

慢性阻塞性肺疾病机械通气患者呼出气冷凝液中过氧化氢和白细胞介素-6 的监测及意义

杨国辉 王广发

【摘要】 目的 探讨呼吸重症监护病房(RICU)慢性阻塞性肺疾病(COPD)机械通气患者气道炎症反应与预后的关系。方法 30 例 COPD 机械通气患者按预后分为存活组(16 例)和死亡组(14 例),采用自行设计的呼出气冷凝液(EBC)收集器收集机械通气 1、3、5 和 7 d 呼气端的 EBC,用化学荧光法测定 EBC 中过氧化氢(H_2O_2)浓度,用酶联免疫吸附法测定 EBC 中白细胞介素-6(IL-6)含量。结果 ①存活组 EBC 中 H_2O_2 和 IL-6 含量逐渐下降,机械通气 3、5、7 d 较 1 d 明显降低(H_2O_2 ($\mu\text{mol/L}$): $0.10 \pm 0.03, 0.06 \pm 0.03, 0.04 \pm 0.03$ 比 $0.19 \pm 0.14, IL-6$ (ng/L): $11.11 \pm 2.39, 10.35 \pm 2.09, 8.89 \pm 2.63$ 比 14.45 ± 6.03 , 均 $P < 0.05$);且 7 d 时 EBC 中 H_2O_2 浓度较 3 d 明显降低($P < 0.05$)。②死亡组 EBC 中 H_2O_2 和 IL-6 含量逐渐升高,机械通气 5 d 和 7 d EBC 中 H_2O_2 浓度较 1 d 明显升高($0.16 \pm 0.15, 0.25 \pm 0.16$ 比 0.05 ± 0.03 , 均 $P < 0.05$);机械通气 3、5 和 7 d IL-6 含量较 1 d 明显升高($9.36 \pm 2.38, 10.55 \pm 2.33, 14.05 \pm 4.23$ 比 6.87 ± 3.47 , 均 $P < 0.05$);7 d 时 EBC 中 H_2O_2 和 IL-6 含量较 3 d、5 d 明显升高(均 $P < 0.05$)。③与存活组比较,死亡组机械通气 1 d EBC 中 H_2O_2 和 IL-6 含量均明显降低(均 $P < 0.05$);3 d 时差异无统计学意义(均 $P > 0.05$);5 d 时 H_2O_2 浓度明显升高($P < 0.05$);7 d 时 H_2O_2 和 IL-6 含量均明显升高(均 $P < 0.05$)。④存活组和死亡组机械通气患者 EBC 中 H_2O_2 浓度和 IL-6 含量与急性生理学与慢性健康状况评分系统 I、II (APACHE I、II)评分均无相关性(均 $P > 0.05$)。结论 EBC 中 H_2O_2 水平和 IL-6 含量的高低与预后有关,故可作为 COPD 机械通气患者气道炎症反应的重要监测指标,并可作为评估其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; 白细胞介素-6

The monitoring and its clinical significance of the hydrogen peroxide and interleukin-6 levels in exhaled breath condensate of chronic obstructive pulmonary diseases patients undergoing 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 explore the relationship of inflammatory response of the respiratory tract and prognosis of chronic obstructive pulmonary diseases (COPD) patients undergoing mechanical ventilation (MV) in respiratory intensive care unit (RICU). **Methods** Thirty patients with COPD undergoing MV were involved in the study, and divided into survival group ($n=16$) and non-survival group ($n=14$). Exhaled breath condensate (EBC) was collected on day 1, 3, 5, 7 after MV. The concentration of hydrogen peroxide (H_2O_2) in EBC was measured fluorimetrically. The content of interleukin-6 (IL-6) in EBC was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** ①The significantly lower H_2O_2 and IL-6 levels in the survival group were observed on days 3, 5 and 7 compared with those of day 1 after MV [H_2O_2 ($\mu\text{mol/L}$): $0.10 \pm 0.03, 0.06 \pm 0.03, 0.04 \pm 0.03$ vs. $0.19 \pm 0.14, IL-6$ (ng/L): $11.11 \pm 2.39, 10.35 \pm 2.09, 8.89 \pm 2.63$ vs. 14.45 ± 6.03 , all $P < 0.05$]. A significantly lower H_2O_2 level was observed on day 7 compared with that of day 3 ($P < 0.05$). ②A significantly higher H_2O_2 level in the non-survival group was observed on days 5 and 7 compared with that of day 1 ($0.16 \pm 0.15, 0.25 \pm 0.16$ vs. 0.05 ± 0.03 , both $P < 0.05$). A significantly higher IL-6 level was observed on days 3, 5 and 7 compared with that of day 1 ($9.36 \pm 2.38, 10.55 \pm 2.33, 14.05 \pm 4.23$ vs. 6.87 ± 3.47 , all $P < 0.05$). The significantly higher H_2O_2 and IL-6 levels in non-survival group were observed on day 7 compared with those of days 3 and 5 (all $P < 0.05$). ③The significantly lower H_2O_2 and IL-6 levels in non-survivors were observed on day 1 after MV compared with survivors (both $P < 0.05$). There were no marked differences in levels of H_2O_2 and IL-6 between non-survivors and survivors on day 3 (both $P > 0.05$). A significantly higher H_2O_2 level in non-survivors was observed compared with survivors on day 5 ($P < 0.05$). In addition, the significantly higher H_2O_2 and IL-6 levels in non-survivors were observed on day 7 compared with survivors (both $P < 0.05$). ④The levels of H_2O_2 and IL-6 in survivors and non-survivors undergoing MV showed no correlation with acute physiology and chronic health evaluation I (APACHE I) and APACHE II scores (both $P > 0.05$). **Conclusion** The findings suggest that the levels of H_2O_2 and IL-6 in EBC are correlated with prognosis of patients undergoing MV, and it may prove to be useful in monitoring inflammatory response in the airway after MV as a guidance of therapy and prognosis in COPD patients undergoing MV.

【Key words】 Mechanical ventilation; Exhaled breath condensate; Hydrogen peroxide; Interleukin-6

众所周知,机械通气是治疗呼吸衰竭(呼衰)的重要措施。慢性阻塞性肺疾病(COPD)由于感染、低氧血症、高碳酸血症,引发了机体的氧化应激状态,导致机体应激标志物和细胞因子增高^[1]。氧化应激在呼衰发病中起着重要的作用,而且氧化应激产物和细胞因子对全身器官均有损害,可能是引起多器官损伤和多器官功能衰竭(MOF)的原因之一。但临床监测氧化应激和气道炎症非常困难,传统方法包括支气管肺泡灌洗(BAL)、诱导痰(IS),两种方法各有其优缺点。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,它是评价气道炎症和氧化应激程度的一种无创手段,具有简便、易行、重复性好等优点,弥补了上述两种方法的不足,为监测下呼吸道疾病的进展和治疗效果提供了新的途径,适用于病情严重的患者和儿童,包括婴儿^[2-4]。目前国外报道 COPD 机械通气患者 EBC 中氧化应激产物和细胞因子的研究不多,国内尚无报道。本研究中通过检测 COPD 机械通气患者 EBC 中过氧化氢(H₂O₂)和白细胞介素-6(IL-6)含量的变化,阐明其能否反映疾病严重程度和预后。

1 对象与方法

1.1 研究对象的人选和排除标准:选择符合 I 型或 II 型呼衰诊断标准,且合并肺部感染、需使用机械通气治疗的 COPD 患者。排除非 COPD 的其他呼吸道疾病、人类免疫缺陷病毒(HIV)感染、使用激素治疗、拒绝在知情同意书上签字、不合作或不能完成治疗者。本研究遵循北京大学第一医院所制定的伦理学标准,并得到伦理委员会的批准。所有研究对象经家属签署知情同意书。

1.2 一般情况:30 例符合条件入选者为本院呼吸重症监护病房(RICU)2005 年 7 月至 2006 年 2 月收治的有创机械通气患者。其中男 19 例,女 11 例;年龄 53~91 岁,平均(71.3±8.6)岁;所有患者接受抗生素治疗。按预后分为存活组和死亡组,存活组 16 例,治疗时间(10.8±3.6) d;死亡组 14 例,治疗时间(14.8±4.5) d。两组患者年龄、性别差异无统计学意义(均 $P>0.05$),有可比性。

1.3 观察指标及方法

1.3.1 临床指标观察:记录患者的姓名、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 pH 值、血钠、血钾、血糖、肾功能、肝功能、血细胞比容、白细胞计数、格拉斯哥昏迷评分、原有慢性疾病、入 RICU 的主要原因等指标;机械通气 1、3、5、7 d 进行急性生理学与慢性健康状况评分系统 I 和 II (APACHE I 和 II)评分,所有生理指标均取 24 h 内最差值。

1.3.2 EBC 的收集:参照文献^[2]自行设计了一种外观葫芦形状的玻璃收集器,置入有机玻璃盒中,盒内充满冰水混合物。机械通气患者通过浸在冰水中的 EBC 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 EBC。接入呼吸机呼气端前清除管道液体,防止其进入 EBC 收集器,并关掉湿化瓶温度开关。收集完毕后测量 EBC 的量并分装,-80 °C 冰箱保存备检。

1.3.3 H₂O₂ 测定:取 250 μl EBC 样品,用化学荧光法进行 H₂O₂ 的检测。根据标准 H₂O₂ 溶液浓度(0.14~2.21 μmol/L)和荧光强度(实际测得值-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 浓度。每份 EBC 样品分别检测 2 次,取平均值。

1.3.4 IL-6 测定:用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 EBC 中 IL-6,试剂盒购自美国 Cayman 公司。根据标准样品测定出的吸光度(A)值绘制标准曲线,并采用曲线拟合法求出直线回归方程,再根据各待测样本的 A 值计算出 IL-6 浓度,单位为 ng/L。

1.4 统计学分析:用 SPSS 11.5 统计软件进行统计学处理。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示;存活组与死亡组比较用配对设计的 *t* 检验,组间比较用方差分析、Kruskal-Wallis 秩和检验、SNK 法,相关分析采用 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 APACHE I、II 评分比较(表 1):存活组 APACHE I、II 分值随机械通气时间延长均逐渐降低;死亡组 APACHE I、II 分值则随时间延长呈逐渐升高趋势。死亡组除 3 d APACHE I 分值与 1 d 时比较无差异外,余时间点 APACHE I、II 分值与 1 d 时比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);存活组 APACHE I、II 分值在机械通气 3 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(均 $P<0.05$)。

2.2 两组 EBC 中 H₂O₂ 和 IL-6 比较(表 2):存活组随机械通气时间延长 EBC 中 H₂O₂ 和 IL-6 含量逐

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.08.003

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

通信作者:王广发

表 1 慢性阻塞性肺疾病机械通气存活组和死亡组患者不同时间点 APACHE I 和 II 评分比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	APACHE I 评分(分)				APACHE II 评分(分)			
		1 d	3 d	5 d	7 d	1 d	3 d	5 d	7 d
存活组	16	23.69±6.73	16.81±6.40 ^b	13.88±5.29 ^b	12.38±4.99 ^{bc}	62.75±18.56	50.81±16.47 ^b	42.00±14.09 ^b	38.19±12.75 ^{bc}
死亡组	14	18.21±4.28 ^a	21.86±6.13 ^a	27.29±5.72 ^{abc}	41.43±6.95 ^{abcd}	58.71±13.01	73.36±11.39 ^{ab}	85.43±12.64 ^{abc}	127.29±16.21 ^{abcd}

注:APACHE I 和 II 评分:急性生理学与慢性健康状况评分系统 I 和 II 评分;与存活组比较,^a $P < 0.05$;与本组 1 d 比较,^b $P < 0.05$;与本组 3 d 比较,^c $P < 0.05$;与本组 5 d 比较,^d $P < 0.05$

表 2 慢性阻塞性肺疾病机械通气存活组和死亡组患者不同时间点 EBC 中 H₂O₂ 和 IL-6 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	H ₂ O ₂ ($\mu\text{mol/L}$)				IL-6(ng/L)			
		1 d	3 d	5 d	7 d	1 d	3 d	5 d	7 d
存活组	16	0.19±0.14	0.10±0.03 ^b	0.06±0.03 ^b	0.04±0.03 ^{bc}	14.45±6.03	11.11±2.39 ^b	10.35±2.09 ^b	8.89±2.63 ^b
死亡组	14	0.05±0.03 ^a	0.09±0.04	0.16±0.15 ^{ab}	0.25±0.16 ^{abcd}	6.87±3.47 ^a	9.36±2.38 ^b	10.55±2.33 ^b	14.05±4.23 ^{abcd}

注:EBC:呼出气冷凝液,H₂O₂:过氧化氢,IL-6:白细胞介素-6;与存活组比较,^a $P < 0.05$;与本组 1 d 比较,^b $P < 0.05$;与本组 3 d 比较,^c $P < 0.05$;与本组 5 d 比较,^d $P < 0.05$

表 3 慢性阻塞性肺疾病机械通气存活组与死亡组患者不同时间点 EBC 中 H₂O₂ 和 IL-6 与 APACHE I、II 评分的相关性分析

指标	组别	H ₂ O ₂ (r 值)				IL-6(r 值)			
		1 d	3 d	5 d	7 d	1 d	3 d	5 d	7 d
APACHE I 评分	存活组	0.306	0.097	-0.027	-0.186	0.026	0.296	0.416	0.230
	死亡组	0.168	0.110	0.210	0.192	-0.421	-0.170	-0.313	-0.008
APACHE II 评分	存活组	0.038	-0.048	-0.064	-0.239	-0.014	-0.046	0.149	0.225
	死亡组	-0.038	0.099	0.020	0.088	0.230	-0.221	-0.025	0.041

注:EBC:呼出气冷凝液,H₂O₂:过氧化氢,IL-6:白细胞介素-6,APACHE I 和 II 评分:急性生理学与慢性健康状况评分系统 I 和 II 评分

渐下降;7 d 降至最低,与 1 d 比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),且 H₂O₂ 与 3 d 比较差异有统计学意义($P < 0.05$),IL-6 含量与 3 d 比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。死亡组随机机械通气时间延长 EBC 中 H₂O₂、IL-6 含量逐渐升高;7 d 升至峰值,与存活组比较差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

2.3 相关性分析(表 3):存活组与死亡组机械通气各时间点 EBC 中 H₂O₂、IL-6 含量与 APACHE I、II 评分均无相关性(均 $P > 0.05$)。

3 讨论

慢性气道炎症在 COPD 急性发作期及呼衰中起重要作用。H₂O₂ 是炎性细胞激活 O₂ 的代谢产物,它可引起下呼吸道蛋白酶/抗蛋白酶及氧化/抗氧化比例失衡,导致小气道和肺组织损伤^[5]。IL-6 是一种具有重要病理生理作用的多功能和多向性细胞因子,参与疾病的发生发展过程以及机体的炎症反应和免疫应答^[5]。国外文献报道,COPD、阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(OSAS)、肺囊性纤维化和非小细胞肺癌患者 EBC 中 H₂O₂ 和 IL-6 水平均明显高于健康对照组,表明 IL-6 的增高可反映上述疾病气道炎症的加重^[6-9]。本课题组既往研究机械通气患者

EBC 中 H₂O₂ 水平的高低与病情严重程度有关,故可作为机械通气患者一个反映肺部氧化损伤和呼吸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^[10]。因此,研究 COPD 机械通气患者 EBC 中 H₂O₂ 和 IL-6 水平的变化对监测气道炎症、病情严重程度及预后具有重要临床意义。

本研究结果显示,存活组机械通气患者 1 d 时 EBC 中 H₂O₂ 和 IL-6 含量增高,随着治疗后病情的好转呈降低趋势;而死亡组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,H₂O₂ 和 IL-6 的产生超过了过氧化酶的清除能力。病情恶化后 EBC 中 H₂O₂ 和 IL-6 含量升高,证实了感染可使氧自由基产生增加,表明气道炎症和氧化/抗氧化比例失衡的发生。此外,本研究还显示,死亡组机械通气 1 d 和 3 d 时 EBC 中 H₂O₂ 和 IL-6 含量均低于存活组,而 5 d 和 7 d 时均高于存活组,表明在机械通气早期气道炎症和氧化应激程度较轻,随病情恶化,气道炎症和氧化应激加剧。上述结果表明,EBC 中 H₂O₂ 和 IL-6 含量可以作为反映 COPD

肺部氧化损伤和气道炎症反应增强的早期敏感指标,以及 COPD 机械通气患者病情严重程度及预后的标志物。

本研究结果还显示,存活组 APACHE I 和 II 评分随机械通气时间延长逐渐降低,死亡组评分则逐渐增高,且死亡组 3 d 以后的分值均明显高于存活组。存活组与死亡组患者 EBC 中 H₂O₂ 和 IL-6 含量与 APACHE I、II 评分间均无相关性,可能与样本量小有关,也表明 EBC 中 H₂O₂ 和 IL-6 可作为独立的指标反映机械通气患者病情严重程度及预后。

COPD 机械通气患者 EBC 中 H₂O₂ 和 IL-6 升高的机制可能与下列因素有关:①缺氧可改变中性粒细胞的细胞结构而使其变形性下降,导致中性粒细胞在肺内聚集并被激活,释放大量的活性氧,成为肺内氧化应激的主要来源。由于反复感染和缺氧,释放氧自由基 O₂⁻,进而导致 H₂O₂ 和 IL-6 的增加,活性氧通过气道上皮细胞 IL-6 释放参与局部的免疫反应。肿瘤坏死因子-α(TNF-α)亦可引起 IL-6 mRNA 表达的增加,TNF-α 在气道上皮细胞 IL-6 的产生中同样起着重要作用^[11-13]。此外,低氧血症刺激核转录因子-κB 也可引起 IL-6 的增高^[14]。②由于感染和缺氧等使交感神经兴奋性增高,血中儿茶酚胺类物质增多,使 IL-6 的分泌增多。③在缺氧和感染加重时下呼吸道巨噬细胞、中性粒细胞数量增多,这些细胞释放较多的 H₂O₂。上述原因中缺氧和感染是引起 H₂O₂ 和 IL-6 升高的主要因素,活性氧在二者中间起了桥梁作用,因此,抗氧化和抗感染治疗可降低机械通气患者 H₂O₂ 和 IL-6 的水平。

参考文献

[1] MacNee W. Oxidants/antioxidants and chronic obstructive pulmonary disease; pathogenesis to therapy. Novartis Found Symp, 2001, 234:169-185.

[2] Hunt J. Exhaled breath condensate: an evolving tool for

noninvasive evaluation of lung disease. J Allergy Clin Immunol, 2002, 110:28-34.

[3] Kharitonov SA, Barnes PJ. Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath. Biomarkers, 2002, 7:1-32.

[4] Freels JL, Robbins RA, Campbell SC. Exhaled breath condensate: the past, present and future. Clin Pulm Med, 2003, 10: 263-268.

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

[6] Bucchioni E, Kharitonov SA, Allegra L, et al. High levels of interleukin-6 in the exhaled breath condensate of patients with COPD. Respir Med, 2003, 97:1299-1302.

[7] Carpagnano GE, Kharitonov SA, Resta O, et al. Increased 8-isoprostane and interleukin-6 in breath condensate of obstructive sleep apnea patients. Chest, 2002, 122:1162-1167.

[8] Carpagnano GE, Barnes PJ, Geddes DM, et al. Increased leukotriene B4 and interleukin-6 in exhaled breath condensate in cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med, 2003, 167:1109-1112.

[9] Carpagnano GE, Resta O, Foschino-Barbaro MP, et al. Interleukin-6 is increased in breath condensate of patients with non-small cell lung cancer. Int J Biol Markers, 2002, 17: 141-145.

[10] 杨国辉,王广发.对机械通气患者呼出气冷凝液中过氧化氢的研究.中国危重病急救医学,2008,20:324-326.

[11] Sznajder JI, Fraiman A, Hall JB, et al. Increased hydrogen peroxide in the expired breath of patients with acute hypoxemic respiratory failure. Chest, 1989, 96:606-612.

[12] Gessner C, Hammerschmidt S, Kuhn H, et al. Exhaled breath condensate nitrite and its relation to tidal volume in acute lung injury. Chest, 2003, 124:1046-1052.

[13] Yoshida Y, Maruyama M, Fujita T, et al. Reactive oxygen intermediates stimulate interleukin-6 production in human bronchial epithelial cells. Am J Physiol, 1999, 276:L900-L908.

[14] Matsui H, Ihara Y, Fujio Y, et al. Induction of interleukin (IL)-6 by hypoxia is mediated by nuclear factor (NF)-kappa B and NF-IL6 in cardiac myocytes. Cardiovasc Res, 1999, 42: 104-112.

(收稿日期:2010-06-24)

(本文编辑:李银平)

• 科研新闻速递 •

细支气管肺泡定量灌洗聚合酶链反应可诊断耐甲氧西林金黄色葡萄球菌肺炎

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌是引起呼吸机相关性肺炎(VAP)的常见病原体,可以通过检测赋予其耐药性的 mecA 基因来鉴定。近日美国学者通过细支气管肺泡灌洗并应用 mecA 基因聚合酶链反应(PCR)技术来快速诊断 VAP 是否为耐甲氧西林金黄色葡萄球菌引起。研究人员根据基因特异性进行检测:耐甲氧西林的特异性基因为 mecA,金黄色葡萄球菌特异性基因为 femA-SA,表皮葡萄球菌的特异性基因为 femA-SE。研究人员对 100 例 VAP 疑似患者进行细支气管肺泡定量灌洗,并通过 100%敏感性的指标推导出确定阳性的聚合酶链的阈值。并将 50 例患者作为单独的队列使用这个阈值来进行 PCR。使用大于或等于 421 切点测定 PCR 的敏感性为 100%,特异性 87%(95%可信区间为 0.81~0.94),阳性预测值为 39%(95%可信区间,0.29~0.49),89%的整体正确分类率。研究者认为,应用 PCR 技术对 mecA 基因进行检测与 femA-SA 基因和 femA-SE 基因的检测相结合能够迅速、准确地诊断耐甲氧西林金黄色葡萄球菌肺炎。

· 韩晓春,编译自《Crit Care Med》,2010-05-13(电子版);胡森,审校