DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.05.004

冲击伤大鼠肺形态变化的定量研究

赵 敏 王正国 刘大维 张清华 （野战外科研究所 四室）

王声文 周 萍 （电镜室）

提 要 用立体计量方法，结合透射电镜观察，研究了冲击伤大鼠肺的形态变化。结果发现：冲击伤大鼠肺毛细血管床容积（Vc）和内表面积（Sc）显著低于正常对照值；血气屏障的算术平均、调和平均厚度（Tat，Tht），肺毛细血管中粒细胞、血小板的体积（V_{PMN}，V_{PLT}）和体积密度〔$Vv_{(PMN,C)}$、$Vv_{(PLT,C)}$〕显著高于正常对照；肺氧弥散量〔D_L（O_2）〕明显降低，并与动脉血氧分压（PaO_2）显著相关。形态计量指标与伤情相关。结合定性观察结果，认为肺冲击伤后毛细血管床的破坏是肺泡出血、水肿和早期肺气体交换障碍的主要原因之一。并对有关损伤机理进行了讨论。

关键词 冲击伤；肺；形态测量学；肺氧弥散量

肺冲击伤病理研究已有不少文献报导[1-6]，但尚未见从形态计量学角度进行研究的资料。对肺形态变化进行定量研究，有助于说明冲击伤发生机理，并对冲击伤数学模型的建立有重要意义。本实验采用计算机辅助的立体计量技术，结合透射电镜观察及血气分析，探讨冲击伤早期（45min内）肺的形态、功能变化及二者的联系。

材 料 与 方 法

Wistar雌性大鼠，体重167.75±10.57g。随机分为4组：正常对照C组，致伤Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组。在模拟激波管内电雷管引爆50gTNT炸药产生冲击波，大鼠置于管口外距管口60cm（Ⅰ组，LD_0）、40cm（Ⅱ组，LD20）、6cm（Ⅲ组，LD_{40}）处致伤。

伤后立即麻醉（3%戊巴比妥钠腹腔注射0.15ml/100g），腹主动脉采血做血气分析。

按Weibel[6]方法固定。Scheler氏法测定肺体积[7]。右中叶肺全叶间隔连续切片（Step section）[8]。光镜下测算肺实质的体积密度〔$Vv_{(P,L)}$〕、肺泡隔的体积密度〔$Vv_{(S,P)}$〕、肺泡腔的体积密度〔$Vv_{(P_3,P_2)}$〕、出血肺泡的体积密度〔$Vv_{(P_3,RBC,P_2)}$〕。左肺叶按Weibel的采样方法，随机取10块组织块，其中9块切片，在JEM-100SX电镜下拍照[9]，光栅复型（中科院科仪厂）校正放大倍数，终放大为6125。测试工具（M168，A100）为Weibel教授所赠，分别用来进行点计数（图1）及截线长度测量（图2）。数据的采集、运算均在苹果Ⅱ微机上进行（采用Point Counting Program）[10]，屏障厚度及氧弥散量的运算采用作者设计的程序（见另文）。

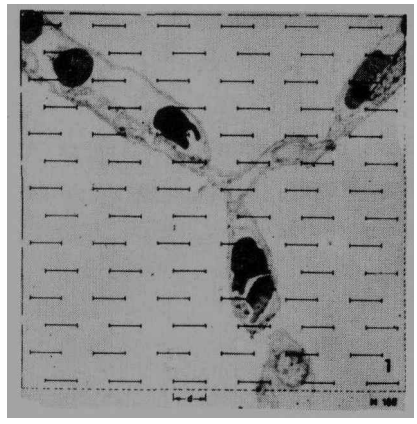


图1 点计数示意图（×1500），测试格为M168型

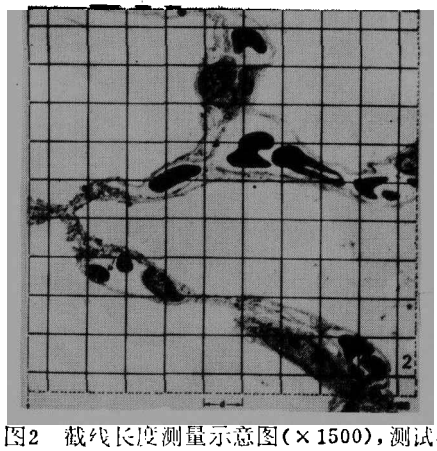


图2 截线长度测量示意图（×1500），测试格为A100型

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

计量指标的样本均数 t 检验及相关系数显著性检验用微机统计程序进行。

结　果

一、血气分析

各致伤组伤后动脉血pH都明显下降（C 组、及Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组值分别为7.31±0.05，7.26±0.03，7.21±0.02，7.17±0.22）。Ⅱ、Ⅲ组PaO_2（50±6.24，50.15±8.65mmHg）与C组值（89.85±3.7 mmHg）比较，统计学差异非常显著（$P<0.001$）。而动脉血HCO_3^-伤后无变化。

二、大体及光镜观察

肉眼可见肺表面有点片状程度不一的出血。光镜下见肺泡出血、水肿、肺泡隔破坏致几个肺泡融合而成的“大肺泡”。动物距管口近，则破坏较重，损伤范围较大。

三、透射电镜观察

各伤组大鼠肺泡腔内可见红细胞及水肿液；常见毛细血管管腔内白细胞及血小板聚集（图 3）；Ⅰ型上皮、内皮胞浆电子密度降低，其内有较正常吞饮小泡大的“泡状结构”；基底膜的泡状水肿亦常见，将内皮薄部掀起，突入毛细血管腔（图 4）。除了在损伤程度及病变范围上有差异外，各伤组间超微结构变化无明显差异。



图3　毛细血管中血小板聚集(P)（×6000）

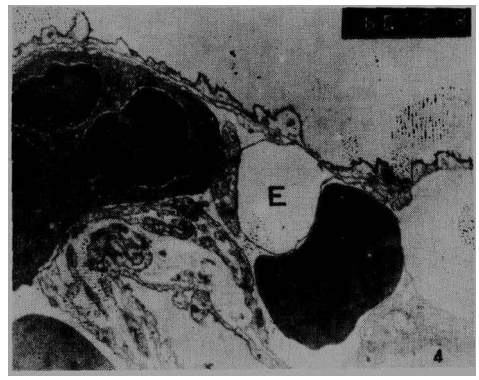


图4　基底膜小泡突入毛细血管腔(E)，并可见一血小板及中性白细胞（×6000）

四、立体计量结果

1. 冲击伤大鼠肺泡内表面积（S_A）与正常对照值无明显差异，而肺泡毛细血管床容积（Vc）及内表面积（Sc）均较正常对照值下降（图 5、6）。

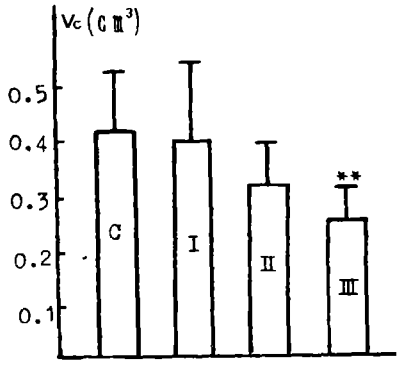


图5　肺毛细血管床容积

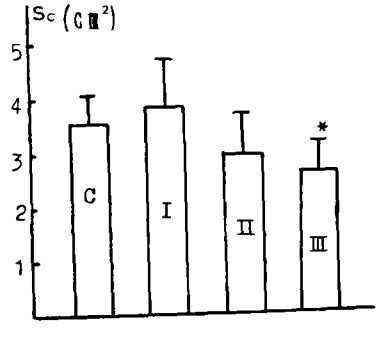


图6　毛细血管床内表面积

注：与正常对照值比较 * 示$P<0.05$，以下表图同

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

2. 冲击伤大鼠Ⅰ、Ⅱ型上皮及内皮细胞的体积密度$Vv_{(I,s)}$、$Vv_{(II,s)}$、$Vv_{(en,s)}$均高于正常对照值（表1）。

表1 肺泡 Ⅰ、Ⅱ型上皮及内皮的体积密度

	C	冲击伤		
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ
$Vv_{(I,s)}$	0.8310±0.01	0.0754±0.008	0.0973±0.29	**0.1131±0.011
$Vv_{(II,s)}$	0.0496±0.009	0.0628±0.027	0.0680±0.04	0.0756±0.025
$Vv_{(en,s)}$	0.1017±0.025	0.1021±0.010	0.1101±0.02	**0.1489±0.032

注：（1）表中数据为均值±SD

（2）与正常对照值比较 **：$P<0.01$。以下表图同

3. 冲击伤大鼠肺毛细血管床中粒细胞及血小板的体积密度〔$V_{V(PMN,c)}$，$V_{V(PLT,c)}$〕及体积（V_{PMN}，V_{PLT}）均高于正常对照（图7）。

4. 血气屏障的算术平均厚度（Tat）及调和平均厚度（Tht）均大于正常对照值（图8）。

5. 冲击伤后，大鼠的血气屏障氧弥散量〔Dt(O_2)〕、红细胞氧弥散量〔De(O_2)〕均降低，导致肺氧弥散量〔D_L(O_2)〕显著下降（表2）。

6. PaO_2与D_L(O_2)相关分析表明，二者相关显著（$P<0.0001$，$r=0.87$）（图9）。

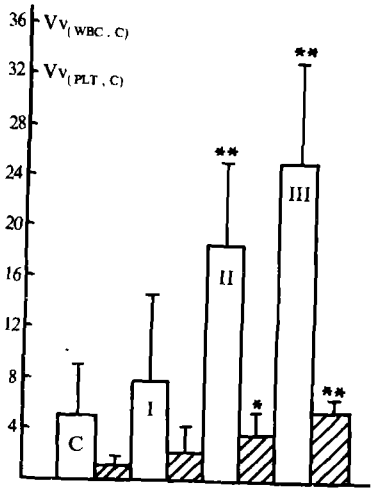


图7 肺毛细血管中粒细胞（□）及血小板（▩）的体积密度（$\times 10^{-2}$）

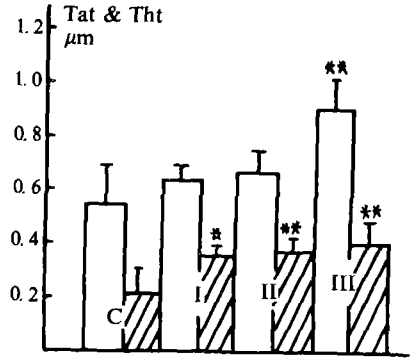


图8 血气屏障的算术平均厚度（□）及调合和平均厚度（▧）

表2 肺氧弥散量的变化（单位：O_2ml/min·mmHg）

	C	冲击伤		
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ
Dt (O_2)	57.35±28.66	*31.07±8.70	*26.56±11.33	**22.81±12.45
Dp (O_2)	159.94±36.61	210.58±183.35	284.93±185.50	133.24±82.07
De (O_2)	5.35±0.38	*3.53±0.30	**2.63±0.02	**2.41±0.06
D_L (O_2)	4.64±1.33	*3.07±1.31	**2.36±0.37	**2.13±0.59

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

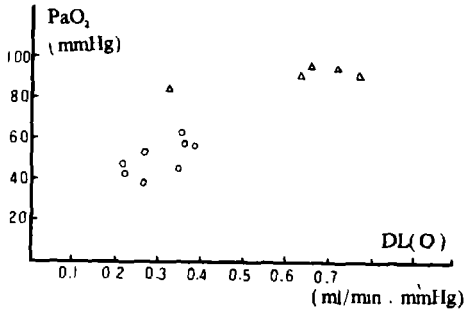


图9 动脉血氧分压与肺氧弥散量的相关分析 ($r=0.87, P<0.0001$)

讨　论

肺冲击伤的主要病理变化是肺泡出血、水肿、肺泡隔破坏[1-6][11]。本实验定性观察结果与概往报导一致。透射电镜下，见内皮及Ⅰ型上皮细胞肿胀，胞浆中出现较正常吞饮小泡大的泡状结构，少数泡状结构中可见残留的线粒体嵴样结构，故推断该结构可能是一种变性的细胞器。

目前认为，冲击伤肺出血主要是小血管破裂造成的[1]。但具体的出血部位并不明确。扫描电镜下观察到肺泡隔上毛细血管破裂、离断，红细胞从破裂口逸出[13]，结合形态计量指标Vc、Sc的变化，作者进一步推论肺泡隔上毛细血管破坏是冲击伤肺出血的主要原因之一。

近年完善起来的肺立体计量技术能较全面、定量反映肺的形态结构，并在一定程度上把肺的形态与功能联系起来[6]。在肺冲击伤研究中，以往估计损伤程度的方法有很大的主观性。立体计量方法的建立为深入研究肺冲击伤提供了一套客观的指标。从本实验的结果，可以看出形态变化的定量指标同冲击波强度相关。这可能有助于冲击伤数学模型的建立，即冲击波—损伤程度间的定量联系，进而找出影响这一联系的因素，在一定程度上说明冲击伤发生机理，进而为防护找到一定的理论基础。通过立体计量，肺损伤后形态变化及随之而来的功能变化间的联系亦得到了比较准确的说明。$D_L(O_2)$与PaO_2的相关分析表明，它们在反映损伤程度上是一致的，形态计量能较准确地反映功能变化，冲击伤早期，PaO_2下降的主要原因是$D_L(O_2)$下降，即主要是由于肺换气功能障碍。

Vc、Sc、Tat、Tht的变化表明，毛细血管床的破坏是肺冲击伤形态变化的重要方面。其损伤机理可能与碎裂效应和血流动力学变化有关。Sc、Vc的减少及Tht的增加是$D_L(O_2)$下降的直接原因。肺内气体的弥散面积为$(S_A+Sc)/2$，弥散阻力与Tht呈正比。血气屏障的氧弥散量Dt (O_2)与$(S_A+Sc)/2$呈正相关，与Tht呈负相关。冲击伤后肺内弥散面积减小，屏障厚度增加导致了$Dt(O_2)$下降，而Vc减少导致了$De(O_2)$下降。最终导致了$D_L(O_2)$下降。

冲击伤大鼠肺毛细血管内$Vv(_{PLT,C})$、$Vv(_{PMN},C)$、V_{PLT}、V_{PMN}高于正常对照值，进一步证实冲击伤后早期肺内白细胞、血小板的聚集。这种聚集可能在肺的继发病变中起重要作用。

（衷心感谢Weibel教授，Knol博士和杨志焕、唐承功、张大春老师在实验中给予的帮助）。

参 考 文 献

1. 王正国。冲击伤，北京：人民军医出版社 1983
2. 王正国，等。肺冲击伤病理学。解放军医学杂志 1983；8（3）：180
3. 王正国。冲击伤。中华外科杂志 1979；17（1）：74
4. Phillips YY Primary blast injuries. Ann Emerg Med 1986; 15: 1446
5. Moe JB, et al. Applied and basic as-

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

pects of noise induced hearing loss. Plenum Publishing 1986: 473
6. Weibel ER. Morphometric and stereological methods in respiratory physiology including fixation techniques. Elsevier Scientific Publishes Ireland Ltd 1984
7. Weibel ER. Stereological Methods. Academic Press London 1979: 1
8. Crapo JD, et al. Structure and biochemical changes in rat lungs occurring during exposure to lethal and adaptive doses of O_2. Am Rev Respir Dis 1980; 122: 123
9. Muller AE, et al. Comparison of two subsampling methods for electron microscopic morphometry. J Microsc 1981; 123: 34
10. Knol RGE, et al. A BASIC program for computer-assisted point-counting techniques. Anal Quant Cytol Histol 1986; 8 (1): 75
11. Chiffelle TL, et al. The biologic and pathologic effects of blast injury. Technical Report on Contract DA-49-146-XA-055, USA. 1966
12. 赵敏，等。正常和冲击伤大鼠气道及肺的扫描电镜观察。第三军医大学学报 1988; 10 (6): 470

(收稿：1988.10.18；修回：1989.7.15)

A Morphometric Study of the Lungs in Blast Injured Rats

Zhao Min, et al (Research Institute of Surgery, Third Military Medical College)

The morphological changes of the rat lung with blast injury are quantitified with a stereological method. After blast the pulmonary capillary volume and internal surface area decreased significantly, arithmatic and harmonic mean thickness of the air-blood barrier, the volumes of PMN and platelet in capillury increased remarkably. The morphometric lung diffusion capacity of oxygen (DLO_2) is reduced markedly mainly due to the decrease of diffusion capacity of air-blood barrier and erythrocyte. The change of DLO_2 is closely correlated with the arterial blood oxygen pressure, indicated that the damage of pulmonary capillary is one of the main causes of alveolar bleeding and the early respiratory insufficiency. A mathematic relation can be established between the intensity of the blast wave and the corresponding morphological changes of the injured lungs.

Key words: blast injury/CO; lungs/PA; morphometry/MT; pulmonary diffusion capacity

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