

• 论著 •

N ω -硝基-L-精氨酸甲酯对失重大鼠肺动脉反应性的影响

刘长庭 郝从均 王俊锋 汪德生 袁明

【摘要】 目的 探讨 N ω -硝基-L-精氨酸甲酯(L-NAME)对失重大鼠肺动脉反应性的影响。方法 将 16 只雄性 Wistar 大鼠按随机数字表法分为对照组和尾悬吊组,每组 8 只。利用离体血管环灌注技术测量大鼠肺动脉环对苯肾上腺素(PE)的收缩反应和对乙酰胆碱(Ach)的舒张反应,以及 L-NAME 预处理后动脉环对 PE 的收缩反应。同时用硝酸还原酶法测定肺动脉组织一氧化氮(NO)含量。结果 尾悬吊 14 d 后大鼠肺动脉环对 $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-7}$ mol/L 浓度 PE 的收缩反应均显著下降(P 均 < 0.01);对 $1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-8}$ mol/L Ach 的舒张反应均显著增强(P 均 < 0.05);一氧化氮合酶(NOS)抑制剂 L-NAME 预处理后动脉环对 PE 的收缩反应恢复,与对照组比较差异均无显著性。肺动脉组织 NO 含量增加,两组差异有显著性($P < 0.05$)。结论 模拟失重引起肺动脉血管内皮细胞释放 NO 增加可能是导致其收缩反应性下降的原因之一。

【关键词】 失重; 模拟; 肺动脉; N ω -硝基-L-精氨酸甲酯; 血管反应性

Effects of N ω -nitro-L-arginine methyl ester on pulmonary artery of rats during simulated weightlessness

LIU Chang-ting*, HAO Cong-jun, WANG Jun-feng, WANG De-sheng, YUAN Ming. * Department of Respiratory Diseases, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of the N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) on pulmonary artery of rats during 14 days simulated weightlessness. **Methods** Sixteen male Wistar rats were randomly divided into control group and tail-suspension (TP) group (each $n=8$). Vascular bathing technique was used to measure the contractile responses of rats pulmonary artery rings to phenylephrine (PE), dilatory responses to acetylcholine (Ach) and contractile response to PE in presence of L-NAME. Nitric oxide (NO) content in pulmonary tissues was determined using nitrate enzyme reduction method. **Results** After simulated weightlessness for 14 days, the contractile response of rat pulmonary artery to PE ($1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-7}$ mol/L) decreased significantly (all $P < 0.01$); the dilatory response to Ach ($1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-8}$ mol/L) increased significantly (all $P < 0.05$). L-NAME abolished the differential responses to PE in TS and control groups, had no significant differences compared with control group, and NO content was also significantly increased. There were significant differences between the two groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Larger amount of NO is released in vascular endothelium after 14 days TS, which might partly explain the decrease in the contractile responses of pulmonary artery.

【Key words】 weightlessness; simulation; pulmonary artery; N ω -nitro-L-arginine methyl ester; vascular responsiveness

我们以前的研究发现,模拟失重时肺动脉反应性会发生改变,肺动脉收缩反应下降、舒张反应增强。航天员返回地面后常会发生立位耐力下降^[1],而失重后肺动脉反应性的变化,可能是促进航天员发生立位耐力下降的重要因素之一。本研究中利用尾悬吊大鼠失重模型,观察 N ω -硝基-L-精氨酸甲酯(L-NAME)对模拟失重大鼠肺动脉反应性的影响,从而进一步了解模拟失重时肺动脉反应性发生改变的影响因素。

基金项目:全军武器装备预研基金项目(51400020104JB001);
全军医学科研“十五”基金重点项目(04Z020)

作者单位:100853 北京,解放军总医院南楼呼吸科(刘长庭,郝从均,王俊锋);100853 北京航天员科研训练中心(汪德生,袁明)

作者简介:刘长庭(1954-),男(汉族),安徽六安人,博士研究生导师,教授,主任医师,全军首席科学家(Email:changtingliu@solu.com)。

1 材料与方法

1.1 动物饲养与模型:采用文献[2-4]介绍的方法,建立模拟失重动物模型。8 周龄雄性 Wistar 大鼠 16 只(解放军总医院实验动物中心提供),体重 240~260 g,动物在实验室动物房内饲养 1 周后,按随机数字表法分为对照组和尾悬吊组,每组 8 只。对照组单笼喂养,可自由活动;尾悬吊组单笼尾悬吊,保持头低位约 30°,除头可自由活动、饮水、进食外,四肢躯干均活动受限,喂养 14 d。

1.2 血管反应性测定:用乌拉坦 1.2 g/kg 腹腔注射麻醉大鼠,断头处死,立即开胸仔细剥离肺动脉,取肺动脉主干,做成两节长约 2 mm 的血管环,以冷 Krebs 液冲洗,置于 37 °C 10 ml 的恒温浴槽,持续通入体积分数为 95% 的 O₂ 和 5% 的 CO₂ 混合气体。血管环以两个平行的金属钩穿过后再连于张力传感器,四导生理记录仪记录血管张力。血管环在一定静

息张力下对相同浓度血管收缩剂反应最大为最适静息张力。预实验测定肺动脉环的最适静息张力为 0.67 g。取一节血管环,在最适静息张力下以 Krebs 液平衡 1 h,以苯肾上腺素(PE, 1×10^{-6} mol/L)预收缩血管环达到平台期后依次递加浓度加入乙酰胆碱(Ach, $1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-5}$ mol/L),在上一次加药达到平台期后再进行下一次加药,分别测定各浓度时的血管张力。冲洗血管环至静息张力为止,然后依次按递加浓度加入 PE ($1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-5}$ mol/L),分别记录其血管张力,冲洗过程中每 5 min 更换 1 次平衡液,平衡过程中每 15 min 更换 1 次平衡液。另一节血管环在最适静息张力下以 Krebs 液平衡 1 h,以一氧化氮合酶(NOS)抑制剂 L-NAME 1×10^{-5} mol 孵育 20 min,依次按递加浓度加入 PE ($1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-5}$ mol/L),分别记录其血管张力。

1.3 肺动脉组织一氧化氮(NO)含量检测:生物系统中 NO 释放后很快变成亚硝酸盐(NO_2^-)和硝酸盐(NO_3^-),两者性质稳定,因而可以通过测定 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 含量来间接反映 NO 的生成。取肺动脉组织于室温溶解,加 10 mmol/L 的羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES, pH 7.4)溶液,研磨匀浆后 3 000 r/min (离心半径为 20 cm)离心 20 min,取上清液,按照军事医学科学院提供的 NO 检测试剂盒说明书操作,以比色法读取吸光度(A)值,用标准曲线法计算 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 含量,以代表 NO 含量。

1.4 统计学处理:采用 Stata 7.0 统计软件,张力以 g 表示,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 t 检验比较各组间在不同浓度下对 Ach、PE 的张力差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺动脉环对 Ach 舒张反应的变化(表 1):尾悬吊模拟失重 14 d 大鼠肺动脉环对中、高浓度 Ach 舒张反应与对照组比较均有升高趋势,在 1×10^{-6} 、 1×10^{-7} 、 1×10^{-8} mol/L 时差异有显著性(P 均 < 0.05),在低浓度(1×10^{-9} mol/L)时差异不明显。

表 1 大鼠肺动脉环对 Ach 的舒张反应($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Dilatory responses of pulmonary arterial rings from rats to Ach ($\bar{x} \pm s, n=8$) g

组别	Ach 浓度(mol/L)				
	1×10^{-9}	1×10^{-8}	1×10^{-7}	1×10^{-6}	1×10^{-5}
对照组	0	12.5±1.4	42.6±5.2	70.1±7.7	100.0±0
尾悬吊组	0	29.1±4.4*	60.2±7.8*	81.8±7.9*	100.0±0

注:与对照组比较: * $P < 0.05$

2.2 肺动脉环对 PE 收缩反应的变化(表 2):尾

悬吊模拟失重 14 d 大鼠肺动脉环对中、高浓度 PE 收缩反应与对照组比较有降低趋势,在 1×10^{-5} 、 1×10^{-6} 、 1×10^{-7} mol/L 时差异均有显著性(P 均 < 0.01),低浓度(1×10^{-9} mol/L 和 1×10^{-8} mol/L)时差异不明显。

表 2 大鼠肺动脉环对 PE 的收缩反应($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Contractile responses of pulmonary arterial rings from rats to PE ($\bar{x} \pm s, n=8$) g

组别	PE 浓度(mol/L)				
	1×10^{-9}	1×10^{-8}	1×10^{-7}	1×10^{-6}	1×10^{-5}
对照组	0	0.16±0.01	0.91±0.08	1.35±0.12	1.36±0.12
尾悬吊组	0	0.11±0.01	0.50±0.03**	1.04±7.90**	1.05±0.11**

注:与对照组比较: ** $P < 0.01$

2.3 以 L-NAME 处理后肺动脉环对 PE 收缩反应的变化(表 3):L-NAME (1×10^{-5} mol/L) 预处理 20 min 后,尾悬吊组和对照组大鼠肺动脉环对不同浓度 PE ($1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-5}$ mol/L) 的收缩反应均有增加,但在各浓度时两组收缩反应差异均无显著性(P 均 > 0.05)。

表 3 L-NAME 预处理后肺动脉环对

PE 的收缩反应($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Contractile responses of pulmonary arterial rings from rats to PE in presence of L-NAME ($\bar{x} \pm s, n=8$) g

组别	PE 浓度(mol/L)				
	1×10^{-9}	1×10^{-8}	1×10^{-7}	1×10^{-6}	1×10^{-5}
L-NAME+对照组	0	0.71±0.08	1.31±0.12	1.91±0.20	1.98±0.29
L-NAME+尾悬吊组	0	0.64±0.07	1.23±0.11	1.81±0.19	1.83±0.21

2.4 肺动脉组织 NO 含量:尾悬吊模拟失重 14 d 大鼠肺动脉组织 NO 含量增加,其浓度为 $(15.7 \pm 4.1) \mu\text{mol/L}$,对照组为 $(7.6 \pm 3.2) \mu\text{mol/L}$,两组差异有显著性($P < 0.05$)。

3 讨论

失重或模拟失重时肺动脉反应性会发生改变,表现为肺动脉收缩反应下降、舒张反应增强。我们利用离体血管环灌流技术测量尾悬吊 14 d 和对照组大鼠肺动脉环对 PE 的收缩反应以及对 Ach 的舒张反应,结果显示,尾悬吊 14 d 后肺血管对 Ach 的舒张反应明显增强,而对 PE 的收缩反应明显减弱。

PE 是受体介导的血管收缩剂,能够作用于血管平滑肌细胞上 α -肾上腺素能受体引起的血管收缩。而 Ach 是内皮依赖性血管舒张剂,作用于内皮细胞的 M 受体,生成内皮源性舒张因子(EDRF)即 NO,引起平滑肌舒张,提示 NO 可能在肺动脉反应性发生改变中发挥重要作用。

Sangha 等^[5]曾对尾悬吊 20 d 大鼠的股动脉和颈动脉反应性进行了研究,结果表明,股动脉和颈动

脉对去甲肾上腺素收缩反应性明显降低,而对 Ach 的舒张反应性增强,认为模拟失重使血管内皮 NOS 水平持续升高是血管对去甲肾上腺素收缩反应性下降的原因。同样,是否肺动脉内皮 NOS 表达水平也发生了变化从而影响血管的舒缩状态,我们以 NOS 抑制剂 L-NAME 1×10^{-5} mol/L 预处理后再测定大鼠肺动脉环对 PE 的收缩反应,结果发现,尾悬吊组和对照组收缩反应均增强,且两组对不同浓度 PE 的收缩反应无明显差异,说明在消除了内皮源性 NO 影响后,尾悬吊组大鼠肺动脉下降的收缩反应得到恢复。通过肺动脉组织 NO 含量测定进一步证实了模拟失重后肺动脉组织 NO 含量增加。血管内皮通过释放舒张物质和收缩物质调节血管的舒缩平衡,NO 可能就是模拟失重时肺动脉血管内皮细胞释放来调节肺动脉反应性的主要舒血管物质,而它

通过鸟苷酸环化酶途径产生血管舒张效应。

综上所述,失重或模拟失重时肺动脉内皮结构和功能发生改变,使舒张产物 NO 增加,这可能是导致肺动脉收缩反应性降低的原因之一。

参考文献:

- 1 Buckley J C Jr, Lane L D, Levine B D, et al. Orthostatic intolerance after spaceflight[J]. J Appl Physiol, 1996, 81: 7-18.
- 2 陈杰, 马进, 丁兆平, 等. 一种模拟失重影响的大鼠尾部悬吊模型[J]. 空间科学学报, 1993, 13: 159-162.
- 3 刘长庭, 王俊锋, 李向红, 等. 尾悬吊模拟失重大鼠肺组织一氧化氮合酶的变化[J]. 中国危重病急救医学, 2002, 14: 535-536.
- 4 王俊锋, 刘长庭, 王德龙. 尾悬吊模拟失重大鼠肺组织细胞凋亡情况的研究[J]. 中华中西医杂志, 2001, 2: 1252-1253.
- 5 Sangha D S, Vaziri N D, Ding Y, et al. Vascular hyporesponsiveness in simulated microgravity: role of nitric oxide-dependent mechanisms[J]. J Appl Physiol, 2000, 88: 507-517.

(收稿日期: 2006-01-01 修回日期: 2006-05-23)

(本文编辑: 李银平)

• 病例报告 •

血液灌流抢救重度急性混合中毒患者 1 例

周小艳 段力平 杨国帅

【关键词】 血液灌流; 中毒, 重度; 有机磷农药; 急救

急性中毒患者一般来说病情危重, 需医护紧密配合抢救。我们急诊科采用血液灌流联合综合措施成功抢救重度急性混合中毒患者 1 例, 报告如下。

1 病历简介

患者女性, 35 岁, 2005 年 7 月 28 日 16:10 急诊入院。口服乐果、敌敌畏各约 50 ml, 安定 30 片, 于煤气泄漏密闭室内 1 h, 发现时患者呼之不应、口吐白沫、流涎、面色苍白、周身发凉、大小便失禁。院前“120”予气管插管和气囊辅助通气, 静脉注射解磷定、阿托品等。入院查体: 体温 35℃, 脉搏 126 次/min、无呼吸、血压 88/32 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa); 深昏迷, 全身皮肤湿冷, 两侧瞳孔直径 1 mm, 对光反射消失, 口唇发绀, 口中大量泡沫样分泌物, 颈软, 两肺可闻及大量湿性啰音, 律齐, 腹部未见异常, 四肢肌张力低, 双侧巴彬斯基征阴性; 心电图示窦性心动过速、ST-T 改变; 血气分析:

作者单位: 570208 中南大学湘雅医学院附属海口医院肾病中心

作者简介: 周小艳 (1982-), 女 (汉族), 江西丰城人, 护士 (Email: queen4213@hotmail.com)。

血钾 3.01 mmol/L, pH 6.986, 血二氧化碳分压 (PCO₂) 54.9 mm Hg; 胆碱酯酶 (ChE) 活性 521 U/L; 出凝血 4 项 (-)。入院诊断: 急性重度有机磷农药中毒, 急性安眠药中毒, 急性一氧化碳中毒。入院后给予洗胃、解毒、补液、升压、呼吸机辅助通气; 18:00 时仍无自主呼吸, 血压 56/22 mm Hg, ChE 394 U/L。采用血液灌流治疗 (HA330 树脂血液灌流器), 上机前给予新鲜血浆 200 ml 预冲管路, 血流量 150 ml/min; 首剂肝素 30 mg, 后追加 10 mg。灌流 2.5 h 后患者自主呼吸逐渐恢复, 血压 106/54 mm Hg, 意识好转, 瞳孔直径 6 mm, 对光反射迟钝, 压眶有反应, 可见四肢颤动, ChE 450 U/L。次日 10:00 行第 2 次血液灌流, 由于血压偏低, 继续用质量分数为 20% 的白蛋白 50 ml 加生理盐水稀释后预冲管路上机, 海普宁 3 500 U 抗凝, 灌流 2.5 h, ChE 1 866 U/L。第 3 日 7:00 自主呼吸可达 20 次/min, 意识转清, 瞳孔等大、等圆, 直径 4 mm, 对光反射正常。脱离呼吸机后继续给予对症支持治疗, 1 周后患者除稍感头晕外, 无其他特殊不适, ChE 5 829 U/L, 患者要求出院。

2 讨论

有机磷农药及镇静安眠药都是亲脂性并带有疏水基团的物质, 中毒后患者可较早出现呼吸衰竭, 是混合中毒患者的主要死因。本患者同时合并急性有机磷农药、安定和一氧化碳中毒, 虽然安定的中毒剂量范围较大, 但当其血液浓度达 5~10 mg/L 即可出现肌肉松弛并致呼吸肌麻痹; 而一氧化碳中毒可加重机体缺氧。因此, 混合中毒患者呼吸衰竭的出现较单一药物中毒者早且严重。抢救时的传统解毒药物固然重要, 但解毒治疗只能对抗中毒症状, 并不能有效清除毒物。该患者在院前已发生呼吸、循环衰竭, 毒物的清除成为抢救成功的关键, 促使 ChE 活性快速恢复。我们在患者无自主呼吸和低血压的情况下, 尽早进行呼吸机辅助通气, 及时采用血液灌流清除血液中各种毒物及代谢产物; 血液灌流时保持头低足高位, 血泵速度不要太快, 通过补液、输入血浆和白蛋白等维持血压。我们认为, 低血压休克和呼吸、循环衰竭并不是血液灌流的绝对禁忌证。

(收稿日期: 2006-05-21)

(本文编辑: 李银平)