

染矽尘大鼠血浆一氧化氮、一氧化氮合酶的变化

魏茂提, 王世鑫, 周蔚, 张国辉, 王俊虹

(武警医学院军事医学教研室, 天津 300162)

摘要: 目的 探讨染矽尘不同时点大鼠血浆 NO (一氧化氮)、NOS (一氧化氮合酶) 的变化。方法 采用析因分析的研究设计进行实验; 气管注射染尘方法建立动物模型; 称量法测定脏器系数; 硝酸还原酶法测定血浆 NO 水平; NOS 催化 L-Arg 法测定血浆 NOS 活性。结果 在染尘后第 30 天时, 实验组血浆 NO 水平高于对照组 ($P < 0.05$), 其他时点差异没有显著性, 但有升高趋势; 在染尘后第 21、30、60 天时, 实验组血浆 NOS 活力显著低于对照组。控制时间因素进行偏相关分析结果显示实验组血浆 NO 水平和血浆 NOS 活力为负相关 ($r = -0.367$, $P = 0.028$)。结论 矽尘可导致大鼠血浆 NO 水平升高和血浆 NOS 活力的降低。

关键词: 矽尘; 矽肺; 一氧化氮; 一氧化氮合酶

中图分类号: R135.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2002)02-0080-03

Changes in plasma level of nitric oxide and bioactivity of nitric oxide synthase in the rats exposed to silica dust

WEI Mao-ti, WANG Shi-xin, ZHOU Wei, ZHANG Guo-hui, WANG Jun-hong

(Department of Military Medicine, Medical College of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin, 300162, China)

Abstract: **Objectives** To study the changes in plasma level of nitric oxide (NO) and bioactivity of nitric oxide synthase (NOS) in the rats exposed to silica dust. **Methods** The experiment was designed with factorial analysis. Animal model was established by intratracheal injection of silica dust. Coefficient of organ was measured by the weighing method. Plasma level of NO was determined by nitric acid reductase method. Plasma activity of NOS was determined by NOS-catalyzing L-Arg method. Data were analyzed with SAS version 6.12 and graph was plotted with Excel 97. **Results** Plasma level of NO was higher in the exposed group than that in the control one ($P < 0.05$) only on the thirty days after exposure to silica dust, but there was no significant difference between them on the other time periods with an increasing trend. Twenty-first, thirtieth and sixtieth day after exposure, plasma activity of NOS was significantly lower in the exposed group than that in the control group. Multivariate regression analysis showed that plasma level of NO in the exposed group correlated inversely with activity of NOS ($r = -0.367$, $P = 0.028$), adjusted for time variables. **Conclusions** Silica dust could cause increase in plasma level of NO, and decrease in activity of NOS.

Key words: Silica dust; Silicosis; Nitric oxide; Nitric oxide synthase

研究表明, 当暴露于矽尘等炎性刺激物时, 肺泡巨噬细胞 (alveolar macrophage, AM) 和肺中性粒细胞 (pulmonary neutrophil, PMN) 产生一氧化氮 (nitric oxide, NO) 增加, 并上调诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 基因表达^[1]。王明臣等研究发现煤工尘肺患者血清 NO 升高^[2]。这些研究提示矽尘可能导致体内 NO 及一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 的变化。本研究测定了染尘后不同处理时点血浆 NO 含量和 NOS 活力, 并初步分析了这两项指标的关系, 以期能部分解释矽尘对大鼠血液系统的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

选用 3 月龄 Wistar 大鼠 (天津药学研究院实验动物中心提供, 实验动物一级), 体质量 (200 ± 15) g; 建模型所用矽尘 ($\leq 5 \mu\text{m}$ 尘粒 $\geq 99\%$, SiO_2 含量 $\geq 80\%$) 由 Sigma 公司提供。NO 水平、NOS 活力测定所用试剂盒由南京建成生物医学研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 染尘方法 本研究采用析因研究设计, 将 80 只实验动物随机分为 5 个时点的实验组和对照组, 每组 8 只, 雌雄各半。将实验组灌肺所用矽尘用生理盐水配成 40 mg/ml 矽尘悬浊液, 高压灭菌, 使用前按 8 000 U/ml 加入青霉素; 对照组灌肺所用生理盐水高压灭菌, 使用前按 8 000 U/ml 加入青霉素。在透明玻璃容器内, 用乙醚轻度麻醉实验动物, 直视下一次性

收稿日期: 2001-09-27; 修回日期: 2001-11-02

基金项目: 武警总部资助课题 (编号: WKH98023)

作者简介: 魏茂提 (1973-), 男, 硕士研究生

通过气管予实验组动物肺部注射矽尘悬浊液 1 ml，对照组动物生理盐水 1 ml。

1.2.2 标本处理方法和指标测定

于灌肺处理后第 7、14、21、30、60 天采用乙醚麻醉动物，经心脏取全血，加入枸橼酸（ACD）抗凝，室温静置 30 分钟以上，4℃ 2 000 r/m 离心 15 分钟，分离血浆。放血处死，取肺脏，舍弃感染形成脓肿者，清除淤血和污物后计算脏器系数 [脏器系数=（大鼠肺质量/大鼠体质量）×1 000]；取部分肺组织采用过氧化氢法测定全肺胶原含量^[3]；血浆 NO 水平测定采用硝酸还原酶法；血浆 NOS 活力测定采用 NOS 催化 L-Arg 法。

1.2.3 数据处理方法 采用 SPSS8.0 统计分析软件作均数及偏相关分析，以 $\bar{x} \pm s$ 表示；采用 SAS6.12 统计分析软件作不同时段 NO 水平和 NOS 活力的析因设计方差分析；肺脏器系数、肺胶原含量、血浆 NO 和 NOS 随时间变化曲线采用 EXCEL97 制作。

2 结果

2.1 不同处理时段两组动物脏器系数、胶原含量的变化曲线

脏器系数在实验的各个时段均显著高于对照组（ $P < 0.01$ ），见图 1A；肺胶原含量在染尘后第 21 天前降低（ $P < 0.05$ ），而在第 60 天有升高（ $P < 0.05$ ），见图 1B。本结果表示本次成功建立了矽肺动物模型。

2.2 实验组和对照组 NO 水平和 NOS 活力测定结果

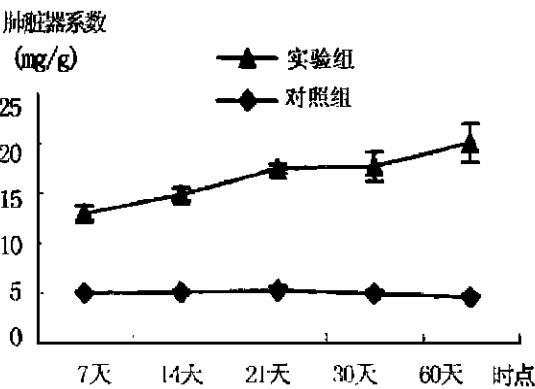


图 1A 肺脏器系数随时间变化曲线

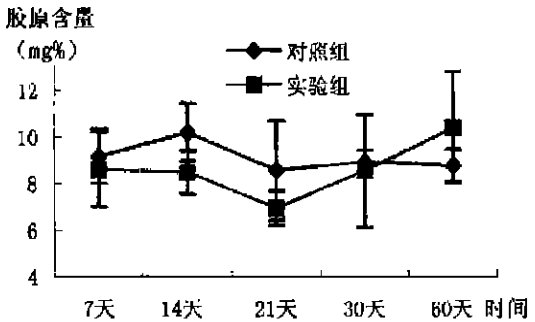


图 1B 不同时段两组动物胶原含量变化

染尘后第 30 天，实验组 NO 水平高于对照组（ $P < 0.05$ ），其他时段只有升高趋势（ $P > 0.05$ ）。在染尘后第 21、30、60 天，实验组 NOS 活力显著低于对照组（ $P < 0.05$ ），其他时段只有降低趋势（ $P > 0.05$ ）。见表 1。

表 1 不同时段两组动物血浆 NO 水平和 NOS 活力的变化（ $\bar{x} \pm s$ ）

		染尘后处理时段				
		7 天	14 天	21 天	30 天	60 天
血浆 NO	对照组	13.23±4.74 (8)	12.03±3.35 (8)	16.29±12.82 (8)	19.21±3.00 (8)	15.25±9.74 (7)
	实验组	9.84±2.86 (8)	13.21±3.78 (8)	22.85±9.33 (8)	26.74±8.33* (8)	21.17±13.79 (8)
血浆 NOS	对照组	18.56±2.05 (8)	13.20±3.90 (8)	14.92±1.73 (8)	14.40±2.42 (8)	21.18±1.38 (7)
	实验组	16.38±1.94 (8)	12.21±4.38 (7)	12.21±3.20* (8)	10.95±2.39** (8)	17.80±1.42* (8)

注：括号内数字为动物数。
* 与对照组比较 $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

2.3 血浆 NO 水平和 NOS 活力随时间变化曲线

将不同时点的血浆 NO 和 NOS 测定结果作图，可以看出染矽尘组血浆 NO 水平和 NOS 活力呈现相反的走向。控制时间因素进行偏相关分析，结果显示实验组血浆 NO 水平和 NOS 活力为负相关（ $r = -0.367$ ， $P = 0.028$ ）。见图 2A 和图 2B。提示血浆 NO 水平变

化和血浆 NOS 活力变化可能有不同的机制。

3 讨论

矽尘可以导致肺的损伤。Blackford 认为，NO 是矽尘导致肺早期损伤的原因^[1]。NO 是反应性氧中间代谢物（reactive oxygen intermediates, ROI）的一个组成部分，矽尘可能通过诱导 ROI 增加来导致肺损

伤^[4]。但是,矽尘对血液系统造成什么影响呢?本研究测定了染矽尘大鼠血浆 NO 水平和 NOS 活力,结果显示染尘后第 30 天,实验组 NO 水平高于对照组 ($P < 0.05$)。在染尘后第 21、30、60 天,实验组 NOS 活力显著低于对照组 ($P < 0.05$)。提示矽尘可造成血浆 NO 浓度和 NOS 活力的改变。

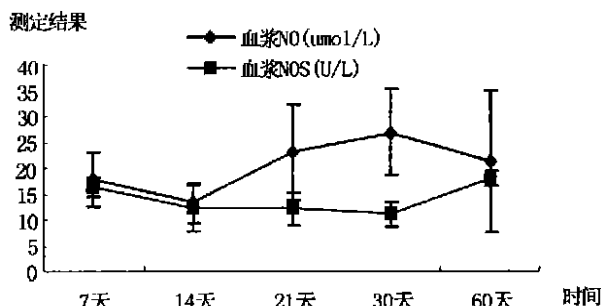


图 2A 实验组不同时点血浆 NO 与血浆 NOS 变化曲线

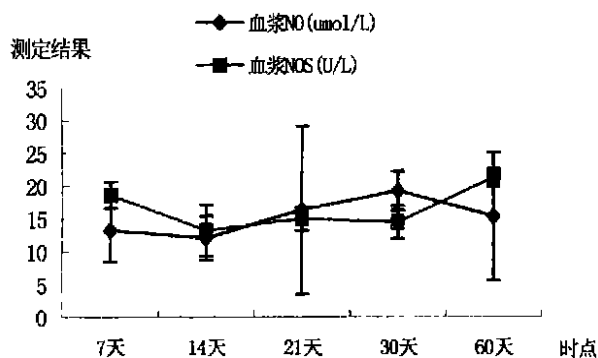


图 2B 对照组不同时点血浆 NO 与 NOS 的变化曲线

Chen 等认为矽尘刺激了肺部诱导型转录因子 NK- κ B (nuclear factor κ B, 核因子 κ B) 的活性,从而促进了肺部 NO 的生成和 iNOS mRNA 的表达,导致肺部 NO 浓度的升高^[5]。肺脏局部升高的 NO 扩散进入血流,导致血浆 NO 水平的升高。本次研究结果与周君富等^[6]人群研究结果一致。血浆 NO 水平的升高,可能反馈抑制了血浆 NOS 活力,造成 NOS 活力降低。这种降低到底是矽尘对血液系统的直接作用还是矽尘对肺作用的一个延续,尚须要进一步实验探讨。

(本研究承本院中心实验室韩景田实验师、军事医学教研室主任田庚友副教授的支持。对于他们的无私帮助,深表谢意!)

参考文献:

- [1] Bleakford JA, Antonini JM, Castranova V. Intratracheal instillation of silica up-regulates inducible nitric oxide synthase gene expression and increase nitric oxide production in alveolar macrophage and neutrophils. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1994; 11: 426-431.
- [2] 王明臣, 王培昌, 李玉山, 等. 煤工尘肺患者血中一氧化氮自由基含量的改变 [J]. *中国工业医学杂志*, 2000, 13 (5): 270-272.
- [3] 洪长福, 姜金萍, 何惠仙, 等. 肺组织胶原蛋白含量测定方法改进 [J]. *浙江省医学科学院学报*, 1989, 12: 184-186.
- [4] Gossart S, Cambon C, Orfila C, et al. Reactive oxygen intermediates as regulators of TNF- α production in rat lung inflammation induced by silica [J]. *Journal of Immunology*, 1996, 156: 1540-1548.
- [5] Chen F, Kuhn DC, Gaydos LJ, et al. Induction of nitric oxide and nitric oxide synthase mRNA by silica and lipopolysaccharide in PMA-primed THP-1 cell [J]. *APMIS*, 1996, 104: 176-182.
- [6] 周君富, 朱永平, 吴丹参, 等. 一氧化氮等自由基对矽肺患者损伤效应的研究 [J]. *中国公共卫生*, 1999, 15 (2): 126-128.

糖尿病合并肝脓肿 7 例报告

沈阳五三医院 李光华

沈阳市第九人民医院 (110024) 贺虹

沈阳市职业病防治院 (110024) 杨俊奎

糖尿病患者由于存在糖、脂类及蛋白质代谢紊乱,不仅机体体液免疫功能受损,细胞介导免疫功能也下降,易于并发多种感染。据统计,糖尿病合并感染有增加趋势,但合并肝脓肿仍较少见。现将近两年来收治的 7 例病例报道如下。

1 临床资料

本组病例主要表现为发热、恶心、呕吐,其中 2 例伴上腹痛。根据病史、临床表现以及超声检查,诊断为糖尿病合并肝脓肿。治疗除积极全身抗炎、予胰岛素控制血糖外,根据个体情况,其中 4 例行局部穿刺,2 例行手术治疗。经治疗 1 例痊愈,5 例明显好转。其中第 7 例明确诊断后家属不同意手术,于 2 日后死于感染性休克。

2 讨论

根据病史及典型临床表现(寒战、高热、肝区疼痛、肝大)以及 X 线、B 超检查诊断本病并不困难,但本组病人临

床表现不典型,虽均有发热,但只有 2 例病人同时有腹痛症状,得以及早诊断治疗,而其余 5 例于发热 1~4 周后出现腹痛症状及相应体征,贻误病情。因此笔者认为对于糖尿病病人不明原因的高热无论有无腹痛症状,都应及早行肝脏超声检查,争取早期诊断。

本组病例有 4 例发热后诱发糖尿病酮症酸中毒,达 57.1%,其中有 2 例 I 型糖尿病病人,2 例 II 型糖尿病病人,均于外院单纯按 DKA 治疗,不同程度地延误病情。因此提出:对于首诊 DKA 病人,尤其是 II 型糖尿病病人合并 DKA 原因不明时,应及早行超声检查,早期诊断。

本组病例治疗较复杂,我们强调全身抗炎治疗,控制血糖和局部治疗同等重要。全身抗炎治疗要求选择敏感抗生素,疗程要长,虽然本组病人好转后转院或院外治疗,要求病人一定要足疗程治疗,监测脓肿吸收情况,并作定期随访,同时用胰岛素控制血糖。高血糖可抑制粒细胞和淋巴细胞对细菌的吞噬作用,尤其是患者合并酮症后吞噬细胞的功能更受抑制,从而使原有病情加重或易发生感染蔓延。因此主张用胰岛素控制血糖时间不应短于肝脓肿治疗全程,并根据个体情况及脓肿数目、大小、部位,可采取 B 超下穿刺或手术治疗,术中局部注射抗生素加快症状改善及脓肿吸收,缩短疗程。