血浆 vWF含量升高,又可使血小板与内皮间的粘附能力增强[9],这些都可促使血液高凝状态形成,加剧肺部血液淤积和微血栓的形成,为弥漫性血管内凝血 (DIC)的发生发展提供了条件,这又将进一步加重组织损伤。

由于出血水肿等原因,伤后往往存在血容量不足,加之 ET含量升高,可使微血管收缩加强,甚至痉挛,最终可造成微循环障碍,促使创伤性休克的发生。

ET可刺激 PMN向内皮细胞粘附,并通过直接和间接途径激活 PMN[10], PMN激活后可通过"呼吸爆发"和释放各种水解酶等途径加重组织损伤。

烧伤、冲击伤和烧冲复合伤伤后 ET和 vWF含量均出现显著变化,而其变化又可加重组织损伤,这种恶性循环对 3类损伤的发展有重要影响。

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

3 Wall R T, Counts R B, Harker L A *et al*. Binding and release of Factor Ⅷ/von Willebrand's Factor by human endothelial cells. Br J Haematol, 1980; 46(2): 287

4 王风君,黄文华,黎　鳌.烧伤后血清免疫抑制活性物质.国外医学: 创伤与外科基本问题分册, 1994; 15(2): 69

5 Masaki T, Kimura S, Yamagisawa M *et al*. Molecular and cellular mechanism of endothelin regulation. Circulation, 1991; 84(4): 1457

6 Endo T, Uchida Y, Matsumoto H *et al*. Regulation of endothelin-1 synthesis in cultured guinea pig airway epithelial cells by various cytokines. Biochem Biophys Res Commun, 1992; 186(3): 1594

7 Greer I A, Leask R, Hodson B A *et al*. Endothelin, elastase and endothelial dysfunction in preeclampsia. Lancet, 1991; 337(8740): 558

8 Druml W, Steltzr H, Waldhausl W *et al*. Endothelin-1 in adult respiratory distress syndrome. Am Rev Respir Dis. 1993; 148(5): 1169

9 金榕兵,朱佩芳,刘大维等.冲击伤后血浆和肺微血管内皮细胞血管性假血友病因子含量的变化.第三军医大学学报, 1995; 17(4): 318

10 Farre A L, Riesco A, Espinosa G *et al*. Effect of endothelin-1 on neutrophil adhesion to endothelial cells and perfused heart. Circulation, 1993; 88(3): 1166

(收稿: 1996-02-28;修回: 1996-09-28)

(编辑　张大春)

Changes of endothelin and von Willebrand factor in rats after burn, blast and combined burn-blast injuries and their significance

Qu Jifu, Zheng Huaien, Lin Yuan, Cheng Tianmin, Gu Dequan, Yan Guohe, Xu Youqi (Department of Radiation Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract　The changes of the contents of endothelin (ET) in plasma and pulmonary tissue and von Willebrand factor (vWF) in pulmonary tissue and the pathological changes of pulmonary tissue after burn, blast and combined burn-blast injuries were observed to explore the characteristics and significance of the changes of ET and vWF after injuries. It was found that the contents of ET in plasma and pulmonary tissue were significantly increased ($P < 0.05$) while that of vWF in pulmonary tissue was significantly decreased ($P < 0.05$). The latter was negatively correlated with the number of neutrophils in pulmonary blood vessels. The characteristics and significance of the changes of ET and vWF after injuries were also discussed.

Key words　combined burn-blast injury; lung; endothelin; von Willebrand factor

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