

· 实验研究 ·

甲醛对小鼠肺组织形态及肺泡灌洗液成分的影响

Effects of formaldehyde on lung histomorphology and BALF components of mice

于光艳, 宋祥福, 栗学军*

YU Guang-yap SONG Xiang-fu LIXue-jun*

(吉林大学公共卫生学院, 吉林 长春 130021)

摘要: 为探讨甲醛对小鼠肺组织形态及肺泡灌洗液成分的影响, 取 48 只小鼠静式吸入甲醛染毒, 每日 2 h 连续 2 个月。染毒浓度分别为 21、42 和 84 mg/m³, 光镜下观察小鼠肺组织形态变化, 并测定肺泡灌洗液 (BALF) 中乳酸脱氢酶 (LDH)、酸性磷酸酶 (ACP)、碱性磷酸酶 (AKP) 含量。与对照组相比, 光镜下可见吸入甲醛的小鼠肺毛细血管充血, 肺泡间隔增宽, 有炎细胞浸润, 随着染毒剂量增加病理改变加重; 小鼠 BALF 中不同剂量组的 LDH、ACP 和 AKP 含量均有所增加 ($P < 0.05$), 但组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。提示吸入一定浓度的甲醛可以造成肺组织的细胞损伤。

关键词: 甲醛; 肺泡灌洗液 (BALF); 乳酸脱氢酶 (LDH); 酸性磷酸酶 (ACP); 碱性磷酸酶 (AKP)

中图分类号: O623.511 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2007)06-0404-02

支气管肺泡灌洗技术已越来越多地应用于外源性化合物对肺脏毒性作用的研究。通过对支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中细胞、生化、肺表面活性物质等多种成分的分析, 探讨化合物对肺脏的毒作用机制^[1]。甲醛是刺激性较强的气体, 经呼吸道吸入可引起肺部症状, 严重时导致肺水肿。本实验通过甲醛亚慢性吸入染毒, 探讨其对小鼠肺组织形态及肺泡灌洗液成分的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

选用吉林大学实验动物部提供的普通级封闭群昆明系小白鼠 (合格证号: 10-1023) 48 只, 体重 18~20 g, 随机分为对照组和 3 个染毒组, 每组 12 只, 雌雄各半。静式吸入甲醛染毒, 每日 2 h 连续 2 个月, 根据卫生毒理学亚慢性毒性染毒剂量制订标准, 确定甲醛染毒浓度分别为 21、42 和 84 mg/m³, 末次染毒后 24 h 内处死动物, 迅速取出肺脏。

1.2 试剂与仪器

36% 甲醛, 分析纯, 由天津化学试剂二厂生产; LDH、ACP 及 AKP 测定试剂盒, 均由南京建成生物工程研究所提供; 561 静式染毒柜; 722 型分光光度计, 上海第三分析仪器厂。

1.3 肺泡灌洗液的制备

将肺脏放入盛有生理盐水的小烧杯中冲洗, 用滤纸拭干, 在分析天平上称重。沿支气管结扎左侧肺叶 (三叶肺), 从气管处以 5 ml 0.9% 生理盐水反复冲灌右侧肺叶 (两叶肺), 共 5 次, 收集灌洗液, 以 1 500 r/min 离心 10 min, 取上清液。

1.4 肺组织形态学检查

取另一侧未灌洗的肺组织置于 10% 中性甲醛溶液中固定, 常规脱水石蜡包埋, 制作切片, 切片厚 5 μm, HE 染色, 光镜下观察肺组织形态学。

1.5 统计学处理

各组数据处理用 SPSS10.0 计算机软件进行分析。

2 结果

2.1 肺泡灌洗液中 LDH、ACP、AKP 含量

不同剂量组支气管肺泡灌洗液中 LDH、ACP、AKP 含量经方差分析差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。又经 t 检验, 各剂量组与对照组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 且 LDH、ACP、AKP 含量随染毒剂量的增加有逐渐上升的趋势, 但各染毒剂量组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 肺泡灌洗液中 LDH、ACP、AKP 含量比较 U/g Prot

剂量 (mg/m ³)	n	LDH	ACP	AKP
0(对照)	12	1 718.3±223.4	39.0±3.14	6.02±0.78
21	12	1 998.1±115.6**	44.7±5.20*	7.20±1.28
42	12	2 054.4±147.0**	46.3±7.52**	8.35±1.85*
84	12	2 160.1±288.6**	48.6±6.14**	8.77±1.95**

与对照组比较, * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

2.2 肺组织形态学变化

对照组小鼠肺组织无病理改变。21 mg/m³ 和 42 mg/m³ 染毒组可见部分肺毛细血管充血, 小灶状肺泡间隔增宽, 间隔内有少数炎细胞浸润; 84 mg/m³ 剂量组可见大灶状肺毛细血管充血及肺泡腔出血, 较多肺泡间隔增宽, 同时出现含铁血黄素颗粒及大量的炎细胞浸润, 见图 1。

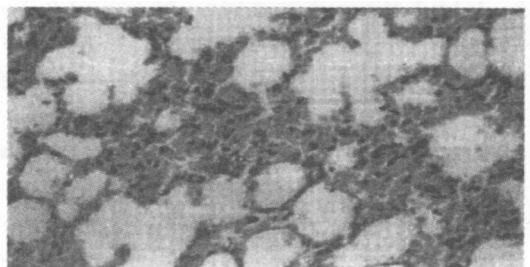


图 1 84 mg/m³ 染毒组肺组织病理改变 (×400)

收稿日期: 2006-04-29 修回日期: 2006-07-03

基金项目: “十五”国家医学科技攻关课题 (2001BA704B01)

作者简介: 于光艳 (1976-), 女, 在读医学博士, 讲师, 主要从事卫生毒理学及劳动卫生与环境卫生学研究。

* 通讯作者

3 讨论

支气管肺泡灌洗技术可直接采集支气管及肺泡内液的标本,有效地反映肺内病变,属于无创性肺内标本采样技术^[2]。利用 BALF中成分的变化及其在疾病中的意义,对研究各种环境因素所致肺病具有重要的理论和实际应用价值。尤其是 BALF中一些酶类的变化可以直接反应肺组织细胞的氧化损伤情况。

本实验研究表明,小鼠 BALF中不同剂量组的 LDH ACP 和 AKP与对照组相比,含量均有所增加 ($P<0.05$),但组间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。LDH是一种胞浆酶,来源于上皮细胞、中性粒细胞和肺泡巨噬细胞 (AM)。正常情况下,由于细胞的衰老死亡,细胞外液中存在一定活力的 LDH,当细胞受损伤或膜通透性增加时,LDH会大量逸至胞外,使细胞外液中 LDH活力增加,BALF中 LDH活性升高^[3]。小鼠经吸入性甲醛亚慢性染毒后,BALF中 LDH活力增加,表明甲醛对肺组织细胞有损伤作用,可能是甲醛的毒性作用引起炎症反应而致膜损伤造成的。ACP是溶酶体酶,它参与肺部防御感染。实验可见,ACP活性升高,可能是因为甲醛导致肺组织炎性反应,促进了激活状态的肺泡巨噬细胞 (PAMs)、多形核中性粒细胞 (PMN) 溶酶体的释放,细胞发生溶解和死亡,使大量 ACP进入 BALF 从而反映了甲醛对肺组织的

损伤作用。AKP主要存在于肺泡 II 型上皮细胞膜上,是一种结合酶^[4]。AKP活性升高,说明肺泡 II 型上皮细胞膜受到损伤,白细胞活动增加,细胞的炎症反应加剧^[5]。BALF中 AKP 活性升高还可能由于肺泡血管内皮细胞受损,血浆渗出而引起。同步观察肺组织病理变化,可见肺组织毛细血管出血,肺泡间隔增宽,肺泡腔内出现炎细胞浸润,尤其在高剂量染毒组,有大量炎细胞和含铁血黄素细胞出现。这表明吸入一定浓度的甲醛可以造成肺组织的细胞损伤。小鼠肺组织是否对甲醛引起的细胞损伤存在一个阈剂量,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 施爱民,王心如.支气管肺泡灌洗液成分分析与肺毒理学研究概况 [J]. 中国职业医学, 2000, 27 (2): 46-47
- [2] 宋鸿鹏,周宗灿.支气管肺泡灌洗液对尘肺诊断和治疗的意义 [J]. 中国公共卫生, 1995, 11: 440-442
- [3] Kodavanti U P, Hauser R, Christiani D C, et al. Pulmonary responses to oil fly ash particles in the rat differ by virtue of their specific soluble metals [J]. Toxicol Sci 1998, 43 (2): 204
- [4] 李湘鸿,罗方妮,方企圣.臭氧对大鼠肺灌洗液某些生化指标及肺形态的影响 [J]. 中国公共卫生学报, 1996, 15 (4): 234-235
- [5] 阚海东,宋伟民,蒋蓉芳.室内常见气传真菌对动物肺损伤的实验研究 [J]. 中国公共卫生, 2002, 18 (2): 135-136

急性甲胺磷中毒大鼠心肌及肝细胞凋亡的研究

Study on apoptosis of myocardial and hepatic cells induced by acute methamidophos poisoning in Wistar rats

何旭,李国明,段新旺,尹林

HE Xu, LI Guoming, DUAN Xinwang, YIN Lin

(南昌大学第一附属医院急诊科,江西 南昌 330006)

摘要:选取健康 Wistar 大鼠 25 只,随机分为 3 组,即正常对照组、轻度和重度中毒组,采用流式细胞仪检测中毒后早期心肌和肝细胞的凋亡百分率。结果中毒组细胞早期凋亡率明显高于正常对照组 ($P<0.01$),重度中毒组心肌细胞和肝细胞早期凋亡率显著高于轻度中毒组 ($P<0.01$)。表明急性有机磷中毒早期即可出现实质器官细胞的损害并且与中毒严重程度密切相关,提示在急性有机磷中毒的临床救治中,早期应加强保护重要器官,防止发生多器官功能障碍综合征。

关键词: 甲胺磷中毒; 细胞凋亡; 流式细胞仪

中图分类号: R595.4 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2007)06-0405-02

近年一些研究表明,有机磷中毒 (AOPP) 存在细胞凋亡现象,提示有机磷中毒所致的呼吸肌麻痹可能与膈肌细胞凋

亡有关^[1],神经元细胞凋亡在中毒后迟发性神经病的发病机制中起重要的作用^[2]。急性有机磷中毒后实质器官是否出现细胞凋亡现象,目前尚未见报道。为此,我们建立了急性甲胺磷中毒动物模型,对染毒大鼠的心脏和肝脏进行细胞凋亡检测,为今后临床抗凋亡治疗提供相关的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

30% 甲胺磷乳油 (湖北沙隆股份有限公司提供),FACS Calibur 型流式细胞仪 (美国 BECTON DICKINSON 公司)。

1.2 动物分组

健康 Wistar 大鼠 25 只 (由南昌大学医学院实验动物研究中心提供),雌雄兼并,体重 200~240 g,随机分为 3 组,正常对照组 5 只,轻度中毒组和重度中毒组各 10 只。中毒组分别按 10 mg/kg、40 mg/kg 给予甲胺磷皮下注射染毒,对照组给予 2 ml 生理盐水皮下注射。

1.3 标本采集

对照组注射生理盐水 8 min 后断头处死取心脏和肝脏组织;轻度中毒组染毒后出现流泪、肌无力、行走不稳、肌颤,8 min 后取心脏和肝脏组织;重度中毒组染毒后均迅速死亡,

收稿日期: 2007-03-01; 修回日期: 2007-06-01

基金项目:江西省卫生厅科技计划基金资助项目 (043032)

作者简介:何旭 (1963-),女,主任医师,副教授,硕士生导师,研究方向:急性中毒和危重病救治。