

参加1988年第一届全国
病生休克学术会议

科 研 论 文 汇 编

(1985—1988)

湖南医科大学病理生理学教研室

一九八八年十月

科 研 论 文 索 引

(1985—1988)

湖南医科大学病生学教研组

1988、8月印

编号	作者	题 目	杂 志
肺 ₁ (P1)	罗正曜等	氧自由基在成年呼吸窘迫综合征 发生发展中的意义	湖南医学院学报(全文) 1988, 13(4) (待发表 已定稿)
肺 ₂ (P15)	唐 燕等	氧自由基对肺动脉内皮细胞的损 伤及654-2实验治疗	待发表 (文摘)
肺 ₃ (P16)	王燕如等	氧自由基在肺动脉内皮细胞缺氧 性损伤的作用及654-2的防治 效果	待发表 (文摘)
肺 ₄ (P17)	宋德坤等	氧自由基在油酸所致离体大鼠肺 损伤中的作用	待发表 (文摘)
肺 ₅ (P19)	倪花平等	内毒素对肺内皮细胞的影响及 654-2的实验治疗	待发表 (文摘)
肺 ₆ (P20)	邓恭华等	654-2对油酸所致肺损伤的 保护作用	待发表 (文摘)
肺 ₇ (P22)	余小英等	654-2对实验性呼吸窘迫综合 征支气管肺泡灌洗液细胞影响	湖南医学院学报(全文) 1985; 10(1): 13-18

编号	作者	题目	杂志
肺 ₈ (P32)	徐翎等	呼吸窘迫综合征兔肺泡巨噬细胞糖皮质激素受体的变化	湖南医学院学报 (全文) 1987; 12(1): 11-14
肺 ₉ (P40)	徐翎等	654-2对兔呼吸窘迫综合征肺泡巨噬细胞糖皮质激素受体的影响	同上 (全文) 1985; 12(3): 227-230
肺 ₁₀ (P46)	葛鸣等	654-2对内毒素血症狗肺解聚血小板微聚物功能的影响	同上 (全文) 1985; 10(1) 7-11
肺 ₁₁ (P55)	郭立武等	内毒素休克狗肺解聚功能受损机制探讨	待发表 (文摘)
肺 ₁₂ (P56)	肖献忠	内毒素休克狗血浆VIII因子相关抗原的动态变化机制	湖南医学院学报 (全文) 1987; 12(3): 205-208
肺 ₁₃ (P64)	罗涵等	一种内毒素引起肺损伤的动物实验模型	同上 (全文) 1987; 12(1): 43-46
心 ₁ (P71)	胡萍等	大白鼠心脏再灌流综合征模型	同上 (全文) 1986; 11(1) 15-18
心 ₂ (P74)	陈广文等	SOD对兔心缺血后再灌流损伤的影响	湖南医学 (全文) 1985; 2(3): 62
心 ₃ (P77)	尤家骥等	大鼠心脏再灌心律失常的实验治疗	湖南医学院学报 (全文) 1986; 11(1): 15-18

编号	作者	题 目	杂 志
心 ₄ (P81)	田鹤智 尤家骅等	大白鼠心脏缺血后再灌流的心肌收缩性能变化和心律失常	蚌埠医学院学报 (全文) 1987; 12(2): 94-102
心 ₅ (P96)	尤家骅等	654-2对缺血再灌流心功能的保护作用	湖南医学院学报 (全文) 1988; 13(1): 13-19
心 ₆ (P106)	罗 涵等	国产SOD对缺血/再灌流心功能损伤的保护作用	湖南医学院学报 (全文) 1987; 12(4): 331-334
心 ₇ (P112)	肖惠清等	654-2对心肌缺血再灌注损伤的保护作用	待发表 (全文)
心 ₈ (P113)	曹旅川等	缺血/再灌流大鼠心肌组织MDA的测定	待发表 (文摘)
心 ₉ (P115)	曹旅川等	654-2抗缺血/再灌流大鼠心肌组织MDA的作用	待发表 (文摘)
心 ₁₀ (P117)	郭殿林等	654-2对离体大白鼠心钙反常的影响 (心功能变化)	待发表 (文摘)
心 ₁₁ (P119)	唐外星、 郭殿林等	654-2对离体大白鼠心钙反常的影响 (细胞内钙定位及超微结构的变化)	待发表 (文摘)
心 ₁₂ (P122)	肖献忠等	儿茶酚胺耗竭对大鼠缺血及缺血后再灌流所致心律失常的影响	待发表 (文摘)
心 ₁₃ (P125)	邓恭华等	地塞米松对大鼠心脏缺血再灌流综合征心律失常的影响	待发表 (文摘)

编 号	作 者	题 目	杂 志
心 ₁₄ (P127)	肖猷忠等	性别对大鼠缺血及缺血后再灌注所致心律失常的影响	待发表 (文摘)
其他 ₁ (P130)	方玉荣等	合并应用 654-2 及高渗液在抢救兔失血性休克中的作用	待发表 (文摘)
其他 ₂ (P133)	罗 涵等	慢性肺心病血气分析	湖南医学 (全文) 1986; 3(2): 128
其他 ₃ (P141)	尤家骅等	阴离子隙在诊断慢性阻塞性肺部疾患酸碱失衡中的意义	湖南医学院学报 (全文) 1987; 12(4): 319-324

氧自由基在成年呼吸窘迫综合征

发生发展中的意义

病生教研室 罗正曜 唐 燕 王燕如 宋德坤

摘要 本文对临床成年呼吸窘迫综合征及实验性肺损伤发生发展机制中血小板、白细胞及氧自由基的作用进行了全面分析,并根据作者近年在整体、离体肺及肺动脉内皮细胞三个不同层次的肺损伤模型的实验结果,论证了氧自由基在成年呼吸窘迫征及实验性肺损伤中的作用。

关键词: 成年呼吸窘迫综合征 实验性肺损伤 血小板 白细胞 氧自由基 离体大鼠肺 牛肺动脉内皮细胞培养

氧自由基在成年呼吸窘迫综合征 发生发展中的意义

病理生理学教研室 罗正曜 唐 燕 王燕如 宋德坤

成年呼吸窘迫综合征 (以下简称ARDS) 是临床上一种常见的危症。自1967年ASHBAUGH等首次报导ARDS的临床病例以来, 20年来死亡率未减当年。当时死亡率为58%, 据美国近年统计: 每年有150,000例ARDS发生, 死亡率为50~75%。如同时合并有败血症者, 死亡率可达90%⁽¹⁾。尽管近年呼吸衰竭的支持疗法日益加强, 如机械通气、呼气末期正压呼吸、体外人工肺供氧及大量抗生素的应用, 但仍未能减少对病人生命的威胁。临床实践迫使人们进一步深入探讨ARDS的机制和有关的临床防治措施。

引起ARDS的原因很多, 如败血症、烧伤、创伤、体外循环及氧中毒等, 但共同的发病学环节是双侧肺呼吸膜弥漫性的通透性增加, 特别是肺的毛细血管内皮细胞的通透性增加。目前研究认为内皮细胞是败血症及创伤等所致肺损伤及多发性器官功能衰竭的首先受损的靶细胞。因此目前学者们对ARDS机制的研究主要集中在肺毛细血管内皮细胞受损方面。在这方面, 自1967年至现在已20多年, 机制尚未彻底阐明。总的说来, 可以包括为三个方面, 即血小板、白细胞 (主要是PMN) 及氧自由基。

一、血小板在ARDS发生发展中的作用⁽²⁾。

主要证据是: (1). ARDS病人及油酸引起的肺损伤动物血中血小板显著减少, 且血小板减少的程度与缺氧平行; (2). 用同位素

51 铬标记的血小板证明；ARDS时血小板主要聚集在肺部；(3)、肺活检及尸检可见肺血管内有血小板为主的微栓；(4)、ARDS病人血中有一些血管活性物质，可引起肺损伤。

二、PMN在ARDS发生发展中的作用

早在1968年有人发现病人经透析后常出现动脉血氧进行性下降，与此同时血中白细胞数目减少，最后病人死于ARDS。白细胞与ARDS的关系在以后的一系列实验中得到了证实，特别是最近十年来不少学者认为白细胞（主要是PMN）在ARDS的发生发展中具有重要意义，并以此观点来解释上述现象。透析时血液经过人工膜时血中补体被激活，产生 C_{5a} 等化学趋化因子，使血中PMN被激活，激活的PMN可陷落于肺，损伤肺毛细血管内皮细胞，使肺血管通透性增加而导致ARDS。以后一系列实验证明其他刺激，如创伤、烧伤、败血症、内毒素及体外循环等均可激活补体，通过激活的PMN，释放损伤作用极强的氧自由基而损伤血管内皮细胞，导致ARDS。上述学说有人概括为“补体—PMN—肺损伤”学说〔3〕。支持这一学说的主要根据是：(1)、ARDS病人肺组织及支气管—肺泡冲洗液中有大量PMN；(2)、临床及实验证明补体激活后可引起血中PMN陷落于肺中，给动物事先消耗补体，使补体减少则不发生此现象；(3)、创伤、烧伤及内毒素引起动物肺损伤早期有PMN减少；(4)、事先使动物血中PMN减少时可减轻上述刺激引起的肺损伤。

鉴于目前大多数学者多用油酸（Oleic Acid；OA）引起动物肺损伤，此种形态、机能的损伤酷似人类ARDS的徵象。我室于1984年给狗注射OA 0.08~0.1 mL/Kg，动物出现 P_{aO_2} 进行性下降， $(A-a)DO_2$ 增大，尸检见肺明显水肿，

肺系数增大, 支气管内有大量粉红色泡沫痰, 镜检发现肺间质水肿肺泡中有白细胞及红细胞水肿液渗出。注射 O A 后 2 分钟内白细胞及血小板急剧下降, 与此同时右—左心血内血小板聚集率 P L A T E L E T A G G R E G A T I O N C O U N T I N G R A T I O, P A C R 值差值明显减小(表 1 及表 2)〔4〕。

表 1 O A 注射前后血中血小板和白细胞总数的变化

	注射前	注射后 (分)						$\bar{X} \div SD$
		2	5	10	30	60	90	
血小板 万/mm ³	18.75 ± 5.01	9.15 ± 2.88*	10.33 ± 3.46	8.31* ± 2.86	16.32 ± 4.56	21.24 ± 4.82	14.94 ± 3.36	
白细胞 万/mm ³	8363 ± 1556	7409 ± 2251	3291 ± 985**	2755 ± 349**	4558 ± 1182*	5979 ± 1981	6718 ± 1995	
与注射前比		* P < 0.05			** P < 0.01			

表 2 O A 注射前后右—左心血 PACR 差值的变化

	注射前	注射后 (分)						$\bar{X} \pm SD$
		2	5	10	20	60	90	
实验组	0.21 ± 0.03	0.008 ± 0.06**	0.025 ± 0.06**	0.1 ± 0.03	0.02 ± 0.09	0.10 ± 0.07	0.09 ± 0.05	
对照组	0.21 ± 0.04	0.22 ± 0.10	0.24 ± 0.07	0.22 ± 0.07	0.22 ± 0.8	0.11 ± 0.08	0.10 ± 0.04	

** 与注射前比 P < 0.01

上述结果说明 O A 注射后, 白细胞及血小板均减少, 右一心血 P A C R 结果说明减少的血小板主要聚集在肺内。

为什么血小板及白细胞均减少? 据近年研究发现: 血小板与白细胞之间有相互影响。〔2〕一般认为血小板先于白细胞扣留于肺。激活的血小板扣留于肺, 释放某些物质如 TXA_2 。可促进白细胞聚集、粘附于内皮细胞上。使内皮细胞受损。如用环氧化酶抑制剂, 使血小板 TXA_2 释出减少, 则肺中扣留的白细胞亦减少, 肺水肿亦轻; 此外, 血小板还可释出 $5-H T$, 亦可促进白细胞对肺的损伤, 如用阿斯匹林, 则可减轻此种损伤。除血小板影响白细胞之外, 白细胞亦可影响血小板, 主要是释出血小板激活因子 (P A F), 使血小板聚集。在给动物注射 O A 或内毒素后, 我们用电镜曾见到肺毛细血管中或血中有以血小板为主的微聚物。其组成除血小板外, 还可见到白细胞、纤维素及脱落的内皮细胞 (说明内皮细胞受损) 〔5〕。其形成机制可能是血小板、白细胞及内皮细胞三者相互作用的结果。

激活的 P M N 对肺内皮细胞是否有损伤作用, 我室近年进行了下述实验: 在培养的牛肺动脉内皮细胞内加入事先用 O P O S O - N I N - Z Y M O S A N 激活的 P M N 孵育于 $37^{\circ}C$ 30 分钟, 然后测内皮细胞及孵育液中丙二醛 (M D A) 含量 (M D A 代表细胞膜受损后脂质过氧化的最终产物)。结果见表 3。

表 3 肺动脉内皮细胞及孵育液 M D A 含量的变化

组 别	细胞 MDA (nmol / 孔)	孵育液 M D A (nmol / 孔)
对照组	0.262 ± 0.023 (10)	0.087 ± 0.009 (10)
O P - Z Y M O S A N 组	0.362 ± 0.019 (11) *	0.153 ± 0.019 (11) **

**与对照组比 P < 0.01

内皮细胞: 2×10^5 个 / 孔 PMN: 3×10^6 个 / 孔

上述结果说明用 O P — Z Y M O S A N 激活的 P M N 可损伤内皮细胞。此种损伤是否由于激活的 P M N 所引起？因为 M D A 的产生只有 6 0 % 与氧自由基有关，因此我室用 S O D 和 / 或 Catalase（前者灭活超氧阴离子，后者灭活 H₂ O₂）对 O P — Z Y M O S A N 激活的 P M N 所引起的内皮细胞损伤进行实验治疗，以最后证实损伤是否与氧自由基有关。结果见表四

表 4 S O D、Catalase 对 O P — Z Y M O S A N 激活的 P M N 损伤作用的影响

组别	细胞 M O A (n m O l / 孔)	孵育液 M D A (n m O l / 孔)
对照组	0.369±0.019 (11)	0.153±0.017 (11)
SOD组	0.314±0.02 (6)	0.118±0.010 (6)*
SOD+ 组 Catalase	0.292±0.010 (4) [△] *	0.101±0.009 (4)*

* 与对照组比 P < 0.05

△与 S O D 组比 P < 0.05

均数±标准差 (n)

内皮细胞 2 × 1 0 ⁵ 个 / 孔

P M N : 3 × 1 0 ⁶ 个 / 孔

S O D : 3 0 μ / m l

Catalase : 5 0 μ / m l

表3及表4的结果说明激活的PMN可损伤内皮细胞,其损伤主要是通过氧自由基。

上述补体—PMN—肺损伤的补体学说在最近十多年来几乎得到公认,但最近2—3年来受到临床工作者的挑战,不少临床工作者根据临床观察,不同意上述观点,认为“补体学说”主要是基于动物实验,特别是体外培养的实验结论,缺乏临床根据,根据“补体学说”采取的临床措施未能减少ARDS病人的死亡率。下述临床观察不支持这一观点〔6〕。1984年 Weinherg 等发现败血症、ARDS病人血浆中 C_{5a} 的水平与ARDS发生与否无关。1986年 O G N I B E B E 等发现11例典型的ARDS病人中,在发生ARDS之前白细胞即已严重减少($< 100 \sim 500$ 个/ mm^3),肺组织镜检示弥漫性损伤,但无白细胞浸润〔7〕。1986年 M A U N D E D E R 报告4例病人在WBC严重减少的情况下发生了典型的ARDS。一例男性病人因再生障碍性贫血而进行骨髓移植,为防止排斥反应给病人免疫抑制剂,3周后发生典型的ARDS但肺间质及毛细血管内细胞极少,后经治疗好转。病人在ARDS发生前5天,一直到ARDS恢复血中白细胞少于7个/ mm^3 〔8〕此外,临床医生认为支气管—肺泡冲洗液中PMN增多不一定是ARDS的根据,因为ARDS病人常伴有肺炎,冲洗液中PMN增多的原因可能与细菌感染有关。总之PMN在ARDS中的作用还有争论。

ARDS发生中是否必须有PMN参与?我室最近进行了有关实验,即给Wistar大鼠离体肺灌流20分钟待各项指标稳定后,从肺动脉注入OA 8微升。分别在注OA前15'、注射后0'、5'、15'及30'测下列指标:(1)PAP(肺动脉平均灌流压);

(2)、肺水肿系数 (水肿肺净增量 (g) / 水肿肺总重 (g)); (3)、肺静脉流出液中 SOD (超氧化物歧化酶)、MDA (丙二醛)、LDH (乳酸脱氢酶)。各项结果见表5。

表5 SOD、MDA、LDH及PAP在OA引起
离体大鼠肺灌流液中的变化

	注射OA前 (分)		注射OA后 (分)		
	-15	0	5	15	30
PAP (mmHg)	6.9 ± 2.7	7.1 ± 1.9	10.4 ± 3.0	16.7 ± 3.0*	13.0 ± 5.2*
水肿肺净增量(g)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	4.9 ± 4.0**	23.5 ± 12.2**	56.7 ± 16.3**
水肿肺总重量(g)					
LDH (u/ml)	9.3 ± 6.3	7.7 ± 7.2	21.9 ± 6.8**	31.2 ± 11.7**	63.8 ± 25.4**
SOD (u/ml)	9.8 ± 4.8	9.6 ± 1.4	8.5 ± 1.3	5.7 ± 2.8*	4.9 ± 1.5**
MDA (nM/ml)	0.27 ± 0.04	0.258 ± 0.042	0.298 ± 0.043**	0.316 ± 0.083**	0.358 ± 0.087*

与0分钟比较 * P < 0.05 ** P < 0.01

上述结果说明：离体大白鼠肺在无血液成分（即白细胞及血小板等）参与下，无神经因素影响下，OA能引起肺水肿。

目前认为OA引起离体肺损伤的介质主要有三：前列腺素（PG_S）、组织胺及氧自由基〔9〕。

一、前列腺素：有人发现用LY171883（一种LTP₄/E₁）的拮抗剂能减弱OA对麻醉大鼠肺的损伤，但1987年KATZ等用LY171883后，发现只能减少OA引起的离体兔肺6-Keto-PGF_α的升高，但不能对抗OA引起的肺水肿。作者认为结果不同可能与动物种属不同有关，也可能6-Keto-PGF_α的增高只是离体兔肺

对 O₂A 反应的一种非特异性损伤的表现，与肺水肿无关。我们实验未测 PGS，不能排除 PGS 的作用。

二、组织胺：1986 年 SeLig 等证明抗组织胺药物可减少 O₂A 引起的荷兰猪离体肺的肺水肿，但因毛细血管滤过压低，因此作用不大。

三、氧自由基：1987 年 Katz 等证明事先用 Catalase（过氧化氢酶）可减轻 O₂A 引起的离体兔肺的损伤〔10〕。我们的实验结果说明 O₂A 引起离体大鼠肺损伤，表现为肺水肿，灌流液中 LDH 增加。灌流液中 SOD 减少及 MDA 增加，进一步间接地说明此种损伤产生的机制与氧自由基有关，与 Katz 所获结果相同。

离体肺灌流虽然没有神经-体液及血液细胞成分的参与，但肺组织本身含有多种细胞（有人报告肺组织细胞种类有 42 种之多），氧自由基是否来自肺血管内皮细胞？氧自由基能否损伤内皮细胞，为此我室分别进行了下述实验。

我们给培养的牛肺动肺内皮细胞缺氧造成损伤时，加入 SOD 和/或 Catalase、Allopurinol，目的是间接证明缺氧时，只有内皮细胞存在的条件下是否亦有氧自由基产生。结果见表 6。

上述结果表明，缺氧 4 小时可引起内皮细胞损伤，表现为 LDH 释放升高，MDA 产生增多及存活率减少。此种损伤产生的机制与氧自由基有关。SOD 灭活超氧阴离子 (O_2^-)，Catalase 灭活 H_2O_2 ，SOD 或/和 Catalase 能明显地抑制缺氧引起的各项损伤指标，因此间接证明氧自由基参与缺氧损伤。

近年证明氧自由基来源主要有三：PMN，线粒体及嘌呤/嘌呤氧化酶系统。后者主要在血管内皮细胞内，正常时以还原型存在 (XD)，氧化型 (XO) 很少，只占 10%。缺氧时 $XD \rightarrow XO$ ， XO

表6 SOD或/和Catalase及Allopurinol对缺血所致肺动脉内皮细胞损伤的影响

组 别	LDH 释放率 (%)	MDA (nM/mg Protein)	存活率 (%)
对照组	4.70 ± 2.30 ^{**} (15)	0.142 ± 0.046 [*] (15)	93.7 ± 0.6 ^{**} (5)
缺氧4小时组	10.41 ± 3.41 ^{ΔΔ} (24)	0.278 ± 0.113 ^{ΔΔ} (24)	83.4 ± 1.6 ^{ΔΔ} (10)
SOD组	8.43 ± 1.04 ^{*ΔΔ} (11)	0.236 ± 0.048 ^{*ΔΔ} (11)	83.8 ± 1.1 ^{ΔΔ} (6)
Catalase组	8.16 ± 1.17 ^{*ΔΔ} (11)	0.247 ± 0.031 ^{ΔΔ} (11)	84.9 ± 1.3 ^{ΔΔ} (6)
SOD + Catalase组	6.90 ± 1.54 ^{**Δ} (11)	0.199 ± 0.053 ^{**ΔΔ} (11)	91.3 ± 0.4 ^{**Δ} (6)
Allopurinol组	7.76 ± 1.16 ^{*ΔΔ} (9)	0.212 ± 0.030 ^{**ΔΔ} (9)	91.3 ± 1.0 ^{**Δ} (6)

与缺氧4小时组比 * P < 0.05 ** P < 0.01

与对照组比 Δ P < 0.05 ΔΔ P < 0.01

可使聚集的嘌呤、次黄嘌呤氧化成尿酸，与此同时可产生大量的超氧阴离子(O_2^-)。而Allopurinol(别嘌呤醇)可抑制XO，因此可减少 O_2^- 的产生。Allopurinol有效正说明氧自由基来自内皮细胞。

我室亦曾用外源性X/XO以产生氧自由基，下述实验结果亦证明X/XO产生的氧自由基可损伤内皮细胞(表7)。

总的说来，我室近年来在离体大鼠肺及牛动脉内皮细胞培养的

表7 X/XO对肺动脉内皮细胞的损伤作用

组 别	MDA (nmol/2×10 ⁵)	LDH (u/ml)	6-Keto-PGF _α (ng/ml)	PMN对内皮细胞 的粘附率 (%)
正常组	0.140 ± 0.033 (12)	2.10 ± 0.45 (11)	7.63 ± 0.41 (10)	36.35 ± 5.15 (10)
X/XO组	0.241 ± 0.012 ^{**} (13)	4.08 ± 0.32 ^{**} (11)	5.81 ± 0.56 ^{**} (6)	84.15 ± 36.1 ^{**} (10)

^{**} 与正常组比 P < 0.01

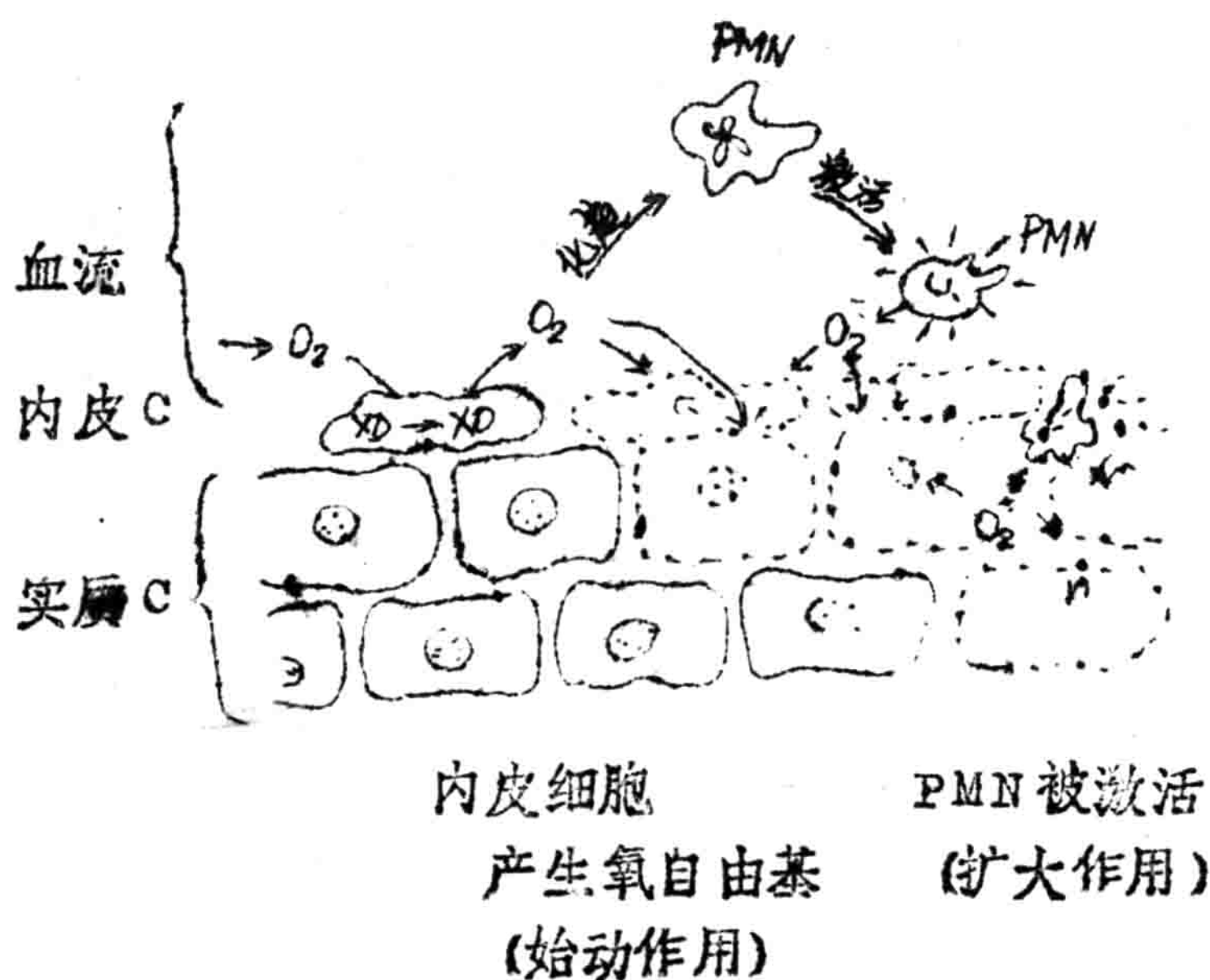
X(XANTHINE嘌呤): 0.1nmol

XO(XANTHINE OXIDASE): 0.1 μ/ml

实验条件下,证实O₂X或缺氧产生的氧自由基可来自内皮细胞,但这并不否定在整体情况下,肺损伤时有激活的PMN产生氧自由基的可能,但何者重要目前有不同的看法。

1987年Ratgch认为即使在整体条件下氧自由基主要来源于血管内皮细胞X/XO系统。病理情况下(缺氧、再灌流损伤时),内皮细胞内XD→XO时产生的氧自由基,一方面可直接引起化学趋化作用,另一方面氧自由基作用于内皮细胞或实质细胞膜,膜的分解产物(如12-HETE, LT₅等)具有化学趋化作用,吸引激活白细胞,释出氧自由基溶酶体等参与疾病的发展过程,是继发于内皮细胞产生的氧自由基,起着扩大损伤的作用,作者提出下列模式图以说明此一问题。

总的说来,越来越多的事实证明氧自由基在ARDS发生发展中具有重要意义,有关目前争论的问题有待进一步研究。



氧自由基来自内皮细胞假说图

自 SURG 1987; 102(2)

: 122

参考文献

- 1、AM Fein M Lippmann H Holtzman; Et al:
The risk factors, incidence and prognosis
of ARDS follow septicemia
Chest 1983; 83:40-42
- 2、JE Heffner A SShn JE Repine:
Amer Rev Respira Dis 1987;
135:482-492
- 3、ARDS A clinical view
Lancet 1984; 2:439