

高压氧医学的理论与新技术

刘景昌 主 编

军 事 医 学 科 学 出 版 社

高压氧医学的理论与新技术

Gaoyayang Yixue de Lilun yu Xin Jishu

主 编 刘景昌

主要作者 (按姓氏笔划排列)

王文波	王文俊	方以群
刘景昌	刘 平	朱祥祺
辛佩珠	应 康	冶建宏
周森衍	倪大智	徐根兴
董文度	蔺世龙	滕燕生

军事医学科学出版社

·北 京·

内 容 提 要

本书介绍了近年来著作者在高气压医学的一个重要领域——高压氧医学的应用理论研究成果和实验新技术,重点阐述高压氧对人体的作用,包括对自由基、微循环、神经元离子通道的影响与作用、肺型和惊厥型氧中毒的发生机理以及高压氧治疗疾病的基本原理。本书既有较好的理论深度,又有一定的实践经验总结,可供从事高气压生理学与医学、高气压生物学、高压氧治疗领域的科研与教学人员及相关专业的研究生、大学生参考,也可供从事航海、潜水医学、高气压作业人员、战创伤救治和高压氧治疗的临床医师阅读。

* * *

图书在版编目(CIP)数据

高压氧医学的理论与新技术/刘景昌主编.

-北京:军事医学科学出版社,1998.10

ISBN 7-80121-019-0

I.高… II.刘… III.高压氧治疗 IV.R459.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字(96)第 0000 * 号

* *

军事医学科学出版社出版

(北京市太平路 27 号 邮政编码:100850)

新华书店总店北京发行所发行

北京四环科技印刷厂印刷

*

开本:787 mm×1092 mm 1/16 印张:13.75 字数:340 千字

1998 年 10 月第 1 版 1998 年 10 月第 1 次印刷

印数:1-4000 册 定价:35.00 元

(凡购买本社图书者,发现有缺、损、倒、脱页,可退回本社发行部调换)

R459.
L58
1998

目 录

第一篇 高压氧对机体的作用

高压氧对机体的影响和高压氧治疗的基本原理..... 刘景昌(1)

第二篇 高压氧暴露与自由基

高压氧暴露大鼠肺内自由基生成变化..... 倪大智 姜德玺 刘景昌 等(11)

高压氧暴露大鼠肺内 Vc 自由基增殖与 UPTD 值的

关系..... 倪大智 姜德玺 刘景昌 等(17)

高压氧暴露后大鼠心、脑、肺组织内自由基 EPR 检测 ... 倪大智 姜德玺 刘景昌 等(20)

高压氧与氧自由基与 SOD 量效关系的探讨 王文波 刘景昌 陈士明 等(23)

高压氧对 SD 大鼠红细胞免疫功能和 SOD 的影响..... 王文波 刘景昌 郭 峰 等(27)

第三篇 高压氧对神经元离子通道的影响

高压氧对脑缺血及再灌注时海马游离 Ca^{2+} 及钙通道的作用..... 方以群 刘景昌(32)

氧惊厥大鼠海马突触体内一氧化氮与钙离子水平的变化

..... 王文俊 颜天华 严玉兰 等(37)

第四篇 高压氧对微循环和微血管功能与结构的影响

Effects of hyperbaric oxygenation on microcirculation in animals with acute cerebral ischemia Lin Shilong, Liu Jingchang, Zhang Zhenwei *et al* (41)

Effects of hyperbaric oxygenation and ahyly santifartase on meninx microcirculation in animals with cerebral ischemia Lin Shilong, Liu Jingchang, Ni Dazhi *et al* (46)

不同氧压暴露对大鼠微循环的影响..... 蔺世龙 刘景昌 倪大智 等(50)

高压氧对沙鼠脑缺血时微血管内皮细胞形态及其粘附性的

影响..... 蔺世龙 刘景昌 辛佩珠 等(53)

高压氧对缺血性脑损伤动物脑微循环和大脑组织细胞的

影响..... 蔺世龙 刘景昌 辛佩珠 等(58)

高压氧对沙鼠脑缺血时海马及微血管形态的影响..... 辛佩珠 蔺世龙 汤 炎 等(65)

高压氧对小鼠肺毛细血管 Na^+ , K^+ - ATP 酶的影响 ... 徐根兴 汤先忻 张云鹏 等(70)

高压氧对小鼠耳廓微循环作用的观察..... 徐根兴 董文度 袁驾南 等(72)

第五篇 高压氧致肺型氧中毒机理及其防治研究

高压氧暴露后大鼠肺表面活性物质与肺组织自由基的

变化..... 王文波 刘景昌 陈士明 等(76)

高压氧中毒对小鼠肺毛细血管细胞色素氧化酶活性的

影响..... 徐根兴 董文度 袁驾南 等(82)

高压氧条件下肺组织自由基量变与组织形态学改变的

关系..... 王文波 辛佩珠 刘景昌 等(85)

吸入高压氧后小鼠肺功能变化机制探讨..... 董文度 张敏华 徐根兴 等(90)

高压氧常规治疗对人体小气道肺功能的影响..... 滕燕生 杨安全 李慧琴 等(95)

第六篇 高压氧致氧惊厥机理及新型钙拮抗药的作用

氧惊厥时海马生长抑素神经元的原位杂交组织化学

变化 刘平 王文俊 周其锦 等(98)

脂质体包封超氧化物歧化酶预防急性氧中毒 王文俊 施产甫 方德恩 等(101)

高压氧中毒小鼠大脑皮层毛细血管 ALP 活性的变化 徐根兴 袁驾南 董文度(104)

Alteration of phosphoinositide metabolism and Ca^{2+} concentration in rat hippocampus during HBO-induced convulsions Wang Wenjun, Huo Xiaoping, Yan Yulan *et al* (108)

Intrasyaptosomal free calcium and nitric oxide metabolism in central nervous system

oxygen toxicity Wang Wenjun, Huo Xiaoping, Yan Yulan *et al* (116)

第七篇 高压氧与潜水减压的研究

反复加减压引起的动物减压性骨坏死 朱祥祺 田伍训 姜德玺 等(125)

模拟快速上浮脱险时呼吸 HBO 大鼠的氧耐受力及氧剂量

实验观察 周森衍 朱文祥 徐爱民 等(131)

高压氧对预防家兔模拟快速上浮脱险减压病效果的

实验观察 周森衍 朱文祥 林鸿灼(136)

第八篇 高压氧治疗缺血、缺氧性损伤的效用机理及其应用

高压氧对缺血、缺氧性疾病的治疗效用及其机理 刘景昌(142)

不同氧压高压氧对急性脑缺血脑组织 Na^+ , K^+ -ATP 酶活力的

影响 方以群 刘景昌 蔺世龙 等(147)

高压氧对脑缺血后再灌流大鼠海马组织三磷酸肌醇的

作用 方以群 刘景昌 时粉周 等(151)

高压氧对家兔急性脑缺血重灌流损伤时 PGI_2 和 TXA_2 作用的

研究 滕燕生 高光凯 杨安全 等(155)

高压氧疗法对一氧化碳中毒病人血清肌酸激酶及其同工酶含量的

影响 滕燕生 邱亚西 刘奉亭 等(159)

高压氧并用蝮蛇抗栓酶治疗脑血栓病人微循环功能的

观察 蔺世龙 刘景昌 倪大智 等(162)

基因重组人血管生长素基因的原核表达和重组蛋白结合

高压氧治疗对梗塞心肌修复的影响 应康 刘景昌 谢毅(166)

第九篇 高压氧医学研究的新技术

肺细胞色素氧化酶体视学测量法在高压氧研究中的

应用 徐根兴 张永政 袁驾南 等(177)

电镜图像定量分析肺毛细血管碱性磷酸酶在高压氧研究中的

应用 徐根兴 袁驾南 董文度(182)

脑微血管形态参数和细胞化学定量参数测量法 徐根兴 袁驾南 董文度 等(187)

高压氧中毒小鼠脑微血管图像分析定量研究 董文度 陈峰 徐根兴 等(194)

球结膜微循环图像定量测量方法 董文度 徐根兴 袁驾南 等(199)

甲襞、球结膜微循环数据分析仪 冶建宏 刘景昌 蔺世龙(203)

软脑膜铺片技术在高压氧医学研究中的应用 蔺世龙 刘景昌 辛佩珠(207)

第一篇 高压氧对机体的作用

高压氧对机体的影响和高压氧治疗的基本原理

刘景昌

海军医学研究所 上海 200433

当人呼吸的氧气压力大于 0.1 MPa (1 ATA) 时就会受到高压氧的作用。其中, 有作为物理性因素的高气压的作用, 更主要的是氧压的化学性因素的影响。氧直接与体内物质、气体能量代谢密切相关。正常组织细胞的生存需要氧, 损伤组织的恢复更需要氧供的建立。但同时, 氧供过多、氧分压过高又会对机体产生毒性作用。因而, 必须辩证地了解氧对机体的作用, 以发挥氧的良性作用, 防止和消除氧对机体的损伤和毒性作用。

下面将分述氧在细胞内和物质代谢中的作用, 高压氧对机体的影响和高压氧治疗的基本原理。

1 氧在细胞中和物质代谢中的作用

1.1 细胞的内部结构

细胞结构一般分为: 细胞膜、细胞质和细胞核三部分。

在光镜下可分为:

- (1) 细胞膜: 即质膜。
- (2) 细胞质: 包含线粒体、高尔基复合体、中心体、基质。
- (3) 细胞核: 包含核膜、核仁、染色质、核液。

在电镜下则分为(以动物真核细胞超微结构为例):

(1) 膜相结构: 包含质膜(细胞膜)、内质网、高尔基复合体、核膜、线粒体、溶酶体、过氧化物酶体。

(2) 非膜相结构: 包含中心粒、核糖体、微丝、中间纤维、微梁网格、细胞质基质、核仁、染色质、核基质。

1.2 细胞内能量的转换

人体细胞的各种活动, 无论是维持细胞生命活动的生理、生化过程, 还是细胞的分裂增殖过程, 都要消耗能量, 这种能量都是依靠氧将细胞内各种供能物质氧化而得来。细胞供能物质氧化时消耗氧气, 放出二氧化碳和水。所以, 又称作细胞的呼吸作用。人体细胞呼吸所需要的氧是由肺吸入, 而产生的二氧化碳, 也是经血液输送到肺部而排出体外。可见, 人体的肺呼吸和细胞呼吸是紧密联系的。

人是绝对需氧的生物。虽然某些细胞组织, 在暂时缺氧的情况下, 可以短时期维持低水平的生命活动。但是, 如果缺氧时间过长, 体内细胞将出现不可逆的损伤, 最终导致细胞或个体死亡。细胞氧化又需要水的参与, 体内广泛进行的加水脱氢反应, 实质上是一种间接获得氧加速脱氢、进行氧化放能的过程。同时, 细胞氧化靠酶的参与, 也是生物氧化的一个特征。

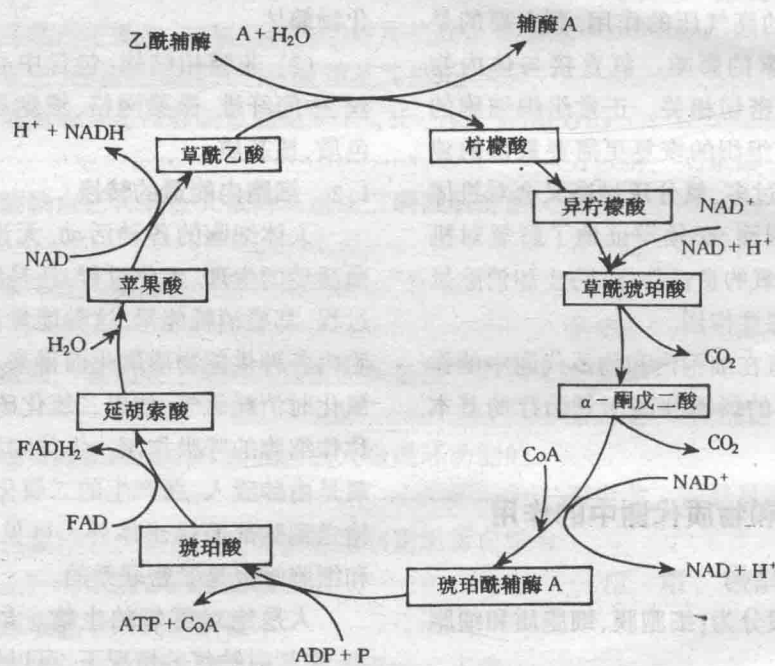
细胞分解能源物质的过程是十分复杂的。据统计, 整个活动不少于 70 个化学变化过程。

但其整个过程可大致分为无氧酵解、三羧酸循环和氧化磷酸化三大步骤。前者发生在细胞质中,后两步则发生在线粒体内。通过这些过程,细胞能够把富有能量的含碳分子,经氧化作用低能分子释放自由能,其中一部分自由能可以暂时贮存于 ATP 分子中供细胞利用。糖类、蛋白质、脂肪都有一定能量,但葡萄糖是最主要的能源物质。

人从体外摄取的能源物质,不能直接进入细胞内,一定要先分解成小分子后才能进入细胞。因此,糖类要在体内降解为葡萄糖或其他六碳糖,脂肪要降解为脂肪酸和甘油,蛋白质要降解为氨基酸。但进入细胞的葡萄糖、甘油、脂肪酸和各种氨基酸,仍不能自由地进入线粒体,

还要经过进一步的分解,才能通过线粒体外、内两层膜而进入到线粒体内,有的还要求在线粒体膜上具有某些“载体”,如羧酸转位酶等,才能被携带入内。

当葡萄糖酵解为丙酮酸(三碳化合物)后,丙酮酸在细胞质中即可进入线粒体参加有氧化,从而进一步分解为二氧化碳和水,同时释放较多能量。丙酮酸在内膜丙酮酸脱氢酶催化下进行氧化(脱氢)或(和)脱羧反应,并与辅酶 A 结合成乙酰辅酶 A,然后参加三羧酸循环,随之进一步氧化。由于此过程是以生成具有三个羧基的柠檬酸为起始的循环,故称三羧酸循环(附图)。



附图 三羧酸循环过程

Fig Tricarboxylic acid cycle

氧化磷酸化的任何一个环节失常,都可以影响全部物质氧化供能过程。例如,氰化物中毒主要是由于氰化物易与细胞色素中的铁化合,而使细胞色素失去其传递电子的作用,从而

迅速抑制细胞的呼吸作用而导致机体死亡。

由此可知,细胞内氧化放能的作用,基本上是在线粒体内进行,氧气也只有顺利地在线粒体呼吸中发挥作用,才能维持机体的正常代谢与

功能,以保障机体的能源和活力。

2 高压氧对机体的影响

现阶段从事高压氧治疗,不可能不考虑到高压和高压氧的生物学作用。各种气体的生物学、生理学作用,不只是取决于该气体的总压力与成分,而与每一气体成分的分压(PO_2 , PCO_2 , PN_2 , PHe ……等)有直接关系。随总压力的升高,呼吸混合气中气体分压也随之升高。无疑,在潜水、高压作业以及高压氧治疗时对健康人和病人,氧气的作用均至关重要。

在正常呼吸空气条件下,处于安静状态的成年人每分钟平均需氧量为 250 ml,并经肺排出同样数量的二氧化碳。在体力负荷或在病理状态下,需氧量可通过肺通气量和分搏量的增加和血流速度加快而增加数倍。动脉血中氧分压可波动于 10.64~13.3 kPa(80~100 mmHg)间,这些氧主要为与 Hb 结合氧(19.4 vol%)和溶解状态氧(0.3 vol%)。当氧气分压增加至 13.3 kPa(100 mmHg),则几乎所有 Hb 被氧结合为 HbO_2 ,血中氧含量的进一步增加,只可能是氧在血浆中的溶解增加。溶解状态的氧经过毛细血管壁进入到细胞外液,然后进入细胞内。高压下呼吸氧气或混合气时导致肺泡气中氧分压的增加,与吸入气中含量百分比成正比。如在 2ATA 下呼吸空气时,肺泡气中氧分压由 13.96 kPa(105 mmHg)增至 34.58~35.91 kPa(260~270 mmHg),在 3ATA 下可达到 55.86~57.19 kPa(420~430 mmHg)。呼吸纯氧时肺泡气中 PO_2 增长更为明显:100 kPa 下 PO_2 为 89.5 kPa(673 mmHg),200 kPa 下为 109.58 kPa(819 mmHg),300 kPa 下则为 291.66 kPa(2188 mmHg)。血中物理溶解氧量决定于其分压。在一般情况下,呼吸空气时 100 ml 血中含 0.3 ml 溶解氧(0.3 vol%),而当呼吸纯氧时为 2.36 ml(2.36 vol%);3 ATA 氧压下 Hb 基本上被“解除”了运输氧的功能,在此情况下物理溶解氧在血中含量达到 6 ml/100 ml 血。此时,组织代谢所需的氧,由溶解在血浆中的氧来

供给即已足够。血中氧饱和的这一过程,保持了血-细胞系统氧的高梯度和氧通向组织的高容量和高速度,从而可改善机体和组织的氧化,消除缺氧的组织细胞的缺氧状态。

由于过度的氧供和氧耗会导致毒性作用的产生,故在保持高压氧治疗足够效应的同时,要防止氧中毒。实践证明,在高压下吸氧时间断地呼吸空气,可显著延长在舱内吸氧人员停留到出现早期氧中毒征象的时间。据报道,在 2ATA 氧压下不间断吸氧的安全时程为 2.6 h,而间断吸氧和空气(间断 10 min)时在相同压力条件下的安全停留时间为 9.9 h。

下面就高压氧作用中起主导和影响较明显的机体功能分系统作一叙述。诚然,从机体对氧的反应性与适应性来说是相互影响并制约的,且为综合联系着的,不能把它们绝对分割开来。

2.1 高压氧对神经系统的影响

在维持机体和外环境平衡中起主导作用的是神经系统。中枢神经系统和植物性神经功能在高压氧治疗时发生的变化,取决于高压氧作用的压力值和暴露的持续时间、个体的神经类型以及对氧的敏感性等因素。

空气中的其他成分,如二氧化碳、氮气,在高压下对神经系统亦有综合影响。中枢神经系统对氮的麻醉作用的敏感性,超过对外周神经的敏感性。当人呼吸高压空气,如 4~5ATA(PN_2 为 3.2~4.0ATA)或更高一些时,有的人 EEG 上可见 α 节律改变。在较高压力下中枢神经系统的鉴别性内抑制过程减弱,表现为完成测验表文字和数字的差错增多。可见,中枢神经的高级部位——大脑皮层对高分压氮最为敏感。

吸入气中二氧化碳浓度的升高(>0.3%),可促进氧和氮对中枢神经系统的影响,改变大脑血流量。在各种缺氧情况下,神经系统的高级部位的活动及心理、体力、智力、工作能力的变化可作为高压氧治疗效应的精确指标。

高压氧治疗对神经系统的作用有双相反

应。开始阶段激活神经活动; EEG 兴奋性增高, 快波增多, 其频率及幅度加大, 有时出现尖波, 额部引导频率改变明显, 使之与枕部的频率特性趋于平衡。

与 EEG 变化并行的是 EMG 的改变, 如口轮匝肌(对氧最敏感的肌肉)的兴奋性在 3.5 ATA 氧压下, 其频率可由 143 次/s 加快到 193 次/s, 幅度由 $47\ \mu\text{V}$ 增至 $106\ \mu\text{V}$, 4 ATA 下频率又有所加快。但是, 当要出现肌阵挛前 1~5 min, EMG 兴奋性降低, 如其频率在 4 ATA 降低为 140 次/s 左右, 幅度亦下降 $47\ \mu\text{V}$ 左右。所以, EMG 在早期判别氧痉挛有一定参考意义。

有研究报道, 在 0.25 MPa 下吸 90%~95% 氧时出现中毒症状以前, 常有脸色苍白、多汗, 也有人出现肠蠕动亢进、嗜睡, 停留末期瞳孔散大。在 0.25 MPa 下吸 90%~95% 氧经过 71~137 min 和在 0.3 MPa 下经过 6~84 min 可出现植物性神经功能和躯体功能障碍, 迫近痉挛的前驱征候。但是, 这些变化, 当减压至常压后会很快消除。

2.2 高压氧对内分泌功能的作用

高压氧对内分泌的影响取决于用氧制度。研究与观察证实, 2 ATA 氧压下停留 90 min 和 3 ATA 停留 30 min 不会引起甲状腺功能改变, 而导致蛋白质氨基酸代谢异常。但在 3 ATA 下 90 min 则可见甲状腺素活性升高。注射甲状腺素时可促进氧的毒性作用, 如果用甲状腺素的阻断药物则降低高压氧对动物的毒性作用。

临床采用高压氧治疗时必须考虑到神经内分泌对机体的作用, 有必要对初次接触高压舱的操作者和高压氧治疗病人进行适应性的高压氧作用观察。有的作者基于 28 000 人次高压氧治疗的经验, 提出神经内分泌对变化了的气体环境的一定适应, 而病人适应时可使机体生理指标参数相对稳定。在加压初期的应激, 可提高机体反应性, 还应视为机体储备能力的动员。

对于高压氧暴露和高压氧下内分泌系统的

反应, 由于环境条件限制, 观察较多的是尿、血中激素的变化。垂体前叶生长激素、甲状腺素、垂体肾上腺皮质类固醇、17-羟皮质类固醇在较高压力下均有明显升高。高压下尿量增加。血中羟皮质甾族和尿中肾上腺皮质固醇量增加, 酮胆胺和固醇类激素的增加, 提高了细胞膜的通透性。

有学者研究了高压氧暴露时脑区、下丘脑等部位脑肽, 如 β -内啡肽、强啡肽等变化, 认为这些物质与氧惊厥的发生有关。

实验研究证实, 动物濒临惊厥时, 海马、纹状体中生长抑素含量显著升高。氧惊厥时脑区生长抑素也显著升高。这可能是由于高压氧降低了脑内 GABA 含量, 而 GABA 有抑制生长抑素释放作用。同时, 高压氧可使生长抑素降解酶受抑制, 使得脑内生长抑素降解减少, 脑区该物质含量升高, 致使中枢神经元的兴奋性反应增强, 当其浓度高到一定程度时会引起动物惊厥发作。在神经型氧中毒的机理方面, 神经元突触体内钙超载、兴奋性氨基酸以及 NO、 IP_3 、 IP_4 均起着不同作用, 这也是当今国内外研究的重点问题。

理论与高压氧治疗的实践表明, 高压氧治疗间断地呼吸空气是降低高压氧对神经内分泌异常影响的有效措施之一, 而正确掌握神经内分泌的应激, 有利于机体非特异性免疫功能的提高。

2.3 高气压对心血管功能的影响

在 3 ATA 氧压下心血管功能会有许多变化, 这些变化的持续时间和显著程度与高压氧治疗时的氧分压值和疗程的时间成正比。心率变慢是高压氧作用下典型的和规律性反应。心搏量、血管阻力和器官血流量在高压氧下的变化表明, 这是机体在神经系统调控下的一种保护性反应, 一般是可逆的。高压氧下心肌收缩功能的改善, 可标志心血管功能障碍的恢复。

在 3.0~3.5 ATA 下吸 90%~95% 氧时心率减慢 15~28 次/min(平均 15 次/min), 为初始水平的 20%~37%。早期心动过速病人在

高压氧治疗后, 有的一个疗程即可见心率明显减慢。高压氧下发生的心动徐缓, 主要是对迷走神经的影响, 正如在迷走神经切除术实验中所证实的注射阿托品会引起心动徐缓一样。但是, 不能排除高压下引起心动徐缓的其他因素, 包括高分压氧对心肌和调节心脏功能的直接作用。

呼吸 3 ATA 纯氧时血管总的外周阻力可增加 15%~20%, 这一变化使脉压降低, 循环血量减少, 一般在 10% 以内。同时, 这也与迷走神经作用下血液贮存有关。高压氧作用下心输出量和组织供氧等变化, 是由血流速度和氧的血管加压反应所致, 血流减慢来自于迷走性心动徐缓。但是, 血管收缩, 主要是小动脉和毛细血管的收缩所致外周阻力增加, 循环血量的减少也有重要作用。血管收缩是健康机体对高压氧的早期效应性反应。在高压下氧的加压反应几乎在除肺以外的所有器官都能观察到, 是一种对高血氧症的适应性反应。与此同时, 血压常表现为舒张压升高 (1.33~3.33 kPa), 收缩压多数情况下变化不明显, 亦有升高者。

高压氧下由于心率减慢, 可使心输出量减少 1.72~2.65 L (平均 2.21 L)。但是, 由于溶解氧量的增加, 仍能改善机体氧平衡, 对循环障碍性缺氧的心血管系统有利, 可改善心电图, 消除心肌缺氧, 增加缺血区的氧含量, 改善血流动力学和心脏内的传导性。在高压氧作用下缺血组织的血管得以扩张, 血流速度加快, 微循环明显改善。用血管血流描记法研究证实, 在 2 ATA 氧压下作用 10~15 min, 缺血的四肢血供可增加到足够的适宜水平以维持代谢。微循环的改善促进了营养性溃疡的恢复, 有利于术后伤口更快地形成侧支循环, 以及缺氧性神经炎疼痛症状的消除。

冠脉血流在高压氧下有相当大的变异性, 作为心肌代谢尖峰的心缩期, 几乎需要冠状窦内所有的氧储备。冠状动静脉血管中氧的分压差一般情况下约为 11.5 vol%, 如果有任何原因使之增大, 则心肌收缩功能明显减弱。高压

氧治疗条件下可保持冠状动脉中氧的高张力和相对不甚高的冠状静脉中的氧张力。2~3 ATA 时冠状动静脉氧差变化不明显, 3 ATA 时冠状窦血中氧分压的提高只有 4.92~5.32 kPa, 冠状血管中物理溶解氧量的增加, 也是治疗急性冠状血管功能不全的有效措施。组织学研究证明, 心肌损伤部位的瘢痕形成, 以及侧支循环的建立, 在高压氧下均出现较早。

2.4 高压氧对呼吸功能的影响

在 2~3 ATA 下吸氧时最大随意通气量, 即单位时间内最大通气量 (maximum voluntary ventilation, MVV) 有所下降, 甚至可减少一半。肺活量在吸高压氧时亦有所下降, 以不超过 6% 或 10% 视为生理允许范围。高压氧下由于肺血管扩张, 肺组织弹性回位作用的减弱, 致使肺容量降低。在高压氧治疗时由于吸入气体密度的增加, 可使呼吸肌工作负荷加大, 在 2 ATA 下消耗于弹性阻力的工作量增长 35%, 呼吸功能参数的变化与呼吸肌的发达程度有关, 尤其是呼吸容量, 男性比女性变化少。重复高压氧作用, 可使最大通气量等指标有所改善, 正常人呼吸系统功能, 在 2.5~3.0 ATA 下未超出生理代偿性反应的范畴。但是, 如果压力较高, 或者时间过长, 可导致肺动脉、小动脉收缩, 肺组织损害, 肺塌陷等。压力过高的氧气可改变肺表面活性物质的活性, 改变肺表面张力, 而这些变化与肺 II 型细胞受损有关。

2.5 高压氧对血液系统的作用

高压氧对正常人及病人的血液有形成分及生化性质有所影响。如果说这种作用对正常人是生理适应性变化, 而对病人, 则促进组织器官缺血缺氧时产生的损伤性变化恢复正常。

于 1~3 ATA 下停留 1~1.5 h 一般不引起血液有形成分明显改变, 可能有不明显的红细胞减少和血红蛋白下降, 以及进行性、一过性的白细胞数增多。高压氧作用后 8~24 h 可恢复正常。如在 2~2.3 ATA 吸氧时正常人在 4 h 内 Hb 下降 2%~3%, 红细胞减少 $(0.25\sim0.5)\times 10^{12}/L$, 经过一昼夜可以恢复

正常。

高压氧治疗长期缺氧和骨髓造血反应升高引起的继发性红细胞增多症时可以减少红细胞数。同时高压氧治疗对预防血浓缩,克服缺氧,改善气体和物质代谢具有良好疗效。治疗由于Hb降低引起的血液性缺氧时疗效的取得,则在于提高血浆中溶解氧的含量。

止血是血液的一种保护性功能。在2~3 ATA氧压下健康人和动物血液系统的凝血和激活抗凝血系统受到抑制,血液的溶纤维蛋白活性升高20%。减压后也升高,可持续数天,此变化可视为机体对血管内壁上一过性血栓形成的一种保护性反应。

反映组织氧化还原过程和物质代谢状态的血液生化成分发生的变化,也颇引人注目。在文献中可见到高压氧时代谢受到抑制的资料,也可见到相反的观点。但分析看来,在高压氧下氧化过程总是加快的,无氧代谢环节受到抑制。如果正确掌握高压氧治疗原则,在2~3 ATA下停留40~60 min不会引起人血液酶谱正常功能的任何实质性变化,也表明在此条件下机体适应性机制的稳定性。

对有某些组织和器官氧化还原过程异常的病人实施高压氧治疗,可使酶活性升高,物质代谢得以改善。如在3 ATA氧压下治疗心肌缺血性疾病时,可改善心肌磷代谢,使ATP、肌酸磷酸激酶(CPK)和无机磷含量升高,磷酸化进程正常化。实验中也证实了这一点。在3 ATA氧压下进行1 h的高压氧治疗,在心肌暂时性缺血区保留有84%的高能磷酸化含物,主要是ATP,而在对照组只有53%。

2.6 高压氧对电解质平衡的影响

细胞内外液体中电解质(离子)成分的调节主要靠肺和肾脏代偿作用调控。在高压氧条件下由组织中进入血中的 CO_2 量增加,以及还原血红蛋白(HHb)量的减少,使血浆 CO_2 总含量增加,因而 HCO_3^- 增多, Cl^- 由血浆向红细胞内置换,与 Na^+ 组合增加重碳酸含量,减少了血浆中的游离碳酸量。随着血中重碳酸水平的提

高,尿排泄速度加快,显示有明显的利尿效应,利尿反应又可促进 Na^+ 排出量增多。

高血氧时缓冲系统的作用加强,在通常条件下,对尿分泌中的 H_2 离子,需要血浆中一个重碳酸离子。高压氧和高 CO_2 分压下重碳酸缓冲量在血中升高,使血液呈弱碱性,而细胞内液为弱酸性,作为血中基本缓冲物之一的Hb,处于还原状态时可运输大量 CO_2 ,而不改变血液的pH。高压氧下此系统作用部分消失。正常人的酸碱基于2~3 ATA下停留1 h时处于代偿阶段,血中pH变化不明显。但心血管疾病、肺功能不全和中枢神经系统疾病病人,经高压氧治疗后酸碱平衡向碱性偏移,血中重碳酸钠、pH增加。这一变化一直保持到治疗后5~8 h,经过20~24 h恢复到原有水平。高压氧治疗可使气体性和代谢性酸中毒病人碱基指标正常化或明显改善,气体性酸中毒在高压氧治疗中或其后 PCO_2 下降,尿呈碱性,直到呼吸性酸中毒消除。

伴有机体 K^+ 、 Na^+ 明显降低的缺氧症和急性大失血时,经反复高压氧(2 ATA, 60 min)治疗后,血液和组织中的 K^+ 、 Na^+ 含量趋于正常。

2.7 高压氧与氧自由基损伤

随着自由基化学和自由基生物学、自由基医学的发展,人们发现自由基、脂质过氧化作用与疾病发生发展的关系十分密切,尤其是在高压氧治疗时产生的氧自由基(oxygen free radicals, OFR)损伤更引人注目。外源性自由基对机体危害早已为人们认识,但内源性自由基对机体危害的认识,直至1968年McCord与Fridovich发现了清除OFR的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)以后,才得到大量的实验数据。

高压氧下OFR随着氧分压的升高而增加,细胞内 H_2O_2 量随氧分压升高而增加,因细胞本身对组织高氧张力的保护作用降低,使氧张力升高,OFR产生量也增多。这些组织细胞内氧增高,会使那些本来不反应的脂质自由基等

与氧反应产生 OFR, 从而增强氧的损伤作用。OFR 生成随氧分压升高而增加, 引发的过氧化脂质(LPO)也明显增多。

OFR 最主要的细胞毒性反应是形成 LPO, 直接损伤细胞。它既损伤细胞膜, 又损伤细胞质, 而血浆、脑脊液、关节液中 SOD 和过氧化氢酶(CAT)的含量比细胞内低很多。所以, OFR 在细胞外常有较大的损伤作用, 可使上皮组织基底膜的透明质酸变性, 导致组织纤维化, 造成功能障碍和形态改变。

我们的研究表明, 高压氧暴露中, 肺内氧自由基的形成, 随暴露时间的增加而逐渐加强, 与此同时, 肺内 V_c 因清除自由基的消耗而逐渐减少, 适时大量补充 V_c , 是清除高压氧暴露时自由基过多, 防止或减少氧应激的重要措施。

2.8 高压氧下组织的超微结构变化

3 ATA 下吸纯氧时间较长时, 在实验动物组织器官的超微结构方面可发生一些变化。如肺泡上皮水肿, 线粒体肿胀, 肝脏细胞线粒体肿胀, 糖原颗粒凝聚, 并见液化坏死区。5 ATA 吸氧 37 min 以上的小鼠肝脏可见糖原颗粒减少, 部分核染色质边集, 核仁贴近核膜; 心肌明显受损, 可见空泡变性的肌浆网, 肌丝断裂, 线粒体扭曲变形; 肾小球明显受损, 细胞浆不规则突起增多, 空泡变性, 有的泡质脱落堵塞血管。2.5 ATA 吸 99.2% 氧每天 2 h, 连续作用 2 d, 小鼠肾上腺胞质中脂滴数量明显减少, 许多线粒体的双层膜解体或不完整, 呈空泡状, 嵴数量减少。

上述变化表明, 组织细胞受损的主要表现为线粒体, 由肿胀、嵴断裂到膜解体, 即 OFR 损伤线粒体在先, 膜破裂在后, 高压氧作用下神经元细胞出现一系列损伤性变化, 表明脑组织对 OFR 作用最敏感。

2.9 高压氧下组织化学的改变

高压氧可抑制心肌和脑细胞酶的活性, 琥珀酸脱氢酶(SDH)、硒谷胱甘肽氧化酶(Se-GSH-pox)、SOD 等可被 OFR 氧化而失去活性, 使神经递质代谢和心肌 CPK 发生变化, 影

响脑细胞和心肌的代谢和反应。但 2.5 ATA 氧压下小鼠肾上腺皮质中的酶活性升高, 使肾上腺皮质细胞处于分泌旺盛状态。

高压氧下组织化学的变化有一定规律性, 初期常表现酶活性的升高, 严重损伤时酶的活性下降。其原因可能是轻度损伤或早期作用, 可促使脑、心脏、肝脏、肾脏等一些酶活性呈现代偿性增高; 当 OFR 大量生成, 特别是 $\cdot OH$ 的大量增加, 由于生物组织内不存在消除大量 $\cdot OH$ 的生理防御系统, 生成的 $\cdot OH$ 可自由地侵袭不饱和脂肪酸侧链, 引起组织细胞的严重损伤, 从而抑制一些酶的活性。

有些研究表明, 高压氧对人体细胞免疫功能具有一定的抑制作用, 外周血 T 淋巴细胞百分率有所降低。因而, 对有免疫缺陷或免疫功能暂时处于低下状态的病人, 进行高压氧治疗时应采取避免或减少 OFR 损伤和提高免疫功能的相应措施。

实验证明, 红细胞 C_3b 受体花环率(rate of red blood cell C_3b receptor rosette, $RC_{3b}RR$) 随氧暴露剂量增加而递减, 免疫复合物(immune complex, IC)变化趋势亦类同。体内生物防御体系中 SOD 酶活性随氧剂量加大可升高, 但较缓慢, 需要一定时程的诱导, 药物可使其适应性反应加快。

从上述高压氧对机体影响的资料可知, 高压氧对人和动物机体有双重影响作用, 既有有益作用, 又有不利影响, 要阐明这一问题理论上的复杂机理和全面解决高压氧治疗中诸多实际问题, 目前是困难的, 这要求较长期的深入研究。因为, 第一, 高压氧的复杂性在于高血氧对缺血的和正常健康组织和器官有不同性质的作用, 即在高压氧下氧含量在肺泡气和动脉血中升高, 当缺血缺氧组织获得足够氧气的同时, 对没有损伤的正常组织器官来说, 其血供和血氧是过剩的、多余的; 而机体氧的过剩, 尤其是 OFR 的作用可导致一系列功能和结构的变化。第二, 高压氧效应的相关性, 不只是决定于组织供氧程度, 而最终结果是细胞内氧耗物质和能

量转化代谢的活性与能力,在多大程度上起作用。第三,高压氧对机体作用的综合性及治疗效应,与交感-肾上腺系统及其相关的神经内分泌反射性影响下机体对异常外环境因素——氧过高和高压强的反应、耐受力和适应性有关。所以,在分析高压氧对机体影响时必须抓住主要环节,使之有益于机体正常生理过程和有利于防治损伤性变化。

3 高压氧治疗的基本原理

高压氧治疗(hyperbaric oxygen therapy, HBOT)是医学领域的一项新进展,作为一种特殊治疗手段,在国内外的临床应用愈来愈广泛。实践证明,HBOT对某些疾病,如CO中毒、厌氧菌感染性疾病、潜水减压病、空气栓塞症、组织缺血、缺氧性疾病、皮肤和骨移植以及Hb携氧障碍等疾病有显著疗效;对颅脑损伤、脊髓损伤和多种外伤及其后遗症也有良好效果。但是,对高压氧治疗作用的机理相对来说研究甚少。然而,要提高高压氧治疗的疗效,正确发挥这一疗法的作用并不断深化,必须对其机理进行广泛深入的研究。现着重从高压氧治疗的基本原理方面作一概述,从而对这一疗法的应用基础加深理解。

3.1 高压氧条件下血液运输氧的方式发生变化,血中溶解氧量显著增加

正常条件下1g Hb与1.34 ml的氧结合,以正常人的Hb浓度为15 g/100 ml血计算,当Hb被100%饱和时,100 ml的血液可以运输与Hb结合的20.1 ml氧(即20.1 vol%)。海平面压力下肺泡和动脉氧分压为13.3 kPa(100 mmHg),Hb约97%与氧饱和,血氧含量为19.4 vol%,当动脉氧分压为13.3~26.6 kPa(100~200 mmHg)时,Hb达到100%饱和。因此,通过提高吸入氧的浓度或吸入空气的总压力,使肺泡氧分压提高到高于26.6 kPa(200 mmHg)时,就再也不会提高血液中Hb运输氧的含量。在正常大气压下血液中溶解氧量很少,如呼吸空气在1 ATA仅为0.32 vol%,

2 ATA时为0.81 vol%,3 ATA时为1.31 vol%。但是,如果吸纯氧则1 ATA下可达2.091 vol%,2 ATA时为4.2 vol%,3 ATA时为6.5 vol%。可见,此时血浆所溶解的氧量,已能够满足机体平均的需氧量。研究结果证明,组织平均摄氧量为6 vol%,活动的肌肉、心肌组织则稍高,约为10 vol%。

正常动脉血氧含量是物理溶解氧与Hb结合氧的总和,为0.3 vol% + 19.4 vol% = 19.7 vol%。可见,血液从肺携氧到组织,绝大部分是以Hb结合方式进行,只有很少量是由物理溶解方式完成。当动脉血流经灌注组织时,由于组织中氧张力(为5.3 kPa左右)和组织细胞的氧张力(4.65 kPa左右)远低于动脉血,故血液中溶解氧向组织中弥散,血中氧张力降低,与Hb结合氧解离一部分,变为溶解状态,直到血氧张力同组织氧张力相平衡。由此可知,血液中直接供给组织的氧是溶解氧,这是组织细胞摄取氧的必经途径。

高压氧条件下情况则不同,物理溶解氧量显著增多,因而很少需要Hb结合氧的解离,从而改变了氧解离供氧方式,这是高压氧治疗的生理基础因素,即机体代谢所需要的氧,无需依赖HbO₂解离,仅靠物理溶解氧供应即可满足。

3.2 高压氧下CO₂滞留的生理作用

CO₂是机体代谢的最终产物,正常情况下呼吸商为0.7~1.0,维持着机体气体代谢的相对恒定。

在高压氧作用下,由于无需Hb结合氧解离供氧,致使静脉血中Hb与氧结合,处于100%饱和状态。此时,血中PCO₂升高,pH向酸性偏移,并导致有效运输CO₂的HHb极度减少。但是,由于平时只有20%的静脉血中CO₂是由Hb来运输,况且,其他H₂CO₃/HCO₃⁻和物理性溶解两种运输途径仍起作用,分担了增加的CO₂负担,故不致造成严重后果。在一定范围内,肺泡气中CO₂没有明显变化,静脉血中CO₂含量升高,也不会超过6%~8%。但是,如果有器官功能障碍时情况则不

同,将会产生 CO_2 滞留的生理、病理反应,作为初期代偿性变化,出现呼吸、心率加快、血压升高等,重则出现 CO_2 毒性反应,使酸碱平衡紊乱,发生呼吸性酸中毒等。

此外, CO_2 滞留还有其局部作用,可使局部血管扩张、脑血管扩张。这将增加局部的血流量,对机体有利。因此,有人主张在高压氧治疗时,在吸入纯氧气体中加入少量相当常压下 2%~5% 的 CO_2 。可在加压 1 ATA 时加入 5% CO_2 , 2 ATA 时加入 2.5%, 2.5 ATA 时加入 2%,以抵消高压氧的缩血管作用和延长阻断血液循环的时间,已收到了良好效果。从生理角度分析, CO_2 一方面维持血管化学感受器的兴奋性,另一方面,可使局部血管产生一定程度的舒张反应。

3.3 高压氧明显改善缺血、缺氧组织血供,增强微循环功能

高压氧作用下缺血组织的血管扩张,血流速度加快,微循环得到改善,血管血流描记法证实,在 2 ATA 氧压下 10~15 min,缺血的四肢供血可增加到功能活动需要值。我们的研究也证实,在 3 ATA 氧压下 Wistar 大鼠皮肤微循环血流速度加快,红细胞聚集减轻,开放的微动脉数量增加,且侧支循环建立较早。这表明微循环的改善是克服局部缺血、缺氧,尤其是细胞缺氧代谢障碍的重要基础,并有利于营养性溃疡的恢复和术后伤口更快地建立侧支循环。

在冠状血管的血液循环中氧含量的增加,尤其是物理溶解氧增多和心肌微循环的改善,是治疗急性冠状血管功能不全的有效措施。实验证明,3 ATA 下呼吸空气时 PO_2 增长 90%,如呼吸纯氧,则可增长 190%。组织形态学研究发现,心肌损伤部位的瘢痕形成以及侧支循环的建立,在高压氧下出现得比较早。

高压氧对缺血性心脑血管疾病的治疗作用,除了提高组织氧含量,改善损伤组织血液灌注外,还与适宜高压氧作用下,降低了白细胞与血管内皮细胞粘附作用,增强微循环血流动力,从而减少白细胞对血管内皮细胞的刺激和损伤

作用有关,与减少血细胞聚集导致的微血栓栓塞作用有关。

应当指出,在微循环有足够灌注量时应用高压氧可提高血液溶解氧量,以改善对组织的氧供,偿清氧债,恢复正常代谢,消除缺氧。然而,在微循环灌注量极度减少的情况下应用高压氧,则未必收到预期效果。因为由血中弥散入组织的极少量的氧,不足以改善机体氧化还原过程和维持正常代谢。可见,微循环功能状态对高压氧疗效起着一定的作用。

3.4 氧的抗微生物特性形成的高压氧对细菌,尤其对厌氧菌的抑制作用

氧对革兰阴性和阳性细菌都有抑制作用,所以,氧可以认为是一种广谱抑菌剂。在 2~3 ATA 氧压下对粘膜双球菌和脑膜炎双球菌的生长有明显抑制作用。在 3 ATA 氧压下对革兰阳性菌、白喉杆菌的生长可完全抑制,对于酪乳杆菌的生长抑制至少需 2.8 ATA 氧压。

关于高压氧抑制作用的机理,可分非特异性和特异性原因两方面,非特异性原因是使 SH 基氧化为二巯基,而 SH 基是许多酶类的组成部分(如辅酶 A、谷胱甘肽过氧化物酶和琥珀酸脱氢酶等),由此可使一些酶被灭活,代谢发生障碍,体内微生物也不例外地受到抑制。另一方面是特异性原因,如对厌氧菌,因其既缺乏细胞色素氧化酶,又缺乏过氧化氢酶、过氧化物酶,在高压氧下它既不能从代谢中获得能量,又不能除去有氧代谢的过氧化氢,使代谢发生障碍,导致厌氧菌在如此高氧条件下无法生长。这就是高压氧治疗某些厌氧菌感染疾病(如气性坏疽)取得显著疗效的缘故。

3.5 高压氧对体内气泡或禁锢于体内气体引起的疾病的治疗作用

高压氧治疗减压病(decompression sickness, DCS)和空气栓塞症(air embolism)的显著疗效已为世人公认。其机理一方面在于加压治疗的压力作用,使体内已形成的气泡体积缩小和使气泡内气体压强升高,加快其溶入体液速度的过程;另一方面,以氧取代氮,使体内氮张

力迅速降低,气泡内的氮分压与体液中氮张力间的压差梯度加大,促使氮气溶解于血液或体液,并经肺脏或皮肤等排出,从而改善受压组织的供血、供氧,消除症状,使受损组织得以恢复。

3.6 高压氧作用下氧的有效弥散半径加大,弥散深度和范围增加

人脑灰质毛细血管静脉端,于常压空气条件下氧的有效弥散半径约为 $30\ \mu\text{m}$,通常脑细胞距毛细血管最远处亦约为 $30\ \mu\text{m}$,毛细血管间间距约为 $60\ \mu\text{m}$ 。在 3 ATA 氧压下的弥散半径可达 $100\ \mu\text{m}$ 左右,这就使得在一般常压下无法深达的组织细胞,可获得足够的氧的供应,增加组织储氧量,纠正缺氧。此外,已证实,成纤维细胞合成胶原蛋白是修复过程的基本部分,胶原蛋白是一种有连结作用的蛋白质,它可把分离的组织连结起来。在高压氧作用下可影响胶原蛋白纤维特性,加速胶原蛋白的修复和伤

口胶原蛋白的合成,同时,也可使组织内 RNA/DNA 比例上升,这预示着创伤细胞的粗糙内质网的生长和较高度度的细胞分化的加强。

3.7 高压氧对放射能和化学药物治疗肿瘤敏感性的促进作用

有人认为缺氧可以降低癌细胞对放射治疗敏感性,在临床上把高压氧用于提高癌细胞对照射的敏感程度。用此法,即照射加上高压氧治疗提高了肿瘤病人的存活率,但暂且得不出有显著统计意义的结论。也有人主张用氧的毒性作用,协同放射能或化学药物作用,以杀灭瘤细胞,但各家主张不一,至今尚无定论。一般说来,高压氧在肿瘤治疗上尚未证实它的直接作用,但协同其他疗法,在一定程度上提高了治疗措施的敏感性和病人存活时间,在治疗期间肿瘤没有扩张。总之,这方面问题尚待深入研究。

第二篇 高压氧暴露与自由基

高压氧暴露大鼠肺内自由基生成变化

倪大智 姜德玺 刘景昌 周澄明* 王文波 陶永华 薛建华

海军医学研究所 上海 200433

摘要 目的:采用电子顺磁共振(electron paramagnetic resonance, EPR)直接测定自由基的方法研究了高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)下暴露后大鼠肺内自由基的消长变化。方法:动物在 300 kPa 氧压下分别暴露 105、161、214 和 262 min。动物出舱后,腹腔注射自旋捕捉剂—— α -苯基-叔丁基甲亚胺-N-氧化物(N-t-butyl- α -phenylnitrone, PBN),用 EPR 波谱仪测定肺内维生素 C 自由基($Vc^{\cdot-}$),用化学比色方法检测肺内维生素 C(Vc)、丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性。结果:高压氧暴露后,肺内 $Vc^{\cdot-}$ 浓度升高, $Vc^{\cdot-}$ 生成随暴露时间的延长而增加。161 min 时, $Vc^{\cdot-}$ 浓度增加已非常显著($P<0.001$),在 105 min 时, Vc 量下降, SOD 活性升高非常明显($P<0.001$);至 262 min 时, $Vc^{\cdot-}$ 增加幅度略低于 214 min 暴露时,而预先注射 Vc 可明显提高肺内 $Vc^{\cdot-}$ 浓度($P<0.001$)。但肺内 Vc 量未见增加。MDA 只在用 Vc 处理的大鼠在 262 min 时有明显升高($P<0.05$)。结论:HBO 暴露时,肺内自由基生成量随暴露剂量的加大而增加,同时,肺内 Vc 有大量消耗。当 HBO 暴露剂量达到一定水平时,肺内 Vc 的浓度高低将影响其自由基清除能力;此时,补充 Vc 可以提高机体组织清除氧自由基的能力,但同时也引发组织损伤。因此,在抗氧中毒时,如何应用 Vc 有待深入研究。

关键词 电子顺磁共振 高压氧 氧中毒 维生素 C 自由基

大量的生化实验支持氧中毒的自由基学说。近来,利用电子顺磁共振(electron paramagnetic resonance, EPR)直接测定自由基的方法证明,高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)可使肺、脑内自由基增多^[1~5]。但利用 EPR 对氧

中毒机理的研究尚不够深入。

本研究用 EPR 检测在 HBO 下暴露的大鼠肺内维生素 C 自由基($Vc^{\cdot-}$),用化学比色方法检测肺内 Vc 、SOD、MDA 的变化,以了解不同 HBO 暴露剂量时大鼠肺内自由基的生成变化

* 解放军总后卫生部科研基金资助课题

** 中国科学院上海有机化学研究所 上海 200032

规律。

1 材料与方法

1.1 动物分组和 HBO 暴露

成年雄性 SD 大鼠 109 只(购自上海计划生育研究所), 体重 220 ± 18.7 g。随机分为 7 组(每组 13~16 只): 对照组(呼吸常压空气), 300 kPa 氧压下暴露 105、161、214 和 262 min 组, 以及实验前注射 Vc(ip), 然后再行 300 kPa 氧压下暴露 214 min ($Vc + 214$) 和 262 min ($Vc + 262$) 两组。

HBO 暴露在动物舱内进行。实验时, 舱底铺钠石灰吸收 CO_2 , 用氧气将舱压加至 0.2 MPa(表压), 高压停留期间, 舱内氧浓度为 99.2%, CO_2 浓度低于 0.03%。

1.2 自由基检测

1.2.1 样品的制备 动物出舱后, 按 0.5 ml/100 g 体重腹腔注射自旋捕捉剂—— α -苯基-N-叔丁基甲胺-N-氧化物(N-t-butyl- α -phenylnitron, PBN, 购自 Sigma 公司)溶液(浓度 0.05 mmol/L), 25 min 后, 麻醉动物(20% 乌拉坦, 0.5 ml/100 g 体重, ip), 然后, 腹

主动脉放血处死, 剪取 0.75 g 肺组织, 擦去血迹, 放入装有 1 ml 0.05 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.4)的玻璃研磨器内, 匀浆 2 min, 将匀浆液倒入离心管中, 离心 2 min(2 500 r/min), 取上清液倒入玻璃扁平管中, 备用。

1.2.2 EPR 测定 样品在 Varian E-112 型波谱仪上测试。用 X 波段, 调制频率 100 kHz, 调制幅度 0.32 mT, 增益 8.0×10^4 , 时间常数 0.25 s, 中心磁场 3.270×10^2 mT, 扫描范围 100 mT, 测试温度 20℃, 以超高频计测定微波频率, 用 H-NMR 测场仪测定磁场。

1.3 生化指标的测试

检测肺组织内 Vc 、MDA 量及 SOD 活性。取肺组织匀浆, 用化学比色法检测, 采用南京建成生物工程研究所生产的检测药盒。SOD 用羟胺法, MDA 用 TBA 比色法, Vc 则以 Fe^{3+} 与还原 Vc 反应生成 Fe^{2+} , Fe^{2+} 再与非绕啉(应称非咯啉, phananthroline-)反应显色。使用上海分析仪器厂生产的 721 型分光光度计比色。

2 结果

2.1 肺组织内自由基 EPR 检测信号

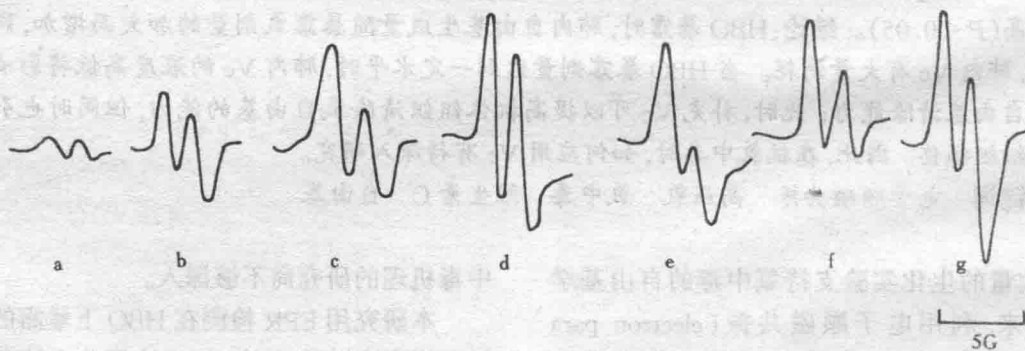


图 1 300 kPa 氧压下暴露不同时间大鼠肺标本 EPR 波谱

Fig 1 EPR Spectra of lungs from the rats exposed to 300 kPa O_2 for various duration

a. Control; b. O_2 105 min; c. O_2 161 min; d. O_2 214 min;
e. O_2 262 min; f. $O_2 + Vc$ 214 min; g. $O_2 + Vc$ 262 min