DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.01.025

体表烧伤复合内毒素注射早期对肺脏的协同损害作用

黄 宏* 刘友生 陈意生 王晓东 (第三军医大学基础医学部病理学教研室) 重庆, 400038

提 要 目的: 研究伤烧复合内毒素血症早期肺病理变化特点。方法: 采用20%总体表面积(TBSA)III度烧伤复合小剂量内毒素注射大鼠模型,检测了肺功能变化和支气管肺泡灌洗液中蛋白含量。结果: 光镜见肺间质水肿伴大量中性粒细胞(PMN)浸润,肺血管周水肿套形成,肺泡腔内大量 PMN和蛋白渗出;电镜发现气血屏障弥漫性损害。肺泡腔内见大量板层体和网格状表面活性物质。上述改变较单纯烧伤、单纯内毒素注射出现早、程度重、持续时间长。烧伤复合内毒素注射组出现一过性肺功能损害和一过性支气管肺泡灌洗液蛋白含量升高,这些改变也较单纯烧伤组和单纯内毒素注射组出现早,持续时间长。结论: 烧伤复合内毒素血症早期肺病变发展可大致分为间质性肺炎和肺泡内渗出二个阶段;烧伤复合小剂量内毒素注射对肺脏产生明显协同损害作用。

关键词 烧伤;内毒素血症;急性肺损伤;肺功能
中图法分类号 R644; R563

内毒素血症是大面积烧伤病人的常见合并症,由此而引起的多器官功能不全综合征发生率明显升高,而肺功能衰竭常最先出现。据报道,烧伤病人由于合并内毒素血症所致的急性肺损伤的死亡率几乎是100%,因而对患者生命威协极大[1]。而关于烧伤合并内毒素血症肺的病变特点及规律,尚有待研究。

1 材料与方法

1.1 动物分组与致伤

选用健康 Wistar大鼠,体重180~250g,雄雌不限,随机分为4组,即烧注组(BCEG)、单烧组(SBG)、单注组(SEG)、正常对照组(NCG)。致伤后分别于0.5、1、1.5、3、6、12、24、48 h活杀动物取材,各时相点活杀6只动物,正常对照组活杀12只动物作总体对照。

以1 ml/100g体重的凝固汽油燃烧30 s,造成体表20% III度背部烧伤[2]。烧注组于烧伤后立即注射内毒素(1 mg/kg体重, E. coli Oly B-纯化 LPS, Sigma)。单烧组仅造成体表20% III度烧伤后立即腹腔注射相同体积的生理盐水。单注组仅腹腔注射相同剂量的内毒素,对照组仅腹腔注射相同体积的生理盐水。处理后的动物在观察期间给予饲料,水喂养,且调节室内温度到25℃左右。

1.2 观察指标与方法

1.2.1 形态学观察 动物活杀取肺组织,按常规光、电镜固定、包埋切片。观察、摄像。

1.2.2 血气分析 动物经戊巴比妥麻醉后自腹主动脉采血,自动血气分析仪作血气分析,测定动脉血氧分压及 pH值。

1.2.3 支气管肺泡灌洗(BALF)及细胞计数 左下肺用4 ml无菌生理盐水灌洗2次,回收率为80%~90%。回收的BALF离心5min, 500r/min,取上清用于蛋白测定(Lowry法)。

2 结果

2.1 肺脏的病理学和超微结构变化

2.1.1 烧注组 光镜: 烧注后0.5 h,见较多肺泡萎陷,其邻近肺泡扩张;弥漫性毛细血管扩张、充血伴灶性肺出血;间质水肿,肺泡隔不规则增厚,且伴大量 PMN浸润;血管周围出现富含蛋白的水肿液形成的水肿套,见图1;大部分肺泡腔内可见蛋白渗出物和 PMN,部分肺泡腔内或间质内巨噬细胞聚集且吞噬大量脂质。致伤后1~3 h病变最为严重。到6 h,血管周围水肿套代之以炎细胞套(主要是 PMN和淋巴细胞),血管内可见较多的单核细胞滞留。伤后12~48 h,间质水肿减轻,炎细胞套消失,肺泡腔内可见较多巨噬细胞。

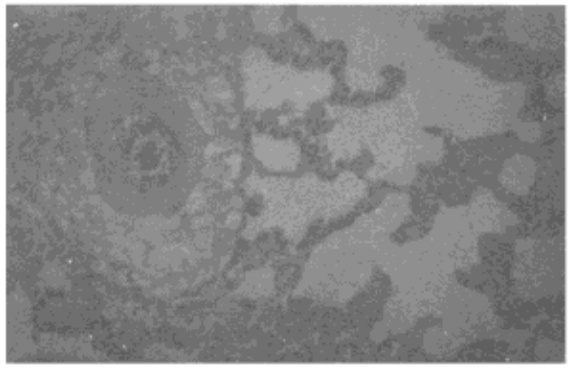


图1 血管周围出现富含蛋白的水肿液形成的水肿套 烧注后1 h (HE× 200)

Fig 1 Perirascul protein-rich edematous cuff 1 h after burn combined with injection of endotexin (HE× 200)

* 黄 宏,女,31岁,实习研究员,硕士,附属大坪医院野战外科研究所第六研究室 重庆, 400042

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

电镜:烧注后 0.5 h,毛细血管腔内可见大量血小板、PMN和红细胞滞留(正常组仅见少量细胞),有时见 PMN嵌顿于血管腔内或伸出伪足与内皮细胞粘附,有的出现胞质变性或崩解、脱粒;内皮细胞大量空泡和饮泡形成,胞质肿胀、胞浆电子透明,胞浆连接间隙增宽或有不连续窗孔形成,见图 2,线粒体空化,内质网扩张;血管基底膜不规则肿胀呈进行性加重;肺泡Ⅱ型上皮(HⅡ)大量脱落于肺泡腔内伴板层体排空;同时,肺泡腔内见大量呈同心层状的板层体以及呈丝状或网格状的表面活性物质、少量红细胞和絮状渗出物,见图 3 致伤后 1~ 6 h,上述病变进一步加重,肺泡 I型上皮(PI)出现胞质肿胀,电子密度下降,空泡增多。伤后 12 h,HⅡ 变性多见,其表面绒毛减少,变短或消失,板层体少且空化,线粒体肿胀,嵴减少,排列紊乱,核质不均匀,异染色质多、边集;至 24 h和 48 h,肺间质水肿明显减轻,HⅡ 增生多见。

图 **2** 内皮细胞浆不连续,有窗孔形成 烧注后 **0.5 h**(TEM× 11500)

Fig 2 Endothielial cells showing discontinued cytoplasmand feuestra formation. 0.5 h after burn combined with injection of endotoxin (TEM× 11 500)

图 **3** 肺泡腔内网格状表面活性物质,细胞碎片及中等电子密度的絮状物 烧注后 **0.5h**(TEM× 15500)

Fig 3 Surfaetant in net form, cellular fragments and some flacculus materials were observed in alvoeli. Half an hour after burn combined with injection of endotoxin (TEM× 15500)

2.1.2 单纯烧伤组 光电镜观察:烧伤后 0.5 h仅可见肺泡腔内大量巨噬细胞。烧伤后 1.5~ 3 h病变明显。病变类型与烧注组类似,病程短,到 12 h病变明显减轻。

2.1.3 单纯 LPS注射组 光、电镜观察:注射 LPS后 6 h肺病理改变明显且与烧注组类似,病变程度较单烧组、烧注组轻,持续时间短,到 12 h病变明显减轻。

2.2 血 pH值见表 1

烧注组于伤后 1h血 pH值显著低于正常对照组,到 24 h与正常组无显著差异,烧注组与单烧组比较各时相点 pH值无显著差异,烧注组于 6 12 h血 pH值较单注组显著降低。

表 **1** 各组血 **pH** 值变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 changes of blood pH in different groups($\bar{x}\pm s$)

Groups	Preinjury	Postinjury (t/h)							
	0	0.5	1	1.5	3	6	12	24	48
SBG	7.31± 0.04	7.31± 0.08	7.27± 0.43	7.10± 0.11*	7.15± 0.17*	7.10± 0.07*	7.17± 0.14*	7.29± 0.12	7.29± 0.06
BCEG	7.32± 0.07	7.28± 0.09	7.05± 0.10*	7.02± 0.08*	7.05± 0.10*	7.07± 0.43*□	7.01± 0.15*□	7.3± 0.09	7.38± 0.05
SEG	7.29± 0.05	7.39± 0.02				7.43± 0.07	7.43± 0.02	7.45± 0.04	
NCG	7.37± 0.06								

* : $P<0.05$ *vs* NCG;□: $P<0.05$ BCEG *vs* SEG

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

2.3　血氧分压(PaO_2)见表 2

表 2　各组 PaO_2变化 (ρ /kPa) ($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Changes of PaO_2 in different groups ($\bar{x}\pm s$)

Groups	Preinjury 0	Postinjury (t /h) 0.5	1	1.5	3	6	12	24	48
SBG	11.23± 1.25	11.15± 2.24	11.36± 3.24	11.9± 1.34	14.13± 1.41	11.16± 3.81	10.27± 1.65	10.169± 0.80	11.38± 2.10
BCEG	12.31± 1.08	13.09± 0.78	10.68± 1.41	9.37± 0.98*	8.93± 0.85*△	10.14± 1.63	12.69± 1.70	13.15± 1.32	12.93± 1.65
SEG	11.21± 0.33	11.29± 1.11				11.3± 0.63	11.15± 0.88		13.33± 0.50
NCG	12.58± 0.84								

*: $P<0.05$ *vs* NCG; △: $P<0.05$ BCEG *vs* SBG

烧注组于致伤后 1.5、3 h PaO_2较正常对照组显著下降,烧注组伤后 3 h PaO_2较单烧组显著下降,单烧,单注组与对照组比较 PaO_2均无差异。

2.4　BALF蛋白含量测定见表 3

表 3　各组 BAIF蛋白含量 (ρ_B /μg ml^{-1})变化 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 3　Changes of protein content in BACF in different groups ($\bar{x}\pm s$)

Group	Preinjury 0	Postinjury 0.5	1	1.5	3	6	12	24	48
SBG	516.8± 134.5	607.9± 186.1	635.0± 184.8	595.4± 170.4	659.6± 211.0	961.7± 189.1*	447.5± 75.4	803.3± 68.8	463.7± 130.7
BCEG	389.1± 260.2	714.2± 98.6*	1195.0± 97.3*△	1035.8± 189.5*△	830.8± 127.0*	821.7± 50.9*	680.0± 200.7	467.5± 98.3	796.7± 266.0
SEG	468.7± 145.5	636.7± 178.9				527.5± 108.8	525.0± 181.8		577.5± 99.5
NCG	498.8± 91.7								

*: $P<0.05$ *vs* NCG; △: $P<0.05$ BCEG *vs* SBG

烧注组从伤后 0.5~ 6 h BALF中蛋白含量高于正常对照组,于 1h和 1.5h高于单烧组。

3　讨论

通过本实验结果可以看出,烧注组肺病变程度较单烧组、单注组明显加重,光镜下病变可大致分为间质性肺炎和肺泡渗出两个阶段。间质性肺炎最突出的改变是毛细血管瘀血、肺小血管内大量 PMN滞留。间质水肿伴大量 PMN浸润及肺泡腔内大量蛋白渗出。肺间质水肿以小血管周最为明显,呈现典型的血管周水肿套。烧注后 6~ 48 h,肺病变主要以肺泡内渗出改变为主,间质水肿明显减轻,血管周水肿套代之以炎细胞套,肺泡腔内可见较多巨噬细胞渗出。电镜下以肺毛细血管内皮细胞,基底膜、肺泡上皮为主要结构的肺气血屏障呈现不同程度的损伤性变化,其中大量 PII脱落于肺泡腔内伴板层体排空,肺泡腔内出现板层体以及不同形态的表面活性物质。烧注组这些病理改变于伤后 0.5 h即明显出现,持续时间长;而单烧组于伤后 1.5 h病变才出现,6 h病变明显,但程度轻,肺泡腔内几乎无 PMN和蛋白渗出。同时,还可发现烧注组 BALF中蛋白含量于伤后 0.5~ 6 h持续高于正常,出现了酸中毒和一过性低氧血症;而单烧组也出现了酸中毒但无低氧血症,BALF蛋白含量有一过性增高;单注组既无酸中毒也无低氧血症,BALF中蛋白含量未见增高。综上所述,揭示大鼠 20% III度体表烧伤后合并小剂量内毒素注射可引起比单纯烧伤和单纯小剂量内毒素注射更为严重的肺损伤效应。即 20% III度体表烧伤复合小剂量内毒素注射对大鼠肺损伤表现为明显协同损害作用。

本实验还观察到烧伤后 0.5h即可见大量巨噬细胞堆积于肺泡腔,这与文献[3]报道是一致的。这一现象也是烧伤致肺对 LPS敏感性增高的表现形式[4]。尽管大鼠注射 LPS后在肺脏的分布甚微[5],但烧伤刺激可使肺巨噬细胞致敏,使其对内毒素敏感性增强,即使低剂量内毒素也可刺激巨噬细胞大量合成释放 TNF、PAF、TXA$_2$、IL-1等细胞因子[4,6],从而使内毒素损伤效应得以放大。单纯烧伤伴低剂量内毒素介入可以促进急性肺损伤的发生发展。

参考文献

1 Marshall W G, Dimick A R. The Natural History of Major Burns with Multiple Subsystem Failure. J Trauma, 1993;

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

23 102
2 施新猷.医学动物实验方法.北京: 人民卫生出版社, 1979: 244~ 245
3 陈意生,史景泉.烧伤病理学.重庆: 重庆出版社, 1993 107~ 121
4 Nerlich M, Flynn J, Robert H D. Effect of thermal injury on endotoxin induced lung injury. Surgery, 1983; 93(2): 289
5 Warner A E, Decamp M M, Molina R M *et al*. Pulmonary remoral of circulating endotoxin results in acute lung injury in sheep. Lab Inrest, 1988; 57: 219
6 Frise R. Trauma primes cells: editorial review. Shock, 1994; 1: 388

(收稿: 1997-05-05;修回: 1997-12-03)
(编辑 张大春)

Synergistic injurious effects of superficial burns in combination with endotoxin injection on the lungs in rats

Huang Hong, Liu Yousheng, Chen Yisheng, Wang Xiaodong (Department of Pathology, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To investigate the pulmonary pathological changes in the early stage after burns in combination with endotoxemia. Methods: After the rats were inflicted with 20% TBSA superficial burns and injected with small dosage of endotoxin, the changes of pulmonary functions and protein content in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were determined. Results: A series of early morphological changes of the lung such as perivascular protein-rich edematous cuff, a lot of polymorphonuclear neutrophils in pulmonary interstitia etc. were found. Conclusion: 1) The pathological changes of the lungs in the early stage after burns combined with endotoxemia can roughly be divided into the following two phases: the interstitial pneumonia and alveolar effusion. 2) Burns and endotoxin can exert synergistic injurious effects on the lungs.

Key words burns; endotoxemia; pulmonary function; acute lung injury; rat

神经肽与哮喘关系的基础研究

Basic study on the relationship between neuropeptides and asthma

吴昌归* 毛宝龄 孙 滨 (第三军医大学附属新桥医院呼吸内科研究所) 重庆, 400037

探讨 P物质(SP)和血管活性肠肽(VIP)在哮喘发病机制中的作用。采用免疫组织化学染色、计算机图像分析、细胞培养、嗜酸性粒细胞(Eos)脱颗粒和粘附试验等。① 哮喘豚鼠肺内气道, SP纤维增多, VIP纤维缺乏。地塞米松处理后这种分布状态趋于正常。② SP对犬气道平滑肌细胞(ASMC)体外有促进作用, MKI受体拮抗剂、PLC抑制剂(新霉素)和钙离子通道阻滞剂对 SP的作用有不同程度的抑制效应。③ VIP对胎牛血清促犬 ASMC增殖作用呈抑制效应,这一作用被 VIP受体拮抗剂所阻断,被腺苷酸环化酶(AC)激动剂所强化。④ SP能显著增加血小板活化因子(PAF)对 Eos的促粘活性, NK-1受体拮抗剂和抗 CD_{11b}均能明显抑制 SP的这一作用。SP与人脐带静脉内皮细胞(HUVEC)共育后,能增加其对 SP+ PAF活化 Eos的粘附能力。⑤ VIP能抑制 PAF所致嗜酸性粒细胞过氧化物酶(EPO)活性的升高、脱颗粒反应和对内皮细胞的粘附。VIP的这些作用被 VIP受体拮抗剂所阻断, AC激活剂所强化。⑥ 哮喘患者外周血 T细胞对 VIP反应性降低, VIP和 NaF处理以后 [cAMP]i增加幅度均低于对照组。结论: 气道 SP纤维增多,通过促进 ASMC增生和 Eos粘附对哮喘气道高反应性形成有一定作用; VIP纤维在气道中消失削弱了对 ASMC增殖和 Eos炎的抑制作用, T细胞对 VIP反应性降低在哮喘发病学和治疗学上可能具有一定意义。

关键词 哮喘; P物质;血管活性肠肽;平滑肌细胞;气道;嗜酸性细胞; T淋巴细胞
中图法分类号 R562.25
(收稿: 1997-11-28;修回: 1998-01-15)
(编辑 王 红)

* 吴昌归,男, 35岁,主治医师,讲师,博士研究生

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