论著

文章编号:1000-5404(2006)03-0212-03

肺上皮屏障在油酸致肺损伤后肺水肿发生中的作用

陶 军,杨天德,陈祥瑞 (第三军医大学新桥医院麻醉科,重庆 400037)

提 要: 目的 观察大鼠油酸型肺损伤时肺泡上皮通透性和肺泡上皮液体清除能力的变化,旨在阐明肺泡上皮屏障功能在渗透性肺水肿发生中的作用。**方法** Wistar 大鼠35只,随机分为正常对照组和油酸致伤组。经股静脉注入油酸0.25 ml/kg复制急性肺损伤模型,分别于伤后3、6、12、24 h测定肺泡上皮通透性(AEP)、肺泡内液体清除率(ALCR)、总肺水量(TLW)和肺血管外肺水量(EVLW)。**结果** 静注油酸后,大鼠AEP进行性增高,ALCR呈现逐渐下降趋势;同时TLW及EVLW逐渐增加。上述指标均于24 h时相点改变最为显著。伤后24 h,AEP较对照组增高68.7%,TLW和EVLW分别增加44.6%和92.0%,ALCR降低49.4%。**结论** 油酸致伤后,肺泡上皮屏障功能障碍与肺泡水肿形成密切相关,详细机制有待于进一步研究。

关键词: 肺泡上皮屏障;急性肺损伤;肺水肿;油酸

中图法分类号: R332.2; R363.13; R541.630.2 **文献标识码**: A

Role of alveolar epithelial barrier in the development of pulmonary edema after oleic acid-induced lung injury

TAO Jun, YANG Tian-de, CHEN Xiang-rui (Department of Anesthesiology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To investigate the changes of alveolar epithelial permeability and the capacity of alveolar epithelium to remove alveolar fluid in the rat models of acute lung injury induced by oleic acid. **Methods** A total of 35 Wistar rats were randomly assigned to the control group ($n=7$), and the injured group ($n=28$) in which the lung injury was induced by intravenous injection of oleic acid at the dose of 0.25 ml/kg. The alveolar liquid clearance rate (ALCR), total lung water content (TLW), extravascular lung water content (EVLW) and alveolar epithelial permeability (AEP) were examined in 3, 6, 12, 24 h after injury ($n=7$ at each time point). **Results** After lung injury, there was continuous increase of AEP, TLW and EVLW, as well as progressive reduction of ALCR. On 24 h after injury when all changes were most significant, AEP was increased by 68.7%, ALCR was reduced by 49.4%, TLW and EVLW increased by 44.6% and 92.0% respectively, as compared with control group. **Conclusion** The alveolar epithelial barrier might play a role in the pathogenesis of pulmonary edema in acute lung injury.

Key words: alveolar epithelial barrier; acute lung injury; pulmonary edema; oleic acid

肺泡上皮具有阻止液体进入肺泡腔内和主动清除肺泡腔内液体的作用,是抵抗肺泡性肺水肿形成的一道重要屏障,但对病理状态下其功能的变化尚缺乏研究[1]。急性肺损伤(acute lung injury, ALI)时,渗透性肺水肿是导致低氧血症的主要病理基础之一[2];但肺泡上皮屏障功能在肺水肿发生中的作用尚不清楚。为此,我们观察了大鼠油酸型ALI时肺泡上皮屏障(alveolar epithelial barrier, AEB)功能的变化,旨在阐明肺泡上皮屏障功能改变在渗透性肺水肿发生中的地位和作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

健康Wistar大鼠35只,雌雄不拘,体质量180~220 g,由

基金项目:全军医学科学技术研究"十五"计划基金重点课题(01Z074)
Supported by the Key Research Project of the "Tenth Five-Year Plan" of PLA(01Z074)

作者简介:陶 军(1961-),男,湖北省武汉市人,博士,副教授,主要从事心血管手术麻醉及心肺损伤防治方面的研究,发表论文25篇。电话:(023)68755413

收稿日期:2004-12-24;修回日期:2005-08-05

本校实验动物中心提供。将动物分为正常对照组(C组,$n=7$)和油酸致伤组(OI组,$n=28$)。观察时相点为伤后3、6、12、24 h,每时相点各7只大鼠。

1.2　大鼠油酸型肺损伤模型的制作

大鼠腹腔注射氯胺酮(100 mg/kg)麻醉,经股静脉注入油酸0.25 ml/kg。致伤后大鼠自由摄取食水。

1.3　指标测定

1.3.1　肺泡内液体清除率(ALCR)　ALCR的测定采用Rezaiguia法[3]。大鼠腹腔注射氯胺酮(100 mg/kg)麻醉,游离气管,将直径为1 mm的导管插入气管内。经导管注入5%白蛋白液(内含0.37 kBq ^{125}I-白蛋白)(剂量为3 ml/kg),1 min后抽取0.1 ml肺内液体作γ计数和蛋白浓度测定。1 h后大鼠放血活杀。取肺泡内液体作γ计数和蛋白浓度测定,并取肺组织作γ计数。ALCR计算公式如下:

$Vi=(Vd\times5)/TPi$　$Vf=(Vi\times TPi\times Fr)/TPf$

$ALCR\ (\mu l\cdot h^{-1})=(Vi\times Fwi-Vf\times Fwf)/(Vi\times Fwi)$

式中Vi和Vf分别代表起始和最终肺泡液体总量,Fwi和Fwf分别代表起始和最终肺泡液体中的含水量,TPi和TPf分别代表起始和最终肺泡液体中的蛋白浓度。

1.3.2　总肺水量(TLW)和肺血管外肺水量(EVLW)　采用Noble法[4]并加以改进。大鼠放血活杀,抽血分别测定血液血红蛋白(Hb)含量和干、湿重。取一小块肺组织制成10%匀浆,测定匀浆液血红蛋白含量。另取肺组织1块,精确称量湿重后,80 ℃烘干72 h至恒重。根据公式计算:

TLW (ml/g) = (肺湿重 - 肺干重)/肺干重

每克湿肺含残血量 = (匀浆液 Hb ÷ 血液 Hb) × 匀浆总样本量 × 1.055/匀浆肺重量

湿肺含残血量 = 肺湿重 × 每克湿肺含残血量

EVLW (ml/g) = (肺湿重 - 肺干重 - 湿肺含残血量) / 肺干重

1.3.3　肺泡上皮通透性(AEP)　采用同位素示踪法。大鼠活杀前1 h腹腔注射氯胺酮(100 mg/kg)麻醉,游离气管,经气管注射 ^{125}I-白蛋白0.2 ml。1 h后大鼠放血活杀,取出肺脏,经气管插管缓慢滴入生理盐水3 ml灌洗肺脏,收集灌洗液,离心后取上清液0.2 ml用γ闪烁计数器测定放射活性。根据公式计算:

肺泡上皮通透性(%) = (经气管注入 ^{125}I-白蛋白的总Bq值 - 灌洗液Bq值) ÷ 总Bq值 × 100%

1.4　统计学处理

计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 q 检验,计数资料用 χ^2 检验。

2　结果

2.1　肺泡上皮通透性的变化

与对照组相比较,伤后3 h肺泡上皮通透性轻度增高($P<0.05$),之后呈逐渐上升趋势,24 h其值最高($P<0.01$),见表1。

2.2　肺泡内液体清除率的变化

油酸致伤后3 h ALCR较对照组降低4.4%($P<0.05$),伤后6 h下降18.1%($P<0.01$),伤后24 h ALCR显著降低,较对照组降低49.4%($P<0.01$),见表1。

表1　油酸致伤后AEP、ALCR、TLW和EVLW的变化($n=7$, $\bar{x}\pm s$)

组别	AEP(%)	ALCR(μl/h)	TLW(ml/g)	EVLW(ml/g)
对照组	6.7±0.7	332±21	3.14±0.14	2.25±0.11
伤后3 h	11.3±1.0[a]	318±17[a]	3.11±0.09	2.31±0.10
伤后6 h	21.4±1.2[b]	272±15[b]	3.37±0.10[b]	2.83±0.12[b]
伤后12 h	43.8±2.1[b]	216±11[b]	3.62±0.14[b]	3.85±0.22[b]
伤后24 h	52.7±2.4[b]	168±17[b]	4.54±0.15[b]	4.32±0.11[b]

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与对照组比较

2.3　总肺水量和肺血管外肺水量的变化

伤后TLW和EVLW呈逐渐升高趋势。伤后3 h,TLW和EVLW与对照组无显著差异($P>0.05$)。伤后6 h TLW和EVLW明显增高($P<0.01$),24 h其值最高。见表1。

3　讨论

正常肺组织内液体在血管内外交换呈动态平衡,从而使肺血管外-细胞外液体的含量维持在一定水平。当这种平衡遭到破坏时,即会出现肺水肿。通常肺水肿按其发生机制可分为渗透性和压力性肺水肿;按液体积存的解剖位置又可分为间质性和肺泡性肺水肿[5,6]。但Ketai等[7]于1998年提出,按发生机制将肺水肿分为4型:①压力性肺水肿;②渗透性肺水肿伴弥漫性肺泡损伤(DAD);③渗透性肺水肿,但无DAD;④压力性和渗透性混合型肺水肿。这种分类方法实质上就是突出了肺泡上皮的屏障作用。肺泡上皮细胞层的紧密连接限制了体液和蛋白质过多地渗入到肺泡腔;此外,肺泡上皮还具有主动清除肺泡内液体的功能,使肺泡保持相对干燥,以维持正常的气体交换[1,8]。

渗透性肺水肿,尤其是肺泡内水肿是导致呼吸功能衰竭的主要病理学基础[1,2],但其发生机制尚不十分清楚。近几年部分研究表明,急性肺损伤后肺泡上皮屏障功能变化与肺水肿的产生和发展密切相关。在致伤因素作用下,肺泡上皮细胞损伤,细胞间连接破坏,上皮通透性增加,液体漏入肺泡腔;同时肺泡上皮液体转运机能受损,肺泡内液体清除障碍,造成肺泡性肺水肿[1,8]。

生理情况下,肺泡上皮细胞间的紧密连接限制了体液和蛋白质过多地渗入到肺泡腔。在某些病理情况下,紧密连接结构遭到破坏,可导致肺泡上皮通透性增高。Pitter等[9]发现,给羊造成严重的感染性休克后,肺泡上皮通透性增高,出现了明显的肺泡性肺水肿,推测其肺泡水肿与肺泡上皮紧密连接损伤后细胞旁的通透性增加有关。本实验观察到大鼠注入油酸3 h后肺

泡上皮通透性即见增高，之后随肺损伤进程进行性增加；同时肺含水量逐渐增多。肺泡上皮通透性增高使大量水和蛋白质进入肺泡腔，导致肺水肿；同时水肿液也不易转运出肺泡腔。

肺泡上皮屏障的另一重要作用是主动清除肺泡腔内过多的液体。这一功能主要是通过钠主动转运来实现的。钠主动转运由钠通道和 Na^+-K^+-ATP 酶共同将 Na^+ 泵至肺间质，同时伴随水的吸收[1,8]。然而，重度肺损伤时，肺泡上皮受损，和/或机体产生某些抑制因子，抑制 Na^+ 通道和 Na^+-K^+- ATP 酶活性，使液体清除减慢，肺内水肿液聚积[10]。

ALCR 是反映机体肺泡上皮液体转运能力的重要指标[3]。本实验显示大鼠伤后 ALCR 进行性下降，而肺含水量则进行性增高，两者呈显著的负相关。在既往研究中，我们也发现大鼠油酸致伤后 24 h 出现严重的肺水肿，ALCR 明显降低。气管内滴注阿咪洛利（钠通道特异性阻断剂）或哇巴因（Na^+-K^+-ATP 酶特异性抑制剂）后，进一步降低 ALCR 和增加肺含水量；而气管内滴注特普他林（β_2-受体激动剂）则能明显提高 ALCR，显著减少肺含水量[11]。上述结果提示，肺泡上皮液体转运机能障碍在渗透性肺水肿的发生机制中也占有一定的地位。

由此可见，油酸肺损伤后肺泡上皮屏障功能障碍与肺泡内水肿发生密切相关，其详细机制有待于进一步研究。

参考文献：

[1] MATTHAY M A, CLERICI C, SAUMON G. Invited review: Active fluid clearance from distal air spaces of the lung[J]. J Appl Physiol, 2002, 93(4): 1533 - 1541.

[2] 陈文彬. 急性呼吸窘迫综合征（ARDS）——ARDS 渗透性肺水肿的形成及肺心功能的改变[J]. 中国实用内科杂志, 1997, 17(10): 577 - 579.

[3] REZAIGUIA S, GARAT C, DELCLAUX C, *et al*. Acute bacterial pneumonia in rats increases alveolar epithelial fluid clearance by a tumor necrosis factor-alpha-dependent mechanism[J]. J Clin Invest, 1997, 99(2): 325 - 335.

[4] NOBLE W H, OBDRZALEK J, KAY J C. A new technique for measuring pulmonary edema[J]. J Appl Physiol, 1973, 34(4): 508 - 512.

[5] CRAPO J D. New concepts in the formation of pulmonary edema[J]. Am Rev Respir Dis, 1993, 147(4): 790 - 792.

[6] MATTHAY M A, FOLKESSON H G, CAMPAGNA A, *et al*. Alveolar epithelial barrier and acute lung injury[J]. New Horiz, 1993, 1(4): 613 - 622.

[7] KETAI L H, GODWIN J D. A new view of pulmonary edema and acute respiratory distress syndrome[J]. J Thorac Imaging, 1998, 13(3): 147 - 171.

[8] SARTORI C, MATTHAY M A. Alveolar epithelial fluid transport in acute lung injury: new insights[J]. Eur Respir J, 2002, 20(5): 1299 - 1313.

[9] PITTET J F, WIENER KRONISH J P, SERIKOV V, *et al*. Resistance of the alveolar epithelium to injury from septic shock in sheep[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1995, 151(4): 1093 - 1100.

[10] DING J W, DICKIE J, O'BRODOVICH H, *et al*. Inhibition of amiloride-sensitive sodium-channel activity in distal lung epithelial cells by nitric oxide[J]. Am J Physiol, 1998, 274(3): L378 - L387.

[11] 陶 军，刘桥义，杨天德，等. 特普他林对油酸性肺损伤鼠肺泡液体清除功能的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2000, 12(1): 28 - 30.

（编辑 薛国文）

（上接 211 页）

未见心脑肺并发症，24 例均痊愈出院。

3 讨论

体外循环下心脏不停搏心内直视手术安全可行[1]，由于体外循环中不阻断升主动脉，整个心内手术期间，心肌可以不中断氧合血流供应，几乎无缺血缺氧损伤，避免了内灌注损伤，有很好的心肌保护效果[2,3]。由于缩短了体外循环时间，明显的减少了因体外循环时间长导致的一系列术后并发症，更利于术后的顺利恢复。

我们体会浅低温（31 ~ 34 ℃），高流量灌注可使机体的组织器官免受缺血缺氧的损害，本组 24 例均无严重心律失常发生，尿量满意，肾脏能够得到良好灌注。全部患者均恢复良好。

易发生气栓是心脏不停搏体外循环的不足之一，为防止气栓的发生我们采取调整手术床至头低位，在主动脉根部放置一排气针头，高灌注流量，使主动脉内的压力始终高于左心内压力，主动脉瓣呈关闭状态，在关闭心脏时应及时停止左心吸引，通过这些措施，本组患者无 1 例气栓发生。

术野回血多，手术操作受心跳影响也是心脏不停搏手术的不足处，保证充分的吸引，浅低温（31 ~ 34 ℃）减慢心率，可给术者提供较为满意的手术条件。

浅低温心脏不停搏体外循环在临床上是一种可行的转流技术。

关键词：不停搏心内直视手术；浅低温；体外循环
中图法分类号：R654.1；R654.2 文献标识码：B

参考文献：

[1] 彭 荷，王惠春，肖锦彬，等. 心脏跳动中心内直视手术 1 032 例体外循环管理[J]. 重庆医学, 2002, 31(6): 498 - 499.

[2] 何 巍，林 晔，郑宝石，等. 浅低温体外循环心脏跳动中施术对心肌保护的实验研究[J]. 中华胸心血管外科杂志, 2001, 17(2): 96 - 98.

[3] 张素英，于 磊. 心内直视手术体外循环中血浆 D - 二聚体测定[J]. 郑州大学学报：医学版, 2002, 37(2): 237 - 238.

（编辑 陈聪连）