DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.03.036
第24卷第3期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 3
320 2002年3月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Mar. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)03-0320-03

急性缺氧对大鼠肠系膜微循环白细胞流变学行为的影响

张 钢,高钰琪,刘福玉 (第三军医大学高原军事医学系病理生理学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 研究急性缺氧对大鼠肠系膜微循环白细胞流变学行为的影响。方法 运用活体显微镜结合计算机图像分析系统观察分析急性缺氧大鼠肠系膜微循环中白细胞的流变行为。结果 常氧状态下肠系膜微静脉中有少量白细胞粘附,部分白细胞沿管壁滚动,滚动速度较快,白细胞与内皮细胞接触时间(TLECT)短,急性缺氧后白细胞粘附数显著增加,白细胞沿壁滚动大量增多,滚动速度明显减慢,TLECT 显著延长($P<0.05$)。结论 急性缺氧严重影响微循环中白细胞的流变学行为,TLECT 显著延长,反映了白细胞与内皮细胞相互作用程度加重,这可能是急性缺氧引起内皮损伤的重要机制。

关键词:缺氧;白细胞;粘附
中图法分类号:R322.45;R331.142;R845.22 文献标识码:A

Effects of acute hypoxia on the rheologic properties of leukocytes in mesentery microcirculation of rats

ZHANG Gang, GAO Yu-qi, LIU Fu-yu (Institute of Pathophysiology, Department of High Altitude Military Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of acute hypoxia on the rheologic properties of leukocytes in mesentery microcirculation of rats. Methods Intravital microscopy and computer image analysis system were used to determine the rheologic properties of leukocytes in mesentery microcirculation of rats *in vivo*. Results Compared with normal condition, the number of adhesive leukocytes and rolling leukocytes in venules were significantly increased in acute hypoxic condition, rolling velocity of leukocytes was obviously decreased and total leukocyte endothelium contact time (TLECT) was significantly prolonged ($P<0.05$). Conclusion Acute hypoxia had a significant effect on the rheology of leukocyte. The significant proeongation of TLECT reflected the aggravation of leukocyte-endothelium interaction, and may be an important mechanism of endothelium damage induced by acute hypoxia.

Key words: hypoxia; leukocyte; adherence

在缺血再灌注损伤[1]、失血性休克及内毒素血症[2]的研究中发现,白细胞粘着和嵌塞微血管是微循环灌流量不易恢复的重要原因,在高原肺水肿病人的肺泡灌洗液中也发现大量白细胞,说明缺氧引起了白细胞在肺内扣压,白细胞扣压的关键是与内皮细胞的粘附。有关白细胞与内皮细胞相互作用(Leukocyte-endothelium interaction, LEI)的分子学机制及临床意义的研究已成为当前医学研究的一个热点,但有关环境缺氧对机体 LEI 的影响及其机制的研究报道较少。为此,我们对急性缺氧时肠系膜微循环中白细胞的流变行为进行了较为系统的研究,旨在了解急性缺氧对 LEI 的影响规律,为进一步认识急性肺水肿等高原疾病的发生机制提供新的理论依据。

1 材料和方法

1.1 缺氧模型复制

健康 Wistar 大鼠 11 只,体重 140~210 g,雌雄不拘,通过人工呼吸机吸入 10% O_2/90% N_2 复制急性缺氧模型,血气分析(AVL990 型,瑞士)监测缺氧效果。

作者简介:张 钢(1968-),男,湖南省湘潭市人,博士研究生,讲师,主要从事细胞流变学方面的研究,发表论文 9 篇。电话:(023)68752339-8213

收稿日期:2001-07-20;修回日期:2001-09-31

1.2 动物手术准备

大鼠腹腔注射 10% 乌拉坦(1 ml/100 g)麻醉。一侧颈动脉插管监测血压,颈外静脉插管输液(5% 葡萄糖/生理盐水,2 ml/h),气管插管,机械通气(DH-140,浙江医科大学医学仪器实验厂生产),呼吸比 1.5∶1,呼吸频率 80~90 /min,潮气量 3~4 ml。

1.3 肠系膜微循环中白细胞流变学行为的实验观察[3]

大鼠沿腹正中线做 3 cm 切口,开腹轻轻将一段回肠及肠系膜拉出腹外,将肠系膜平铺于恒温观察槽(自制)上,小心盖上盖玻片,恒温槽内 37~38 ℃生理盐水恒温灌流。于 40 倍物镜(CPC40×,重庆光学仪器厂生产)下找到清晰的微动脉和微静脉,通过摄录像电视系统(Panasonic camera, Panasonic HD100 录像机)记录白细胞流态,实验系统最终放大倍数约为 3 000 倍。

1.4 实验方案

按照"自身对照"的方法,实验包括三个步骤:①动物手术后稳定 30 min,录像记录常氧状态肠系膜微循环状况 10 min。②吸入低氧混合气体,同步记录急性缺氧状态微循环的变化 30 min。③恢复吸入空气 10 min,记录复氧阶段肠系膜微循环。

1.5 结果分析

通过录像带回放在计算机图像分析系统(Tiger920,重庆大学图像图形分析中心研制)上分析数据,选择无分枝、长度 100 μm、直径 25~40 μm 以及常氧状态下白细胞粘附数少于 3 个的微血管进行下列数据的计算和统计。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

白细胞滚动数(n_{Lr}, 个/min)及滚动速度(V_{Lr}, μm/s): 将沿着血管壁以低于血流速度移动的白细胞定义为滚动的白细胞[3], 白细胞滚动数为单位时间内通过微血管内一固定点的滚动白细胞个数; 测定白细胞滚动通过固定长度(100 μm)的微血管所需的时间, 计算其滚动速度, 白细胞测试个数不少于 30 个。

白细胞粘附数(n_{La}): 将附壁不再滚动时间超过 30 s 的白细胞定义为粘附的白细胞, 通过图像分析系统统计一定时间单位长度血管内白细胞粘附的数目。

白细胞—内皮细胞接触时间[3]: 血流中所有白细胞和内皮细胞的作用过程, 可定量地用白细胞-内皮细胞接触时间(Total leukocyte-endothelium contact time, TLECT)来表示, 具体测定方法参见文献[3]。

所得数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用单因素方差进行统计分析。

2　结果

2.1　动脉血气的变化

大鼠吸入低氧混合气后动脉血气发生明显变化, 见表 1。表现为 PaO_2 和 SaO_2 显著性下降, 复氧阶段两者又明显增加, 示本研究所用急性缺氧模型可行。

表 1　动物常氧、缺氧和恢复阶段的血气的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Changes of arterial blood-gas in rats under room air, hypoxia and reoxygenation($\bar{x}\pm s$)

	PaO_2/mmHg	$PaCO_2$/mmHg	pH	SaO_2/%
Room air	13.94±2.91	5.96±0.68	7.38±0.02	95.4±2.78
Hypoxia	9.40±0.90 *	3.76±0.85 *	7.43±0.03	83.72±3.45 *
Reoxygenation	14.39±4.06△	5.43±0.70△	7.40±0.03	92.33±2.74△

*: $P<0.05$ *vs* Room air;　△: $P<0.05$ *vs* Hypoxia

2.2　缺氧对肠系膜微循环血流速度的影响

缺氧对肠系膜微静脉血流速度有明显影响, 表现为常氧时微循环为线流, 流速较快, 缺氧时为粒线流, 流速明显减慢, 复氧时流速可完全恢复。缺氧对微动脉血流影响不大。

2.3　缺氧对肠系膜微循环白细胞流变学参数的影响

常氧时微静脉中可见到少量白细胞沿血管壁快速滚动; 急性缺氧对微静脉白细胞流变学有显著性影响, 见表 2。表现为白细胞滚动速度显著性减慢, 白细胞在内皮细胞上粘附明显增加, 白细胞边流贴壁滚动个数增多, 白细胞与内皮细胞接触时间显著性延长, 各参数在复氧阶段未完全恢复。由于血流速度较快, 常氧及缺氧状态下微动脉内基本上看不见白细胞附壁滚动或粘着。

表 2　动物常氧、缺氧和复氧阶段肠系膜微血管白细胞流变学系数的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Changes of rheologic coefficients of leukocytes in mesentery of rats under room air, hypoxia and reoxygenation($\bar{x}\pm s$)

	n_{Lr}(μm/s)	n_{La}	V_{Lr}/min	TLECT(s/min)
Room air	101.41±26.96	1.45±1.21	4.27±2.69	0.91±0.73
Hypoxia	51.4±7.25 *	16.3±5.07 *	19.3±6.98 *	10.37±3.0 *
Reoxygenation	69.7±9.8 *	14.7±4.21 *	17.1±4.72 *	8.32±3.25 *

*: $P<0.05$ *vs* Room air

3　讨论

白细胞和内皮细胞的相互作用(LEI)是一种重要的生物学现象, 参与了机体多种生理和病理状态的功能调节, 从肠系膜微循环观察结果看, LEI 发生部位主要是微静脉。常氧状态下微静脉中可见到少量白细胞沿血管壁滚动, 表明生理状态下微静脉中存在一定程度的 LEI, 以白细胞沿壁滚动为主要表现形式。急性缺氧时微静脉 LEI 发生显著性变化, 表现为白细胞沿壁滚动和粘附显著增加, 滚动速度明显减慢, 这些变化将严重影响微循环的正常灌流, 导致微循环紊乱。研究发现, 缺氧使白细胞-内皮细胞接触时间显著延长, 反映了 LEI 程度加重, 这可能会带来严重的内皮损伤。中性粒细胞无需死亡就可释放 3 种活性物质导致血管内皮损伤: 颗粒酶类、活性氧代谢产物和膜磷脂酶产物[4], 白细胞和内皮细胞接触时间越长, 释放的活性物质越多, 损伤就越严重。

从细胞流变学角度分析, 白细胞在微血管中的流动和分布状态, 取决于白细胞和内皮细胞的粘附力和壁切应力的相互作用。实验中发现, 缺氧引起肠系膜微循环血流速度减慢, 导致血液切变率减小, 一定程度上促进了白细胞粘附, 但许多实验现象表明, 单纯切变率的减小并不是造成急性缺氧时白细胞粘附显著性增加的主要原因。首先, 缺氧时血流速度的减小与白细胞粘附的增加明显不同步, 流速的显著减小出现在吸低氧气后 3 min 左右, 而白细胞粘附的显著增加出现在吸低氧气 10～15 min 左右, 其次, 在缺氧动物进入复氧阶段, 动物血流速度较缺氧时有明显增加, 但缺氧时粘附在管壁的白细胞数并未显著减少, 最后, 我们在慢性缺氧对大鼠肠系膜微循环影响的研究中发现(数据另文发表), 经低压舱连续减压 30 d 的大鼠, 尽管肠系膜微循环血流速度明显减慢, 但并未出现白细胞在微静脉的大量粘附。以上现象表明, 在急性缺氧导致微静脉白细胞粘附大量增加的机制中, 切变率的变化并不起主要作用。我们认为, 急性缺氧可能使具有高粘附力的粘附分子表达显著增加, 通过与相应受体结合, 介导 LEI 使白细胞与内皮细胞粘附力增强。过去的研究[5,6]已表明, 缺氧可直接刺激离体白细胞 CD18 粘附分子大量表达, 缺氧血浆刺激培养的牛肺动脉内皮细胞可使其与白细胞的粘附显著增加, 可见, 缺氧时白细胞流变学行为的异常, 是白细胞、内皮细胞功能改变及血液局部环境细胞因子变化的共同结果。

与缺血再灌注的实验结果[7,8]相比较, 我们发现缺氧致白细胞大量粘附的时间与缺血再灌注不同, 白细胞的大量粘附一般发生在急性缺氧 10～15 min 左右, 而缺血再灌注时白细胞的大量粘附常发生在再灌注 30 min 左右。更大的不同在于缺氧导致的白细胞粘附均发生在急性缺氧阶段, 恢复供氧时粘附并未进一步增加, 而在缺血再灌注时白细胞大量粘附常发生在再灌注期。为什么缺氧与缺血再灌注对白细胞流变性有不同的影响, 机制可能在于机体微循环对缺氧与

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

缺血再灌注有不同的应答机制，其中白细胞、内皮细胞及血液局部环境细胞因子不同的功能性表达可能起重要作用，对此具体机制尚待进一步分析。

研究中还进一步发现，复氧阶段肠系膜微循环白细胞粘附与急性缺氧时相比虽然有所缓和，但与常氧阶段相比仍然显著性增加，这预示着急性缺氧对白细胞流变学的影响并不能随着缺氧的结束而立即恢复，可能在较长的时间内有“缺氧延迟”效应，这可为临床上治疗急性高山病提供一定的理论依据。

参考文献：

[1] Kaplan S S, Park T S, Gonzales E R, *et al*. Hydroxyethyl starch reduces leukocyte adherence and vascular injury in the newborn pig cerebral circulation after asphyxia[J]. Stroke, 2000, 31(9): 2 218—2 223.

[2] Hoffmann J N, Vollmar B, Inthorn D, *et al*. A chronic model for intravital microscopic study of microcirculatory disorders and leukocyte/endothelial cell interaction during normotensive endotoxemia[J]. Shock, 1999, 12(5): 355—364.

[3] 姜 勇，刘爱华，赵克森. 大鼠肠系膜微循环白细胞流动分布的研究[J]. 中国病理生理杂志，1998, 14(4): 347—350.

[4] Harlan J M. Leukocyte-endothelial interactions[J]. Blood, 1985, 65(3): 513—525.

[5] 黄 碱，陈剑鸿，罗德成. 缺氧对家兔白细胞与肺微血管内皮细胞粘附的影响[J]. 第三军医大学学报，1999, 21(2): 87—89.

[6] 王培勇，许蜀闽，孙秉庸. 缺氧复合失血性休克动物血浆对血管内皮细胞与白细胞粘附的影响[J]. 中国应用生理学杂志，1995, 11(4): 337—340.

[7] Giddy J M, Park T S, Gonzales E R, *et al*. CD18-dependent leukocyte adherence and vascular injury in pig cerebral circulation after ischemia[J]. Am J Physiol, 1997, 272(6 Pt 2): H2 622—2 629.

[8] Milazzo V J, Ferrante R J, Sabido F, *et al*. Time course of leukocyte adhesion to endothelium in ischemia-reperfusion[J]. J Surg Res, 1996, 61(1): 139—142.

（编辑 薛国文）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2002)03-0322-01

下颌智齿假性冠周炎误诊 7 例

Misdiagnosis for 7 cases of pseudo-pericoronitis of wisdom tooth

廖 伟，高 军，金 君 （海军 421 医院口腔科，广州 510318）

智齿冠周炎是口腔科门诊的常见病多发病，最多发于 18～25 岁的青年，其中以下颌智齿冠周炎为多见，上颌智齿冠周炎则甚少见。由于诊治并不困难，易被临床医师轻视而造成误诊，延误患者重要疾病的治疗。现将本科自 1993—2000 年诊治 7 例下颌智齿假性冠周炎报告如下。

1 临床资料

本组 7 例患者中男性 6 例，女性 1 例，年龄 17～58 岁，其中大于 40 岁 4 例。7 例患者以下后牙疼痛就诊者 3 例，伴张口受限者 5 例，面颊部肿胀者 2 例，下颌后龈瘘、皮瘘 2 例。7 例患者均有不同程度阻生的下颌智齿，而龈红肿有盲袋溢脓者仅 1 例。初次误诊至纠正诊断时间最长的 8.5 月，最短 0.9 月，平均延误诊断时间达 3.7 月。最后确诊为颌晕肿瘤 3 例，软组织恶性肿瘤 3 例，腮腺炎症 1 例。3 例颌骨肿瘤均经摄颌晕全景片纠正诊断并在手术切除后确诊，3 例恶性肿瘤均经局部钳取活检确诊，其中 1 例有明确邻近组织恶性肿瘤罹患史。

2 讨论

智齿冠周炎的诊断基于临床症状和体征，发现有阻生智齿及其周围软组的红肿疼痛，不难作出诊断[1]，治疗也较简单、容易。将真性智齿冠周炎误诊为他病的很少，而将他病误诊为智齿冠周炎的比例稍高，我们暂称之为假性智齿冠周炎。假性智齿冠周炎不但掩盖了患者的真实病情，延误患者的治疗，而且给良好的医患关系造成极大的伤害。我们仔细分析了本组 7 例病例报告，认为造成假性冠周炎诊断的原因有以下几点：①忽视了智齿冠周炎的硬性诊断指标：盲袋的存在及龈瓣红肿触痛，仅作凭后牙疼痛、张口受限以及阻生智齿的存在就妄下诊断，本组 7 例患者中仅 1 例符合真性冠周炎的诊断指标。②先入为主，工作责任心不强。本组患者之所以平均延误诊断时间长达 3.7 月，一个很重要的原因在于首诊医师误诊后，后续接诊医师先入为主，未仔细重新体检及时纠正诊断及治疗措施，在抗炎治疗效果不明显的情况下未给予足够重视。③其实本组患者临床症状及体征并不复杂，只要门诊医师脑袋里有头颈肿瘤的基本常识，不被表面现象迷惑是可以避免误诊的。6 例肿瘤患者有 4 例年龄大于 40 岁而且发病部位是肿瘤好发区，因此对抗炎治疗效果差的年老患者进行肿瘤筛查是非常必要的[2]。④两病甚至多病在同一部位共存使得重要疾病被掩盖、被延误。本组患者虽只有 1 例，但由于其症状复杂，加之患者张口受限妨碍了体检，增加了诊断的难度，重要疾病更易被延误诊治，尤应引起我们广大口腔门诊医师的重视。

关键词：智齿；假性冠周炎
中图法分类号：R782.310.4 文献标识码：B

参考文献：

[1] 郑麟蕃，张震康. 实用口腔科学[M]. 北京：人民卫生出版社，1995. 247.

[2] 张永福. 实用口腔颌面外科学[M]. 南昌：江西科学技术出版社，1992. 149.

（编辑 陈聪连）

作者简介：廖 伟(1968—)，男，四川省人，主治医师，主要从事口腔疾病方面的研究，发表论文 11 篇。电话：(020)84219995-36343

收稿日期：2001-01-04；修回日期：2001-09-08

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net