DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.04.001


# 冲击伤和烧冲复合伤大鼠肺泡内结晶体性质的研究*

论著

郑怀恩** 程天民 林 远 古德全 阎国和 (第三军医大学预防医学系防原医学教研室) 重庆,630038

提 要 目的:进一步观察以往在冲击伤和烧冲复合伤研究中发现的肺泡内结晶体及其来源。方法:大鼠致冲击伤和烧冲复合伤,对肺泡内结晶体作 HE和血红蛋白染色。在体外制备犬与大鼠的血红蛋白结晶和血红素结晶,与肺泡内结晶体作对比观察。结果:发现肺泡内结晶体不仅与肺出血相关,而且主要存在于有红细胞溶解的肺泡腔。大鼠红细胞在体外溶解后很快形成血红蛋白结晶,其形态和染色性与肺泡内结晶体相同;而血红素结晶细小,血红蛋白染色阴性。结论:致伤动物肺泡内结晶体为出血红细胞溶解后形成的血红蛋白结晶,而不是血红素结晶。大鼠红细胞溶解后释出的血红蛋白较狗的血红蛋白更容易形成结晶。

关键词 肺 病理学;结晶体;红细胞溶解;冲击伤;烧冲复合伤

中图法分类号 R642

肺脏损伤是冲击伤和烧冲复合伤时发生的主要病变。我们最近在冲击伤和烧冲复合伤大鼠肺脏病理变化的研究中除见到明显的肺出血水肿等病变外,还发现一种肺泡内结晶体[1]。结晶体的发生率高,与肺出血密切相关,对机体可产生一定的不利影响,但其性质和形成机理尚不明确。本研究旨在对其性质和形成规律做进一步研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物实验

健康 Wistar大鼠 75只,随机分成单纯烧伤、单纯冲击伤和烧冲复合伤组,致伤条件同文献[2]。伤后 2 4 12 24 48h每组各活杀 5只,取肺、心、肝、肾等组织,常规固定、包埋、切片、HE染色后光镜观察。部分标本作血红蛋白染色(Lison-Dunn氏 Patent blue染色法)和用苦味酸酒精溶液处理以溶解酸性血红素[3]。

### 1.2 体外实验

以 4%草酸铵抗凝,抽取大鼠和狗的静脉血 3~5ml,按下述方法分别制备血红蛋白结晶和血红素结晶。

血红蛋白结晶的制备:简易制备法,将抗凝血直接滴于载玻片上,上加盖玻片,室温下放置 4h后显微镜下观察。多量结晶体制备按 Marshall-Welker方法[4]加以改良:将抗凝血去纤维蛋白,用生理盐水洗涤 2次,去上清,再加入与血浆等量的蒸溜水使红细胞溶解。取少量红细胞溶解液在镜下连续观察,其余在试管内放 4℃下过夜后观察。

血红素结晶的制备:按 Nippe's方法[4],用少量脱酯棉浸蘸新鲜血液后放载玻片上,上置盖玻片,从盖玻片边缘滴入冰醋酸 2滴,加热载玻片至气泡形成,然后放显微镜下观察。

制备的血红蛋白结晶和血红素结晶除一般形态观察外,均作血红蛋白染色。

## 2 结果

### 2.1 动物组织学观察

单烧组大鼠肺脏未见出血和结晶体形成。单冲组和烧冲组大鼠肺出血与肺泡内结晶体均较多见,发生情况见表 1。

表 1 单冲和烧冲大鼠肺出血与肺泡结晶体发生情况

**Tab 1 The incidental cases of pulmonary hemorrhage and pulmonary crystals in blast and burn-blast injury in rats**

| Pathological changes | Time of post blast injury (h) | | | | | Time of post burn-blast injury (h) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2 | 4 | 12 | 24 | 48 | 2 | 4 | 12 | 24 | 48 |
| Pulmonary hemorrhage | 5 | 5 | 5 | 4 | 2 | 5 | 4 | 4 | 4 | 5 |
| Pulmonary crystals | 0 | 0 | 5 | 3 | 2 | 0 | 1 | 3 | 4 | 5 |

* 全军"八五"攻关项目

** 郑怀恩,男,43岁,研究员 博士

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

观察中发现,伤后 4 h和 12 h出现的结晶体较细,数量也较少,而 24 h后所见结晶较宽大,为典型的长方体,在肺泡内成簇存在,见图 1 有结晶体存在的部位红细胞多已发生溶解,同一肺组织无结晶体的出血区红细胞形态完整。组化染色结果,结晶体血红蛋白染色强阳性,用苦味酸酒精溶液浸泡切片后形态未见改变。

2.2 体外结晶体的观察

简易法制备的大鼠结晶体出现于盖玻片外缘红细胞溶解区域,呈长方体,透明微黄。盖玻片下中间区红细胞完整,未见结晶。多量制备时,镜下见红细胞溶解液在半分钟内即有少量长条状结晶形成。继而结晶体增多变大,约 3 min后形成大量扁平长方体结晶,形态测量长 30~ 60μm,宽 10~ 20μm,厚 2~ 5μm,血红蛋白染色强阳性,见图 2 试管内红细胞溶解液放置后出现大量结晶。简易制备的狗的血红蛋白结晶出现时间较晚,玻片放 4 h后才出现少量针状结晶。狗的红细胞溶解液形成结晶也较慢,置玻片上约 2 h后在液滴的边缘区形成放射状针形结晶,不染色观察比大鼠血红蛋白结晶黄色略深,见图 3,而试管内放置的溶解液未形成大量结晶。

对制备的结晶体进行处理,未固定时遇冰醋酸溶液或其挥发气体后很快溶解,在蒸馏水内可被缓慢溶解。经 100% 乙醇固定后的结晶体则不能被冰醋酸等溶解。所有制备的血红蛋白结晶作血红蛋白染色均为强阳性。

红细胞在酸性环境下加热后,形成了大量梭形或椭圆形血红素结晶,大小长约 2~ 5μm,血红蛋白染色阴性,见图 4

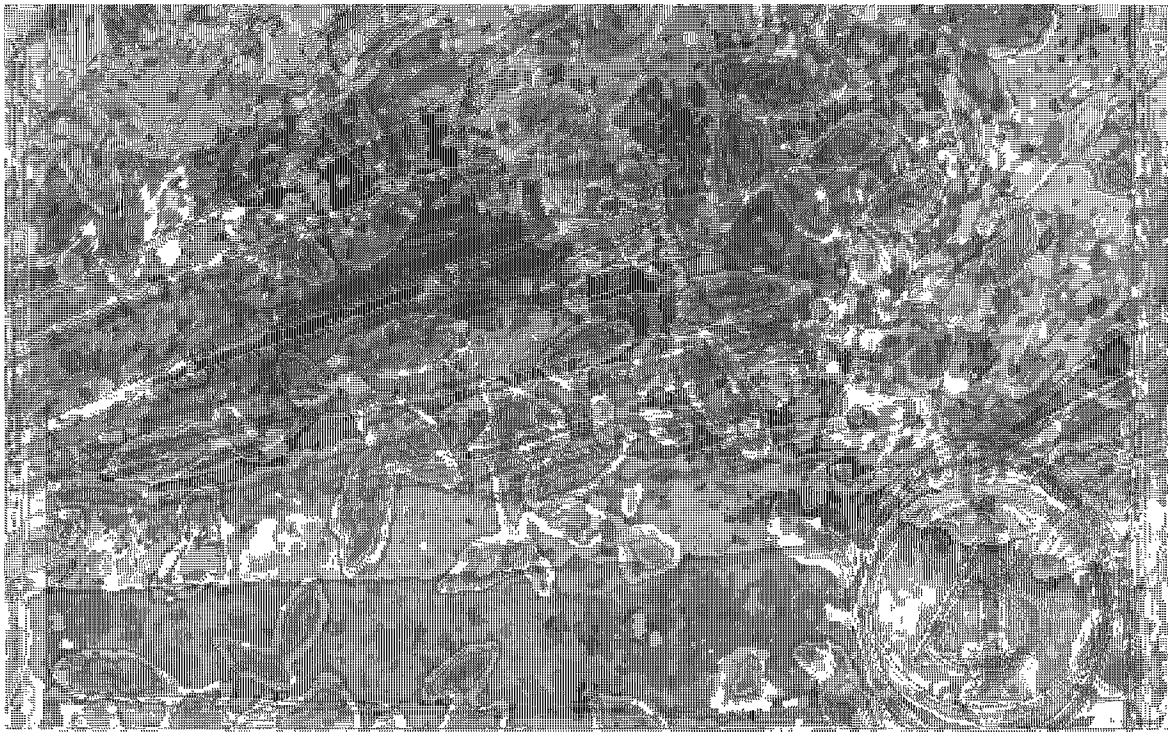


图 1 烧冲复合伤后 24 h大鼠肺泡内结晶体 (× 165)

**Fig 1 The crystals in rat's pulmonary alveoli, 24 h after combined burn-blast injury** (× 165)

图 2 体外制备的大鼠血红蛋白结晶 (× 165)

**Fig 2 Hemoglobin crystals prepared from blood of the rat** (× 165)

图 3 体外制备的狗血红蛋白结晶 (× 165)

**Fig 3 Hemoglobin crystals prepared from blood of the dog** (× 165)

图 4 体外制备的大鼠血红素结晶 (× 330)

**Fig 4 Hemin crystals prepared from blood of the rat** (× 330)

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

## 3 讨论

据以往研究我们报道了超压冲击伤和烧冲复合伤大鼠的肺泡内结晶体,发现其形成与肺出血密切相关,但结晶体的化学性质尚不明确。本实验进一步观察到,肺泡内早期所见的结晶体均出现在红细胞发生溶解的肺泡腔,红细胞完整的出血区域则不见结晶体,证实这种结晶为大鼠肺出血后红细胞溶解所形成。由于进入肺泡腔的红细胞要经过一定时间才发生溶解,又由于结晶体形成过程中是由小变大,由少至多,因此致伤大鼠肺泡内结晶体主要在损伤 12 h后才形成,并且 24 h所见结晶体更多,也比较宽大。

体外实验进一步表明,大鼠的红细胞溶解后很容易形成血红蛋白结晶。制备的血红蛋白结晶在形态和染色性质方面与肺泡内结晶体相同,而血红素结晶则与之有较大差别,从而证实肺泡内结晶体属血红蛋白结晶。体外血红蛋白结晶是在有氧环境下制备形成的,提示它们可能是氧合血红蛋白结晶,而不是一氧化碳血红蛋白结晶。肺泡内具有一定空间和有氧环境,所以出血后会形成氧合血红蛋白结晶。本实验在心、肝、肾等脏器中未见出血,也未见血红蛋白结晶。但可以设想,即使这些实质脏器发生出血,因环境与肺泡腔不同,所以难于形成较多的血红蛋白结晶。

人们早已发现不同种属的血红蛋白结晶形状有所不同。从我们体外实验的结果还可看出,不同种属血红蛋白结晶形成的速率也不一样。大鼠红细胞溶解后极易形成血红蛋白结晶,而犬的红细胞溶解后形成血红蛋白结晶较慢,并且不易形成大量结晶,形成的结晶与大鼠血红蛋白结晶形状也有所不同,镜下不易辨认。因此在以往冲击伤和烧冲复合伤狗的肺脏病理研究中未见肺泡内结晶体的报道。

(本实验受到我校基础医学部生物化学教研室董燕麟教授的热情指导,特此致谢。)

## 参考文献

1 郑怀恩,程天民,林　远等.冲击伤和烧冲复合伤后出现的肺泡内结晶体.第三军医大学学报,1995,12(2):99
2 郑怀恩,程天民,林　远等.大鼠超压冲击伤和烧冲复合伤肺出血的量化研究.第三军医大学学报,1993,15(4):313
3 Lillie R D, Fullmer H M eds. Histopathologic technic and practical histochemistry. New York: McGraw-Hill Book company, 1976. 488
4 Oser B L. eds. Hawk's Physiological Chemistry. New York: The Blakiston Division McGraw-Hill Book company, 1965. 355~359

(收稿: 1996-12-05;修回: 1997-07-15)
(编辑　冷怀明)

# A study on the nature of crystals in pulmonary alveoli after blast and combined burn-blast injuries in rats

Zheng Huaien, Cheng Tianmin, Lin Yuan, Gu Dequan, Yan Guohe (Department of Radiation Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

**Abstract** Objective: To investigate the nature and occurence of crystals in pulmonary aloevoli previously found in blast and combined burn-blast injured rats. Methods: Rats were inflicted with blast and combined burn-blast injury. Alveolar crystals were stained by HE and hemoglobin staining, compared with hemoglobin crystals and hemin crystals formed *in vitro* from rat and dog's erythrocytes. Results: It was found that the crystals mainly formed a few hours after the injury and existed in hemorrhage area with erythrocyte hemolysis. *In vitro*, rat hemoglobin can form crystals rather quickly after hemolysis. These crystals have the same morphological and staining characters as those of alveolar crystals. Hemin crystals, however, were smaller and hemoglobin staining negative. Conclusion: It has been testified that the crystals in pulmonary alveoli were hemoglobin crystals but not hemin crystals. The hemoglobin of rat is easier to form crystals than that of dogs.

**Key words** pulmonary pathology; crystals; hemolysis; blast injury; combined burn-blast inury

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