

慢性乙醇中毒对大鼠急性肺损伤易感性的影响

柳松, 刘志

(中国医科大学第一附属医院急诊科, 辽宁 沈阳 110001)

摘要: 目的 研究慢性乙醇中毒对内毒素 (LPS) 致急性肺损伤模型的易感性。方法 将 35 只 Wistar 大鼠随机分为对照组、LPS 组及乙醇中毒 + LPS 组, 分别观察 2 h 和 6 h 2 个时间点的动脉血气、肺组织湿/干比值, ELISA 法测大鼠肺组织中白介素-6 (IL-6)、血管内皮生长因子 (VEGF) 和单核细胞趋化因子-1 (MCP-1) 含量变化。结果 LPS 组和乙醇中毒 + LPS 组中各时间点氧分压、氧合指数、VEGF 与对照组比较明显降低 ($P < 0.01$), 且乙醇中毒 + LPS 组与 LPS 组比较显著降低 ($P < 0.05$); LPS 组和乙醇中毒 + LPS 组各时间点肺湿、干重及肺湿/干比值、IL-6 和 MCP-1 均较对照组显著增加 ($P < 0.01$); 在 2 h 时乙醇中毒 + LPS 组与 LPS 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 在慢性乙醇中毒基础上的大鼠急性肺损伤程度较无慢性乙醇中毒基础的严重而且易感。

关键词: 急性肺损伤; 乙醇中毒; 易感性; 白介素-6; 血管内皮生长因子; 单核细胞趋化因子-1

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2008)06-0361-03

Effect of chronic alcoholism on susceptibility to acute lung injury in rats

LIU Song LU Zhi

(Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China)

Abstract: Objective To explore the effect of chronic alcoholism on susceptibility to acute lung injury induced by endotoxin (LPS) in rats. Methods 35 Wistar rats were randomly divided into three groups: they were control group, LPS group and alcoholism + LPS group, then observed the changes of arterial blood gases, wet/dry ratio of lung and contents of IL-6, VEGF and MCP-1 in lung tissues determined by ELISA at 2 h and 6 h after experiment respectively. Results The results showed that there were obvious decrease in PaO_2 , PaO_2/FiO_2 and VEGF and obvious increase in wet weight/dry weight, wet/dry ratio of lung and contents of IL-6, MCP-1 in LPS group and alcoholism + LPS group both at 2 h and 6 h after experiment compared with control group ($P < 0.01$ and < 0.05 respectively); at 2 h after experiment, there was some obvious difference between alcoholism + LPS group and LPS group ($P < 0.05$). Conclusions The results suggested that the acute lung injury induced by LPS in chronic alcoholism rats was more severe and susceptible.

Key word: Acute lung injury; Alcoholism; Susceptibility; Interleukin-6 (IL-6); Vascular endothelial growth factor (VEGF); Monocyte chemoattractant factor-1 (MCP-1)

急性肺损伤 (ALI) 是临床上一种常见的危重病症, 其进一步发展即为急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)。ALI/ARDS 起病急骤, 发展迅速, 治疗困难, 死亡率高。其发病机制复杂, 至今尚未完全阐明。Mosk^[1] 报道乙醇中毒是增加 ARDS 患病危险性的一种独立因素。在国内目前尚无乙醇中毒与 ALI 之间关系的报道。本研究通过建立大鼠慢性乙醇中毒模型, 并在此基础上采用内毒素 (LPS) 致伤 Wistar 大鼠, 模拟临床严重感染引发 ALI/ARDS 的发生、发展过程^[2], 同时观察白介素-6 (IL-6)、血管内皮生长因子 (VEGF) 和单核细胞趋化因子-1 (MCP-1) 的变化, 探讨其在 ALI/ARDS 中所起的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 动物分组及其模型制备

Wistar 大鼠 (由中国医科大学实验动物部提供) 35 只, 体重 200 ~ 250 g, 雌雄不拘, 随机分为: (1) 对照组, (2) LPS 组, (3) 乙醇中毒 + LPS 组, 其中 (2) 和 (3) 组按 2 h 和 6 h 不同时间点再分为 2 个亚组, 每组大鼠各 7 只。

慢性乙醇中毒模型的建立^[3], 大鼠正常喂养标准饲料 1 周后, 乙醇中毒组给予 40% 乙醇 [8 g/(kg·d)] 分 3 次灌胃, 连续 4 周。灌胃后大鼠出现步态不稳、嗜睡、精神差等乙醇中毒症状, 持续 8 ~ 9 h。4 周后大鼠嗜睡, 行走不稳, 鼠毛晦暗、杂乱、无光泽, 食欲差, 体重较对照组明显减轻。对照组给相同体积的生理盐水, 每日 3 次灌胃, 共 4 周。

ALI/ARDS 模型建立^[4], 大鼠经戊巴比妥 (60 mg/kg) 腹腔麻醉, 气管插管, 肺部通气, 潮气量 8

收稿日期: 2007-12-28 修回日期: 2008-07-16

作者简介: 柳松 (1970-), 女, 博士研究生, 副主任医师, 研究方向: 急性肺损伤, 现工作单位为沈阳市急救中心。

ml/kg 呼吸频率 60次/min 吸入气体为空气。经右颈静脉插管, 建立静脉通道, 缓慢注射 LPS 5 mg/kg (O₃:B₃ 细菌脂多糖, 美国 Sigma公司)。对照组给予等量的生理盐水, 待手术完毕后稳定 20 min 抽取 0.3 ml 动脉血测定血气。

1.2 生物材料的制备

将肝素化聚乙烯塑料软管插入大鼠左颈动脉血管, 连接 RM6000 多导生理记录仪 (日本 HONDEN 公司), 观察动脉压力和心率变化。对照组在 2 h LPS组和乙醇中毒 + LPS组分别在 2 h和 6 h2个时间点采集动脉血测定血气。取血后打开胸腔, 肉眼观察动物肺表面变化, 随后取出心肺组织, 观察其外观变化; 剪下右肺下叶组织, 测湿重后置 60 °C恒温箱, 7 h后再称干重, 计算肺的湿重/干重 (W/D) 比值。右肺中叶取一小块组织 -70 °C冻存, 测定肺组织匀浆中 IL-6、VEGF和 MCP-1含量。

1.3 细胞因子测定

酶联免疫吸附测定 (ELIAS) 法检测肺组织匀浆中的 IL-6、VEGF和 MCP-1, 试剂盒由武汉博士德生物工程有限公司提供。

1.4 统计学处理

计量资料以均数 ±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用方差分析, 用 SPSS软件对数据进行处理, P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动脉血气分析

在 LPS组和乙醇中毒 + LPS组中各时间点氧分压和氧合指数与对照组比较明显降低, 而乙醇中毒 + LPS组与 LPS组比较显著降低; pH值、二氧化碳分压在 LPS组和乙醇中毒 + LPS组中 2 h与对照组比较差异有统计学意义。而 LPS组与乙醇中毒 + LPS组相比差异无统计学意义 (表 1)。

2.2 肺湿重、肺干重、肺湿/干比值

LPS组和乙醇中毒 + LPS组各时间点肺湿重、肺干重、肺湿/干比值均较对照组显著增加; 在 2 h乙醇中毒 + LPS组与 LPS组比较差异有统计学意义 (表 1)。

2.3 肺组织匀浆中 IL-6、VEGF和 MCP-1的含量

LPS组和乙醇中毒 + LPS组肺组织 VEGF的表达较对照组明显降低 (P < 0.01), 乙醇中毒 + LPS组与 LPS组比较差异有统计学意义 (P < 0.01); IL-6和 MCP-1在对照组肺组织无表达, IL-6在 LPS组和乙醇中毒 + LPS组显著增高 (P < 0.01), 乙醇中毒 + LPS组 (2 h) 与 LPS组 (2 h) 比较差异有统计学意义 (P < 0.05); MCP-1在 LPS组和乙醇中毒 + LPS组显著增高 (P < 0.01), 乙醇中毒 + LPS组与 LPS组比较差异有统计学意义 (2 h P < 0.01; 6 h P < 0.05) 见表 1。

表 1 各组大鼠血气分析、肺湿重、肺干重、肺湿/干比值及肺组织匀浆细胞因子结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	氧分压 (mmHg)	二氧化碳分压 (mmHg)	pH值	氧合指数	肺湿重 (g)	肺干重 (g)	肺湿/干比值	VEGF (ng/ml)	IL-6 (ng/ml)	MCP-1 (ng/ml)
对照组	7	95.12 ± 7.25	40.52 ± 3.38	7.38 ± 0.05	450.95 ± 28.20	1.2436 ± 0.1257	0.2475 ± 0.0226	5.0245 ± 0.1264	24.36 ± 62.1		
LPS组											
2h	7	53.16 ± 3.24**	50.21 ± 4.49**	7.24 ± 0.12**	253.17 ± 22.56**	3.0898 ± 0.4876**	0.4602 ± 0.0878*	6.6488 ± 0.5762**	95.4 ± 19.3**	125.4 ± 42.3	19.11 ± 29.0
6h	7	67.52 ± 6.33**	45.43 ± 6.67	7.30 ± 0.09	318.85 ± 25.15**	2.8673 ± 0.4631**	0.4339 ± 0.0624*	6.6082 ± 0.5501**	104.5 ± 19.0**	65.7 ± 39.1	187.6 ± 26.2
乙醇中毒 + LPS组											
2h	6	31.78 ± 5.54**##	54.47 ± 5.76**	7.20 ± 0.05**	159.14 ± 21.31**##	3.9135 ± 0.5897**##	0.5146 ± 0.0945*	7.6049 ± 0.6260**	59.2 ± 17.6**##	183.4 ± 44.5#	243.3 ± 25.9##
6h	5	45.34 ± 7.89**##	47.56 ± 9.23	7.25 ± 0.09**	215.34 ± 30.46**##	3.2259 ± 0.3602**	0.4837 ± 0.0780*	6.6692 ± 0.2469**	78.3 ± 14.7**##	86.9 ± 40.7	223.6 ± 29.2#

与对照组比较, * P < 0.05 ** P < 0.01; 与 LPS组比较 # P < 0.05 ## P < 0.01

3 讨论

临床上 ALI/ARDS主要表现为低氧血症等, 严重感染是 ALI/ARDS最常见的病因之一, 其致病因素是内毒素, 其主要成分是脂多糖 (lipopolysaccharide LPS), 本研究采用 LPS致伤大鼠, 对内毒素性 ALI/ARDS的发生机制进行探讨。

血管内皮细胞生长因子参与细胞生存、迁移、增殖、炎症、血管新生调控及增加血管通透性等。肺是体内 VEGF的最大来源, VEGF在肺内主要由肺泡II型上皮细胞表达^[3], 气道上皮细胞、气道平滑肌细胞、活化的肺泡巨噬细胞和中性粒细胞也可表达。本研究

表明, 大鼠的肺组织 VEGF表达较对照组明显降低, 我们推测大鼠 ALI/ARDS时肺组织 VEGF浓度下降主要是肺泡II型上皮细胞受到破坏, VEGF生成减少。结果还发现, 在 LPS组和乙醇中毒 + LPS组中氧分压和氧合指数明显降低, 尤其在乙醇中毒 + LPS组 2 h时是最低的。注射 LPS后, 乙醇中毒 + LPS组肺湿/干值显著高于对照组, 提示损伤后肺组织含水量增多。从实验我们可以看出, 有慢性乙醇中毒基础的大鼠易患 ALI/ARDS而且损伤的程度较无慢性乙醇中毒的严重。目前 VEGF在 LPS诱导的 ALI/ARDS中的作用存在争议, 其作用机制需进一步研究。

体内和体外实验均证实了 MCF-1 是具有趋化单核细胞的因子, 使该细胞趋化、聚集在病变部位, 发挥重要的抵抗细菌的入侵、组织修复与重建作用。MCF-1 对单核细胞具有趋化活性, 上调单核细胞和巨噬细胞黏附分子如 integrin 家族 β_2 组和 α_4 分子的表达和细胞因子 IL-1、IL-6 的产生。本实验在慢性乙醇中毒基础上用 LPS 建立 ALI/ARDS 模型, IL-6 和 MCF-1 在乙醇和 LPS 刺激后升高明显, 尤其在 ALI/ARDS 初始阶段和在乙醇中毒基础上 ALI/ARDS 增加明显, IL-6 在 LPS 组 2 h 和乙醇中毒 + LPS 组 2 h 均达到高峰, 较对照组显著增高 ($P < 0.01$), 而在 6 h 已开始下降; LPS 组和乙醇中毒 + LPS 组 MCF-1 较对照组显著增高 ($P < 0.05$), 并呈持续状态, 与 Deva[araja 等报道的结果一致^[6]。本实验表明, ALI/ARDS 2 h 的损伤程度较 6 h 表现明显加重, 说明在 ALI/ARDS 初始阶段, MCF-1 对单核细胞引起趋化活

性, 且随着 ALI/ARDS 的发展持续发挥作用, 但 MCF-1 与 ALI/ARDS 的关系尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] Moss M, Bucher B, Moore F A, et al. The role of chronic alcohol abuse in the development of acute respiratory distress syndrome in adults [J]. JAMA 1996; 275: 50-54.
- [2] Rebin I, Bechara S, Lou Ann S. Transforming growth factor β_1 expression and activation is increased in the alcoholic rat lung [J]. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 188-194.
- [3] 吕晓辉, 王炳元, 谢艳华, 等. 基质金属蛋白酶-2 和 -9 在实验性酒精性肝病中的动态变化及表达 [J]. 中华肝病杂志 2001; 9: 268-270.
- [4] 毛宝岭. 急性呼吸窘迫综合征 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 117.
- [5] Monacci W, Merrill M, Olfie E. Expression of vascular permeability factor, vascular endothelial growth factor in normal rat tissues [J]. Am J Physiol 1993; 264 (4 Pt 2): C995-C1002.
- [6] Deva[araja M N. Increase monocyte MCP-1 production in acute alcoholic hepatitis [J]. Cytokine 1999; 11 (11): 875-881.

矽肺结核致胸腔积液 39 例超声诊断分析

韩莉

(沈阳市第九人民医院, 辽宁 沈阳 110024)

为探讨超声在诊断及定位穿刺治疗矽肺结核致胸腔积液中的应用价值, 现将 39 例矽肺结核胸腔积液的声像图结果分析如下。

1 对象与方法

1.1 对象

39 例中男 34 例, 女 5 例, 均为我院收治的矽肺结核患者, 年龄 70~88 岁, 平均 76.5 岁。

1.2 方法

使用阿洛卡-1000 超声诊断仪, 凸阵 3.5 MHz 探头。常规取坐位, 在患者背部肩胛下线、腋后线、腋中线、腋前线之间沿肋间隙逐一纵横并侧动探头作最大弧形扫查, 测量液体最大深度。根据液体量的多少, 液性暗区内有无漂浮的点状、条索状、蜂窝状回声及有无分隔, 粘连程度^[1], 胸膜有无增厚等情况判断是否宜于穿刺, 探测最佳穿刺部位, 标注穿刺点、进针角度及最大进针深度。

2 结果

39 例超声确诊患者中, 34 例宜于穿刺, 5 例不宜穿刺, 其中 3 例因积液量少, 1 例因积液内呈密集点状回声易堵塞针头, 1 例因积液呈窄带状易损伤肺组织而不宜穿刺。

矽肺结核病人病程长, 胸腔结构复杂, 一般将中等量以上积液声像图分成四型: A——积液无回声, 胸膜均匀, 略增厚; B——积液无回声, 内见纤维条索漂浮, 胸膜均匀性增厚; C——积液内见密集点状弱回声, 胸膜均匀性增厚; D——无回声区内见点状弱回声及厚的纤维分隔。A 型患者取

积液最深处定位; B 型避开纤维条索取最佳角度定位, 以获取最大抽液量; C 和 D 型根据点状回声大小, 判断是否宜于穿刺, 为临床提供可靠依据。D 型可穿刺者抽液后用生理盐水冲洗并注入异烟肼等药物局部治疗。

3 讨论

矽肺结核患者出现胸腔积液后可表现为发热、胸痛、呼吸困难, 如能穿刺抽液及胸腔内注射药物, 既能减轻病人痛苦又能增强治疗效果^[2]。

超声可以检测胸膜厚度、有无粘连及占位性病变, 观察积液位置、范围、透声情况, 有无条索分隔, 能明确诊断肋角、肺底部少量积液及少量包裹性积液。中等量以上积液定位时可在皮肤上标注积液上下缘, 选择最佳穿刺点并注明体位、进针角度及最大进针深度, 避免误伤其他脏器。在病人合并肺内感染导致积液内出现点状回声或由于纤维素渗出形成条索或多房分隔时, 可提示临床不宜穿刺或避开条索及光带选择最佳穿刺点定位抽液及注射药物治疗, 避免临床操作的盲目性, 有效规避风险, 减少患者不必要的损伤。有时出现在胸腔的极少量包裹性积液, 可因部位过高、扫查范围局限或受肩胛影响未能探及而漏诊, 因此临床疑有胸腔积液时, 操作者应加大扫查范围, 多角度、多切面广泛探查, 避免遗漏。

两介质声阻抗差大于 0.1% 即产生回声反射, 故超声检测胸腔积液十分灵敏^[3]。在矽肺结核致胸腔积液的诊治过程, 超声是其他检查无法取代的安全、便捷、准确、有效的诊断及辅助治疗方法。

参考文献:

- [1] 王新房. 临床技术操作规范. 超声医学分册 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2004: 27.
- [2] 谢惠安. 现代结核病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 319.
- [3] 周永昌, 郭万学. 超声医学 [M]. 4 版. 北京: 科学技术文献出版社, 2004: 852.