

· 基础论著 ·

## 高氧液对油酸型急性呼吸窘迫综合征治疗作用机制的实验研究

王松 许诚 舒丹 段钢 何清 彭建明 洪丰

**【摘要】 目的** 探讨静脉输注高氧液(HO)对油酸型急性呼吸窘迫综合征(ARDS)大鼠的作用并探讨其可能机制。**方法** 以林格液为基液制备HO,将30只大鼠随机分为油酸组(A组)、油酸+HO组(B组)和正常对照组(C组),每组各10只。A、B组均经右股静脉注入油酸0.1 ml/kg建立ARDS模型,C组注入等量林格液。B组于注入油酸30 min后,经由右侧股静脉输注HO( $10\text{ ml}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ );C组输注等量林格液。各组分别于ARDS模型制备前(0 min),注入油酸30、60、120 min时间点经右颈总动脉采血检测动脉血氧分压( $\text{PaO}_2$ )、动脉血氧饱和度( $\text{SaO}_2$ )、动脉血二氧化碳分压( $\text{PaCO}_2$ )、血液酸碱度(pH)、碱剩余(BE)、碳酸氢根离子( $\text{HCO}_3^-$ );2 h后处死动物,取肺组织测定肺组织内丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)含量,肺含水量,肺体质量比值及观察其病理变化。**结果** A、C组比较,A组 $\text{PaO}_2$ 显著降低( $P<0.01$ ),肺水含量及肺体质量比值显著升高( $P<0.01$ ),MDA增加,SOD活力降低( $P<0.05$ );镜下见肺灶性出血,间质、肺泡水肿,大量炎性细胞浸润。A、B组比较,B组经HO治疗后, $\text{PaO}_2$ 迅速提升( $P<0.05$ ),肺水肿减轻( $P<0.01$ ),MDA降低( $P<0.05$ ),SOD活力增加( $P<0.05$ ),大部分肺组织镜下见肺损伤明显减轻。**结论** 氧化性肺损伤参与油酸型ARDS发病,HO对油酸型ARDS大鼠有一定的治疗作用,早期干预效果更加。

**【关键词】** 高氧液;急性呼吸窘迫综合征;低氧血症

The study of hyperoxic liquid therapy for acute respiratory distress syndrome induced by oleic acid WANG Song\*, XU Cheng, SHU Dan, DUAN Gang, HE Qing, PENG Jian-ming, HONG Feng. \*Shenzhen Donghu Hospital, Shenzhen, Guangdong 518020, China

Corresponding author: HE Qing, Email: heqingjoe@163.net

**【Abstract】 Objective** To study the therapeutic effect and mechanism of hyperoxic liquid (HO) therapy for rats with acute respiratory distress syndrome (ARDS) induced by oleic acid. **Methods** Ringer solution was used as the base solution to prepare HO solution, and 30 rats were randomly divided into 3 groups (10 in each

基金项目:深圳市科技局科研基金资助(2003074)

作者单位:518020 深圳,深圳市东湖医院(王松、许诚、舒丹、段钢、何清);暨南大学第一临床学院(彭建明、洪丰)

通讯作者:何清 Email:heqingjoe@163.net

group): oleic acid group (group A), oleic acid + HO therapy group (group B) and normal control group (group C). Group A and group B were injected oleic acid ( $0.1 \text{ ml/kg}$ ) via the right femoral vein to set up ARDS models, while group C was injected Ringer's solution in the same way. Thirty minutes later, group B was infused HO ( $10 \text{ ml}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) via the right femoral vein, while group A and group C were infused with Ringer's solution in the same way. Each group was taken blood via the right common carotid artery at 0 min (before injected oleic acid), 30 min, 60 min and 120 min (after injected oleic acid) to detect  $\text{PaO}_2$ ,  $\text{SaO}_2$ ,  $\text{PaCO}_2$ , pH, BE, and  $\text{HCO}_3^-$ , respectively. Two hours later, the rats were killed and the lungs were taken out. The concentration of malonaldehyde (MDA) and the activity of superoxide dismutase (SOD) in the lungs were detected. The water content in the lungs and lung/body mass ratio were calculated. The pathological changes of lungs were observed.

**Results** Compared group A with group B, the former had a significant decline of  $\text{PaO}_2$  ( $P < 0.01$ ), a great rise of lung water content and lung/body mass ratio ( $P < 0.01$ ), an increased MDA concentration and a decreased SOD activity ( $P < 0.05$ ); the lung had focus hemorrhage, mesenchymal and alveolus edema, and a great deal of inflammatory cells infiltration when observed by microscopy. Compared group A with group B, the latter had a rapid rise of  $\text{PaO}_2$  ( $P < 0.05$ ), less severe pneumonema, lower MDA concentration ( $P < 0.05$ ) and higher SOD activity ( $P < 0.05$ ) after treatment with HO; the injury had a obvious alleviation in the bulk of lung tissue when observed by microscopy. **Conclusions** The mechanism of ARDS induced by oleic acid may be caused by oxidative injury. HO could therapy rats with ARDS induced by oleic acid, and better effect could be obtained if using it earlier.

**【Key words】** Hyperoxic liquid; ARDS; Hypoxemia

目前临床改善患者缺氧的手段依然是经呼吸道给氧的方法,常因呼吸道病变等原因而难以迅速纠正缺氧状态。静脉内给氧技术在 20 世纪 70 年代逐渐发展起来,将常规氧疗与静脉输液技术相结合,开辟了一条供氧的捷径。该技术在非典型性肝炎的抢救治疗中发挥了一定的作用。本研究旨在观察静脉内给氧治疗 ARDS 的疗效,并试图探求其可能机制。

## 材料和方法

### 一、材料

1. 实验动物与分组:30 只 Wistar 大鼠,购自暨南大学医学院实验动物中心,体重  $200 \sim 250 \text{ g}$ ,分为 A(油酸致伤组)、B(油酸 + HO 治疗组)、C(正常对照组)组,每组 10 只,雌雄各半。

2. 仪器:输液用无菌气体瓶(氧),用长春范氏医疗器械有限公司;电热恒温

鼓风干燥箱 YLD-2000 型:湖北黄石恒丰医疗器械公司;光学显微镜 CHK 型:Olympus 公司;AVL- I 型全自动血气分析仪:Dade Behring 公司。

3. 试剂:MDA 检测试剂盒,南京建成生物工程研究所出品;SOD 检测试剂盒:南京建成生物工程研究所出品;油酸:上海青明化工厂出品。

4. HO 制备:基液选用林格液,采用输液用无菌气体瓶(氧)对等量基液进行溶氧活化处理,操作过程按照说明书进行,溶氧时间 20 min,500 ml 基液溶氧完毕后随机抽查  $\text{PaO}_2$  可达 100 ~ 120 kPa (1 kPa = 7.5 mm Hg)。

## 二、方法

各组动物 Wistar 大鼠在实验前均禁食 12 h,以 3% 戊巴比妥钠 1 ml/kg 腹腔注射麻醉后,仰卧固定于实验板上。取颈部正中切口,分离右颈总动脉并插管备用(管内含肝素生理盐水抗凝,下同)。取右股内侧切口,分离右股静脉并插管备用。完成动物准备后,A、B 组均经右股静脉缓慢(2 min)注入油酸 0.1 ml/kg,建立 ARDS 模型;C 组注入等量林格液。B 组于注入油酸 30 min 时再经右股静脉滴入 HO,A、C 组滴入等量林格液,各组输注速度均为  $10 \text{ ml}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

检测指标:各组动物分别于 ARDS 模型制备前 0 min,注射后 30、60、120 min 时间点经右颈总动脉采血 0.5 ml,进行血气分析。实验进行至 120 min,完成最后一次采血后,放血处死动物。即刻开胸取肺,其中右肺下叶同一部位  $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$  大小肺组织以 10% 中性甲醛固定送病理检查,HE 染色;余下右肺冰浴下制成 10% 肺组织匀浆,离心取上清液,测定肺组织炎症反应相关指标(SOD、MDA);左肺称湿重后置于 75℃ 烤箱烘烤 72 h,再称量肺干重,分别计算肺毛细血管通透性指标(肺体质量比值、肺组织含水量),两者计算公式为:肺体质量比值 = 全肺湿重/体重  $\times 100\%$ ,肺组织含水量 = (左肺湿重 - 左肺干重)/左肺湿重  $\times 100\%$ 。

## 三、统计学处理

计量资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 10.0 统计软件进行统计学分析,多组间资料比较采用方差分析。

# 结 果

## 一、一般情况

A 组静脉注射油酸后均出现躁动、呼吸急促、紫绀,在实验全过程中未见改善;B 组给予 HO 后上述症状有所减轻。

## 二、动脉血气指标变化

A 组大鼠油酸处理后 30 min 时  $\text{PaO}_2$ 、 $\text{PaCO}_2$  与 C 组比较均显著降低( $P < 0.05$ ),并在 120 min 内持续保持低水平;而 B 组于 60 min、120 min 则持续升高,与 A 组比较差异显著( $P < 0.05$ ,表 1)。

三、肺组织炎症反应指标(MDA、SOD)的变化 A 组与 C 组比较,MDA 增加,SOD 活性降低( $P < 0.05$ );B、A 组比较,MDA 降低,SOD 活性增强( $P < 0.05$ )(表 2)。

#### 四、肺毛细血管通透性指标(肺体质量比值、肺组织含水量)的变化

A 组油酸致伤 120 min 后,肺体质量比值及肺水含量明显高于 C 组 ( $P < 0.01$ ),B 组与 A 组比较,肺体质量比值及肺水含量明显降低 ( $P < 0.01$ ,表 3,4)。

表 1 各组大鼠不同时间点动脉血  $\text{PaO}_2$  变化 ( $\bar{x} \pm s$ , kPa)

组别	0 min	30 min	60 min	120 min
A	13.3 ± 1.2	8.9 ± 1.5	8.8 ± 1.2	8.7 ± 1.6
B	13.3 ± 1.5	8.8 ± 1.3	10.4 ± 1.5 *	12.6 ± 1.3 *
C	13.2 ± 1.6	13.3 ± 1.1 *	13.2 ± 1.8 *	13.2 ± 1.3 *

注:与 A 组相比, \*  $P < 0.05$

表 2 各组大鼠不同时间点动脉血  $\text{PaCO}_2$  变化 ( $\bar{x} \pm s$ , kPa)

组别	0 min	30 min	60 min	120 min
A	4.8 ± 0.8	4.4 ± 0.9	3.7 ± 0.8	3.4 ± 0.6
B	4.9 ± 0.5	4.5 ± 1.2	4.1 ± 0.9 *	3.9 ± 0.8 *
C	4.9 ± 0.3	5.0 ± 0.4 *	4.9 ± 0.8 *	4.8 ± 0.6 *

注:与 A 组相比, \*  $P < 0.05$

表 3 各组大鼠肺组织 MDA 及 SOD 变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	MDA (mol/L)	SOD (KU/L)
A	3.24 ± 0.62	33.48 ± 5.64
B	5.75 ± 1.38 *	20.26 ± 4.38 *
C	4.36 ± 0.75 *	26.74 ± 6.44 *

注:与 A 组相比, \*  $P < 0.05$

表 4 各组大鼠肺体质量比值及肺水含量的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	肺量/体重(%)	肺含水量(%)
A	8.8 ± 0.6	83.4 ± 1.4
B	6.5 ± 0.5 *	79.3 ± 1.7 *
C	5.3 ± 0.6 *	74.6 ± 1.2 *

注:与 A 组相比, \*  $P < 0.05$

#### 五、肺组织病理学改变

C 组大鼠肺外观色泽粉红,无明显异常;光镜下肺组织结构完整,肺泡腔清晰,肺泡间隔无水肿、炎症等异常改变。A 组大鼠肺体积增大,重量增加,呈暗红色,包膜下可见点状出血,切面有大量粉红色液体溢出;镜下见肺泡腔内充有大量红染渗出液,可见灶性出血,间质、肺泡水肿,以中性粒细胞为主的炎性细胞浸润,伴局限性肺不张和肺水肿,并可见微血栓及透明膜形成。B 组大部分肺组织镜下见肺损伤明显减轻,小部分间质肺泡腔可见少量出血、渗出。

#### 讨 论

1967 年 Ashbaugh 首次报道 ARDS,其后世界各国对 ARDS 的研究逐步深入。

然而,ARDS 的病亡率仍高达 35% ~ 50%<sup>[1-6]</sup>。ARDS 病理生理改变是弥漫性肺损伤、肺毛细血管通透性增加、肺泡壁萎陷,导致肺内分流增加、通气/血流比例失调,表现为进行性呼吸困难和顽固性低氧血症。有效地给氧治疗是最关键的治疗措施之一。目前 ARDS 动物模型常用静脉注射油酸来制备,机理是通过神经体液因素使微血管强烈收缩,继而脂肪栓阻塞肺毛细血管,使肺的微循环障碍,并直接刺激血管,损伤血管内皮细胞和肺上皮细胞,增加其通透性,引起肺水肿、出血等病理改变。本实验 A、B 两组动物静脉注射油酸后呼吸急促,紫绀进行性加重,PaO<sub>2</sub> 显著降低,PaCO<sub>2</sub> 也较实验前显著降低,提示油酸导致肺损伤后,动物呼吸功能障碍,缺氧并出现代偿性肺通气量增加。A 组油酸致伤 120 min 后肺体质量比值和肺水含量明显增高,提示肺毛细血管通透性增加,肺内液体渗出。B 组大鼠输注 HO 后,PaO<sub>2</sub> 迅速升高,PaCO<sub>2</sub> 也较油酸组升高,提示大鼠肺通气功能和换气功能改善,说明 HO 对肺损伤具有保护作用。肺体质量比值及肺水含量的下降、大部分肺组织损伤明显减轻,提示 HO 能抑制肺通透性的升高,防止肺水肿的加重。

病理情况下,过量的自由基可造成组织和细胞损伤,氧自由基可以通过多种途径攻击生物膜中多聚不饱和脂肪酸,产生过氧化反应,导致组织损伤;脂质过氧化反应是氧自由基对机体的主要损害。MDA 是自由基攻击生物膜引发脂质过氧化反应的产物,其组织含量可反映脂质过氧化的程度,间接反映出细胞受自由基攻击和损伤的程度。SOD 是重要的抗氧化酶,可以歧化 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 生成 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,其意义在于清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 OH<sup>-</sup> 的前身 O<sub>2</sub><sup>-</sup>,从而保护细胞免受毒性氧自由基的损伤,其活性强弱可间接反映机体清除自由基的能力。故测定 MDA 含量,反映的是脂质过氧化程度;测定 SOD 活性反映的是机体抗脂质过氧化能力。本实验结果显示,静注油酸后,大鼠肺组织 MDA 含量增加,SOD 活性减弱,说明机体脂质过氧化反应增强,自身抗氧化能力减弱,提示氧自由基参与了 ARDS 的病理过程。应用 HO 后,大鼠肺组织 MDA 含量明显下降,SOD 活性明显增强,镜下所见肺组织损伤明显减轻,提示 HO 能抑制脂质过氧化反应,保护抗氧化酶的活性,减轻肺组织过氧化损伤。

目前临床常用的经气道供氧的手段有以下 3 大类:经鼻前庭或面罩给氧;经人工气道呼吸机辅助呼吸;高压氧舱。这些常规供氧方式必须通过肺部气体交换方能发挥作用,一旦肺部气体交换受阻,这条途径就难以发挥有效作用,有开辟第 2 条给氧途径的必要。输液用无菌气体瓶(氧)作为内给氧方法之一,为临床寻求新的供氧方式提供了可能。人体血液中的氧主要以两种方式存在,一种是以氧合血红蛋白形式存在的结合氧,另一种是直接溶于血液中的游离氧,后者可以被组织直接利用。输液用无菌气体瓶(氧)可将氧分子(O<sub>2</sub>)通过溶氧活化为活性氧(O<sub>3</sub>),后者在液体中的溶解度更高,可以转化为氧分子,并通过气体扩散原理和亲氧基吸附原理是液体中的氧含量增多,氧分压显著提高(可高达 10 倍)。高氧液输入体内后,直接以溶解的方式向组织细胞供氧,使机体对血红蛋白的依赖性

大大减少。氧压差越大,弥散就越快高氧液提供具有高分压的溶解氧,使体内氧的弥散能力成倍增加,能够较快的改善缺血、缺氧组织的供氧<sup>[7-10]</sup>。

HO 含有高浓度的溶解氧( $\text{PaO}_2$  80 ~ 120 kPa),进入血循环后可对全身组织直接供氧,静脉给氧改善低氧血症的可能机制有:(1)直接弥散作用:高氧液中氧分压近似于高压氧舱(2 个纯氧大气压),是正常动脉血的 2 倍,缺氧状况下氧压差加大,弥散速度会更快<sup>[11-13]</sup>;(2)高氧液中溶解氧:溶解氧无需血红蛋白携带,直接向组织供氧,使缺氧细胞由无氧代谢恢复为有氧代谢,减轻代谢性酸中毒,不但减轻了组织细胞的损伤,同时可增加红细胞的变形能力进而改善微循环;(3)活性氧的作用:高氧液中活性氧除具有杀灭多种细菌和病毒的作用外,还可抑制自由基的产生,提高免疫功能,增加机体对缺血、缺氧的耐受力,减轻缺血再灌注损伤,提高红细胞变形能力,降低血小板聚集,降低血液粘度,增加血液灌注及血流速度<sup>[13-16]</sup>;(4)改善细胞内呼吸功能,促进组织细胞功能恢复;(5)促使微血管开放数量增加,单根动静脉血流速度加快,保障缺血组织血液灌注。

高氧液的制备是将医用纯氧溶解在常规输注液体中,在常温常压下进行,水中所溶解的气体压力符合亨利定律,即处于同一液相中并与大气压保持一致。因此,高氧液内的氧气不会逸出形成空气栓塞。有研究证明,溶氧后高氧液体的氧分压由 15 mm Hg 上升到 65 ~ 75 mm Hg(1 mm Hg = 0.133 kPa),能明显提高急性失血性休克的家兔和创伤患者的  $\text{PaO}_2$  和  $\text{SaO}_2$ ,并降低血液粘滞度,还能够容量依赖性的提高静脉血的氧分压和氧饱和度<sup>[13]</sup>。高氧液并不改变基液的基本特性及有效成分,热源、红细胞特性、 $\text{LD}_{50}$ 符合人体输注的各项要求,具有安全可靠的药理学基础<sup>[13]</sup>,因此在临床上可根据患者实际输液情况灵活应用而不影响疗效。此外,静脉内给氧可以与呼吸道给氧同时进行,互相补充,以求得更好的疗效。

本研究认为氧化性肺损伤参与油酸型 ARDS 发病,HO 对油酸型 ARDS 大鼠有一定的治疗作用。高氧液治疗低氧血症安全、有效,而且制备简单,操作方便,成本低廉,治疗时不受时间地点限制。虽然结束高氧液治疗后,血液中高氧状态持续时间不长,但是由于它更多的优点,作为一种不依赖呼吸道的新型给氧方式,开辟了机体供氧的第 2 条途径,具有重要的实用价值。

## 参 考 文 献

- 1 Xu LX, Wu LP, Zhang H. Basic pharmacological study of hyperoxygic liquid on the treatment of hypoxic and hypoxemia disease. Chin pharmacol Bull, 2002, 18: 560-562.
- 2 Wilkins PA, Seahorn T. Acute respiratory distress syndrome. Vet Clin North Am Equine Pract, 2004, 20: 253-273.
- 3 Neff MJ. The epidemiology and definition of the acute respiratory distress syndrome. Respir Care Clin N Am, 2003, 9: 273-282.
- 4 Russell GB, Graybeal JM. Hypoxemic episodes of patients in a postanesthesia care unit. Chest, 1993, 104: 899-903.
- 5 毛宝龄. 急性肺损伤的新概念. 中华结核和呼吸杂志, 1996, 19: 195-198.
- 6 刘红英, 克拉拉·阿巴斯, 张丽, 等. ACE, LDH 活性和 MDA 含量在实验性 ARDS 大鼠小肠中的变化. 临床军医杂志, 2005, 33: 140-142.
- 7 何清, 许诚, 王松, 等. 静脉输氧技术治疗严重急性呼吸综合征. 中华传染病杂志, 2003, 21: 284-285.
- 8 张志俊, 穆秋俊, 权亚玲, 等. 重度颅脑损伤的高氧液临床观察. 第四军医大学学报, 2000, 21(增): 46-47.

- 9 林淑朋,崔惠卿,袁军. 高氧液对心脑血管疾病的治疗和安全性. 第四军医大学学报,2000,21(增):44-45.
- 10 徐礼鲜,吴利平,张惠,等. 高氧液提高乏氧血氧含量及相关基础研究. 中国药理学通报,2002,18:560-562.
- 11 Carvajal K, Banoe G. Myocardial function and effect of serum in isolated heart from hypertriglyceridemic and hypertensive rats. Clin Exp Hypertens,2002,24:235-248.
- 12 Karakayali H, Ekici Y, Ozcay F, et al. Pediatric liver transplantation for acute liver failure. Transplant Proc,2007,39:1157-1160.
- 13 Sun XD, Chai W, Ma JH, et al. Influence of hyperoxic liquid on biochemical indexes and ultrastructure during myocardial ischemia reperfusion. Disi Junyi Daxue Xuebao (J Fourth Mil Med Univ),2001,22:1176-1178.
- 14 Ma JH, Xu LX, Sun XD, et al. Effects of intravenous hyperoxygenated solution on blood gas and hemorrheology during hemorrhagic shock in rabbits. Zhonghua Mazuixue Zazhi(Chin J Anesthesiol),2002,22:228-230.
- 15 Brower RG. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the respiratory distress syndrome. New Engl J Med,2000,342:2463-2465.
- 16 贾赤字,陈璧,王跃民,等. 高氧液治疗缺血性心肌功能的研究. 中华创伤杂志,2000,16:272-274.

(收稿日期:2006-12-10)

(本文编辑:孙凤霞)