

· 论著 ·

高原地区不同海拔高度大鼠严重烫伤延迟复苏
心肌组织内皮素-1 与降钙素基因相关肽的变化

张鲜英 刘毅 张世范 张绪生 于晟 蔡黔 张诚 肖斌 张斌 姜疆 田文艳

【摘要】 目的 探讨高原地区不同海拔高度(3 840 m, 1 517 m)大鼠严重烫伤后延迟复苏心肌组织内皮素-1(ET-1)和降钙素基因相关肽(CGRP)的变化特点。**方法** 雄性 Wistar 大鼠 240 只随机分为延迟复苏组、即时复苏组和正常对照组,建立总体表面积 30% 的Ⅲ度烧伤模型,分别于伤后 1、6、12、24、72 和 168 h 取材。应用放射免疫法检测心肌组织中 ET-1 和 CGRP 的含量。**结果** ①延迟复苏组 ET-1 和 CGRP 均在伤后 6 h 开始升高,ET-1 在两个海拔高度与正常对照组相比分别增长了 2.8 倍和 3.6 倍,CGRP 分别增长了 2.2 倍和 1.5 倍(P 均 <0.01);但延迟复苏组 ET-1 和 CGRP 上升趋势明显低于延迟复苏组(P 均 <0.01)。②延迟复苏组 ET-1 在 1 517 m 自伤后 6 h 开始上升,至 24 h 达峰值,但在 3 840 m 于伤后 72 h 达峰值,增高持续 168 h;CGRP 在 1 517 m 自伤后 6 h 明显上升,12 h 达峰值,但在 3 840 m 高度于伤后 72 h 达峰值;在 3 840 m 高度,ET-1/CGRP 比值变化明显。**结论** 高原地区大鼠严重烫伤后随海拔升高,ET-1 释放明显增多,但 CGRP 升高速度缓慢,释放量明显降低,提示海拔越高,心肌保护物质消耗越多,ET-1/CGRP 的调节作用变化显著。

【关键词】 烧伤; 延迟复苏; 心肌; 内皮素-1; 降钙素基因相关肽; 高原

Changes in endothelin-1 and calcitonin gene-related peptide in myocardium after severe burn and delayed fluid resuscitation in rats at different altitudes on plateau ZHANG Xian-ying, LIU Yi, ZHANG Shi-fan, ZHANG Xu-sheng, YU Sheng, CAI Qian, ZHANG Cheng, XIAO Bin, ZHANG Bin, JIANG Jiang, TIAN Wen-yan. Department of Burn and Plastic Surgery, Lanzhou General Hospital, Lanzhou Command, PLA, Lanzhou 730050, Gansu, China

【Abstract】 Objective To explore changes in endothelin-1 (ET-1) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the myocardium after severe burn and delayed fluid resuscitation in rats at different altitudes. **Methods** Two hundred and forty male Wistar rats were employed as the experimental models with full-thickness burn of 30% total body surface area (TBSA), and they were randomly divided into three groups: delayed fluid resuscitation group (DFR), immediate fluid resuscitation group (IFR) and control group (CG). Samples of myocardial tissue were harvested at 1 hour, 6 hours, 12 hours, 24 hours, 72 hours, 168 hours postburn respectively. The changes in ET-1 and CGRP contents were determined by means of radio immunological assay. **Results** ①The contents of ET-1 and CGRP in DFR group tended to increase at 6 hours after burn, ET-1 was higher 2.8, 3.6 fold, while CGRP higher by 2.2, 1.5 fold ($P < 0.01$), compared with that of CG respectively at 1 517 m and 3 840 m. The tendency of rise of ET-1 and CGRP was significantly less conspicuous in IFR group than that in DFR group. ②The contents of ET-1 in DFR group tended to increase at 6 hours and reached the peak at 24 hours after burn at 1 517 m, while the levels reached the peak at 72 hours after burn at 3 840 m, and the change lasted for 168 hours in DFR group. The contents of CGRP increased significantly at 6 hours and reached the peak at 12 hours at 1 517 m, while they reached the peak at 72 hours after burn at 3 840 m. **Conclusion** The myocardial contents of ET-1 tend to increase significantly with the elevation of altitude after severe burn in rats, but the contents of CGRP increased lagged behind. The results show that the higher the altitude is, the more the exhaustion of protective agents of the myocardium, thus resulting in changes in ET-1/CGRP.

【Key words】 burns; delayed fluid resuscitation; myocardium; endothelin; calcitonin gene-related peptide; high altitude

严重烧伤后,心肌可出现不同程度的器质性损

基金项目:全军“十五”科研基金资助项目(01-003);兰州军区“十五”重点人才培养基金资助项目(ZD-2003-01);兰州军区科研基金资助项目(JQ-200302, JQ-200303)

作者单位:730050 兰州军区总医院烧伤整形科

作者简介:张鲜英(1965-),女(朝鲜族),吉林省延吉市人,主治医师。

害。有关高海拔地区严重烧伤延迟复苏及其脏器损害的相关资料尚少见文献报道。本研究是以海拔 3 840 m(甘肃马哈山)和 1 517 m(兰州)为背景,以 Wistar 大鼠为实验对象,建立大鼠严重烫伤后即时复苏与延迟复苏模型,动态检测不同海拔高度严重烧伤延迟复苏后心肌组织内皮素-1(ET-1)、降钙

素基因相关肽(CGRP)的变化,旨在探讨高海拔地区严重烧伤延迟复苏后的病理生理学特点,为临床制订有效的防治措施提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型的建立:240 只雄性健康 Wistar 大鼠(兰州军区总医院动物实验科提供),体重(250±30)g。致伤前 1 周置于室温 19~25 ℃条件下;实验前 24 h 除去背毛,单笼饲养;实验前 12 h 禁食、水,用质量分数为 1%的戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔注射麻醉后,随机等分实验动物,每个海拔高度均为 120 只。除正常对照组外,其余各组建立大鼠背部 30%总体表面积(TBSA)Ⅲ度烫伤模型(由病理证实),致伤条件为 90 ℃、20 s。动物随机分为 3 组:①即时复苏组(120 只),伤后立即腹腔注射等渗盐水(按照 Parkland 公式)4 ml/kg;②延迟复苏组(100 只),伤后 6 h 开始按 4 ml/kg 补液;③正常对照组(20 只),模拟烫伤(37 ℃水浴,12 s),不补液。

1.2 取材:于伤后 1、6、12、24、72 和 168 h 共 6 个时间点,每组各取 10 只动物。取大鼠心尖部,液氮贮存,待测心肌组织中 ET-1 及 CGRP。正常对照组取材同上述方法。

1.3 检测方法:复温冻存标本,准确称取 100 mg,冰浴下制成匀浆,4 ℃离心(3 000 r/min)15 min,取上清。以标准及待测标本结合百分率为纵轴,以浓度为横轴,在 Log-Logit 坐标纸上绘制标准曲线及样品浓度。CGRP、ET-1 试剂盒购自北京科美东雅生

物技术有限公司,结果以每克组织含量表示;γ-放射免疫计数器(682B)由中科院上海原子所生产。

1.4 统计学分析:使用 SPSS10.0 医用统计程序包进行统计学分析,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示;组间比较采用方差分析和 t 检验。

2 结果

在不同海拔高度(1 517 m, 3 840 m)严重烫伤延迟复苏组、即时复苏组和正常对照组的 ET-1、CGRP 各有不同的变化趋势。

2.1 两个海拔高度严重烫伤大鼠心肌组织 ET-1 的变化(表 1):延迟复苏组 ET-1 在 1 517 m 高度时与正常对照组相比平均上升了 2.8 倍,在 3 840 m 平均上升了 3.6 倍;动态观察增长变化,海拔 1 517 m 的 ET-1 在 6、24 和 72 h 与正常对照组相比分别增长了 2.8 倍、3.1 倍和 2.5 倍,在 3 840 m 的相同时间点分别增长了 2.6 倍、3.6 倍和 4.2 倍。在 1 517 m 高度,即时复苏组 ET-1 在伤后 12 h 开始明显上升,24 h 达峰值;但延迟复苏组 ET-1 在伤后 6 h 即显著上升,并一直呈高水平,直到伤后 168 h 组间才有显著性差异($P < 0.01$)。

2.2 两个海拔高度大鼠严重烫伤后心肌组织 CGRP 的变化(表 2):延迟复苏组 CGRP 在 1 517 m 海拔高度与正常对照组相比平均上升了 2.0 倍,而在 3 840 m 平均增长了 1.5 倍;动态观察,1 517 m 海拔处的 CGRP 在 6、24 和 72 h 与正常对照组相比分别增长了 2.5 倍、2.8 倍和 1.2 倍,在 3 840 m 的相同

表 1 两个海拔高度严重烫伤大鼠心肌组织延迟复苏组与即时复苏组 ET-1 的比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Comparison of ET-1 in myocardium after severe burn in different resuscitation groups

at different altitude($\bar{x} \pm s, n=10$)

ng/g

海拔高度(m)	组别	伤后 1 h	伤后 6 h	伤后 12 h	伤后 24 h	伤后 72 h	伤后 168 h
1 517	即时复苏组	41.87±1.27	46.55±1.82**	131.73±13.61	140.26±3.80△△	39.98±1.44△△	47.20±5.51△△
	延迟复苏组		136.35±3.09△△	146.72±8.55△△	154.78±7.04△△	123.81±3.14△△	126.60±9.13△△
3 840	即时复苏组	30.97±2.96	20.49±3.09**	28.13±3.86**	30.17±2.81**	88.27±13.72△△	113.74±17.91△△
	延迟复苏组		91.18±14.68△△	110.12±18.20△△	125.15±18.39△△	147.44±36.64△	151.48±5.84△△

注:正常对照组 ET-1 在 1 517 m 处为(49.46±4.47)ng/g,在 3 840 m 处为(34.96±6.44)ng/g;与正常对照组比较:△ $P < 0.05$,

△△ $P < 0.01$;与延迟复苏组比较:** $P < 0.01$

表 2 两个海拔高度严重烫伤大鼠心肌组织即时复苏组与延迟复苏组 CGRP 的比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Comparison of CGRP in myocardium after severe burn in rats in different resuscitation

groups at different altitude($\bar{x} \pm s, n=10$)

ng/g

海拔高度(m)	组别	伤后 1 h	伤后 6 h	伤后 12 h	伤后 24 h	伤后 72 h	伤后 168 h
1 517	即时复苏组	205.30±32.87	258.75±32.60△	279.65±18.99△	297.56±38.57△	106.09±36.89	147.14±36.24*
	延迟复苏组		359.51±44.25△△	375.21±61.96△	403.56±60.97△△	177.69±32.57	268.20±38.45
3 840	即时复苏组	71.19±16.69	90.71±9.18**	95.51±12.80△	120.82±14.13	73.96±19.28*△	246.65±61.40
	延迟复苏组		216.46±49.19	268.96±11.98△	281.86±118.80	318.77±83.60	263.53±60.41

注:正常对照组 CGRP 在 1 517 m 处为(143.48±37.15)ng/g,在 3 840 m 处为(179.13±29.35)ng/g;与正常对照组比较:△ $P < 0.05$,

△△ $P < 0.01$;与延迟复苏组比较:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

表 3 两个海拔高度严重烫伤大鼠即时复苏组与延迟复苏组心肌组织 ET-1/CGRP 比值比较($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 3 ET-1 / CGRP in myocardium after severe burn in rats in IFR and DFR groups at altitude 1 517 m and 3 840 m($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

海拔高度(m)	组别	伤后 1 h	伤后 6 h	伤后 12 h	伤后 24 h	伤后 72 h	伤后 168 h
1 517	即时复苏组	0.20±0.03	0.18±0.06	0.47±0.71	0.47±0.09	0.38±0.03	0.32±0.15
	延迟复苏组		0.38±0.06	0.39±0.14	0.38±0.12	0.69±0.10	0.47±0.24
3 840	即时复苏组	0.44±0.18	0.23±0.33	0.30±0.30	0.25±0.20	0.51±0.71	0.46±0.29
	延迟复苏组		0.42±0.30	0.41±1.52	0.44±0.15	0.46±0.44	0.57±0.10

注:ET-1/CGRP 在 1 517 m 高度为 0.34±0.16, 在 3 840 m 高度为 0.20±0.21

时相点分别增长了 1.2 倍、1.6 倍和 1.8 倍。

2.3 两个海拔高度大鼠严重烫伤后心肌组织的 ET-1/CGRP 比值变化(表 3):与 ET-1 的变化形成明显对比的是,无论在即时复苏组还是延迟复苏组,CGRP 均自伤后开始出现非常明显的上升,而在 3 840 m 高度延迟复苏组上升明显,即时复苏组反而有明显下降趋势,与 1 517 m 高度形成巨大反差。

3 讨论

目前国内外对平原地区严重烧伤延迟复苏带来的病理生理变化已有较深入的研究和报道。但在高原地区是否与平原相同,高原缺氧应激反应在严重烧伤中何有特殊影响,缺氧环境是否也和平原一样遵循着 ET-1、CGRP 对心血管的正性变力与正时变力规律发展,如何根据高原变化特点调整复苏方案等,都面临许多亟待解决的问题,且尚未见相关报道。近年来本课题组在海拔 1 517 m 和 3 840 m 高度对 30% TBSA Ⅲ 度烫伤动物模型进行的研究结果反映出 3 个明显特点:①ET-1 有随海拔高度增加而上升的趋势,CGRP 却呈明显下降趋势,ET-1/CGRP 比值亦出现相应的变化;②两个高度即时复苏组与延迟复苏组 ET-1 和 CGRP 均有显著性差异,但在 1 517 m 处出现相对较早,ET-1/CGRP 比值分布相对平衡,而在 3 840 m 处 ET-1/CGRP 则有较大差异性和不稳定性;③即时复苏组的 CGRP 在两个海拔高度出现明显不同的变化特点,1 517 m 处的 CGRP 均值与正常对照组相比增长了 1.5 倍,在 3 840 m 处与正常对照组相比反而降为负值,降低了 35%,反映出 ET-1/CGRP 随海拔上升而出现的由代偿性调节转变为失代偿性的变化。

本课题组在前期的多个海拔高度所进行的急性肺损伤/多器官功能障碍综合征(ALI/MODS)动物模型研究中已发现,除去海拔 1 517 m 处研究对象的血气、血流动力学等项指标明显不同于平原外,某些炎症介质如血栓素 B₂(TXB₂)、白三烯(LTS)也随海拔升高而出现差异^[1-4]。目前认为,ET-1 和 CGRP 是血管运动调节中最强大的活性肽,在心、肺

血管中含量最高,居各系统、器官之首,它的血管张力性调节作用主要是通过内源性血管舒张因子和收缩因子的平衡实现的。ET-1 的缩血管效应是去甲肾上腺素的 100 倍,CGRP 的扩血管效应是硝酸甘油、硝普钠的 240 倍。ET-1 的代谢异常与心血管狭窄密切相关,而 CGRP 则有代偿性扩血管作用。严重创伤、缺氧、休克、血管内皮细胞受到明显损伤而诱导 ET-1 大量释放,同时也可引起 CGRP 的缓慢上升;但出血性休克、内毒素性休克更多的是引起 CGRP 的大量释放^[5]。然而,从本组的实验结果分析来看,却表现出与上述报告不尽相同的明显变异:①在两个海拔高度,延迟复苏组的 ET-1/CGRP 均呈明显增高趋势,而即时复苏组却随海拔上升呈现下降趋势;②如果按一般推理,这种共同的增高解释为一种积极的防御性调控^[6,7],那么为什么给予早期复苏处理的即时复苏组反而显示类似一种失代偿性 ET-1/CGRP 紊乱呢?而且这种“紊乱”只表现在即时复苏组而不是延迟复苏组,只是在高海拔区而不是在低海拔区,显然完全用失代偿紊乱学说无法解释。这里可能存在因高原急速上升而出现中枢水平的调控机制,是否因海拔的升高参与了垂体-肾上腺髓质轴的肾素-血管紧张素醛固酮系统调节和水盐代谢的特有变化,而应在复苏方法进行相应调整等,都值得进一步研究阐明。

高原应激反应是机体在高原环境最早产生的一种独特的生物应激反应链。高原烧伤后由肽能神经纤维末梢合成释放的血管活性物质可能是最早参与垂体-肾上腺轴应激反应的一类神经递质,高原缺氧是其应激原,它比其他某些炎症介质释放更早,因而出现如本组海拔 3 840 m 高度的 ET-1/CGRP 表现。CGRP 在高原应激反应中可能具有双向调节的保护作用,且伴随 ET-1 的变化呈现负反馈性调节(3 840 m 延迟复苏)和正反馈调节(3 840 m 即时复苏),而不应完全理解为失代偿,这是高原最早的应激反应特征,是一种来去匆匆的剧烈变化,这一特征性的病理生理机制既有经典的垂体-肾上腺体液机

制,也有丘脑-垂体水平上的肽能神经调控,这可能为进一步认识下丘脑-垂体-肾上腺轴在最早发生的高原应激反应中所起的作用提供帮助。

参考文献:

- 1 张鲜英,刘毅,张世范,等.高海拔地区严重烧伤延迟复苏合并多脏器功能障碍临床研究[J].西北国防医学杂志,2004,25:88-89.
- 2 张家平,黄跃生,杨宗城.烧伤早期心肌组织几种炎症相关基因表达变化的实验研究[J].中国危重病急救医学,2003,15:589-592.
- 3 张世范,郭远明,高炜,等.高海拔地区急性呼吸窘迫综合征诊断标准(试行草案)[J].中国危重病急救医学,1999,11:703-704.
- 4 张世范,张德海,刘惠萍,等.高海拔地区急性呼吸窘迫综合征和多器官功能障碍综合征诊断标准的研究——附高海拔地区急性

呼吸窘迫综合征诊断标准重修意见稿[J].中国危重病急救医学,2003,15:174-179.

- 5 王迪浔,金惠铭.人体病理生理学(M).第2版.北京:人民卫生出版社,2002.160-164.
- 6 Yanagizawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells [J]. Nature, 1988, 332: 415-441.
- 7 Ren Y S, Ma T G, Wang H B, et al. Protective effects of calcitonin gene-related peptide (CGRP) on myocardial cell injury and calcium and magnesium contents following severe hypoxia and simulated reperfusion [J]. Med Sci Res, 1993, 21: 177-178.

(收稿日期:2004-09-13 修回日期:2004-11-01)

(本文编辑:李银平)

• 研究报告 •

不同类型非生物人工肝治疗重型乙型肝炎疗效观察

周再生 叶晴 吴素红 梁少媚

【关键词】人工肝; 血浆置换; 血液灌流; 血浆吸附; 细胞因子

比较不同组合类型非生物人工肝对重型乙型肝炎的疗效、安全性及清除血浆中内毒素和细胞因子效果,报告如下。

1 病例与方法

1.1 病例:我院2002年1月—2004年7月收治的46例慢性重型乙型肝炎患者,诊断均符合文献[1]标准。其中男43例,女3例;年龄28~62岁,平均46.2岁;早期7例,中期28例,晚期11例;并发肝性脑病5例,自发性腹膜炎2例,肝肾综合征1例。随机分为两组,每组23例,分别接受不同非生物人工肝组合治疗。I组为血浆置换+血液灌流,II组为血浆置换+血浆吸附。两组患者的临床分型、并发症以及肝功能、血常规、凝血酶原活动度(PTa)比较均无显著性差异(P 均 >0.05)。

1.2 人工肝治疗方法:采用百特BM25床旁血滤系统,肝素抗凝,鱼精蛋白中和。血浆置换持续时间1.5~2.0h,置换血浆量2500~3000ml。血液灌流和血

浆吸附均使用HA树脂灌流器(珠海丽珠医用生物材料有限公司提供),流速分别为100~150ml/min和30ml/min。

1.3 指标检测:治疗前后采血检测肝功能、PTa、血常规、内毒素(LPS,鲎试剂盒)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α ,放射免疫法)、白细胞介素-1 β (IL-1 β ,放射免疫法)和IL-2(酶联免疫吸附法)。

1.4 统计学方法:数据均采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

两组治疗前后各指标变化见表1。

3 讨论

TNF- α 在重型肝炎患者肝细胞继发性损伤中的作用日益受到重视^[2,3]。IL-2在免疫细胞的活化、增殖分化和功能表达中起重要作用。本研究显示重型肝炎患者进行血液灌流和血浆吸附后,IL-2水平明显上升,说明患者细胞免疫功能得到改善;血浆TNF- α 、IL-1 β 均

明显下降,表明灌流、吸附清除细胞因子的速度超过机体自身产生速度,可用于清除细胞因子。其中血浆吸附的清除效果更为显著,考虑除与其避免白细胞和灌流器吸附剂接触后激活、减少细胞因子的产生与释放有关外,还与血浆吸附不存在灌流器凝血阻塞的情况,有效吸附面积相对增大,清除细胞因子量相应增加有关,此外,血液灌流时血小板破坏减少,从而提高了治疗的安全性。

参考文献:

- 1 中华医学会传染病分会.病毒性肝炎防治方案[J].中华传染病杂志,2001,19:56-62.
- 2 Nagaki M, Iwai H, Naiki T, et al. High levels of serum interleukin-10 and tumor necrosis factor- α are associated with fatality in fulminant hepatitis [J]. J Infect Dis, 2000, 182: 1103-1108.
- 3 何杰,徐天敏,周国平,等.血浆置换对重型病毒性肝炎患者血清细胞因子的影响[J].中国危重病急救医学,2003,15:106-108.

表1 两组患者治疗前后各项检测指标的变化($\bar{x}\pm s, n=23$)

组别	天冬氨酸转氨酶 (U/L)	总胆红素 (mmol/L)	血小板 ($\times 10^9/L$)	PTa (%)	LPS ($\mu g/L$)	TNF- α ($\mu g/L$)	IL-1 β ($\mu g/L$)	IL-2 ($\mu g/L$)
I组 治疗前	543.55 \pm 125.10	431.22 \pm 17.54	94.5 \pm 25.6	16.2 \pm 2.1	67.88 \pm 10.42	3.89 \pm 1.02	1.87 \pm 0.89	18.78 \pm 1.68
I组 治疗后	172.65 \pm 44.12	230.40 \pm 12.35**	71.2 \pm 18.7*	22.3 \pm 4.9	37.58 \pm 7.89**	2.56 \pm 1.98*	1.32 \pm 0.66*	20.09 \pm 2.66*
II组 治疗前	554.87 \pm 87.94	442.78 \pm 23.69	96.8 \pm 23.4	16.5 \pm 3.7	72.13 \pm 12.71	4.14 \pm 1.46	1.95 \pm 0.94	17.93 \pm 1.18
II组 治疗后	162.22 \pm 51.03**	216.37 \pm 11.47**	90.4 \pm 9.8 $\Delta\Delta$	23.1 \pm 5.4	32.47 \pm 5.16** Δ	2.02 \pm 1.92** Δ	1.22 \pm 0.74**	21.75 \pm 1.58** Δ

注:与本组治疗前比较:* $P<0.05$,** $P<0.01$;与I组治疗后比较: $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

作者单位:528403 广东省中山市人民医院血液净化中心

作者简介:周再生(1965-),男(汉族),湖北省人,副主任医师。

(收稿日期:2004-11-02 修回日期:2004-12-17)

(本文编辑:郭方,李银平)