DOI:10.16016/j.1000-5404.1982.04.012

重度呼吸道蒸气烧伤肺水肿发生机制的实验研究

血浆、肺组织内环核苷酸含量的动态观察

药理教研室 姚丹帆 王建新 李进年

环-磷酸腺苷（cAMP）及环-磷酸鸟苷（cGMP）存在于人类和各种动物细胞内，含量甚微，是具有重要的生物学效应的物质。两者对细胞膜的通透性、酶系统的活性、基因表达、细胞分裂与分化、各种激素和炎性介质的释放以及免疫功能等多种生理生化过程都起着调节控制作用。重度呼吸道烧伤极易发生肺水肿，为探讨肺水肿发生的机制，特对cAMP和cGMP含量初步进行了动态观察，现报告如下。

实验对象和方法

（一）采用四川杂种雄犬，随机分为正常对照组和呼吸道烧伤组，详细致伤过程见实验方法一文[1]，此处从略。

（二）血浆、肺组织标本的采集

血标本：用0.5M EDTA－2Na（pH7.5）生理盐水溶液0.01ml/ml血作抗凝，每只犬于伤前及伤后0.5°、1°、2°、4°各采集左心室血6 ml，3000转/分离心10分钟，分出血浆－20℃保存。待两组动物致伤完成后，集中所有标本分别进行cAMP和cGMP含量测定。

肺组织标本：致伤后4°活杀取肺组织，切成小块，置液氮内速冻保存，待两组动物致伤完成后，集中肺组织标本，分别进行匀浆、提取及cAMP和cGMP的测定。

（三）血浆及肺组织内cAMP测定系用放射性同位素竞争蛋白结合法[2]，配套试剂由中科院简阳分院放射医学研究所提供。其cGMP的测定系用放射免疫测定法[3][4]，配套试剂由上海第二医学院药厂提供。

两种测定计数皆用国产Fj-2101型双道液体闪烁计数器计数。

（四）全部数据皆以均数标准误（$\bar{x}\pm SE$）表示。两组间显著性测验以及烧伤前后显著性测验皆用t测验进行。

结　　果

（一）正常对照组的血浆cAMP和cGMP含量，分别为15.191±1.13 Pmole/ml，10.042±2.604Pmole/ml，cAMP/cGMP的比值为1.512（表1）。本实验所测得的正常值与国外文献报导的血浆cAMP和cGMP的正常值（15pmole/ml和10Pmole/ml）十分近似[5]。

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

（二）呼吸道烧伤组各犬于致伤前采血一次，作为自身对照，致伤后分别于0.5°、1°、2°、4°各采血一次，测其cAMP和cGMP含量的动态变化。结果发现致伤前血浆cAMP含量逐渐升高，1°时达最高峰值30.288±3.713（$P<0.001$），而后逐渐下降，4°接近正常值（表1、图1）。而cGMP含量变化不大或稍有下降，统计学处理相差不显著（$P>0.05$）（表1、图1）。由于致伤后cAMP含量增高，故cAMP/cGMP的比值增大，特别在致伤后1°比值增大2倍多（伤前比值为1.424，伤后1°为4.442）（表1）。

表1　犬呼吸道烧伤左心室血浆cAMP及cGMP含量及比值的动态变化

组别		伤前 (Pmole/ml)	伤后 (Pmole/ml) $\bar{X}\pm SE$ 0.5°	1°	2°	4°(h)
正常照组对 (n=7)	cAMP	15.191±1.13	13.871±2.272 $p>0.05$	17.508±1.878 >0.05	12.924±2.72 >0.05	19.003±2.034 >0.05
	cGMP	10.047±2.604	9.707±1.739 $p>0.05$	7.975±2.232 >0.05	8.868±2.292 >0.05	6.626±1.638 >0.05
	比值	1.512	1.429	2.20	1.457	2.868
呼吸道烧伤组 (n=8)	cAMP	12.898±1.59	20.019±2.379 $p>0.05$	30.288±30.713 $p<0.001$	21.19±2.599 >0.05	19.049±2.837 >0.05
	cGMP	9.059±1.952	9.656±1.40 $p>0.05$	6.819±1.022 >0.05	6.94±1.834 >0.05	6.313±1.066 >0.05
	比值	1.424	2.073	4.442	3.054	3.018

注：正常对照组：系气管插管前后自身相比（未通蒸气烧伤）
呼吸道烧伤组：系气管插管，通气烧伤前后自身相比。

正常对照组与呼吸道烧伤组血浆cAMP不同时间的组间显著性测验，除1°两组间有显著性差异（$P<0.01$）外，其余各时间的组间差无显著性（$P>0.05$）（表2）。cGMP各时间的组间差亦无显著性（$P>0.05$）（表3）。

表2　犬血浆cAMP含量两组间显著性测验

组别	伤前 (Pmole/ml)	伤后 (Pmole/ml) $\bar{X}\pm SE$ 0.5°	1°	2°	4°(h)
正常对照组(n=7)	15.191±1.13	13.871±2.272	17.508±1.878	12.924±2.72	19.003±2.034
呼吸道烧伤组(n=8)	12.898±1.59	20.019±2.379	30.288±3.713	21.19±2.599	19.049±2.837
两组间显著性测验	$t=1.1750$ $p>0.05$	$t=1.8276$ $p>0.05$	$t=3.07095$ $p<0.01$	$t=2.0824$ $p>0.05$	$t=0.01304$ $p>0.05$

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

表3　　犬血浆cGMP含量两组间显著性测验

组　别	伤　前	伤　后（Pmole/ml）X±SE			
	(Pmole/ml)	0.5°	1°	2°	4°(h)
正常对照组(n=7)	10.047±2.604	9.707±1.739	7.975±2.32	8.868±2.202	6.626±1.638
呼吸道烧伤组(n=8)	9.059±1.952	9.656±1.40	6.819±1.022	6.94±1.834	6.313±1.066
两组间显著性测验	t=0.3084 p>0.05	t=0.3104 p>0.05	t=0.4679 p>0.05	t=0.6652 p>0.05	t=0.164 p>0.05

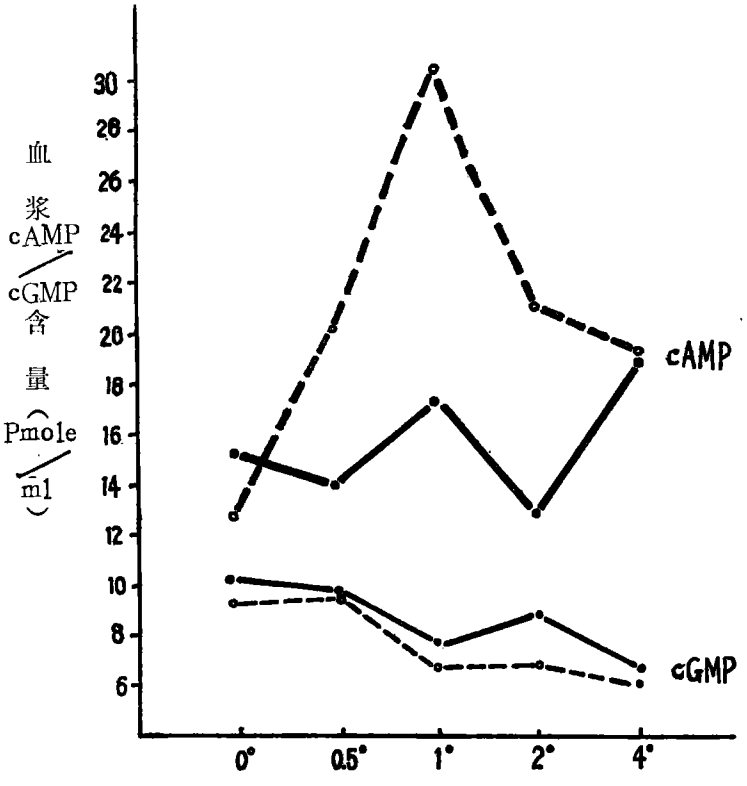


图1　对照组　cAMP ·—— cGMP ·——　血浆cAMP/cGMP含量的动态变化
致伤组　cAMP ·…… cGMP ·……

（三）肺组织细胞内cAMP和cGMP含量的变化：经肺部X线证明：实验开始后3.5°正常对照组（n=9）X线胸片无异常改变，而呼吸道烧伤组（n=14）中除一只犬肺水肿不明显外，其余胸片均显示有肺水肿的表现，两肺见云雾状阴影，右肺多于左肺[1]。于4°活杀时，取右肺肺水肿明显的组织（对照组也取右肺标本）标本，测定其cAMP和cGMP含量的变化。结果表明：正常对照组cAMP正常值为279.05±59.925pmol/g湿重，cGMP的正常值为25.65±2.057pmol/g湿重，cAMP/cGMP比值为10.88；而致伤组与对照组相比cAMP含量明显升高440.084±50.902 Pmole/g湿重（P<0.05），而cGMP含量则非常明显地下降为8.799±1.21pmole/g湿重（P<0.001），故cAMP/cGMP的比值明显加大约5倍（50.015）。因犬肺组织内cAMP和cGMP正常值尚未见有文献报导，故根据本实验室所测定的正常值与致伤组含量相比，证明当肺水肿明显时cAMP↑而cGMP↓（表4）。

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

表4　犬肺组织内cAMP和cGMP及比值变化

组别	cAMP $\bar{X}\pm SE$ Pmole/g湿重	cGMP $\bar{X}\pm SE$ Pmole/g湿重	比值
正常对照组（n = 9）	279.056±59.925	25.65±2.059	10.88
呼吸道烧伤组（n = 14）	440.084±50.902	8.799±1.21	50.015
两组间显著性测验	t = 2.0215 p < 0.05	t = 3.2959 p < 0.001	增大

讨　论

1．cAMP不仅作为细胞内的“第二信使”而引起组织效应，同时也接受血管活性物质和炎症介质如组织胺、前列腺素E_1（PGE_1）等的刺激而使cAMP浓度升高，当cAMP浓度升高时，则又可反馈地抑制组织胺、PGE_1等从白细胞或肺碎片（Fragments）释放，抑制淋巴活素从激活的淋巴细胞内释放，从而对炎症反应的范围和强度加以限制，这是一种自身内环境的调控作用[6-7]，有关呼吸道烧伤所致的急性肺水肿血浆内cAMP含量的变化尚未见有文献报导。本实验通过重度呼吸道蒸气烧伤的犬所致的急性肺水肿，在血浆内cAMP含量逐渐升高，1°最为显著呈最高峰值，而后又逐渐下降，至4°接近正常。分析引起血浆cAMP升高的因素很多，而主要的可因高热直接损伤、破坏呼吸道支气管树粘膜细胞，致大量组织胺、PGE_1等释放，从而促进cAMP浓度升高、cAMP升高不但可作用于肺部效应细胞，而且也可溢出进入肺循环，使体循环血中cAMP浓度增高，这种暂时性的cAMP调控变化，多见于大多数介质释放时而产生，当动物机体急性炎症的病理变化持续发展时，则cAMP调控也会持续存在。反之，当浓度恢复到正常时，其介质的释放反应即告停止，cAMP正是这样参与调控反应的[8]。本实验观察到血浆cAMP 4°虽已渐恢复（由高峰值下降），但这并不能表明炎性介质不再释放，因高热直接损伤未再持续进行（蒸气烧伤），大量组织细胞破坏减少，相对进入循环血中cAMP浓度下降。抑或是因多次大量采血（每只犬每次采血可达250ml供实验用），并每次补充输入库存血，自身血液被多次输血稀释，故4°cAMP在血浆中含量降低。上述因素似不能排除。但所致的急性肺水肿仍然严重存在，当4小时活杀时，肺组织细胞内cAMP含量仍较伤前为高（$P<0.05$），然而未能观察到伤后0.5°、1°、2°肺组织内含量改变（因未活杀）。但在同步实验中肺组织内组织胺含量经测定有明显降低（与正常对照组相比$P<0.05$）[8]，可因肺中肥大细胞所含有的组织胺已被大量释放，或因cAMP在调控中可能起一定的抑制介质分泌的作用所致，若要搞清cAMP和其它介质之间的关系，对控制肺水肿发生的重要作用，尚须进一步研究证明。

2．对于cGMP由于生理功能的了解仍很不充分，但在许多方面其功能与cAMP是互相拮抗的，对介质的释放调控也是如此[10]。本实验所致的急性肺水肿，由于cAMP浓度↑，则cGMP浓度则↓，特别在肺组织内cGMP含量显著降低（$P<0.001$），cAMP/cGMP比值明显增大，很可能是控制炎症反应的原因之一，但究竟cGMP在肺水肿发生机制中占有何等重要地位？与病程的归转关系如何？待尚进一步研究证明。

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

参 考 文 献

（1）姜坤元等，重度呼吸道蒸气烧伤肺水肿发生机制的实验研究：实验方法及临床观察（本届资料）

（2）解放军307医院实验研究室：cAMP蛋白竞争结合测定法（内部交流资料）1977年。

（3）载腾昌等：环-磷酸鸟苷放射免疫测定法。全国放免会议资料。1979年。

（4）Goldbery ML：Clin Chem 23:5676,1977

（5）全国放疫会议资料汇编引用文献。（1979）

（6）Kaliner MA et al：c-AMp in human lung. Biochem. Biophys Acta. 252:160,1971

（7）Bourne HR et al：Science, 184:19,1974

（8）Gerald Weissman：Mediators of inflummation p 23

（9）黄钺华等，重度呼吸道蒸气烧伤实验研究：血液和肺组织的组织胺含量变化（本届资料）

（10）Zurier RB et al：J Clin Invest 53:297,1974

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