

· 实验研究 ·

卡托普利在高氧致新生大鼠肺损伤模型中的保护作用

李玖军, 俞志凌, 薛辛东

(中国医科大学第二临床学院儿科, 辽宁 沈阳 110004)

〔摘要〕 目的 观察卡托普利对高氧暴露新生大鼠支气管肺泡灌洗液(BALF)及肺组织形态学改变的影响。方法 足月新生Wistar大鼠40只生后即置于有机玻璃氧舱内持续吸入高浓度氧($\text{FiO}_2 = 0.90$)14 d、21 d造成高氧肺损伤模型,治疗组经胃管灌服卡托普利每日60 mg/kg(用生理盐水配成5.4 mg/mL混悬液),对照组每天经胃管灌服等量生理盐水,空气对照组:吸入空气($\text{FiO}_2 = 0.21$)。对4组大鼠进行肺系数、BALF中蛋白含量及BALF细胞计数和分类测定并同步观察肺组织形态学的改变。结果 模型组及盐水对照组14 d、21 d肺系数、BALF中蛋白含量、BALF细胞总数、中性粒细胞、淋巴细胞和嗜酸性粒细胞比例较空气对照组显著升高($P < 0.01$)。卡托普利治疗组与模型组比较上述指标(除淋巴细胞外)均显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与空气对照组比较亦有统计学差异, $P < 0.05$ 。模型组及盐水对照组14 d、21 d肺组织学表现为不同程度的肺泡炎、肺泡间隔增宽、肺泡融合、肺泡数量减少;而卡托普利治疗组肺组织病变明显减轻。结论 卡托普利对高氧所致肺损伤具有一定的保护作用。

[中国当代儿科杂志, 2006, 8(1):41-44]

〔关键词〕 卡托普利;肺损伤;支气管肺泡灌洗液;新生大鼠

〔中图分类号〕 R-33 **〔文献标识码〕** A **〔文章编号〕** 1008-8830(2006)01-0041-04

Protective effects of captopril on hyperoxia-induced lung injury in neonatal rats

LI Jiu-Jun, YU Zhi-Ling, XUE Xin-Dong. Department of Pediatrics, Second Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China (Email: lijju@mail. sy. ln. cn)

Abstract: Objective To study the effect of captopril on the histopathology and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in neonatal rats exposed to hyperoxia. **Methods** Forty term neonatal Wistar rats were randomly assigned into Air control, Model, Normal saline control and Captopril-treated groups ($n = 10$ each). The Air control group was exposed to air ($\text{FiO}_2 = 0.21$). The remaining three groups were continuously exposed to hyperoxia ($\text{FiO}_2 = 0.90$). During exposure the Captopril-treated group received intragastric captopril (60 mg/kg daily) and the Normal saline control group was administered with normal saline. The Model group had no treatment. At the 14th and 21st days of exposure, the subjects were sacrificed. The lung coefficient and the protein contents and inflammatory cells in BALF were determined. The changes of lung histomorphology were observed. **Results** The lung coefficient and the protein contents, the total number of cells and the percentage of neutrophils, lymphocytes and eosinophils in BALF increased significantly in the Model and Normal saline control groups on the 14th and 21st days of exposure compared with those of the Air control group. Captopril treatment significantly reduced the lung coefficient and the protein contents, the total number of cells and the percentage of neutrophils and eosinophils in BALF. On the 14th day the lung coefficient decreased from 9.72 ± 0.67 mg/g to 8.63 ± 0.35 mg/g ($P < 0.05$); the protein contents in BALF from 0.619 ± 0.023 g/L to 0.486 ± 0.027 g/L ($P < 0.05$); and the total number of cells in BALF from $(80.57 \pm 9.28) \times 10^4/\text{mL}$ to $(48.62 \pm 1.53) \times 10^4/\text{mL}$ ($P < 0.01$) compared with the Model group. On the 21st day the lung coefficient decreased from 10.67 ± 0.87 mg/g to 8.76 ± 0.89 mg/g ($P < 0.05$); the protein contents in BALF from 0.978 ± 0.012 g/L to 0.759 ± 0.042 g/L ($P < 0.05$); and the total number of cells in BALF from $(92.86 \pm 10.32) \times 10^4/\text{mL}$ to $(35.52 \pm 3.89) \times 10^4/\text{mL}$ ($P < 0.05$) compared with the Model group. There were however significant differences in these results between the Captopril-treated and Air control groups. The histopathological examination demonstrated different degrees of alveolitis, broaden interstitium and reduced alveolar quantity in the Model and Normal saline control groups. The pathological changes were markedly alleviated after captopril treatment. **Conclusion** Captopril may have protective effects on lung injury induced by hyperoxia.

[Chin J Contemp Pediatr, 2006, 8(1):41-44]

Key words: Captopril; Lung injury; Bronchoalveolar lavage fluid; Rats, newborn

[收稿日期]2005-06-30;[修回日期]2005-08-17

[基金项目]国家自然科学基金(编号30440056)

[作者简介]李玖军,男,在读博士,副教授,副主任医师。主攻方向:新生儿专业。

卡托普利是血管紧张素转换酶抑制剂,临床上主要用于治疗高血压和充血性心力衰竭。近年来研究表明,卡托普利可清除多种自由基,表现出较强的抗氧化作用^[1],可降低血管的通透性,减轻炎性渗出和组织水肿,表现出一定的抗炎作用,还具有免疫抑制作用^[2]。由于对这些新功能的认识,临床上对卡托普利的新用途产生了浓厚的兴趣。本实验以足月新生 Wistar 大鼠生后即持续吸入高浓度氧($\text{FiO}_2 = 0.90$) 14 d, 21 d 造成高氧肺损伤模型^[3,4],同时给予卡托普利灌胃治疗,通过检测肺系数、支气管肺泡灌洗液(BALF)中蛋白含量, BALF 细胞计数和分类测定,以及肺组织形态学改变的观察评价卡托普利对高氧肺损伤大鼠支气管肺泡灌洗液及肺组织形态学的影响,为新生儿临床用药提供资料。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及模型复制

足月新生 Wistar 大鼠 40 只(由中国医科大学第二临床学院实验动物部提供),雌雄不拘,体重 5~8 g 随机平均分为 4 组:①模型组:将足月新生 Wistar 大鼠(连同母鼠)生后即置于有机玻璃氧舱内持续吸入高浓度氧($\text{FiO}_2 = 0.90$ 用测氧仪监测) 14 d, 21 d 造成高氧肺损伤模型, CO_2 浓度 $< 0.5\%$ (用钠石灰吸收 CO_2), 温度 $23 \sim 25^\circ\text{C}$, 湿度 $50\% \sim 70\%$, 每天定时开箱 1 h 添加水、饲料及更换垫料,并与对照组交换代母鼠以避免因氧中毒而导致喂养能力下降。②治疗组:每天经胃管灌服卡托普利每日 60 mg/kg(用生理盐水配成 5.4 mg/mL 混悬液),具体方法及实验控制因素同模型组。③盐水对照组:每天经胃管灌服等量生理盐水,具体方法及实验控制因素同模型组。④空气对照组:吸入空气($\text{FiO}_2 = 0.21$)。

1.2 实验标本采集及检测方法

①每组分别于实验后 14 d, 21 d 腹腔注射 10% 水合氯醛 3 mL/kg 麻醉后摘眼球放血随机处死 5 只,固定新生大鼠于实验台上,剖开颈部,分离气管

后插管进行肺灌洗,灌洗液为冷生理盐水,每次 1 mL,连续 3 次,80%~90% 回收,分别检测 BALF 的蛋白含量、细胞计数及分类。灌洗后通过气管肺内注入 4% 多聚甲醛,分离肺组织并浸泡于 4% 多聚甲醛内固定 1 周,做病理检查。②肺系数:称肺重及新生鼠体重,按下式:肺系数 = 肺湿重(mg)/体重(g)计算肺系数。③BALF 中蛋白含量:采用考马斯亮兰法测定,结果以 g/L BALF 上清液为单位。④BALF 细胞学检查:取摇匀的 BALF 原液少许滴在细胞计数盘上,光镜下计数,然后 BALF 离心 1 500 r/min, 3 min, 留取上清测蛋白含量,沉渣细胞涂片,瑞氏染色,干燥后油镜下分类。⑤肺组织病理学检查:肺组织固定后,常规脱水、包埋、切片、苏木素-伊红染色,光镜检查。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 10.0 统计软件进行统计学处理,计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,均数之间的比较用 t 检验。

2 结果

2.1 肺系数和 BALF 中蛋白含量

模型组肺系数及 BALF 中蛋白含量均显著高于空气对照组,卡托普利治疗组均有显著下降,但与对照组相比差异仍有显著性,见表 1。

2.2 BALF 中细胞总数和分类

高氧后 14 d, 21 d 模型组 BALF 细胞总数及分类中中性粒细胞、淋巴细胞和嗜酸性粒细胞比例均显著升高,卡托普利治疗后,细胞总数、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞比例均显著下降,但仍高于对照组,淋巴细胞的差异无显著性,见表 2。

2.3 肺组织形态学变化

2.3.1 大体观察 空气对照组双肺呈粉红色,灌洗时弹性好;模型组及盐水对照组双肺呈暗红色,可见点状出血灶,灌洗时弹性下降;卡托普利治疗组双肺多数呈粉红色,部分呈暗红色,可见少量点状出血灶,灌洗时弹性较好。

表 1 各组肺系数和 BALF 中蛋白含量的比较

($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	肺系数(mg/g)		BALF 蛋白含量(g/L)	
		14 d	21 d	14 d	21 d
空气对照组	10	6.67 $\pm$ 0.45	6.25 $\pm$ 0.31	0.287 $\pm$ 0.033	0.352 $\pm$ 0.014
模型组	10	9.72 $\pm$ 0.67 ^a	10.67 $\pm$ 0.87 ^a	0.619 $\pm$ 0.023 ^a	0.978 $\pm$ 0.012 ^a
盐水对照组	10	8.74 $\pm$ 0.47	9.86 $\pm$ 0.51	0.696 $\pm$ 0.016	1.021 $\pm$ 0.043
治疗组	10	8.63 $\pm$ 0.35 ^{b,c}	8.76 $\pm$ 0.89 ^{b,c}	0.486 $\pm$ 0.027 ^{a,c}	0.759 $\pm$ 0.042 ^{b,c}

a 与空气对照组比较, $P < 0.01$; b $P < 0.05$; c 与模型组比较, $P < 0.05$

表2 高氧暴露14 d、21 d 各组 BALF 细胞总数和分类的比较

($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	细胞总数 (10 ⁴ /mL)	细胞分类(%)			
			巨噬细胞	中性粒细胞	淋巴细胞	嗜酸性细胞
14 d						
空气对照组	10	5.11 ± 1.08	80.63 ± 3.17	8.67 ± 1.56	11.59 ± 2.67	0.67 ± 0.35
模型组	10	80.57 ± 9.28 ^a	30.29 ± 2.88 ^{a,d}	45.83 ± 4.61 ^a	21.57 ± 2.16	2.38 ± 0.86
盐水对照组	10	74.56 ± 7.38	32.08 ± 3.51	43.28 ± 2.46	20.02 ± 3.44	4.62 ± 1.15
治疗组	10	48.62 ± 1.53 ^{a,c}	42.83 ± 4.33 ^b	35.24 ± 3.52 ^{b,d}	19.85 ± 3.37	2.15 ± 0.73
21 d						
空气对照组	10	8.61 ± 1.45	78.59 ± 2.26	8.32 ± 1.27	12.34 ± 2.51	0.81 ± 0.23
模型组	10	92.86 ± 10.32 ^a	33.28 ± 3.26 ^a	42.64 ± 5.27 ^a	18.27 ± 3.51	5.87 ± 0.23
盐水对照组	10	88.85 ± 8.26	35.28 ± 4.28	40.59 ± 4.38	19.43 ± 2.61	4.76 ± 1.73
治疗组	10	35.52 ± 3.89 ^{a,c}	47.39 ± 3.35 ^{b,d}	31.57 ± 4.43 ^{a,d}	19.16 ± 2.84	1.88 ± 0.82

a 与空气对照组比较, $P < 0.01$, b $P < 0.05$, c 与模型组比较, $P < 0.01$, d $P < 0.05$

2.3.2 光镜观察 空气对照组为正常肺组织,模型组及盐水对照组于高氧暴露后14d、21d可见不同程度的肺泡炎,肺泡间隔增宽,炎性细胞浸润,肺间质细胞明显增加,病变严重区正常结构被破坏,肺泡腔明显增大,少数肺泡融合,肺泡数量减少。卡托普利治疗组病变明显减轻。

3 讨论

目前抢救新生儿呼吸衰竭最有效的方法是给予氧疗甚或应用高浓度氧进行机械通气治疗,但有些重度呼吸衰竭患儿需要长时间的机械通气而且吸入氧浓度较高。这一措施虽可挽救患儿生命,但却因高氧肺损伤而导致慢性肺疾病(chronic lung disease, CLD)的产生^[5]。

近年来对高氧等肺损伤研究进展之一,即明确了炎性细胞(多核白细胞、单核-巨噬细胞)在其发病过程中的重要作用。在高氧等多种因子的作用下,多核白细胞(PMN)在肺泡内积聚,而肺泡内巨噬细胞的活化是产生急性肺损伤的重要环节,PMN、激活的巨噬细胞释放大量的蛋白溶酶、毒性氧产物、花生四烯酸代谢产物,导致肺细胞外基质成分的改变及炎症反应的延长,肺损伤的进一步加剧甚至导致CLD发生^[6]。

CLD等间质性肺疾病是以弥漫性肺泡炎和肺间质纤维化为主要病理改变的疾病,病因各异,预后不良,发病机制尚未完全清楚。临床上大多用激素和免疫抑制剂治疗,但疗效差,副作用大。近年来,随着组织肾素-血管紧张素系统的深入研究,人们发现血管紧张素转换酶(ACE)催化产生的血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)具有促进细胞增生,细胞外基质生成的作用^[7],而且分子遗传学研究显示ACE基因多态

性和肺间质纤维化的形成有关。Molteni等^[8]通过动物实验发现ACE和AngⅡ受体抑制剂能有效的保护由放射线诱导的大鼠肺损伤。

卡托普利是ACE抑制剂,临床上主要用于治疗高血压和充血性心力衰竭。研究表明,卡托普利因其结构中含有羟基而具有抗氧化作用,可清除多种自由基,表现出较强的抗氧化作用,还可降低血管的通透性,减轻炎性渗出和组织水肿,表现出一定的抗炎作用。另外卡托普利还可以抑制炎症介质白三烯B₄的合成,抑制中性粒细胞的趋化反应^[9]。但其确切机制还不十分明了。

卡托普利对高氧所致的肺损伤是否具有同样的保护机制,临床上少见报道。本实验以足月新生鼠高氧暴露后支气管肺泡灌洗液中蛋白含量、细胞总数及分类的变化结合肺组织形态学改变从另一个侧面研究高氧后肺损伤及炎症反应。结果表明高氧模型组肺系数、BALF中蛋白含量显著高于空气对照组, BALF中细胞总数及分类中中性粒细胞、淋巴细胞和嗜酸性粒细胞比例均显著升高,表明高氧暴露导致了明显的炎症反应。肺组织形态学表现为肺泡炎,肺泡间隔增宽,炎性细胞浸润,肺间质细胞明显增加,病变严重区正常结构被破坏,肺泡腔明显增大,少数肺泡融合,肺泡数量减少。而应用卡托普利治疗组上述指标均有显著下降,肺组织形态学显示病变减轻,表明卡托普利具有一定的抗炎及保护作用。这可能与卡托普利结构中含有的羟基而具有抗氧化作用及抑制中性粒细胞的趋化反应有关。应用卡托普利后BALF中蛋白含量的下降及中性粒细胞、淋巴细胞和嗜酸性粒细胞的减少从某种程度上减轻了高氧导致的肺损伤。由于卡托普利早已应用于临床,较为安全,且能口服给药,不失为新生儿临床治疗肺损伤及预防CLD的一种新的治疗措施。

但其应用的剂量及给药时间还需更深一步的探讨。

[参 考 文 献]

- [1] 陈建斌,饶邦复. 抗氧化剂的研究进展[J]. 中国药理学通报, 1995,11(3):183-187.
- [2] 李伟杰,齐景宪. 卡托普利对小鼠实验性肺泡炎的影响[J]. 上海医学,1999,22(11):684-686.
- [3] 刘雪雁,吴捷,薛辛东. 高氧致新生鼠肺损伤时肾组织一氧化氮及氧自由基的变化[J]. 中国当代儿科杂志,2005,7(1):71-74.
- [4] 富建华,薛辛东. 慢性肺疾病早产鼠 BALF 及肺组织中脂质过氧化的同步研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2004,12(6):32-37.
- [5] Coalson JJ. Experimental models of bronchopulmonary dysplasia [J]. Biol Neonate,1997,71(Suppl 1):35-38.

- [6] 刘新民. 急性肺损伤与细胞外基质[J]. 国外医学呼吸系统分册,1994,14(1):27-29.
- [7] Marshall RP, McAnulty RJ, Laurent GJ. Angiotensin II is mitogenic for human lung fibroblasts via activation of type I receptor [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000,161(6):1999-2004.
- [8] Molteni A, Moulder JE, Cohen EF, Ward WF, Fish BL, Taylor JM, et al. Control of radiation-induced pneumopathy and lung fibrosis by angiotensin-converting enzyme inhibitors and an angiotensin II type 1 receptor blocker [J]. Int J Radiat Biol,2000,76(4):523-532.
- [9] Wang R, Ibarra-Sunga O, Verlinski L, Pick R, Uhal BD. Abrogation of bleomycin-induced epithelial apoptosis and lung fibrosis by captopril or by a caspase inhibitor [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,2000,279(1):L143-L151.

(本文编辑:钟乐)

· 消息 ·

《中国当代儿科杂志》被 MEDLINE 收录

2005年11月15日,《中国当代儿科杂志》被美国国立图书馆国际综合生物医学信息书目数据库 MEDLINE 收录。这是《中国当代儿科杂志》继被俄罗斯文摘杂志(AJ)、美国化学文摘(CA)、荷兰医学文摘(EM)等国际检索机构收录后又成功进入的一个著名的检索数据库。

MEDLINE 是当今世界上最大也是最权威的生物医学文献数据库。该数据库收录了自1965年以来世界上70多个国家和地区出版的3900余种生物医学核心期刊的文献,累计文献已达1200万篇。MEDLINE 是否将一种期刊编入,需要通过严格的评审,主要基于科学政策和科学质量的考虑而作出。《中国当代儿科杂志》能够进入 MEDLINE 这个国际著名检索数据库,是国际上对我国儿科科学工作者所做出的研究成果、学术论文水平的充分肯定。

《中国当代儿科杂志》是一本年轻的杂志,创刊至今仅7年。她之所以能够在较短的时间内被国际上诸多的权威检索系统收录,是与全体编委的鼎力支持和辛勤工作、广大作者、读者和全国儿科界同仁们的大力支持分不开的。值此之际,谨向各位深表谢意!本刊将会更加努力地工作,提高服务质量,更好、更快地将我国儿科领域的最新成就推向国际。

《中国当代儿科杂志》编辑部

2005年11月30日

美国国立图书馆 MEDLINE 执行编辑 Sheldon Kotzin 致杨于嘉主编的信

(摘录译文)

杨于嘉 主编:

美国国立图书馆对于在“文献选择技术评审委员会”评审中获得“非常好(very good)”的评价,而且在 MEDLINE 数据库中其学科或地域分布未被充分覆盖的杂志给予收录入 MEDLINE 数据库的机会。

上个月,你们的杂志——《中国当代儿科杂志》经评审委员会评审,得分为3.5~3.9,这意味着你们的杂志获得了“非常好(very good)”的评价。如果你们愿意向国立图书馆提交“XML”标记格式的《中国当代儿科杂志》的论文、述评和致编者的信,本馆会将你们杂志的这些内容收录入 MEDLINE 数据库中。如果你们出版的增刊也符合引用要求,本馆同样需你们提供“XML”标记格式的数据,以便编入索引中。