

抑肽酶对全氟异丁烯诱导大鼠急性肺损伤的影响及其机制

王丽君¹ 郝建¹ 赵建² 钱钧¹ 李树雯¹ 李鲁欢¹ 吴海燕¹ 杜康¹

摘要 目的 探讨蛋白酶抑制剂抑肽酶对全氟异丁烯(PFIB)诱导大鼠急性肺损伤(ALI)的影响及其机制。方法

PFIB诱导建立大鼠ALI动物模型。将成年雄性SD大鼠40只按体重排序,以体重为区组因素随机分成5组:对照组(N组)、ALI组(I组)、5 mg/kg抑肽酶组(L组)、15 mg/kg抑肽酶组(M组)、30 mg/kg抑肽酶组(H组)。PFIB吸入30 min后,I组经腹腔注射生理盐水,抑肽酶治疗组则经腹腔注射不同剂量(5、15、30 mg/kg)的抑肽酶溶液。24 h后收集各组支气管肺泡灌洗液(BALF)和血液,并测定各组的动脉血气值及肺湿/干质量比值,用BCA法测定支气管BALF总蛋白含量,ELISA法测定血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白介素-6(IL-6)的量,并在光镜下进行肺组织病理检查。结果 I组肺湿干重比、BALF总蛋白含量、IL-6、TNF- α 水平较N组均明显升高($P < 0.05$)。经抑肽酶治疗后,I组湿干重比、总蛋白含量水平与I组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),IL-6、TNF- α 水平有明显降低($P < 0.05$)。H组湿干重比、总蛋白含量、IL-6、TNF- α 水平均明显低于I组($P < 0.05$),与L组、M组比较也有明显降低($P < 0.05$)。染毒后大鼠pH值及氧分压明显下降,二氧化碳分压升高,经抑肽酶治疗后,pH值及氧分压有所提高,二氧化碳分压有所下降,以高剂量时改变最明显。肺组织病理组织学结果显示,抑肽酶能明显改善肺组织病理损伤,以高剂量最有效。结论 抑肽酶能通过抑制细胞因子和炎症介质的释放来减轻大鼠ALI的肺部炎症反应。

关键词 抑肽酶;全氟异丁烯;急性肺损伤

中图分类号 R 563

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)11-1600-05

急性肺损伤(acute lung injury,ALI)是各种直接和间接致伤因素导致的肺泡上皮细胞及毛细血管内皮细胞损伤,造成弥漫性肺间质及肺泡水肿,导致急性低氧性呼吸功能不全^[1]。全氟异丁烯(perfluoroisobutylene,PFIB)是含氟塑料在高温裂解和燃烧后的重要副产物,是无色无味,具有强烈腐蚀性,能

穿透防毒面具的气体。对肺有强大的杀伤作用,在工业、化学生产及火灾中能造成明显以通透性肺水肿为特征的ALI^[2]。迄今为止,PFIB导致ALI的机制尚未明确,故而缺乏其特效的解毒剂与治疗药物^[3]。该研究拟采用PFIB致大鼠ALI模型,观察蛋白酶抑制剂抑肽酶对ALI大鼠的影响,旨在为PFIB中毒后的ALI及救治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF级Sprague-Dawley成年大鼠40只,雄性,体重180~200 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。动物于实验前1~2 d采购,给予正常饮食饮水。

1.2 实验材料 PFIB购自上海有机氟研究所,纯度为98%,通过气相色谱分析仪(美国Perkin Elmer公司)测定其浓度。抑肽酶购自美国Sigma公司,货号A-4153;肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)总蛋白、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)试剂盒购自北京方程生物公司(201308);动脉血气分析仪购自凯隆国际实业有限公司(GEM Premier 3000)。

1.3 动物分组 SD大鼠按体重排序,以体重为区组因素随机分成5组:ALI组(I组)、5 mg/kg抑肽酶组(L组)、15 mg/kg抑肽酶组(M组)、30 mg/kg抑肽酶组(H组)、对照组(N组),每组8只。分别对每只动物称重并标记。

1.4 动物模型 实验动物经自制全身暴露的动态染毒系统进行染毒损伤,染毒剂量为290 mg/m³,染毒时间为5 min。造成动物ALI的诊断标准是依据中华医学会危重症医学会于2006年制定的诊断标准^[4]。该染毒系统方法是参照文献^[5-6]的方法改良而成。大鼠染毒制作是通过空气压缩机压缩净化后的空气(流量60 L/h),经气体流量计进入混合室;同时,PFIB经由注射器通过注射泵匀速并缓慢的推入,把上述两股气流在混合室入口处相交汇,充分混匀后,经混合室底部三通阀门排入盛有5% KMnO₄溶液的玻璃瓶中销毁。在此期间,定期自混合室取气体样本(100 μ l)经气相色谱分析仪检测毒剂浓度。待毒剂浓度基本上稳定并在所要求的浓度范围

2014-06-13 接收

基金项目:2012 南京军区重点课题基金(编号:11Z037)

作者单位:¹安徽医科大学解放军杭州临床学院(杭州128医院)心肺康复科 杭州 310007

²北京军事医学科学院毒物与药物研究所,北京 100039

作者简介:王丽君,女,硕士研究生;

郝建,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail:jianhao105@163.com

内时,转动三通阀门使毒剂进入染毒室,大鼠头部暴露并放置染毒室内,对实验动物进行染毒^[7]。

1.5 治疗干预 造模后 0.5 h,对实验动物进行药物治疗。治疗药物抑肽酶的剂量依据 Anderson et al^[8]在芥子气致大鼠 ALI 的模型中使用的剂量。首先,将抑肽酶用生理盐水溶解,配制成 5、15、30 mg/kg 的抑肽酶溶液。然后,N 组动物经腹腔注射生理盐水 0.5 ml/100 g,I 组同样经腹腔注射生理盐水 0.5 ml/100 g,L 组动物经腹腔注射 5 mg/kg 的抑肽酶溶液 0.5 ml/100 g,M 组动物经腹腔注射 15 mg/kg 的抑肽酶溶液 0.5 ml/100 g,H 组动物经腹腔注射 30 mg/kg 的抑肽酶溶液 0.5 ml/100 g。最后,药物注射后,密切观察各组大鼠生命活动及进食情况。

1.6 观察指标和检测方法 动物染毒后每 3 h 观察呼吸频率、有无口吐白沫等症状。24 h 后结束实验,称量处死前大鼠体重,然后经腹腔注射水合氯醛(0.4 ml/100 g)麻醉大鼠,打开胸腹腔,经腹主动脉抽取 2 ml 血液,立即进行动脉血气分析,另经腹主动脉取血约 2 ml,4℃离心 8 min(3 000 r/min),取上清液于 -80℃保存,用酶联免疫吸附法(ELISA)测定 TNF- α 、IL-6 水平,操作均按试剂盒说明书进行。结扎右肺,以 5 ml 生理盐水灌洗左肺,反复 3 次,回收量约为 4 ml,4℃离心 8 min(3 000 r/min),取上清液用 BCA 方法进行总蛋白测定,操作按试剂盒说明书进行。分离气管,将气管连同全肺取出,取大鼠中肺,并小心剔除肺外组织,生理盐水漂洗,滤纸吸干后称湿重。然后将湿肺置于 80℃烤箱内 24 h 完全脱水至恒重后,称干重。分别计算肺含水量、肺湿干重比值。计算公式为:肺含水量=(湿肺重-干肺重)/湿肺重 \times 100%;肺湿干重比=湿肺重/干肺重。取右中肺组织,置入 10%中性福尔马林中固定后,石蜡包埋,HE 染色,光镜下进行病理学检查。

1.7 统计学处理 用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析,进一步采用 LSD 进行两两比较。

2 结果

2.1 各组大鼠的一般情况 5 组大鼠经染毒装置染毒 24 h 后均存活。各组大鼠染毒前,均呼吸平稳,毛发光顺,正常摄食饮水。染毒后,I 组大鼠出现明显中毒症状:呼吸加快,烦躁不安,口唇紫绀,随后出现气喘、口鼻有液体或泡沫、皮毛枪刺、体重下降等。L、M、H 组亦存在上述症状,但 M、H 组中毒

程度较 I 组减轻,以 H 组最明显。

2.2 各组大鼠肺组织大体表现 N 组大鼠肺呈均匀淡粉红色,包膜光滑,弹性好,表面未见病损灶,切面均质,无液体溢出及梗死灶;I 组气管内有较多泡沫状液体,肺表面呈暗红色,可见肺包膜下普遍积水肿,弹性降低,肺体积增大显著,切面可见粉红色泡沫状液体;L 组与 I 组区别不大,M、H 组大鼠气管内泡沫状液体量较少,肺表面呈暗红色,肺包膜下充血水肿较轻,肺体积较 I 组减小,以 H 组更显著。

2.3 各组大鼠动脉血气值 与 N 组比较,L、M、H 组大鼠的氧分压有不同程度的下降,二氧化碳分压则有所升高,并伴有酸中毒。其中,以 I 组氧分压最低,二氧化碳分压最高,酸中毒现象最严重,经抑肽酶治疗后,L、M、H 组 pH 值、氧分压有所提高,二氧化碳分压有所下降,其中以 H 组最为显著。见表 1。

表 1 各组大鼠动脉血气值($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	pH 值	氧分压(kPa)	二氧化碳分压(kPa)
I	7.20 \pm 0.02*	7.19 \pm 0.31*	7.03 \pm 0.57*
L	7.24 \pm 0.05*	7.71 \pm 0.43*	6.88 \pm 0.27*
M	7.29 \pm 0.04*●	8.35 \pm 0.54*●	6.51 \pm 0.54*●
H	7.31 \pm 0.02*●△	8.82 \pm 0.20*●△	5.89 \pm 0.42*●△
N	7.39 \pm 0.02	12.62 \pm 0.04	5.56 \pm 0.32

与 N 组比较:* $P < 0.05$;与 I 组比较:● $P < 0.05$;与 L 组比较:△ $P < 0.05$;与 M 组比较:△ $P < 0.05$

2.4 肺湿干重比和 BALF 总蛋白含量 与 N 组比较,L、M、H 组大鼠肺湿干重比及 BALF 总蛋白含量显著增加,但较 I 组低,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 肺湿干重比和 BALF 总蛋白含量($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	肺湿干重比	BALF 总蛋白浓度(μ g/ml)
I	5.84 \pm 0.50*	3 816.61 \pm 596.65*
L	5.83 \pm 0.42*●	3 449.23 \pm 351.76*●
M	5.68 \pm 0.48*●	2 825.53 \pm 601.07*●
H	5.20 \pm 0.21*●△	2 041.99 \pm 424.60*●△
N	4.47 \pm 0.12	57.58 \pm 10.39

与 N 组比较:* $P < 0.05$;与 I 组比较:● $P < 0.05$;与 L 组比较:△ $P < 0.05$;与 M 组比较:△ $P < 0.05$

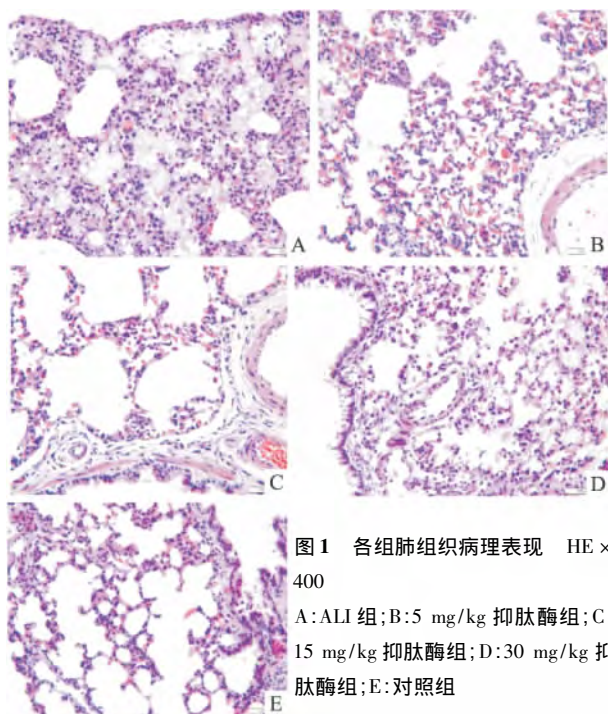
2.5 血清 TNF- α 、IL-6 含量比较 I、L、M、H 组的血清 TNF- α 、IL-6 含量均较 N 组明显增加($P < 0.05$),当腹腔注射抑肽酶 5、15、30 mg/kg 时,均可降低血清 TNF- α 、IL-6 含量($P < 0.05$),其中低、中剂量效果无明显差别,而高剂量降低效果最明显,见表 3。

表3 各组血清 TNF- α 、IL-6 含量比较 ($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α (ng/L)	IL-6 (ng/L)
I	129.11 \pm 0.95*	76.45 \pm 0.40*
L	113.95 \pm 0.33*●	68.85 \pm 0.48*●
M	114.69 \pm 0.97*●	64.90 \pm 0.72*●
H	101.06 \pm 1.32*●△	52.68 \pm 0.46*●△
N	45.32 \pm 1.64	10.45 \pm 1.21

与 N 组比较: * $P < 0.05$; 与 I 组比较: ● $P < 0.05$; 与 L 组比较:* $P < 0.05$; 与 M 组比较: △ $P < 0.05$

2.6 各组肺组织病理学检查 大鼠肺组织肉眼观: I 组大鼠肺表面呈暗红色, 可见肺包膜下普遍积水, 弹性减小, 肺体积增大显著, 切面可见富含蛋白质的粉红色泡沫状液体。L 组表现与 I 组类似, M、H 组大鼠肺表面呈暗红色, 肺包膜下充血水肿, 肺体积较 I 组减小。N 组大鼠肺呈均匀淡粉红色, 包膜光滑, 弹性好, 表面未见病损灶, 切面均质, 无液体溢出。镜下观: I 组大鼠肺上皮细胞损伤, 间隔断裂, 肺泡腔内出血, 大量炎细胞浸润, 肺间质及肺泡重度水肿; L 组肺组织损伤也较明显, M、H 组损伤较 I 组减轻, 以 H 组最为明显。N 组肺组织为基本正常结构, 见图 1。

图1 各组肺组织病理表现 HE \times 400

A: ALI 组; B: 5 mg/kg 抑肽酶组; C: 15 mg/kg 抑肽酶组; D: 30 mg/kg 抑肽酶组; E: 对照组

3 讨论

PFIB 的肺毒性可能是中性粒细胞在肺内聚集和扣押。中性粒细胞的激活和大量血管内皮细胞和

肺泡上皮细胞的迁移, 能释放蛋白酶、细胞因子和活性氧。这种迁移和炎症介质的释放可导致血管通透性增加, 损伤肺泡上皮屏障和 I 型、II 型肺泡细胞的坏死, 这些导致了肺水肿、肺透明膜形成, 及肺泡表面活性物质的减少, 肺顺应性的下降, 进而导致呼吸困难^[9]。本研究结果显示, 各组大鼠染毒后呼吸增快, 烦躁不安, 口唇紫绀, 随后出现气喘、口鼻出现液体或泡沫、皮毛枪刺等症状, 伴有呼吸窘迫和动脉血氧分压明显下降, 肺组织病理学改变符合 ALI 的病理变化, 提示 PFIB 吸入后致大鼠 ALI 的造模成功。与文献^[2, 10]研究结果相似。

蛋白酶抑制剂抑肽酶是从牛肺中提取的一种非选择性丝氨酸蛋白酶抑制剂, 可广泛抑制多种蛋白酶的活性, 包括胰蛋白酶、弹性蛋白酶、纤维蛋白溶解酶、激肽释放酶等^[11]。有研究^[7, 12]显示蛋白酶抑制剂可减轻 ALI, 在本研究中肺泡含水量及肺湿干重比是反映肺组织水肿程度良好的指标, 联合 BALF 中蛋白质含量更能反映 ALI 的严重程度。肺湿质量的增加主要原因是肺上皮和内皮细胞损伤, 肺间质、肺泡水肿, 炎性细胞浸润, 蛋白渗出, 通透性增加, 血栓形成等^[13]。从数值上看, 抑肽酶干预组的湿干重比小于 ALI 组, 以高剂量差异显著, 表明高剂量抑肽酶可以减轻 PFIB 诱导的 ALI 的病变严重程度, 降低肺泡毛细血管通透性, 减少 ALI 时的蛋白渗出, 并抑制炎症反应。

另外, TNF- α 是 ALI 中的重要炎症因子, 是一种近端细胞因子, 可通过刺激巨噬细胞、自然杀伤细胞、淋巴细胞、上皮细胞、成纤维细胞等产生远端细胞因子, 启动细胞因子瀑布。TNF- α 除可以启动炎症反应外, 还能够直接损伤内皮细胞, 抑制肺表面活性物质的形成, 引起肺水肿。IL-6 则是另一比较重要的末端细胞因子, 能下调肺巨噬细胞激活产生 TNF- α , 还能调节成纤维细胞增生和胶原产生^[14]。本研究显示, ALI 组血清 TNF- α 及 IL-6 含量明显高于对照组和抑肽酶干预组, 表明有毒气体吸入后, 可致大鼠体内血清 TNF- α 及 IL-6 含量显著增加, 给予抑肽酶治疗后可降低血清 TNF- α 及 IL-6 含量。光镜下病理学改变亦提示 ALI 组肺部炎症反应较其余两组明显严重, 肺上皮细胞损伤明显, 肺间隔断裂, 大量炎细胞浸润, 肺间质及肺泡重度水肿, 而经抑肽酶治疗后, 尤其是高剂量组肺部炎症反应较 ALI 组减轻。

综上所述, 给实验大鼠吸入 PFIB 能够成功制作实验动物的 ALI 模型。蛋白酶抑制剂可减轻 ALI,

降低 ALI 的严重程度,其机制可能跟抑肽酶能降低肺泡毛细血管通透性,减少 ALI 时的蛋白渗出,并抑制 ALI 时炎症介质 TNF- α 及 IL-6 的释放,减轻失控性的炎症反应有关。

参考文献

- [1] Matthay M A, Ware L B, Zimmerman G A. The acute respiratory distress syndrome [J]. *J Clin Invest* 2012, 122(8):2731–40.
- [2] Meng G, Zhao J, Wang H M, et al. Injury of cell tight junctions and changes of action level in acute lung injury caused by perfluoroisobutylene exposure and the role of myosin light chain kinase [J]. *J Occup Health* 2011, 53(4):250–7.
- [3] Tao W, Miao Q B, Zhu Y B, et al. Inhaled neutrophil elastase inhibitor reduces oleic acid-induced acute lung injury in rats [J]. *Pulm Pharmacol Ther* 2012, 25(1):99–103.
- [4] 金发光. 急性肺损伤的诊治研究现状及进展 [J]. *中华肺部疾病杂志(电子版)* 2013, 6(1):1–3.
- [5] Zhang X C, Ding R G, Zhang T H, et al. Acute lung injury induced by rat head-only exposure to PFIB model establishment [J]. *Bull Acad Mil Med Sci* 2005, 29(1):51–4.
- [6] Lehnert B E, Archuleta D, Behr M J, et al. Lung injury after acute inhalation of perfluoroisobutylene: exposure concentration-response relationship [J]. *Inhal Toxicol* 1993, 5:1–32.
- [7] Meng G, Zhao J, Wang H M, et al. Cell injury of the blood-air barrier in acute lung injury caused by perfluoroisobutylene exposure [J]. *J Occup Health* 2010, 52(1):48–57.
- [8] Anderson D R, Taylor S L, Fetterer D P, et al. Evaluation of protease inhibitors and an antioxidant for treatment of sulfur mustard-induced toxic lung injury [J]. *Toxicology* 2009, 263(1):41–6.
- [9] Wang H M, Ding R G, Ruan J X, et al. Perfluoroisobutylene induced acute lung injury and mortality are heralded by neutrophil sequestration and accumulation [J]. *J Occup Health* 2001, 43(3):331–8.
- [10] Zhao J, Shao Z, Zhang X, et al. Suppression of perfluoroisobutylene induced acute lung injury by pretreatment with pyrrolidine dithiocarbamate [J]. *J Occup Health* 2007, 49(2):95–103.
- [11] Zhimov O P, Klenk H D, Wright P F. Aprotinin and similar protease inhibitors as drugs against influenza [J]. *Antiviral Res* 2011, 92(1):27–36.
- [12] 陈旭岩, 汪波, 谭伟, 等. 蛋白酶抑制剂对内毒素致大鼠急性肺损伤的保护作用 [J]. *北京大学学报(医学版)* 2005, 37(4):398–401.
- [13] Liang D J, Sun Y, Shen Y, et al. Shikonin exerts anti-inflammatory effects in a murine model of lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting the nuclear factor-kappa B signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol* 2013, 16(4):475–80.
- [14] 方健, 周敏, 罗晓明, 等. 重度烟雾吸入后大鼠肺泡巨噬细胞活性及分泌功能的变化 [J]. *安徽医科大学学报* 2008, 43(5):500–2.

Effect and mechanism of aprotinin on acute lung injury in rats induced by perfluoroisobutylene

Wang Lijun¹, Hao Jian¹, Zhao Jian², et al

(¹Dept of Cardiopulmonary Rehabilitation Hangzhou 128 Hospital, Liberation Army Hangzhou Clinical College of Anhui Medical University Hangzhou 310007; ²Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences Beijing 100039)

Abstract Objective To research the effect and mechanism of aprotinin on acute lung injury in rats induced by perfluoroisobutylene (PFIB). **Methods** The model of acute lung injury in rats was induced by PFIB. Forty adult male Sprague-Dawley rats were averagedly and randomly divided into saline control group (N group), ALI group (I group) and aprotinin groups (5, 15, 30 mg/kg, L/M/H group). The rats in I group were intravenously injected with normal saline and the rats in aprotinin groups were intravenously injected with aprotinin (5, 15, 30 mg/kg) thirty minutes after PFIB was inhaled. The bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and blood were collected in rats of each group 24 hours later. The arterial blood gas was observed. The wet to dry weight ratios (W/D) were determined. The total protein in bronchoalveolar lavage fluid was evaluated by BCA method. The tumor necrosis factor- α (TNF- α) and the interleukin-6 (IL-6) were determined by ELISA method. The pathological changes in lung tissues were also observed under the microscope. **Results** The levels of lung wet-dry weight ratio, total protein content in BALF, IL-6, TNF- α were significantly higher ($P < 0.05$) than the group N. With the treatment of aprotinin, the levels of wet to dry weight ratio, total protein content in L group were not significantly different ($P > 0.05$) compared to group I. But the values of IL-6, TNF- α were lower ($P < 0.05$). The levels of wet to dry weight ratio, total protein, IL-6 and TNF- α in group H were significantly lower than that in group I ($P < 0.05$).

氨基胍改善创伤性脑损伤大鼠对急性低压低氧的耐受性

毛 燕 陶 磊 张国荣

摘要 目的 观察氨基胍(AG)对创伤性脑损伤(TBI)大鼠在急性低压低氧(AHH)处理后的行为学变化并探讨其机制。方法 雄性 Wistar 大鼠 49 只,分两部分进行实验,每个部分随机分为对照组、单纯颅脑损伤(FPI)组、AHH 组和 AG 预处理组。采用液压打击法制作大鼠 TBI 模型,模拟海拔 5 000 m 持续 8 h 低压低氧处理。采用转棒和 Morris 水迷宫进行行为学观察,采用 RT-PCR 法检测 Bcl-2 及 Bax 的基因表达,生化法测血浆一氧化氮(NO)及抗氧化酶类水平,染色法检测脑细胞死亡情况。结果 与对照组相比,FPI 组及 AHH 组转棒成绩及水迷宫潜伏期时间差异有统计学意义($P < 0.05$),表明其空间记忆和运动能力受损,而行为学检测结果提示 AG 预处理组大鼠空间记忆和运动能力有一定改善,差异有统计学意义($P < 0.05$);第二部分实验结果显示与对照组相比,AHH 组 NO 水平显著上升,过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)及谷胱甘肽(GSH)等抗氧化物下降($P < 0.05$),Bcl-2 基因表达下降,Bax 基因表达提高($P < 0.05$);而 AG 预处理组可逆转 AHH 造成的损伤效果。结论

AHH 加重 TBI 大鼠学习记忆及运动能力的损害,AG 对此有明显抑制作用,其机制在于对诱导型一氧化氮合酶活性的抑制,并与上调 Bcl-2 基因的表达,调节抗氧化能力,抑制脑细胞凋亡有关。

关键词 低压低氧;创伤性脑损伤;氨基胍;一氧化氮;细胞凋亡

中图分类号 R 493;R 594.3;R 651.15

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)11-1604-06

2014-07-14 接收

基金项目:全军“十二五”课题(编号:CKJ11J020)

作者单位:安徽医科大学空军临床学院,北京 100142

作者简介:毛 燕,女,硕士研究生;

张国荣,男,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail: gr.

99@live.cn

创伤性脑损伤(trumatic brain injury,TBI)是死亡和致残的主要原因之一,如何快速有效的进行救治及空运后送是现代医学发展的要求^[1]。大脑是对缺氧最敏感的器官,在空运后送过程中的高海拔环境下,大脑得不到充足的氧气供应必然造成脑组织的损伤,并对包括认知能力、学习与记忆能力以及运动协调等大脑功能产生影响^[2]。有资料^[3-5]显示该作用与 NO 爆发性增加,加重脑组织氧化应激反应,促进神经元凋亡有关。人体内的 NO 主要由 L-精氨酸在一氧化氮合酶(nitric oxide synthase,NOS)作用下生成,NOS 有 3 个不同的类型,其中诱生型 NOS(inducible nitric oxide synthase,iNOS)在缺血缺氧的后期(24 h)催化大量 NO 的生成,过量的 NO 与超氧离子反应产生毒性更大的过氧化离子,引起脂质过氧化,破坏线粒体结构,其机制与调节 Bax 和 Bcl-2 基因表达,诱导 caspase-3 途径凋亡有关^[6]。该研究采用选择性 iNOS 抑制剂氨基胍(aminoguanidine,AG)进行干预,从行为学、组织学、生化及基因表达等方面探讨低压低氧环境对 TBI 大鼠的影响。

1 材料与方法

1.1 实验试剂和仪器 水合氯醛(上海展云化工有限公司);AG(美国 Sigma 公司);氰基丙烯酸酯粘合剂(WEICON VA 2500 HT,批号:12550030);自凝型牙托粉(上海二医,批号:130120)和自凝型牙托水(上海二医,批号:121128)。HPD-1700 型液压撞击仪及 TDS1002 数字存储示波器(美国 DRAGON-FLY 研究与发展公司);DWDYC2013-1 动物低压低

group L and group M($P < 0.05$). After the rats exposed to PFIB, the values of PH and partial pressure of oxygen were decreasing, and the values of carbon dioxide partial pressure were improving. With the treatment of aprotinin, all the values could improve towards a good situation. Histopathology of lung tissue showed that aprotinin could significantly improve lung tissue damage, with high doses of the most. Lung tissue histopathology showed aprotinin could significantly reduce lung tissue damage and high-dose aprotinin was most effective. **Conclusion** Aprotinin, the protease inhibitor, could relieve inflammation in the lungs of rats with ALI induced by PFIB though blocking the excess release of cytokines and inflammatory mediators.

Key words aprotinin; perfluoroisobutylene; acute lung injury