DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.02.008
第16卷第2期 第三军医大学学报 Vol.16,No.2
1994年4月 ACTA ACADEMIAE MEDICINE MILITARIS TERTIAE Apr.1994

呼吸窘迫综合征肺表面活性物质变化的探讨

陈正堂 毛宝龄 董解菊* 李天星** 欧阳章*** 刘 平**** (第三军医大学新桥医院呼吸中心) 630037

提 要 实验性呼吸窘迫综合征(RDS)兔支气管肺泡灌洗液(BALF)总磷脂,磷脂酰胆碱和磷脂酰甘油减少,白蛋白和C-反应蛋白升高,且与BALF表面张力增大相关。钌红染色见肺泡表面活性层失去连续、绒状结构,而以变性状态散落于肺泡腔。还见到纤维素阻拦肺表面活性物质(PS),使之不能向肺泡表面解聚的特殊现象。以上结果表明,PS质、量和形态结构的异常在实验性RDS发病中有重要作用;蛋白性肺泡渗出物能破坏或抑制PS的结构和功能。

关键词 呼吸窘迫综合征;肺表面活性剂;兔

中图法分类号 R563.8

本实验用生化分析、生物物理及超微结构等方法,研究实验性呼吸窘迫综合征(RDS)时,肺表面活性物质(Pulmonary surfactant,PS)的组成、功能及形态结构等的改变;并分析支气管肺泡灌洗液(BALF)中的有关蛋白,探讨PS功能异常的机理。为进一步探讨成人呼吸窘迫综合征(ARDS)的发病机制,应用外源性表面活性制剂治疗ARDS提供新的依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型

健康成年家兔18只,平均体重2.48 kg。随机分成生理盐水对照组($n=8$)和RDS组($n=10$)。RDS组动物以同种骨髓提取液0.5 ml/kg分次静脉注射,复制创伤性ARDS模型,并经血气和肺病理形态学观察等证实[1]。6 h放血活杀。

1.2 BALF表面张力测定

以生理盐水40ml/kg体重行左肺BAL,收集无血BALF。用KD-Ⅱ型表面张力测定仪[2]描记最大、最小表面张力(rmax,rmin)和滞后环面积,并由此计算稳定系数(SI),公式为:SI=2×(rmax−rmin/rmax+rmin)。

1.3 BALF磷脂组分生化分析

BALF标本以1000 rpm离心5 min除去细胞成分后,氯仿-甲醇法萃取磷脂,薄层色谱法分离磷脂组分[3]。磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰甘油(PG)和神经鞘磷脂(Sph)等磷脂标准品,均系Sigma产品分装。用硅胶G薄层板点样20 μl,展开系统为氯仿:甲醇:水(60:15:1.5),磷钼酸喷雾显色。日本产CS-910型双波长薄层色谱扫描仪扫描,波长450 nm。根据各显色点的吸收值,计算总磷脂(TPL)和已知各组分的百分含量。

1.4 Ⅰ型肺泡细胞(P-Ⅰ)板层体形态计量

两组随机各拍60张P-Ⅰ照片(最后倍数14000),按weibel等推荐的胞浆结构立体计量方法[4],进行点计数,代入公式计算板层体体积密度(V_D)、数量密度(N_D 个/μm^3)及平均体积(M_V,μm^3)。

1.5 肺泡表面活性层组化观察

用Luft介绍的钌红(Ruthenium red)染色法[5]。钌红为E·merck产品。

1.6 BALF蛋白分析

白蛋白用溴甲酚绿法测定;C-反应蛋白(C-Reactive protein,CRP)用胶乳凝集法测定。CRP胶乳试剂系用纯化的抗人CRP抗体致敏,由上海市医学化验所等生产,检出敏感度为1.0~1.5 μg/ml。

1.7 统计学处理

数据用我校数学教研室提供的医用统计程序包,行方差分析和相关分析。

2 结果

2.1 BALF表面张力

除rmax外,rmin、SI及滞后环面积,两组间均有显著差异($P<0.05\sim0.005$),如表1。

表1 对照组和RDS组表面张力(毫牛顿/米)比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Comparison of surface tension of BALF between control and RDS group (mN/m)($\bar{x}\pm s$)

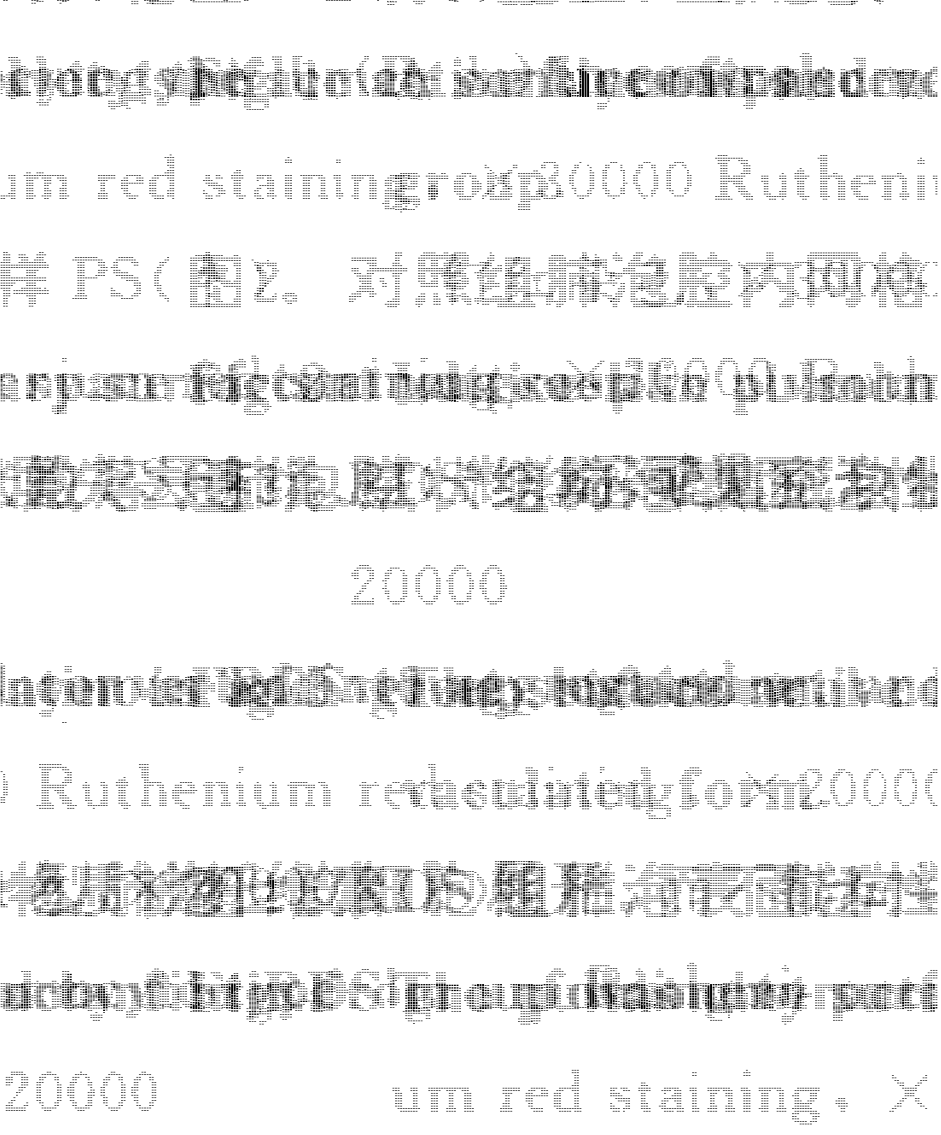
	n	r max	r min	SI	hysteretic loop area
Control	8	50.43±4.53	7.47±4.07	1.49±0.29	53.02±11.09
RDS	9	49.48±3.98	15.88±7.24	1.06±0.32	41.74±12.21
P		0.33	0.005	0.004	0.037

2.2 磷脂组分生化分析

与对照组相比,RDS组TPL减少,PC和PG分别由69.42%和15.68%降至51.76%和7.44%,Sph则由10.90%增至18.43%($P<0.001$)。PC/Sph及PG/TPL比值,RDS组均低于对照组。

*:新桥医院检验科; **:大坪医院核医学科; ***:重庆市卫生防疫站; ****:现在军事医学科学院仪器测试中心

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



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

2.5　RDS组白蛋白(1.73 g/L)和CRP浓度(7.67 mg/L)均高于对照组(分别为0.55 g/L和2.34 mg/L)($P<0.001$)。

2.6　相关分析表明，RDS组BALF白蛋白和CRP浓度与rmin正相关(r分别为0.93和0.90)，与滞后环面积(r分别为−0.94和−0.84)及SI负相关(r分别为−0.90和0.91)($P<0.05\sim0.01$)；BALF的TPL与rmin负相关($r=-0.96$)，与环面积和SI正相关(r分别为0.92和0.96)($P<0.05\sim0.05$)。PC的百分含量与环面积显著正相关($r=0.97$，$P<0.005$)。

3　讨论

3.1　PS量及组成的异常

在本实验性RDS模型，其主要表现为，TPL减少，起主要表面活性作用的PC亦减少，Sph增多。机制可能涉及下列因素：(1)P-Ⅰ合成减少：本实验用脂溶性骨髓提取液静脉注射致伤，致广泛肺微栓塞，肺组织严重缺血、缺氧，是P-Ⅰ损伤的主要原因。提取液中的油酸等游离脂肪酸，亦可损伤P-Ⅰ。我们在同一模型还发现，致伤后有大量的氧自由基产生[1]，后者对P-Ⅰ有直接毒性作用[6]。(2)广泛肺栓塞，使PS合成的前体物质供应不足。(3)据报道，受伤的P-Ⅰ合成磷脂的酶类活性发生改变[6]。这可能是本实验RDS组PG和PC减少，Sph增多的原因之一。(4)现认为，板层小体是PS的储备处[4]。RDS组板层体的V_D、N_D和M_V均显著低于对照组，从形态计量上证实了PS储备不足。

3.2　PS发生质变

作为能较好反映表面张力变化的指标，本实验RDS组BLAF的rmin增大，滞后环面积下降，提示PS降低表面张力的作用下降。其机制可能是：(1)量变引起质变。BALF中TPL低于对照组，提示RDS组PS总量低下；特别是起主要表面活性作用的PC减少，构成了PS功能异常的生化基础。近来注意到PG能稳定板层小体，增加二棕榈酰卵磷脂的流动性，改善PS的功能[6]。故其减少亦可影响PS的功能。(2)PS受到干扰抑制：RDS组BALF白蛋白和CRP升高，且与表面张力增大相关。文献报道，包括白蛋白在内的多种血浆蛋白能抑制PS的功能，以纤维蛋白单体的抑制最强[6]；CRP可在Ca^{++}参与下干扰PC的生理功能[7]。本实验电镜观察到纤维蛋白阻挡PS，使之不能向肺泡上皮解聚，为这种抑制作用提供了形态学依据。此外，RDS组肺内大量聚集的白细胞，据报道可释放糖脂、弹性蛋白酶和磷脂酶A_2等，破坏PS的正常结构和功能。

3.3　PS形态结构异常

RDS组肺泡表面活性层丧失正常的连续、绒状结构，肺泡内有生理活性的网格样结构的PS减少，被聚集成块状或空泡化的变性PS所代替。这可能与兔致伤后呼吸浅表、频数有关。Massaro等[8]证实，表浅通气可使PS发生聚合；聚合状态的PS进入气-液界面，降低表面张力的速度明显变慢，因而与ARDS的发病有关。

3.4　PS异常在ARDS发病中的作用

PS异常，降低表面张力的作用下降，肺泡和小气道易于萎陷，肺顺应性下降，致严重的呼吸窘迫。由于通气障碍，加重了组织缺氧。肺泡表面张力增加，根据Starling定律，可加重肺泡渗出；后者进而又抑制、干扰PS的生理功能。从而形成了ARDS发病机制间的恶性循环。这可能是ARDS病理过程一经启动，就难以阻断的原因之一。本文结果也为应用外源性表面活性制剂治疗ARDS提供了新的实验依据。

(本实验磷脂标准品系第二军医大学病理生理教研室吴中立教授惠赠；有关测试还得到第三军医大学陈兆珍、殷均斐、可金星及陈希伟等老师的大力协助。特致谢意！)

参考文献

1　陈正堂，毛宝龄，苟　俊，等.氧自由基在实验性骨髓型呼吸窘迫综合征发病中的变化.中华内科杂志，1993，32(9)：594

2　许剑欧，刘志远.肺表面活性物质表面张力动态测试.第三军医大学学报，1987，9：50

3　林卓坤，主编.生物化学实验技术丛书：色谱法(一).北京：科学出版社，1982：134

4　燕　生，穆魁敏，刘秉锟，等.家兔油酸型RDS肺泡Ⅱ型细胞板层体定量研究.中华医学杂志，1987，67：508

5　Lūft JH. Ruthenium red and violet. Anat Rec，1971，171：374

6　陈正堂，毛宝龄(综述).肺表面活性物质与成人呼吸窘迫综合征.国外医学：呼吸系统分册，1992，12：11

7　Li JJ，Sanders RL，McAdam KPWJ，et al. Impact of C-reactive protein (CRP) on surfactant function. J Trauma，1989，29：1690

8　Massaro D，Clerch L，Temple D，et al. Surfactant deficiency in rats without a decreased amount of extracellular surfactant. J Clin Invest，1983，71：1536

(收稿：1993-08-05；修回：1993-12-10)

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

Study of changes of pulmonary surfactant in respiratory distress syndrome and their mechanisms in rabbits

Chen Zhengtang, Mao Baoling, Dong Jieju, Li Tianxing, Ouyang Zhang, Liu Ping (Clinical Center of Respiratory Disease, Xinqiao Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630037)

Abstract In the rabbit model of experimental respiratory distress syndrome (RDS) it was found that total phospholipids, phosphotidylcholine, and phosphotidylglycerol were decreased in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and the amount of albumin and C-reactive protein was increased in BALF in the RDS rabbits, which was correlated with an elevation of the surface tension of BALF. With ruthenium red staining, the continuous and velvety structure of the alveolar surface active layer of RDS animals was seen being converted into aggregated or vacuolized forms scattered in the alveolar cavity. It was also found that pulmonary surfactant was prevented by fibrin from unfolding on the alveolar surface. These findings suggest that the abnormality of the quality, quantity and morphology of pulmonary surfactant plays a critical role in the pathogenesis of RDS and the proteinous exudate of the alveoli can destroy the structure and inhibit the function of pulmonary surfactant.

Key words respiratory distrss syndrome; pulmonary surfactant; rabbit

中孕引产清宫致膀胱、尿道、阴道严重损伤一例

陶晓靖 史常旭 (第三军医大学西南医院妇产科) 6300388

患者李×,女,23岁,合川县农民,住院号174972,孕3产1,末次月径1990年11月20日,孕4月在当地乡医院行引产术。注药后回家自娩一死胎,因胎盘滞留回医院行清宫术。术中患者疼痛难忍,术者疑有损伤而将患者转入当地县医院,观察一天后于1991年3月22日转来我院。患者自清宫术后会阴部剧痛,不能自主排尿,尿液自阴道流出。患者既往健康,体检 T:37.7℃,P:90/min,BP:14.5/8 kPa,R:24/min。神清,表情痛苦,抬入病房。心肺(-),腹平软,无压痛反跳痛及肌紧张,肝脾未触及,移动性浊音(-),肠鸣音存在。妇科情况:会阴部血染,尿道口正常,自阴道口脱出暗褐色坏死组织二块,分别为2 cm×2 cm×1 cm 及3 cm×4 cm×1 cm 大小。因患者不能忍受妇科检查,试用导尿管经尿道口插入,约5 cm 处见导尿管自阴道口穿出。初诊尿道断裂请泌尿科会诊,经辨认确认阴道口脱出组织中靠前方一块为坏死的近段尿道。在硬膜外麻醉下行阴道检查,见阴道前壁距离尿道口约1 cm 处阴道粘膜与尿道组织完全分离,宽约1.5 cm,阴道前穹窿处有一直径约2.5 cm 的破口。宫颈4点至8点处环形撕脱,宽约3 cm,长8 cm,部分脱出于阴道口外。宫颈内口闭。子宫如孕80天大小,与泌尿科医师联合手术,开腹后见子宫体无损伤、质软,浆膜水肿。切开膀胱见内口右侧有一长4 cm 的不规则裂口,膀胱三角区有一直径约3 cm 的破口,均与阴道相通。膀胱颈部尿道完全断裂,近端尿道自阴道口脱出、坏死。行宫颈修补术及子宫次全切除术(剖视见宫腔内有完整胎盘)以保留宫颈支托膀胱,然后行膀胱尿道端端吻合术,膀胱修补术,膀胱造瘘术及阴道修补术。但因尿道、膀胱组织损伤严重,缺损较多,膀胱尿道吻合不满意,术后仍漏尿。1991年10月8日入泌尿科行膀胱阴道瘘修补术及尿道再造术,术后能自主排尿,但仍有阴道漏尿,于1992年4月16日再次入泌尿科,确诊为膀胱颈近侧0.3 cm 处尿道阴道瘘,经阴道行尿瘘修补后成功痊愈出院。

此为一例罕见的清宫术并发症。术者在解剖关系辨认不清的情况下粗暴操作。误将环形脱落的宫颈组织当胎盘组织,将阴道前穹窿当宫颈口,强行施行"清宫术",以至引起膀胱、尿道和阴道严重损伤,应引以为鉴。预防关键在于严格贯彻执行计划生育手术常规,县以下无条件单位禁作引产术,施术者必须经过严格技术培训后方能上岗施术,以避免类似严重并发症发生。

关键词 引产,人工/并发症;膀胱/损伤;尿道/损伤,阴道/损伤

中图法分类号 R719.3

参考文献

1 陆子兰,主编.计划生育理论与实践.广州:广东科技出版社,1988.360~361

(收稿:1993-10-06;修回:1994-02-22)

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