文章编号:1000-5404(2008)02-0181-02

技术方法

气态甲醛吸入诱导大鼠急性肺水肿的实验研究

梁志锋[1],林 军[2],林 琳[3],陈 立[3],陆 盛[3],金 剡[3],黄国琛[3],肖邦友[3] (广西医科大学:[1]基础医学部生理学教研室,[2]药理学教研室,[3]医学系04级,南宁 530021)

摘 要:目的 探讨大鼠吸入气态甲醛诱导急性肺水肿动物模型的方法。方法 大鼠随机分为对照组和甲醛组,甲醛组大鼠放入鼠笼并置于正方体染毒箱中盖好,内置一定量钠石灰吸收CO_2和水蒸气,以加氧泵连接导管插入盛有甲醛原液的烧杯通气供氧并促进甲醛挥发,并定期向箱内喷入一定甲醛雾化气体,让大鼠持续吸入高浓度甲醛诱发急性肺水肿。2 h后取出大鼠,5 h后处死称体质量及心、肺质量,计算心肺系数和肺指数,并取肺组织作病理切片。对照组大鼠处理同上,但甲醛换为生理盐水。结果 与对照组比较,甲醛组肺肿大,边钝圆,切开有红色液流出,病理切片显示肺组织肿胀,肺间质增厚,毛细血管和肺泡结构破坏;甲醛组心肺系数显著增大($P<0.01$),肺指数也显著增大($P<0.01$)。结论 大量气态甲醛吸入可造成大鼠急性肺水肿。

30%~40%甲醛溶液有较强杀菌作用,主要用于消毒、防腐和杀菌。人们日常生活与甲醛密切接触,因而导致呼吸道疾病、皮肤病、癌症等疾病[1],甲醛还能损伤染色体和致畸,严重影响人体健康,短期大量吸入还可引起急性肺水肿[2]。但甲醛吸入诱导肺水肿动物模型方面的研究国内少见报道。本实验通过自制染毒装置,探讨给大鼠短期吸入大量气态甲醛,诱导复制大鼠急性肺水肿动物模型的方法,为临床上甲醛吸入所致肺水肿的发病和治疗研究提供造模方法和实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级SD成年大鼠24只,体质量(220±20)g,雌雄兼用,由广西医科大学实验动物中心提供。合格证号为:SCXK桂2003-0003

1.2 器械和药品

手术器械,电子秤,烧杯,铁笼,加氧泵,温度湿度计等由广西医科大学实验生理科学实验室和药理实验室提供;甲醛溶液,分析纯37%~40%,成都市科龙化工试剂厂,批号:20061022;钠石灰,上海五四化学试剂有限公司,批号:021015。

1.3 实验装置

喷雾器为市售浇花喷壶,广州振业有限公司生产;染毒箱,用厚度3 cm,边长40 cm有机玻璃板用氯仿粘合而成,容积约64 L,顶盖可拆卸。染毒箱侧壁有一导管穿过,一端连接加氧泵,另一端插入烧杯甲醛液中通空气,让气流从甲醛液冒出,给箱内大鼠供氧并促进甲醛挥发。染毒箱底部四角及鼠笼顶部各处用6个培养皿分盛200 g钠石灰,吸收水蒸气和CO_2,内置温度湿度计检测染毒箱内温度和湿度。

1.4 实验方法

大鼠按随机数字表分对照组(10只)和甲醛组(14只)。称量,标记,装入大鼠笼中,置于染毒箱正中,启动加氧泵并盖好箱盖,动物出现明显症状时开始计时,让大鼠在箱内连续吸入甲醛染毒素2 h,密切观察大鼠的一般反应情况并记录,期间每隔25~30 min给箱内喷入雾化甲醛1次,每次约10 ml。染毒结束后取出大鼠,放室外通风处,禁食不禁水,过5 h后大鼠颈椎脱臼处死,称体质量及心脏和肺脏湿质量,计算心肺系数、肺指数。肺组织作大体病理,观察其外表边缘及切面情况;并作常规病理切片进行HE染色后光镜下观察肺组织形态学改变,主要包括肺泡腔是否有内容物,肺泡间隙是否增宽和有其他物质填充等。对照组处理同上,但甲醛溶液换为生理盐水。相关计算方法参照文献[3]:心肺系数=两肺质量(g)/心脏质量(g);肺指数=两肺质量(g)/体质量(kg)。

1.5 统计学处理

结果以$\bar{x}\pm s$表示,采用两样本均数t检验。统计软件为PEMS 2.1。

2 结果

2.1 一般情况

实验大鼠放入染毒箱后很快出现合眼流泪、喷嚏流涕、咳嗽和抓耳、搔鼻等皮肤黏膜刺激症状,有的则躁动不安,四处躲窜,想挣脱铁笼,有的则比较平静,把口鼻藏于腹下体毛中;同时可见唾液、大小便增多,毛发变湿,呼吸张口,急促而困难,口唇黏膜可见紫绀,甚至有些大鼠鼻孔有粉红色状分泌物。染毒结束取出后仍见张口呼吸,不思饮食。对照组大鼠放入染毒箱后,精神活动无异常改变。实验过程中染毒箱内温度为(18.0±0.5)℃,湿度为(16.0±0.5)g/L。

2.2 心肺系数和肺指数

大鼠按常规取肺和心脏,吸干表面水分后称量,计算心肺

作者简介:梁志锋,男,广西省武宣市人,硕士,讲师,主要从事动物模型方面的研究。电话:(0771)5358282,E-mail:sam07715358282@sina.com

收稿日期:2007-04-03;修回日期:2007-11-19

系数和肺指数,结果见表1。

表1 甲醛吸入后大鼠心肺系数和肺指数变化($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	心肺系数	肺指数
对照组	10	1.58 ± 0.10	4.67 ± 0.34
甲醛组	14	2.55 ± 0.32[a]	9.49 ± 1.19[b]

a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与对照组比较

2.3 病理学改变

正常肺脏大体观可见两肺粉红色,肺内含大量气体,切开挤压肺塌陷,无液体流出;甲醛组肺红肿胀大,边缘钝圆,表面光滑发亮,可见广泛出血点、片状出血点和淤血现象,切开肺组织可见红色液体流出。镜下可见对照组肺组织结构清楚,肺泡壁薄和肺间隙小,肺泡内无内容物填充;甲醛组肺组织肿胀,肺间质水肿增厚,间隙增宽,有大量有核细胞浸润,血管壁和肺泡壁结构破坏,肺泡内可见红色无结构物质填充。

3 讨论

肺水肿是指肺毛细血管内液体渗入并积聚于肺间质和肺泡,使肺血管外组织液体量增多的病理状态,大多数是由于肺毛细血管壁通透性增高或毛细血管内压升高所致,此外还有肺泡表面活性物质作用减弱、肺表面张力过大、血浆蛋白渗出、肺泡上皮细胞水转运受阻等原因。文献[4]报道肺水肿动物模型的制作方法很多,主要有氯化铵法、肾上腺素法、氯仿法、油酸法、淡水或海水淹溺法等,但用气态甲醛短期大量吸入制作肺水肿动物模型尚少见文献报道。本实验通过自制封闭装置,连续通气促进甲醛挥发并结合间歇喷雾,给大鼠持续吸入高浓度甲醛挥发气体制作肺水肿动物模型,结果观察到甲醛组大鼠出现呼吸困难、紫绀、泡沫痰等肺水肿表现,大体病理观察见肺肿胀、边钝圆,切开有液体流出,组织切片呈肺水肺病理改变,心肺系数和肺指数明显增大,提示肺水肿模型制作成功。

甲醛及其代谢产物可形成强氧化剂能使机体组织器官氧化受损[5-7],如机体 MDA 含量升高,血浆 SOD 活力、肺组织 GSH-Px、SOD 活力下降等。同时甲醛对生物大分子有破坏作用,引起 DNA-蛋白质交联,基因稳定性变差,甚至基因突变,还能使组织细胞蛋白质交联变性,降低或丧失蛋白质功能[8,9],如肺泡上皮细胞膜上的钠-钾泵和水通道蛋白功能低下将导致水转运受阻,肺水肿加重,影响气体交换;肺泡Ⅱ型上皮细胞被甲醛氧化损伤,功能受损,表面活性物质合成减少,分解消耗增加,使肺泡表面张力异常增大,吸引大量水分进入肺泡,加剧了肺水肿。甲醛吸入肺泡进入血液,同样对红细胞产生氧化损伤作用,使血红蛋白功能受损,造成红细胞携氧能力下降,加重机体缺氧,出现呼吸困难。

总之,本实验通过甲醛挥发吸入加喷雾,使大鼠短期大量吸入甲醛促进肺水肿的形成,具有方法简单,效果可靠,经济实用等特点,可为临床上对甲醛所致肺水肿的病理生理机制和治疗方面研究提供动物造模方法。结合我们多次探索实验的体会,我们认为,甲醛吸入致大鼠急性肺水肿动物模型的制作关键在几个方面:即控制好甲醛浓度、染毒温度、染毒时间和鼠均吸毒流量以及动物年龄等,若甲醛浓度过低,如染毒装置敞开或染毒空间小而鼠密度过大,染毒需要时间延长且效果不理想;相反,如果一次放入大鼠数量过少,导致鼠均吸入毒气浓度高流量过大,除非缩短染毒时间,否则动物肺水肿严重,死亡率增高。如果温度过高,如35 ℃,则动物易中毒且较深,温度低如 18 ~ 20 ℃则中毒较温和。染毒时间则与中毒成正相关,时间长染毒深。成年鼠或许比未成年鼠更能耐受。以上各因素恰当搭配,才能作出理想的动物模型。鉴于条件所限,我们未能测定和控制箱内甲醛浓度,且也未能按正交实验设计来探讨各因素的影响,但我们这一次的实验结果还算较为理想,可以参考借鉴,条件是 200 g 左右雄性成年大鼠,温度 18 ℃左右、鼠均染毒体积 4.8 L/只(64 L/14 只),连续通气 2 h,每隔 25 ~ 30 min 喷雾 1 次。

关键词:甲醛;肺水肿;动物模型;大鼠

中图法分类号:R541.63 文献标识码:B

参考文献:

[1] 崔 毅,刘金玲,贾崇奇. 甲醛接触人员恶性肿瘤流行病学调查研究[J]. 化工劳动保护:工业卫生与职业病分册,1997,18(5):211 -212.

[2] 程 兵,陈一娜. 甲醛熏蒸法空气消毒不当致急性肺水肿1例报告[J]. 职业与健康,2003,19(3):99 -100.

[3] 莫书荣. 实验生理科学[M]. 第2版. 北京:科学出版社,2003:87.

[4] 薛敬礼,史崇敏,章金涛,等. 不同方法诱发大鼠肺水肿动物模型的比较研究[J]. 河南医学研究,2006,15(2):109 -111.

[5] 杨丹凤,裘著革,张华山,等. 甲醛吸入染毒致大鼠多组织器官氧化损伤效应研究[J]. 环境科学学报,2004,24(1):174 -176.

[6] 张 谦,刘伯仁,周厚荣,等. 淡水淹溺致兔肺水肿模型肾素、丙二醛、心钠素、一氧化氮、血气等变化的研究[J]. 中国急救医学,2005,25(7):508 -510.

[7] 张全武,孙少华,王振全,等. 亚慢性吸入甲醛对小鼠抗氧化物酶的影响[J]. 第四军医大学学报,2003,24(23):2206 -2207.

[8] 张桂芝,熊 玮,刘长庭,等. 甲醛对人支气管上皮细胞系转化和染色体不稳定性影响的研究[J]. 第三军医大学学报,2006,28(13):1388 -1392.

[9] 段丽菊,朱 燕,胡青莲,等. 甲醛吸入致小鼠蛋白质氧化损伤作用的研究[J]. 环境科学学报,2005,25(6):851 -854.

(编辑 邓强庭)