DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.01.008

急性低压缺氧对大鼠肺泡超微结构的影响

王仁鹏 吕银慧 张文军 (第三军医大学基础部电镜室) 630038
罗德成 田景亮 (第三军医大学基础部高原医学研究室) 630038

提 要 本实验应用电镜和硝酸镧示踪电镜技术,对模拟6 000 m高原缺氧48 h大鼠肺泡超微结构进行了观察。结果表明,急性低压缺氧可引起肺泡超微结构的明显改变。其主要改变如下:(1)肺泡上皮和肺泡隔内有许多镧颗粒;(2)Ⅱ型肺泡细胞损伤;(3)肺泡隔内毛细血管床的改变。这些改变可能与高原肺水肿的发生密切相关。

关键词 缺氧症;肺水肿;肺泡/超微结构;硝酸镧示踪*;大鼠
中图法分类号 R322.35;R594.3

高原肺水肿(high altitude pulmonary edema,HAPE)多见于低地急速进入海拔3 000 m以上地区的人群,此方面已有不少的临床资料报道[1]。然而,有关HAPE的肺泡超微结构方面的文献报道尚少。在急性低压缺氧时,在超微结构水平上可见到肺水肿[2][3];根据刘士群等[4]报道,HAPE的高峰期出现在缺氧48～72 h之间。目前认为血管壁通透性增加是HAPE发生的重要因素,但尚缺乏有说服力的形态学依据。为此,本实验用电镜及硝酸镧示踪电镜术,对模拟6 000 m高原缺氧停留48 h大鼠肺泡的形态结构进行了观察,以期为HAPE的发病机理提供形态学基础。

1 材料与方法

健康成年Wistar大鼠9只,体重250～300 g,雌雄不拘,随机分为平原对照组(重庆地区海拔300 m,$n=4$)和高原缺氧组($n=5$),后者在小动物低压舱内急速减压至模拟海拔6 000 m滞留48 h。实验时,低压舱内温度5℃;动物进食、饮水无限制。

所有动物均在15%乌拉坦0.5%氯醛糖腹腔麻醉(1 ml/100 g体重)后,立即开胸腔取右肺的下叶组织,无论是光镜标本,还是电镜样品,都置于相应的固定液内抽气,使其下沉。

光镜:10%中性福尔马林固定,按常规石蜡切片技术处理,切片厚7μm,HE染色并观察。

常规电镜:3%戊二醛磷酸缓冲液(pH7.4)固定,24 h,4℃;漂洗后,1% O_5O_4 后固定2 h;丙酮脱水,Epon618包埋,LKB-NOVA型超薄切片机切片;染色后,JEM-2000EX型电镜观察。

硝酸镧示踪电镜:前固定液为含2%硝酸镧的3%戊二醛0.1 mol/L二甲胂酸钠缓冲液(pH7.4),2～4 h,4℃;用含2%硝酸镧的漂洗液清洗3次,每次10 min,5%蔗糖0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH7.4)处理10～15 min,1% O_5O_4 后固定2 h,常规电镜包埋,切片,一部分超薄切片作电子染色,一部分不作电子染色,作为对照,上述电镜下观察。

2 结果

2.1 平原对照组

2.1.1 光镜:肺泡腔清晰,肺泡隔结构正常。

2.1.2 电镜:Ⅰ型及Ⅱ型肺泡细胞清晰可辨,肺泡隔可区分为薄部与厚部(图1A),前者指的是气血屏障,此部甚薄,肺泡上皮与毛细血管内皮之间无间质成分;厚部较厚,在肺泡上皮与毛细血管内皮之间含有成纤维细胞、胶原原纤维等成分。Ⅱ型肺泡细胞表面有少许微绒毛,该细胞以胞质内含大量的嗜锇性板层小体为其特征,肺泡腔内可见少量的电子致密的网格状或板层状物质(图1B)。在染色和未染色的硝酸镧示踪的切片样品上,镧颗粒仅见于腔泡腔内,或衬在肺泡上皮的肺泡腔侧,而肺泡上皮及肺泡隔内未见镧颗粒;Ⅰ型与Ⅱ型肺泡细胞之间的紧密连接未被硝酸镧着色。

2.2 高原缺氧组

2.2.1 光镜:肺泡隔增宽,有的毛细血管扩张,有某些区域内可见肺泡腔内有粉红色渗出液。其它结构如肺动脉、肺静脉未见异常。

2.2.2 电镜:(1)Ⅱ型肺泡细胞内嗜锇性板层小体数目明显减少,有的Ⅱ型肺泡细胞内嗜锇性板层小体相互融合,或与细胞膜融合,将其内容物释放到肺泡腔,以致在肺泡腔内存在大量电子致密的环状或规则排列的网格状结构。核周隙增宽,内质网扩张(图2);(2)Ⅰ型肺泡细胞变薄,有时可见细胞膜的损伤、断裂,并形成髓鞘样结构(图3);(3)肺泡表面与肺泡隔的形态不规则,常常出现细小的突起,有的呈指状,有的呈鹿角状,在这些异常的突起内含有管腔甚窄,甚至闭锁的毛细血管(图4);(4)肺泡隔内毛细血管除上述情况外,尚有毛细血管扩张,或者其形态很不规则,以至有的毛细血管腔变窄;毛细血管内皮细胞吞饮小泡增多。偶见毛细血管内皮细胞间细胞连接分离(图3);(5)肺泡隔增宽,薄部虽可增宽,但主要表现在厚部不同程度地变宽,有的明显增宽,其内充填着低电子密度的细颗粒状物质以及胶原原纤维等成分(图3～5)。有时在肺泡腔内亦可见

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



图 5 缺氧 48 h 的肺泡



图 6 缺氧 48 h 的肺泡



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

3 讨论

本实验结果表明，模拟 6 000 m 高原缺氧 48 h 可引起大鼠肺泡形态结构较明显的改变。

(1)肺泡上皮和毛细血管壁通透性增加，其结果与文献报道一致[5]。然而，本实验应用硝酸镧示踪电镜术，从超微结构水平上证实了高原缺氧时肺泡上皮和毛细血管内皮细胞通透性增加，此结果尚未见文献报道。在正常情况下，镧离子不能透过细胞膜及紧密连接。为此，硝酸镧示踪电镜术已广泛应用于细胞膜通透性改变的研究之中[6]。本实验在缺氧 48 h 的肺泡上皮、毛细血管内皮以及肺泡隔间质内均有镧颗粒存在。这说明急性低压缺氧可直接引起这些生物膜的通透性增加，而发生肺水肿。此外，肺泡上皮细胞之间的紧密连接也被硝酸镧着色，这提示肺泡隔间质水肿液可经此途径渗入到肺泡腔内。毛细血管内皮细胞间连接的分离，提示血液成分可直接进入肺泡隔内，或再经通透性已增加的肺泡上皮渗到肺泡腔内。

(2) Ⅱ型肺泡细胞超微结构损伤，主要表现为嗜锇性板层小体数量明显减少，排空现象增加以及肺泡腔内有大量电子致密的、不同形式的表面活性物质(surfactant)。表面活性物质的产生和分泌是需能过程。在正常状态下，表面活性物质分泌到肺泡腔中以极快速度分布于肺泡表面，形成一层与空气临界的液态膜。它不仅构成了气血屏障的重要组成部分，而且在降低肺泡表面张力、稳定肺泡直径、降低肺泡隔内毛细血管壁通透性、清除组织液、防止肺水肿等方面都具有重要作用。目前已证实，表面活性物质参与许多肺病理过程的发生发展[7]。本实验结果表明，急性低压缺氧所引起的Ⅱ型肺泡细胞结构损伤，可能与 HAPE 的发生密切相关。

(3)肺泡隔毛细血管的非同步性改变，即有的扩张，有的外形极不规则，有的狭窄，甚至闭锁。这些毛细血管床口径的不同步改变，无疑可导致肺微血管内血流异常和肺微循环血流量分布的不均等性，进而引起肺微血管内压升高和/或肺泡上皮及毛细血管内皮的结构损伤，最后发生肺水肿。

(4)肺泡腔内出现渗出液。本实验缺氧组仅有 1 只动物在光镜下观察到片状及单个散在性肺泡性水肿，此结果与刘士群等[8]所报道的大鼠实验性 HAPE 结果一致。但是，Scott 等[3]及 Mooi 等[9]在光镜下均未见到肺泡腔内有渗出液。

HAPE 是高原地区的特发病，其机理尚未充分阐明。众所周知，高原缺氧可引起机体诸器官功能、代谢及结构的改变，其中肺较易受高原缺氧的影响。我们认为这与肺泡结构特点密切相关，肺泡结构具有(1)肺泡上皮薄，它是机体唯一与外界直接接触的单层扁平上皮，气血屏障平均厚度不到 1μm；(2)肺泡上皮表面有一层由表面活性物质组成的液态膜；(3)肺泡隔内虽有丰富的毛细血管，但缺乏毛细淋巴管等 3 个特点。本实验应用电镜，尤其是硝酸镧示踪电镜术证实了高原缺氧可引起肺泡上皮和毛细血管壁通透性增加、Ⅰ型肺泡细胞损伤以及肺泡隔毛细血管的改变，这提示肺泡本身的超微结构及其在高原缺氧时的改变，可能是 HAPE 发生的重要形态学基础，是 HAPE 发生的重要原因。

(本文承蒙孙秉庸教授审阅，特致谢！)

参考文献

1 况　允，王亚魁，胡向明，等. 西藏地区高原肺水肿 923 例临床报告. 高原医学杂志，1986，2：16

2 Heath D, Moosavi H, Smith P. Ultrastructure of high altitude pulmonary oedema. Thorax，1973，28：694

3 Scott KWM, Barer GR, Leach E, et al. Pulmonary ultrastructural changes in hypoxic rats. J Pathol，1978，126：27

4 刘士群，高京生，李德勤，等. 大、小白鼠在模拟 6 000 m 高原 7 d 肺含水量变化. 第三军医大学学报，1984，6：111

5 Stelzner TJ, O' Brier RF, Sato K, et al. Hypoxic-induced increased in pulmonary transvascular protein escape in rats. J Clin Invest，1988，82：1840

6 Shaklai M, Tavassoli M. Lanthanum as an electron microscopic stain. J Histochem Cytochem，1982，30：1325

7 Gilliard M, Richman PM, Merritt TA, et al. Effect of volume and dose on the pulmonary distribution of exogenous surfactant administered to normal rabbit or to rabbit with oleic acid injury. Am Rev Respir Dis，1990，141：743

8 刘士群，高京生，李德勤，等. 大白鼠实验性高原肺水肿. 第三军医大学学报，1983，5：257

9 Mooi W, Smith P, Heath D. The ultrastructural effects of acute decompression on the lung of rats: the influence of frusemide. J Pathol，1978，126：189

(收稿：1993-08-27，修回：1993-11-21)

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

Effects of acute hypobaric hypoxia on the ultrastructure of pulmonary alveoli in rats

Wang Renpeng, Lü Yinhui, Zhang Wenjun (Lab of Electron Microscopy, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Luo Decheng, Tian Jingliang (Institute of High Altitude Medicine, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The ultrastructure of the pulmonary alveoli was observed with electron microscopy and lanthanum tracer electron microscopy in rats after they were exposed to a simulated altitude of 6 000 m for 48 hours. It was found that acute hypobaric hypoxia resulted in striking ultrastructural changes as follows: (1) The alveolar epithelium and the alveolar septum showed many lanthanum granules. (2)Type Ⅰ pneumocytes were damaged. (3)The capillary bed in the alveolar septum was altered. It seems that these changes might be closely related to the development of high altitude pulmonary edema.

Key words anoxia pulmonary edema; pulmonary alveoli/UL; lanthanum tracer*; rat

谷氨酰胺在烧伤早期肠道营养中的作用机制及其效果研究

余 斌 黎 鳌 汪仕良 (第三军医大学西南医院烧伤研究所) 630038

烧(创)伤后的早期肠道营养逐渐被人们所认同,而对其合理的组成目前还存有很多争议,本研究采用小型香猪烧伤模型,动物随机分为两组,GLN 组和 NON－GLN 组。伤后 2 h,两组均即开始肠道营养,GLN 组增加补充谷氨酰胺(0.64g/kg·d),NON－GLN 组则补充等量的不含谷氨酰胺的复方氨基酸。通过肠系膜下静脉、门静脉、髂静脉和髂动脉插管,动态观察了烧伤早期肠道营养以及补充谷氨酰胺对肠道结构、功能的影响,还观察了骨骼肌蛋白质代谢、全身免疫功能和应激代谢反应的变化。

主要结果:(1)门静脉血流量和氧耗量在伤后第 1 天明显下降,NON－GLN 组下降更加明显;第 4 天以后,GLN 组很快恢复到伤前水平,而 NON－GLN 组回升缓慢;门静脉 MDA 含量,伤后第 1 天 NON－GLN 组明显高于 GLN 组。肠道对葡萄糖、氨基酸、脂肪的吸收在伤后第 1 天也明显降低,NON－GLN 组下降更加明显;肠道对谷氨酰胺的利用伤后第 1 天 GLN 组明显增加,而 NON－GLN 组明显下降,伤后第 4 天两组均明显增加;肠道对葡萄糖的代谢伤后两组均出现净释放。GLN 组明显高于 NON－GLN 组。空、回肠液中 S－IgA 的含量,伤后 NON－GLN 组明显下降,GLN 组维持伤前水平;与正常动物比较,GLN 组动物的空、回肠粘膜湿重、DNA、RNA 和蛋白质含量明显增加,粘膜厚度、隐窝深度明显增加,而 NON－GLN 组明显下降。

(2)肌肉组织谷氨酰胺和丙氨酸伤后的释放量在 GLN 组明显降低,NON－GLN 组第 1 天下降,第 4 天开始明显高于伤前;肌肉 3-Mehis 的释放量 NON－GLN 组也明显高于 GLN 组;血和肌肉组织内的谷氨酰胺浓度在 NON－GLN 组下降非常显著,GLN 组则明显高于伤前。

(3)动脉血中总蛋白、白蛋白、IgA 等的含量,伤后 GLN 组无明显变化,而 NON－GLN 组明显下降;血中内毒素、TNF、铜兰蛋白含量,伤后两组均明显升高,NON－GLN 组明显高于 GLN 组,特别是在伤后 7～10 d;肠系膜淋巴结、脾脏组织中谷氨酰胺酶的活力,GLN 组明显增加,NON－GLN 组则受到明显的抑制。

(4)动脉血中分解代谢激素胰高糖素、皮质醇以及尿中儿茶酚胺和 3-Mehis 的排量,伤后两组均明显增高,NON－GLN 组明显高于 GLN 组;胰岛素含量伤后两组均升高,GLN 组显著高于 NON－GLN 组。

(5)谷氨酰胺的消耗量,伤后第 1 天 NON－GLN 组明显降低,第 4 天开始显著增加;而 GLN 组伤后第 1 天明显增加,以后均显著高于 NON－GLN 组。

无谷氨酰胺的早期肠道营养虽然在一定程度上有降低烧伤后高分解代谢的作用,但仍存在有严重的肠道结构和功能的破坏,肌肉蛋白质的严重消耗,以及全身免疫功能的严重抑制,内毒素/细菌的易位发生率明显增加。谷氨酰胺的补充能明显地防止肠道血流量的减少和减轻肠道的缺血再灌注损害,维护肠道粘膜的结构和功能,减少肌肉蛋白质的分解,促进其合成代谢;增强机体的免疫功能和抗感染能力,减轻烧伤后的高分解代谢。

关键词 灼伤;肠道营养*;谷氨酰胺/代谢

中图法分类号 R644

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