

• 论著 •

对机械通气患者呼出气冷凝液中过氧化氢的研究

杨国辉 王广发

【摘要】 目的 探讨呼吸重症加强治疗病房(RICU)机械通气患者呼出气冷凝液(EBC)中过氧化氢(H_2O_2)浓度与呼吸道炎症反应及预后的关系。**方法** 采用自行设计的EBC收集器,对36例机械通气患者在通气1、3、5和7d收集呼气端的EBC,应用化学荧光法测定EBC中 H_2O_2 浓度,并进行统计学分析。**结果** 存活组机械通气3、5和7d EBC中 H_2O_2 浓度较1d明显降低,差异有统计学意义[(0.105 ± 0.032) $\mu\text{mol/L}$ 、(0.072 ± 0.034) $\mu\text{mol/L}$ 、(0.047 ± 0.029) $\mu\text{mol/L}$ 比(0.192 ± 0.135) $\mu\text{mol/L}$, P 均 <0.05];且7d时EBC中 H_2O_2 较3d明显降低($P<0.05$),虽较5d时有所降低,但差异无统计学意义($P>0.05$)。死亡组机械通气7d EBC中 H_2O_2 浓度较1、3和5d明显升高,差异有统计学意义[(0.234 ± 0.152) $\mu\text{mol/L}$ 比(0.055 ± 0.029) $\mu\text{mol/L}$ 、(0.088 ± 0.040) $\mu\text{mol/L}$ 、(0.150 ± 0.134) $\mu\text{mol/L}$, P 均 <0.05];5d时EBC中 H_2O_2 较1d明显升高($P<0.05$),虽较3d时有所降低,但差异无统计学意义($P>0.05$)。与存活组比较,死亡组机械通气1d EBC中 H_2O_2 浓度明显降低($P<0.05$);3d也有所降低,但差异无统计学意义($P>0.05$);5d和7d时明显增高,差异有统计学意义(P 均 <0.05)。存活组和死亡组机械通气患者EBC中 H_2O_2 浓度与APACHE I、II评分均无相关性(P 均 >0.05)。**结论** EBC中 H_2O_2 水平的高低与病情严重程度有关,故可作为机械通气患者气道炎症反应的重要监测指标,并可作为评估机械通气患者治疗和预后的重要监测指标。

【关键词】 机械通气; 呼出气冷凝液; 过氧化氢

Determination of the hydrogen peroxide level in exhaled breath condensate of patients under mechanical ventilation YANG Guo-hui, WANG Guang-fa. Department of Respiratory Medicine, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China
Corresponding author: WANG Guang-fa

【Abstract】 Objective To determine hydrogen peroxide (H_2O_2) content in condensate of exhaled breath (EBC) in order to explore its relation with intensify of inflammation of the respiratory tract and prognosis of the patients under mechanical ventilation in respiratory intensive care unit (RICU). **Methods** Thirty-six patients undergoing mechanical ventilation were studied. EBC was collected on the 1, 3, 5, 7 days after mechanical ventilation. H_2O_2 in EBC was measured fluorimetrically. **Results** A significantly lowered H_2O_2 level in the survivors was observed on day 3 [(0.105 ± 0.032) $\mu\text{mol/L}$], day 5 [(0.072 ± 0.034) $\mu\text{mol/L}$] and day 7 [(0.047 ± 0.029) $\mu\text{mol/L}$] compared with day 1 [(0.192 ± 0.135) $\mu\text{mol/L}$] after mechanical ventilation (all $P<0.05$). A significantly lowered H_2O_2 level was observed on day 7 compared with day 3 ($P<0.05$) after mechanical ventilation. There was no difference in the H_2O_2 level on day 7 compared with day 5 ($P>0.05$). A significant lower H_2O_2 level was observed in non-survivors on day 1 [(0.055 ± 0.029) $\mu\text{mol/L}$], and day 3 [(0.088 ± 0.040) $\mu\text{mol/L}$] and day 5 [(0.150 ± 0.134) $\mu\text{mol/L}$] compared with day 7 [(0.234 ± 0.152) $\mu\text{mol/L}$] after mechanical ventilation (all $P<0.05$). A significantly lower H_2O_2 level was observed on day 1 compared with day 5 ($P<0.05$) after mechanical ventilation. There was no difference in the H_2O_2 level on day 1 compared with day 3 ($P>0.05$). A significantly lower H_2O_2 level in non-survivor compared with survivors on day 1 after mechanical ventilation ($P<0.05$); There was no difference in the H_2O_2 level between non-survivors and survivors on day 3 after mechanical ventilation ($P>0.05$). A significantly higher H_2O_2 level in non-survivors compared with that of survivors on day 5 and day 7 after mechanical ventilation ($P<0.05$, respectively). The levels of H_2O_2 in EBC in survivors and non-survivors undergoing mechanical ventilation showed no correlation with acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) and APACHE III scores (both $P>0.05$). **Conclusion** The findings suggest that the level of H_2O_2 in EBC is correlated with severity of patients under mechanical ventilation, and it may prove to be useful in monitoring of inflammatory reaction in the airway after mechanical ventilation to be used as a guidance of therapy and prognosis in patients under mechanical ventilation.

【Key words】 mechanical ventilation; exhaled breath condensate; hydrogen peroxide

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30340030)

作者单位:100034 北京大学第一医院呼吸科

通讯作者:王广发

作者简介:杨国辉(1966-),男(布依族),贵州省人,硕士生导师,主任医师,发表论文20余篇,现在贵阳医学院附属医院呼吸科,Email:guohuiy2006@126.com。

众所周知,行机械通气的患者由于反复出现感染、低氧血症和二氧化碳潴留,随后又通过高通气使氧分压恢复,这种现象类似于缺血/再灌注损伤。氧化应激在呼吸衰竭发病中起着重要的作用,氧化应激产物和细胞因子对全身脏器的损害可能是引起多器官功能衰竭(MOF)的原因之一。但在临床上监测氧化应激和气道炎症非常困难,支气管肺泡灌洗(BAL)、诱导痰(IS)等传统方法也有一定的局限性和副作用。呼出气冷凝液(EBC)检查是近年来新出现的检测下呼吸道疾病炎症状态的方法,我们试图通过检测机械通气患者治疗过程中 EBC 过氧化氢(H₂O₂)含量变化,阐明机械通气患者是否由于反复感染、低氧血症和高碳酸血症导致下呼吸道炎症反应增强和氧化应激程度加重以及这些氧化应激产物和炎症因子标记物的高低能否反映疾病的严重程度和预后的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象:入选标准:符合Ⅰ型或Ⅱ型呼吸衰竭诊断标准,且合并肺部感染、需机械通气治疗患者。排除标准:①拒绝在知情同意书上签字、不合作或不能完成者;②人类免疫缺陷病毒(HIV)感染者;③使用激素治疗的患者。2005 年 7—12 月我院呼吸重症加强治疗病房(RICU)收治的 36 例有创机械通气患者符合入选条件。本试验遵循北京大学第一医院制定的伦理学标准,并得到该委员会批准。所有研究对象经家属签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 急性生理学与慢性健康状况评分系统Ⅱ和Ⅲ(APACHEⅡ、Ⅲ):所有入选患者按转归分为存活组和死亡组,记录姓名、性别、年龄、体温、收缩压、舒张压、心率、呼吸频率、吸入氧浓度、动脉血氧分压、动脉血二氧化碳分压、动脉血气 pH 值、血钠、血钾、血糖、肾功能、肝功能、血细胞比容、血白细胞计数、格拉斯哥昏迷评分、原有慢性疾病、入监护室主要原因等指标。按患者机械通气 1、3、5 和 7 d 进行评分。所有生理指标均取 24 h 内最差值。

1.2.2 EBC 的收集:参照文献自行设计玻璃收集

器,置入有机玻璃盒中,盒内充满冰水混合物,清除管道液体,关掉湿化瓶温度开关,将收集器两端分别接入呼吸机呼气端管道替代蓄水罐,持续 15 min,收集完毕后测量 EBC 量,-80℃冰箱保存备检。

1.2.3 H₂O₂ 测定:高香草酸(HVA)、辣根过氧化物酶(HRP)均购自美国 Sigma 公司。取 250 μl EBC 样品,用化学荧光法检测 H₂O₂,按标准 H₂O₂ 溶液浓度(0.14~2.21 μmol/L)和荧光强度(实测值-空白对照值)绘制标准曲线,建立直线回归方程,通过回归方程和荧光强度值计算 H₂O₂ 的浓度。每份样品检测 2 次,取平均值。

1.3 统计学分析:使用 SPSS 11.5 统计软件。数据均以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示;组间比较采用配对设计 *t* 检验、方差分析、Kruskal-Wallis 秩和检验、SNK 法,相关分析用 Pearson 相关或 Spearman 相关法,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床资料比较:36 例机械通气患者中,男 22 例,女 14 例;年龄 27~91 岁,平均(64.4±14.2)岁。存活组 19 例患者主要原发病为慢性阻塞性肺疾病(COPD)9 例,重症肺炎 2 例,糖尿病肾病肾功能不全 2 例,肺间质性疾病 1 例,肺癌 1 例,风湿性心脏病 2 例,妊娠期痫 1 例,糖尿病并肌无力 1 例;死亡组 17 例患者主要原发病为 COPD 7 例,重症肺炎 2 例,糖尿病肾病肾功能不全 2 例,肺间质性疾病 2 例,肺癌 2 例,风湿性心脏病 1 例,肝硬化失代偿期 1 例。存活组与死亡组患者年龄、性别及主要原发病差异无统计学意义,有可比性。所有患者接受抗生素治疗,存活组治疗时间为(11.8±3.9)d,死亡组为(15.8±4.7)d。

2.2 两组 APACHEⅡ、Ⅲ评分比较(表 1):存活组 APACHEⅡ、Ⅲ分值随机械通气时间延长均逐渐降低;死亡组 APACHEⅡ、Ⅲ分值则随时间呈逐渐升高趋势;与 1 d 时比较差异均有统计学意义(*P*均<0.05)。存活组 APACHEⅡ分值在机械通气 3 d 时、APACHEⅢ分值在 5 d 时为变化拐点,与本组 1 d 和死亡组同期比较差异均有统计学意义(*P*均<0.05)。

表 1 机械通气存活组与死亡组患者不同时间点 APACHEⅡ、Ⅲ评分的变化比较($\bar{x}\pm s$)										分
组别	例数	APACHEⅡ评分				APACHEⅢ评分				
		1 d	3 d	5 d	7 d	1 d	3 d	5 d	7 d	
存活组	19	21.58±8.04	15.53±6.66 ^a	12.84±5.54 ^a	11.37±5.37 ^a	57.58±21.13	47.11±17.75	38.95±15.34 ^{ab}	35.26±14.18 ^{ab}	
死亡组	17	17.59±4.73	21.24±7.04 ^{ad}	26.65±6.30 ^{ad}	40.65±6.51 ^{abcd}	57.00±14.52	70.12±15.26 ^a	82.41±17.75 ^{abd}	129.06±15.20 ^{abcd}	

注:与本组 1 d 比较,^a*P*<0.05;与本组 3 d 比较,^b*P*<0.05;与本组 5 d 比较,^c*P*<0.05;与存活组同期比较,^d*P*<0.05

2.3 EBC 中 H_2O_2 测定结果(表 2):存活组机械通气时间延长 EBC 中 H_2O_2 浓度逐渐下降,7 d 时降至最低,较 1 d 和 3 d 比较差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。死亡组随机械通气时间的延长 EBC 中 H_2O_2 浓度则逐渐升高,7 d 时升至峰值,与存活组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 机械通气存活组和死亡组患者不同时间点 EBC 中 H_2O_2 变化比较($\bar{x}\pm s$) $\mu\text{mol/L}$

组别	例数	1 d	3 d	5 d	7 d
存活组	19	0.192 $\pm$ 0.135	0.105 $\pm$ 0.032 ^a	0.072 $\pm$ 0.034 ^a	0.047 $\pm$ 0.029 ^{ab}
死亡组	17	0.055 $\pm$ 0.029 ^a	0.088 $\pm$ 0.040	0.150 $\pm$ 0.134 ^{ad}	0.234 $\pm$ 0.152 ^{bed}

注:与本组 1 d 比较,^a $P<0.05$;与本组 3 d 比较,^b $P<0.05$;
与本组 5 d 比较,^c $P<0.05$;与存活组同期比较,^d $P<0.05$

2.4 相关性分析(表 3):存活组与死亡组机械通气后不同时间点 EBC 中 H_2O_2 含量与 APACHE II 和 APACHE III 评分间均无相关性(P 均 >0.05)。

表 3 机械通气存活组与死亡组患者不同时间点 ECB 中 H_2O_2 与 APACHE II、III 评分的相关性 r 值

指标	组别	1 d	3 d	5 d	7 d
APACHE II 评分	存活组	0.225	-0.089	-0.227	-0.193
	死亡组	0.262	0.257	0.246	0.251
APACHE III 评分	存活组	-0.152	-0.135	-0.299	-0.354
	死亡组	0.033	0.202	0.217	-0.249

3 讨论

H_2O_2 是炎性细胞激活 O_2 的代谢产物,它可引起下呼吸道蛋白酶/抗蛋白酶、氧化/抗氧化失衡,导致小气道和肺组织损伤^[1]。作为一个间接的氧化反应标志物,EBC 中 H_2O_2 含量升高可反映自由基介导的反应及与炎症有关的下呼吸道氧化负荷增加。研究显示:对机械通气患者用收集槽在-80℃时测得 EBC 中 H_2O_2 含量平均值是 0.095 $\mu\text{mol/L}$,用在冰盐水水浴收集管测得平均值是 0.099 $\mu\text{mol/L}$ ^[2];急性呼吸窘迫综合征(ARDS)患者 EBC 中 H_2O_2 水平显著增高,其中以脓毒症和严重脑损伤引起的 ARDS 水平最高^[3]。已有证据证实,除慢性吸烟者和 COPD 患者外,儿童哮喘^[4]、肺囊性纤维化^[5]、ARDS、急性呼吸衰竭^[2,6] 患者呼出气 H_2O_2 浓度升高。因此,研究机械通气患者 EBC 中 H_2O_2 浓度的变化对监测气道炎症、病情严重程度及预后有重要临床意义。

本研究结果显示,存活组机械通气患者 1 d 时

EBC 中 H_2O_2 浓度增高,随着治疗后病情的好转呈现降低趋势;而死亡组 EBC 中 H_2O_2 则随着病情的恶化呈升高趋势,表明机械通气患者由于感染的加重,气道分泌物增多,气道炎症反应增强,肺发生氧化应激加剧, H_2O_2 的产生超过了过氧化物酶的清除能力。病情恶化后 EBC 中 H_2O_2 浓度的升高证实了感染可使氧自由基产生增加,表明气道炎症和氧化/抗氧化失衡的发生。此外,本研究还显示,死亡组机械通气 1 d 和 3 d 时 EBC 中 H_2O_2 浓度均低于存活组,而 5 d 和 7 d 则明显高于存活组,表明在机械通气早期气道炎症和氧化应激程度较轻,若能及时控制感染和纠正低氧血症,患者预后良好。上述结果表明,检测 EBC 中 H_2O_2 可以作为一个反映肺部氧化损伤和气道炎症反应增强的早期敏感指标,以及机械通气患者病情严重程度及预后的标志物之一。

本研究结果还显示,存活组随机械通气时间延长,APACHE II、III 分值逐渐降低,死亡组则逐渐增高,且死亡组 3 d 以后的 APACHE II 分值及 5 d 以后的 APACHE III 分值均明显高于存活组。相关分析表明,存活组和死亡组机械通气患者 EBC 中 H_2O_2 与 APACHE II、III 评分无相关性,可能与样本量小有关,也表明 EBC 中 H_2O_2 可作为一个独立的指标反映机械通气患者病情严重程度和预后。

参考文献

[1] Corradi M, Pignatti P, Manini P, et al. Comparison between exhaled and sputum oxidative stress biomarkers in chronic airway inflammation [J]. Eur Respir J, 2004, 24 (6): 1011-1017.

[2] Kietzmann D, Kahl R, Müller M, et al. Hydrogen peroxide in expired breath condensate of patients with acute respiratory failure and with ARDS [J]. Intensive Care Med, 1993, 19(2): 78-81.

[3] 张弘,蔡柏蔷.呼出气冷凝液检测在呼吸系统疾病中的应用 [J]. 国外医学呼吸系统分册, 2004, 24(4): 243-246.

[4] Dohlman A W, Black H R, Royall J A. Expired breath hydrogen peroxide is a marker of acute airway inflammation in pediatric patients with asthma [J]. Am Rev Respir Dis, 1993, 148(4 Pt 1): 955-960.

[5] Shi M M, Chong I, Godleski J J, et al. Regulation of macrophage inflammatory protein-2 gene expression by oxidative stress in rat alveolar macrophages [J]. Immunology, 1999, 97(2): 309-315.

[6] Sznajder J I, Fraiman A, Hall J B, et al. Increased hydrogen peroxide in the expired breath of patients with acute hypoxic respiratory failure [J]. Chest, 1989, 96(3): 606-612.

(收稿日期:2007-09-19 修回日期:2008-03-20)
(本文编辑:李银平)