

雾化吸入全氟化碳联合肺表面活性物质对急性肺损伤兔的作用

何融冰 易帆 张晟 管军 李文放 朱君 林兆奋

200003 上海, 第二军医大学附属长征医院急救科(何融冰、张晟、管军、李文放、林兆奋);

200241 上海, 上海纳米技术及应用国家工程研究中心(易帆、朱君)

通讯作者: 林兆奋, Email: linzhaofen@sina.com

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.04.010

【摘要】 目的 观察全氟化碳(PFC)联合肺表面活性物质(PS)雾化吸入对急性肺损伤(ALI)兔的影响。方法 将32只新西兰家兔按随机数字表法分为ALI组、联合用药组、PFC组、PS组,每组8只。采用生理盐水整肺灌洗法制备ALI模型。联合用药组于制模后雾化吸入全氟溴辛烷/二棕榈酰磷脂酰胆碱(PFOB/DPPC)乳剂3 mL/mg, PFC组、PS组于制模后分别雾化吸入PFOB、DPPC各3 mL/mg, ALI组雾化吸入等量生理盐水。观察各组动物制模前30 min(基础值)、制模后1 h及给药后0 min、30 min、2 h、4 h呼吸频率(RR)、氧合指数(OI)、动态肺顺应性(Cdyn);计算肺系数和肺通透指数(LPI);采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)水平;取肺组织,经肉眼及显微镜观察肺组织病理学改变。结果 ALI组制模后OI、Cdyn迅速下降,RR明显增快,且肺组织出现明显水肿、出血及炎症渗出。联合用药组及PFC组OI于用药后0 min即较ALI组明显升高[mmHg(1 mmHg=0.133 kPa):231.0 \pm 16.7, 221.4 \pm 19.0比189.5 \pm 21.0,均 $P<0.05$],而PS组于用药后4 h才显著高于ALI组(mmHg:297.0 \pm 20.7比243.3 \pm 36.7, $P<0.05$);联合用药组RR于用药后30 min即较ALI组明显减慢(次/min:151.1 \pm 13.3比178.5 \pm 32.0, $P<0.05$),而PFC组、PS组均于用药后4 h才显著高于ALI组(次/min:129.3 \pm 14.3, 133.1 \pm 13.9比157.5 \pm 32.5,均 $P<0.05$);3个用药组Cdyn均于用药后0 min即较ALI组明显升高(mL/cmH₂O:1.64 \pm 0.10, 1.45 \pm 0.10, 1.43 \pm 0.09比0.57 \pm 0.05,均 $P<0.05$);LPI、肺系数及炎症因子水平均较ALI组明显降低[LPI($\times 10^{-5}$):4.21 \pm 0.42, 4.76 \pm 0.55, 4.87 \pm 0.49比5.56 \pm 0.52,肺系数:8.04 \pm 0.58, 8.90 \pm 0.88, 9.22 \pm 0.71比10.85 \pm 0.73, TNF- α (ng/L):50.05 \pm 4.91, 56.18 \pm 5.54, 63.60 \pm 5.96比73.60 \pm 5.27, IL-1 β (ng/L):34.27 \pm 4.55, 40.29 \pm 5.03, 48.13 \pm 6.38比54.71 \pm 4.26,均 $P<0.05$],且肺水肿、充血及炎症细胞浸润均明显改善[病理学评分(分):3.74 \pm 0.58, 4.50 \pm 0.75, 5.29 \pm 0.72比6.13 \pm 0.72,均 $P<0.05$];联合用药组用药后0 min、30 min、4 h Cdyn均显著高于PFC组、PS组(均 $P<0.05$),而PFC组与PS组间未见明显差异;联合用药组肺系数、LPI、炎症因子水平及病理学评分指标均明显低于PFC组及PS组, PFC组炎症因子水平及病理学评分较PS组改善更加显著(均 $P<0.05$)。结论 在整肺灌洗ALI模型中, PFOB联合DPPC雾化吸入可能通过输送氧气、降低促炎因子水平、补充肺PS并影响其在肺表面的分布,从而改善氧合及肺顺应性,减轻肺组织水肿及炎症反应。

【关键词】 肺损伤,急性; 全氟化碳乳剂; 肺表面活性物质; 整肺灌洗

基金项目: 国家科技支撑计划(2014BAK05B02)

A study on effect of vaporized perfluorocarbon combined with exogenous surfactant inhalation on rabbit models of acute lung injury

He Rongbing, Yi Fan, Zhang Sheng, Guan Jun, Li Wenfang, Zhu Jun, Lin Zhaofen

Department of Emergency, Changzheng Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200003, China (He RB, Zhang S, Guan J, Li WF, Lin ZF); National Engineering Research Center for Nanotechnology, Shanghai 200241, China (Yi F, Zhu J)

Corresponding author: Lin Zhaofen, Email: linzhaofen@sina.com

【Abstract】 **Objective** To observe the effects of vaporized perfluorocarbon (PFC) combined with exogenous pulmonary surfactant (PS) inhalation on rabbit models of acute lung injury (ALI). **Methods** Thirty-two New Zealand rabbits were randomly divided into four groups: ALI group, combination treatment group, PFC group, and PS group (each group $n = 8$ rabbits). The rabbit model of ALI was induced by the whole lung normal saline lavage. After modeling, in the combined group, 3 mL/kg vaporized perfluorooctyl bromide/dipalmitoylphosphatidylcholine (PFOB/DPPC) emulsion was inhaled, the rabbits in PFC and PS groups were treated with vaporized PFOB emulsion and vaporized DPPC emulsion 3 mL/kg inhalation respectively, and in the ALI group was given the same amount of vaporized normal saline inhalation. In each group, before modeling for 30 minutes (basic value), after modeling for 1 hour and after treatment at 0 minute, 30 minutes, 2 hours, 4 hours, the respiratory rate (RR), oxygenation index (OI), dynamic lung compliance (Cdyn) were observed, and the lung coefficient (LI) and lung permeability index (LPI) were calculated; the levels of serum tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) were measured by double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); the lung tissue was collected and the lung pathological changes were observed under macroscopic and microscopic observation. **Results** After modeling, the levels of OI, Cdyn were quickly lowered, RR became significantly elevated, and there were obvious edema, hemorrhage and exudation in lung tissue of ALI group.

The levels of OI were significantly increased in combined group and PFC group compared with the level in ALI group after treatment at 0 minute initially [mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa): 231.0 ± 16.7 , 221.4 ± 19.0 vs. 189.5 ± 21.0 , both $P < 0.05$], while the level of OI in PS group was increased significantly until 4 hours after treatment, being higher than that in ALI group (mmHg: 297.0 ± 20.7 vs. 243.3 ± 36.7 , $P < 0.05$); RR was decreased significantly in combined treatment group at 30 minutes after treatment compared with that in ALI group (bpm: 151.1 ± 13.3 vs. 178.5 ± 32.0 , $P < 0.05$), while the RR in PFC group and PS group were not increased significantly until 4 hours after treatment being higher than that in ALI group (bpm: 129.3 ± 14.3 , 133.1 ± 13.9 vs. 157.5 ± 32.5 , both $P < 0.05$). Compared to ALI group, the three treatment groups resulted in significant improvement in Cdyn right at 0 minute (mL/cmH₂O: 1.64 ± 0.10 , 1.45 ± 0.10 , 1.43 ± 0.09 vs. 0.57 ± 0.05 , all $P < 0.05$), their LPI, LI and inflammatory cytokines were significantly decreased [LPI ($\times 10^{-5}$): 4.21 ± 0.42 , 4.76 ± 0.55 , 4.87 ± 0.49 vs. 5.56 ± 0.52 , LI: 8.04 ± 0.58 , 8.90 ± 0.88 , 9.22 ± 0.71 vs. 10.85 ± 0.73 , TNF- α (ng/L): 50.05 ± 4.91 , 56.18 ± 5.54 , 63.60 ± 5.96 vs. 73.60 ± 5.27 , IL-1 β (ng/L): 34.27 ± 4.55 , 40.29 ± 5.03 , 48.13 ± 6.38 vs. 54.71 ± 4.26 , all $P < 0.05$], and pulmonary edema, congestion and inflammatory cell infiltration were obviously ameliorated (pathological scores: 3.74 ± 0.58 , 4.50 ± 0.75 , 5.29 ± 0.72 vs. 6.13 ± 0.72 , $P < 0.05$). Cdyn levels were increased significantly in combined treatment group at 0 minute, 30 minutes, 4 hours after treatment compared with those in PFC and PS group, but there were no significant differences between PFC and PS group. Levels of LI, LPI, inflammatory factors and pathological scores were decreased significantly in combined treatment group compared with those in PFC and PS group, the degrees of improvement of inflammatory factors and pathological scores in PFC group were more obvious than those in PS group (all $P < 0.05$). **Conclusions** PFOB combined with DPPC inhalation can provide greater oxygen delivery, reduce the pro-inflammatory cytokines, supplement PS and influence its distribution on the surface of lung, which might lead to a marked and sustained improvement in oxygenation, pulmonary function and amelioration of lung edema and inflammatory reaction in saline lavage induced lung injury of rabbits.

【Key words】 Acute lung injury; Perfluorocarbon emulsion; Pulmonary surfactant; Whole lung saline lavage

Fund program: National Key Technology Research and Development Program (2014BAK05B02)

急性肺损伤 / 急性呼吸窘迫综合征 (ALI/ARDS) 是严重感染、休克、创伤及烧伤等非心源性致病因素引起的急性低氧性呼吸功能不全, 可导致危及生命的低氧血症和器官衰竭; 肺部炎症进展、肺毛细血管破坏及肺表面活性物质 (PS) 功能异常是该疾病发生发展的重要影响因素^[1]。虽然支持治疗措施的改进和新干预靶点的研究使 ARDS 患者病死率明显下降, 但该疾病依然是重症加强治疗病房 (ICU) 患者死亡的主要原因^[2]。PS 主要成分二棕榈酰磷脂酰胆碱 (DPPC) 是一种饱和脂肪酸, 其主要功能是降低肺泡气液交界面的表面张力, 为抵御疾病提供屏障, 同时也是一种良好的药物载体, 其合成不足或破坏可导致 ARDS^[3]。临床有研究用肺磷脂注射液固尔苏联合机械通气治疗新生儿 ARDS, 取得明显疗效^[4]。全氟化碳 (PFC) 是一种良好的呼吸气体运载介质, 研究表明, 使用 PFC 进行部分液体通气可有效改善内毒素诱导的 ALI 幼猪模型气体交换情况, 降低促炎因子水平^[5]。全氟溴辛烷 (PFOB) 为 PFC 中的一种, 研究表明, 雾化吸入 PFC 可以改善肺功能, 减轻呼吸机相关性肺损伤 (VILI)^[6]。本实验以 DPPC 为载体包裹 PFOB, 将 PFC 与人工 PS 同时作用于整肺灌洗致 ALI 模型, 观察各组氧合指数 (OI)、肺顺应性、相关炎症因子水平及病理学损伤的变化, 探讨 PFC 联合 PS 对 ALI 的作用机制。

1 材料和方法

1.1 药品制备及实验动物分组: 以 DPPC (L-1116, 美国 Echelon 公司) 为载体包裹 PFOB (美国 Sigma 公司), 加入少量蛋黄卵磷脂、抗氧化剂 (维生素 E)、表面活性剂 (甘油、四丁酚醛), 制备 PFOB/DPPC 乳剂, 1 mL 乳剂含 DPPC 30 mg、PFOB 50 μ L, 水合粒径约为 40 nm, 表面张力为 38.703 mN/m。健康清洁级新西兰家兔 32 只, 雌雄不限, 体质量 2.0 ~ 2.5 kg, 购于上海第二军医大学实验动物中心, 动物许可证号: SCXK (沪) 2012-0007, 按随机数字表法将动物分为 ALI 组、联合用药组、PFC 组、PS 组, 每组 8 只。

1.2 动物模型制备及处理: ALI 动物模型的制备参照 Lachmann 等^[7]的方法。新西兰兔给予 3% 戊巴比妥钠 1 mL/kg 耳缘静脉麻醉后行气管切开, 置入“Y”型气管插管, 行右股动静脉置管监测血压、心率、呼吸频率 (RR) 并进行给药及留取血标本, 静脉滴注生理盐水 $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 补充生理需要量, 待上述操作结束后 30 min, 将 37 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水按 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 经气管导管注入实验兔肺内, 保持 20 s 后抽出, 每隔 5 min 1 次, 重复 3 次。每次灌洗前后均给予吸纯氧 2 min, 最后一次灌洗完成后 30 min 测定血气, 将 $\text{OI} \leq 300 \text{ mmHg}$ (1 mmHg = 0.133 kPa) 且持续 30 min 以上作为 ALI 模型制备成功的标准。制模后联合用药组雾化吸入 PFOB/DPPC 乳剂 3 mL/kg, PFC 组雾化吸入 PFOB 乳剂 (PFOB 及添加剂含量与联合用

药组相同), PS 组雾化吸入 DPPC 乳剂 (DPPC 及添加剂含量与联合用药组相同), ALI 组雾化吸入等量生理盐水。

本实验动物处置方式符合动物伦理学标准, 已获得第二军医大学实验动物管理中心批准。

1.3 指标检测及方法

1.3.1 RR、血气分析与动态肺顺应性(Cdyn): 实验动物分别于制模前 30 min(基础值)、制模后 1 h 及用药后即刻(0 min)、30 min、2 h、4 h 采用多道生物信号分析系统(上海奥尔科特生物技术有限公司)监测 RR; 取动脉血 0.5 mL, 用血气分析仪(美国沃芬公司)进行血气分析。将气管导管两分支分别连接呼吸流量传感器和微气压传感器测定气流量与气道压, 将连接压力传感器的针头于实验兔右侧腋中线与第 4~5 肋间隙交点处置入胸膜腔测量胸内压, 采用 MPA 肺功能分析系统(上海奥尔科特生物技术有限公司)自动记录气流量、气道压和胸腔负压曲线, 通过计算瞬时胸内压变化(ΔPc)及潮气量变化(ΔVT)计算各时间点 Cdyn(Cdyn=ΔVT/ΔPc)。

1.3.2 总蛋白(TP)与肺系数: 各组动物处死前取右股静脉血 2 mL, 用双缩脲法测定 TP 水平; 处死后开胸夹闭气管取出肺组织, 称整肺湿质量; 取左上肺用 10 mL 生理盐水灌洗, 收集支气管肺泡灌洗液(BALF), 离心取上清液, 检测 TP 水平, 并计算肺通透指数(LPI=BALF 中 TP/血清 TP)和肺系数(肺系数=肺湿质量/体质量)。

1.3.3 细胞因子水平: 各组于用药后 4 h 抽取静

脉血 2 mL, 离心取上清液, 采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-1β(IL-1β)水平, 操作按试剂盒(上海圆创生物科技公司)说明书步骤进行。

1.3.4 病理学评分: 取右下肺组织, 一部分用 4% 多聚甲醛水溶液固定, 常规石蜡包埋、切片, 苏木素-伊红(HE)染色, 另一部分于 -70 °C 保存备用。经肉眼及显微镜下观察肺组织病理学改变, 采用 Smith 评分法^[8]评价肺损伤程度。

1.4 统计学方法: 使用 SPSS 19.0 软件进行统计分析, 计量资料使用 Kolmogorov-Smirnov 法进行正态性检验, 符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 方差齐性用 Levene 法检验, 方差齐时先采用单因素方差分析进行组间比较, 然后采用 Student-Newman-Keuls 进行多组间两两比较, 方差不齐时使用 Kruskal-Wallis H 秩和检验进行多组间比较, 使用 Nemenyi 公式法进行两两组间比较。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

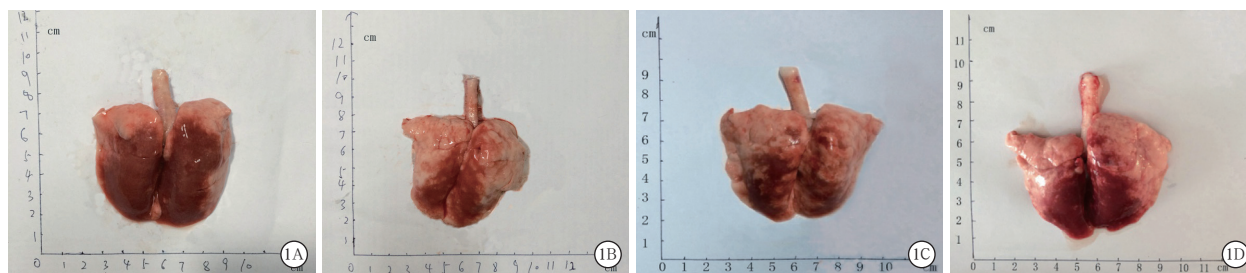
2.1 RR、OI、Cdyn 的变化(表 1): 在基础状态时, 各组 RR、OI、Cdyn 差异无统计学意义(均 P > 0.05)。各组动物制模后与其基础状态相比, 均出现严重通气、换气功能障碍, RR 明显加快, OI 和 Cdyn 显著降低(均 P < 0.05)。

2.1.1 RR: 用药后动物 RR 均呈持续下降趋势, 联合用药组 RR 于用药后 30 min 即较 ALI 组明显减慢, 而 PFC 组、PS 组均于用药后 4 h 才显著低于 ALI 组

表 1 DPPC/PFOB 乳剂对 ALI 家兔用药前后不同时间点 RR、OI 及 Cdyn 变化的影响($\bar{x} \pm s$)

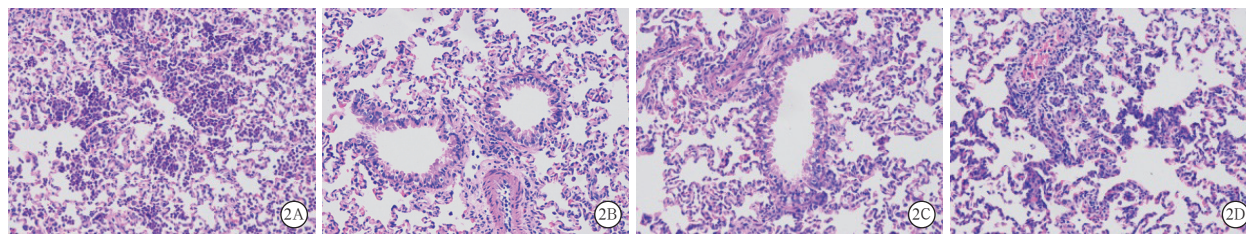
组别	动物数(只)	RR(次/min)					
		基础值	制模后 1 h	用药后 0 min	用药后 30 min	用药后 2 h	用药后 4 h
ALI 组	8	44.0 ± 8.6	184.5 ± 19.1 ^a	187.0 ± 18.5 ^a	178.5 ± 32.0 ^a	164.8 ± 31.8 ^a	157.5 ± 32.5 ^a
联合用药组	8	46.0 ± 7.0	186.9 ± 17.4 ^a	169.1 ± 19.4 ^a	151.1 ± 13.3 ^{ab}	141.8 ± 26.3 ^a	103.0 ± 21.8 ^{ab}
PFC 组	8	46.9 ± 7.6	185.1 ± 15.1 ^a	171.5 ± 12.4 ^a	161.4 ± 11.4 ^a	152.3 ± 16.5 ^a	129.3 ± 14.3 ^{abc}
PS 组	8	47.6 ± 9.0	183.6 ± 18.8 ^a	176.1 ± 16.5 ^a	168.0 ± 12.2 ^a	155.8 ± 19.4 ^a	133.1 ± 13.9 ^{abc}
组别	动物数(只)	OI(mmHg)					
		基础值	制模后 1 h	用药后 0 min	用药后 30 min	用药后 2 h	用药后 4 h
ALI 组	8	464.3 ± 16.2	188.6 ± 23.3 ^a	189.5 ± 21.0 ^a	213.3 ± 26.2 ^a	244.8 ± 32.4 ^a	243.3 ± 36.7 ^a
联合用药组	8	469.0 ± 27.1	186.2 ± 18.1 ^a	231.0 ± 16.7 ^{ab}	233.3 ± 26.2 ^a	282.4 ± 15.7 ^{ab}	347.1 ± 27.1 ^{ab}
PFC 组	8	467.3 ± 22.0	182.8 ± 18.9 ^a	221.4 ± 19.0 ^{ab}	222.6 ± 18.7 ^a	265.0 ± 24.7 ^a	309.0 ± 20.3 ^{abc}
PS 组	8	463.1 ± 16.6	187.5 ± 21.3 ^a	188.1 ± 22.9 ^a	210.1 ± 16.4 ^a	257.8 ± 25.6 ^a	297.0 ± 20.7 ^{abc}
组别	动物数(只)	Cdyn(mL/cmH ₂ O)					
		基础值	制模后 1 h	用药后 0 min	用药后 30 min	用药后 2 h	用药后 4 h
ALI 组	8	2.03 ± 0.08	0.59 ± 0.08 ^a	0.57 ± 0.05 ^a	0.61 ± 0.07 ^a	0.67 ± 0.06 ^a	0.70 ± 0.08 ^a
联合用药组	8	2.05 ± 0.12	0.59 ± 0.08 ^a	1.64 ± 0.10 ^{ab}	1.52 ± 0.15 ^{ab}	0.83 ± 0.10 ^{ab}	1.10 ± 0.17 ^{ab}
PFC 组	8	2.04 ± 0.14	0.60 ± 0.07 ^a	1.45 ± 0.10 ^{abc}	1.37 ± 0.10 ^{abc}	0.73 ± 0.09 ^{ab}	0.94 ± 0.16 ^{abc}
PS 组	8	2.06 ± 0.15	0.61 ± 0.08 ^a	1.43 ± 0.09 ^{abc}	1.33 ± 0.09 ^{abc}	0.71 ± 0.10 ^{ab}	0.91 ± 0.13 ^{abc}

注: 与基础值比较, ^aP < 0.05; 与 ALI 组比较, ^bP < 0.05; 与联合用药组比较, ^cP < 0.05; 与 PFC 组比较, ^dP < 0.05; 1 mmHg=0.133 kPa



注：A为ALI组；B为联合用药组；C为PFC组；D为PS组

图1 各组家兔用药后4h肺组织大体改变



注：A为ALI组；B为联合用药组；C为PFC组；D为PS组

图2 光镜下观察各组家兔用药后4h肺组织病理学改变(HE 中倍放大)

表2 DPPC/PFOB乳剂对ALI家兔肺组织LPI、肺系数和血清TNF-α、IL-1β水平以及病理学评分的影响(̄x ± s)

组别	动物数(只)	LPI(×10 ⁻⁵)	肺系数	TNF-α (ng/L)	IL-1β (ng/L)	病理学评分(分)
ALI组	8	5.56 ± 0.52	10.85 ± 0.73	73.60 ± 5.27	54.71 ± 4.26	6.13 ± 0.72
联合用药组	8	4.21 ± 0.42 ^a	8.04 ± 0.58 ^a	50.05 ± 4.91 ^a	34.27 ± 4.55 ^a	3.74 ± 0.58 ^a
PFC组	8	4.76 ± 0.55 ^{ab}	8.90 ± 0.88 ^{ab}	56.18 ± 5.54 ^{ab}	40.29 ± 5.03 ^{ab}	4.50 ± 0.75 ^{ab}
PS组	8	4.87 ± 0.49 ^{ab}	9.22 ± 0.71 ^{ab}	63.60 ± 5.96 ^{abc}	48.13 ± 6.38 ^{abc}	5.29 ± 0.72 ^{abc}

注：与ALI组比较，^aP<0.05；与联合用药组比较，^bP<0.05；与PFC组比较，^cP<0.05

(均 P<0.05)；PFC组、PS组组间比较差异无统计学意义(均 P>0.05)。

2.1.2 OI：联合用药组及PFC组用药后0 min OI即较ALI组明显升高，并持续至用药后4 h，而PS组于用药后4 h才显著高于ALI组。联合用药组用药后4 h OI改善程度明显高于PFC组和PS组(均 P<0.05)，PFC组和PS组组间比较差异无统计学意义(均 P>0.05)。

2.1.3 Cdyn：3个用药组Cdyn均于用药后0 min即较ALI组明显升高，用药后30 min及2 h有所下降，4 h再次升高，且均较ALI组明显改善，联合用药组用药后0 min、30 min及4 h Cdyn均显著高于PFC组、PS组(均 P<0.05)，而PFC组与PS组用药后各时间点比较差异均无统计学意义(均 P>0.05)。

2.2 LPI、肺系数(表2)：与ALI组比较，3个用药组LPI、肺系数均明显降低(均 P<0.05)；但PFC组和PS组比较差异无统计学意义(P>0.05)。

2.3 血清TNF-α、IL-1β水平(表2)：与ALI组比较，3个用药组血清TNF-α、IL-1β水平均明显降低(均 P<0.05)；其中联合用药组TNF-α、

IL-1β水平最低，PS组最高(均 P<0.05)。

2.4 肺大体改变(图1)：ALI组肺组织体积明显增大，外观可见明显肺水肿、充血；3个用药组肺组织外观肺水肿、充血程度较ALI组明显减轻，肺体积相对减小，其中联合用药组肺充血、水肿程度最轻。

2.5 肺组织病理学改变(图2；表2)：光镜下可见，ALI组肺水肿、局灶性肺不张、出血、肺间质及肺泡腔有大量炎症细胞浸润，3个用药组肺水肿、出血、肺不张及炎症细胞浸润程度较ALI组减轻，病理学评分均较ALI组有明显下降，且3个用药组中，联合用药组病理学评分改善程度最大，PS组病理学评分改善程度最小(均 P<0.05)。

3 讨论

ALI的主要病理学基础是肺泡及肺毛细血管弥漫性损伤导致的细胞膜通透性增加、上皮细胞凋亡及PS异常，上述改变在数小时或数天内促进了肺部炎症的发生发展。虽然发病机制研究不断深入，但仍然缺乏有效的治疗药物。PFC因其低表面张力、高气体溶解度等特性成为了一种良好的携氧物质。与传统机械通气比较，应用氟碳化合物

行部分液体通气能更好地改善肺气体交换功能及肺顺应性,减轻肺内中性粒细胞浸润和炎症反应,同时对血流动力学无明显作用^[9]。雾化吸入小剂量 PFC 例如 FC77、PFOB 被证实同样存在上述作用^[10]。Diou 等^[11]使用聚乳酸-羟基乙酸共聚物包裹 PFOB 制备纳米胶囊作为 19F-MRI 造影剂。外源性 PS 可降低肺泡表面张力,改善肺顺应性,因其铺展性亦可成为一种良好的肺部给药载体。但 ALI 的诱因、严重程度和给药时间以及途径直接影响了外源性 PS 的疗效^[12]。本实验以 DPPC 为载体包裹 PFOB,采用纳米技术制备 DPPC/PFOB 乳剂。

DPPC/PFOB 乳剂作为给药方案的特点和优势主要包括:① PFC 密度低、易扩散的特性有助于萎陷肺泡的复张及血液灌注;② PFC 所储备的氧气可持续改善肺通气和换气功能;③ 肺泡灌洗致 ALI 模型造成局限或较广泛肺不张,支气管上皮脱落、间隔水肿及出血,可能阻碍低密度 PS 到达肺泡表面,PFC 的高密度物理特性可发挥协同作用,能移除细胞碎片及渗出液;④ PFC 可被 II 型肺上皮细胞摄取并影响其合成及分泌 PS^[13];⑤ 氟碳化合物采用 DPPC 为载体雾化给药,使用方式便捷,剂量小,对呼吸影响轻微,在肺泡表面分布更均匀,充分覆盖于支气管与肺泡上皮表面,能改善肺顺应性,避免部分液体通气可能导致的一过性缺氧、血液动力学障碍及移除效应对 PS 分泌的干扰;⑥ 抑制肺泡巨噬细胞促炎及促凝作用^[14]。

本实验采用生理盐水整肺灌洗制备 ALI 模型,生理盐水反复灌洗可致 PS 明显减少,形成肺不张、支气管上皮细胞脱落、肺水肿和肺出血,制模后 OI 迅速降至 300 mmHg 以下,并在一段时间内较稳定。但与文献^[15]相比,本实验灌洗所使用生理盐水剂量相对较少,造成肺损伤的程度较轻,目的是模拟 ALI 发生早期阶段情况,观察人工 PS 与氟碳化合物联合应用对 ALI 早期的影响,并探究其可能机制。

本实验结果表明,联合用药组及 PFC 组均可在短时间内因直接供氧,迅速改善氧合,但疗效在用药后 30 min 消失,其原因很可能是用药剂量较小,所含 PFC 中储备氧量有限,用药后 4 h PS 组氧合情况才较 ALI 组明显改善,且联合用药组氧合改善程度优于两个单独用药组,证明 DPPC/PFOB 乳剂中 DPPC 与 PFOB 可进入肺内共同发挥作用,且 PFOB 在用药后前期发挥的作用较 DPPC 更加显著。3 个用药组用药后各时间点 Cdyn 均较 ALI 组明显升高,且联合用药组的改善程度最大。以上结果证明

DPPC/PFOB 乳剂改善肺气体交换及肺顺应性作用明显且较持久。

TNF- α 、IL-1 β 是损伤早期主要由单核-巨噬细胞合成及释放的两种最重要的促炎因子,可通过激活炎症细胞、诱导黏附分子和基质降解酶的表达,促进中性粒细胞聚集于肺内,释放脱粒产物,增加肺上皮细胞通透性,造成组织损伤^[16]。同时 TNF- α 可抑制 PS 中磷脂合成与蛋白基因的表达^[17]。部分药物可通过减少巨噬细胞分泌细胞因子如 TNF- α 来发挥抗炎作用^[18]。研究表明,PFC 在脂多糖(LPS)致肺损伤小鼠模型中可诱导血红素氧合酶-1(HO-1)合成,下调 TNF- α 水平,抑制炎症细胞的迁移^[19],而 TNF- α 能调节 IL-1 β 的产生^[20]。本实验结果同样证实,3 个用药组均可降低整肺灌洗致兔 ALI 模型血清 TNF- α 、IL-1 β 水平,其中 PFC 组炎症因子水平低于 PS 组,联合用药组最低,证明联合用药过程中 PFC 在抗炎方面发挥的作用较大。

炎症、缺氧或反复灌洗的直接作用引起血管内皮和上皮细胞屏障损坏,通透性增加,导致肺水肿形成,肺泡灌洗液及 TP 水平的改变可反映上述改变的严重程度^[21]。本实验表明,雾化吸入 DPPC/PFOB 乳剂可减轻肺水肿及其他病理损伤,且联合用药组肺组织病理学改变优于两个单独用药组,其主要原因可能是 DPPC 和 PFOB 对肺部气体交换功能及炎症反应的共同改善,同时氟碳化合物对 PS 可产生一定的影响,病变部位的蛋白质及细胞碎片会阻碍 PS 吸附在肺泡表面并导致其失活。使用氟碳化合物这种高度疏水的惰性化合物结合外源性 PS 共同进入肺泡内,可改变界面的物理特征,进而使 PS 更易附着,分布更均匀。

综上所述,PFC 联合 PS(即 DPPC/PFOB 乳剂)可有效改善整肺灌洗致 ALI 模型的氧合情况、肺功能及肺组织损伤,其机制可能是 DPPC/PFOB 乳剂能输送氧气、降低促炎因子水平、补充和替代 PS 并影响其在肺表面的分布,从而改善整肺灌洗致实验兔肺损伤情况。但其在动物及人体中的代谢情况及是否存在不良反应仍需进一步研究。

参考文献

- [1] 乔良,刘志.按柏林新标准分析急诊脓毒症患者发生急性呼吸窘迫综合征的危险因素[J].中华危重病急救医学,2015,27(7):558-562. DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2015.07.004.
- Qiao L, Liu Z. Analysis of the risk factors of acute respiratory distress syndrome of Berlin new definition in patients with sepsis in emergency department [J]. Chin Crit Care Med, 2015, 27 (7): 558-562. DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2015.07.004.

- [2] 包晓玮, 孙宏, 杨倩, 等. 共刺激分子程序性死亡配体-1 在急性肺损伤中的作用及机制初探 [J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28 (6): 498-503. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.06.005. Bao XW, Sun H, Yang Q, et al. The potential role of co-inhibitory molecule programmed death ligand-1 in acute lung injury and its mechanism [J]. Chin Crit Care Med, 2016, 28 (6): 498-503. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.06.005.
- [3] Ji Y, Liu C, Pei YY. Artificial pulmonary surfactant as a carrier for intratracheally instilled insulin [J]. Acta Pharmacol Sin, 2007, 28 (5): 744-750. DOI: 10.1111/j.1745-7254.2007.00513.x.
- [4] 薛婷君. 固尔苏治疗新生儿肺透明膜病的护理体会 [J]. 实用临床医药杂志, 2010, 14 (6): 75, 77. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2353.2010.06.036. Xue TJ. The nursing experience of neonatal hyaline membrane disease with treatment of Curosurf [J]. J Clin Med Pract, 2010, 14 (6): 75, 77. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2353.2010.06.036.
- [5] 唐瑾, 张洁, 历旭光, 等. 部分液体通气对内毒素诱导急性肺损伤幼猪炎症反应的影响 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (2): 74-79. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.02.004. Tang J, Zhang J, Li XG, et al. The effect of partial liquid ventilation on inflammatory response in piglets with acute lung injury induced by lipopolysaccharide [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (2): 74-79. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.02.004.
- [6] 彭雪梅, 谢娟华, 帅兵, 等. 联合雾化吸入氟碳及中药川芎嗪治疗急性肺损伤的血流动力学及组织病理的改变 [J]. 南方医科大学学报, 2011, 31 (8): 1382-1386. Peng XM, Xie JH, Shuai B, et al. Inhalation of aerosolized perfluorocarbon combined with tetramethylpyrazine ameliorates hemodynamics and pulmonary histopathology in a porcine model of acute lung injury [J]. J South Med Univ, 2011, 31 (8): 1382-1386.
- [7] Lachmann B, Robertson B, Vogel J. *In vivo* lung lavage as an experimental model of the respiratory distress syndrome [J]. Acta Anaesthesiol Scand, 1980, 24 (3): 231-236.
- [8] Smith KM, Mrozek JD, Simonton SC, et al. Prolonged partial liquid ventilation using conventional and high-frequency ventilatory techniques: gas exchange and lung pathology in an animal model of respiratory distress syndrome [J]. Crit Care Med, 1997, 25 (11): 1888-1897.
- [9] 彭雪梅, 孙婵, 王华东, 等. 部分液体通气不同氟碳供给途径时血流动力学及血气的改变 [J]. 中国急救医学, 2005, 25 (2): 109-111. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2005.02.014. Peng XM, Sun C, Wang HD, et al. Changes of hemodynamics and blood gas in different carrying way with PFC during partial liquid ventilation [J]. Chin J Crit Care Med, 2005, 25 (2): 109-111. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2005.02.014.
- [10] von der Hardt K, Schoof E, Kandler MA, et al. Aerosolized perfluorocarbon suppresses early pulmonary inflammatory response in a surfactant-depleted piglet model [J]. Pediatr Res, 2002, 51 (2): 177-182. DOI: 10.1203/00006450-200202000-00009.
- [11] Diou O, Tsapis N, Giraudeau C, et al. Long-circulating perfluorooctyl bromide nanocapsules for tumor imaging by 19F MRI [J]. Biomaterials, 2012, 33 (22): 5593-5602. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.04.037.
- [12] 孙瑜, 王轶群, 钟纪根, 等. 不同时间给予猪肺表面活性物质对大鼠油酸型急性肺损伤疗效的影响 [J]. 中华危重病急救医学, 2008, 20 (2): 88-91. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2008.02.008. Sun Y, Wang YQ, Zhong JG, et al. Influence of porcine pulmonary surfactant administered at different time on therapeutic effects in rats with oleic acid induced acute lung injury [J]. Chin Crit Care Med, 2008, 20 (2): 88-91. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2008.02.008.
- [13] Rüdiger M, Wissel H, Ochs M, et al. Perfluorocarbons are taken up by isolated type II pneumocytes and influence its lipid synthesis and secretion [J]. Crit Care Med, 2003, 31 (4): 1190-1196. DOI: 10.1097/01.CCM.0000060008.96029.7D.
- [14] 段蕴铀, 张新红, 冯华松, 等. 部分液体通气与常规机械通气治疗兔海水型肺水肿的比较 [J]. 中国急救医学, 2004, 24 (4): 261-264. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2004.04.013. Duan YY, Zhang XH, Feng HS, et al. Experimental study of partial liquid ventilation in rabbits with pulmonary edema of seawater drowning [J]. Chin J Crit Care Med, 2004, 24 (4): 261-264. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2004.04.013.
- [15] Menk M, Graw JA, Steinkraus H, et al. Characterization of inflammation in a rat model of acute lung injury after repeated pulmonary lavage [J]. Exp Lung Res, 2015, 41 (8): 466-476. DOI: 10.3109/01902148.2015.1075079.
- [16] 龚艳杰, 魏明, 涂玲, 等. 输血相关急性肺损伤对大鼠血浆和肺组织血管生成素-2 表达的影响 [J]. 实用检验医师杂志, 2016, 8 (3): 175-180. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.03.015. Gong YJ, Wei M, Tu L, et al. Expression of angiopoietin-2 in plasma and lung tissue of rats with transfusion-related acute lung injury [J]. Chin J Lab Pathol, 2016, 8 (3): 175-180. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.03.015.
- [17] Miakotina OL, Snyder JM. TNF- α inhibits SP-A gene expression in lung epithelial cells via p38 MAPK [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2002, 283 (2): L418-427. DOI: 10.1152/ajplung.00470.2001.
- [18] 秦科, 卞晓聪, 孙煦勇, 等. 免疫抑制小鼠急性重症肺部感染中巨噬细胞亚型变化与乌司他丁调控效应 [J/CD]. 实用器官移植电子杂志, 2016, 4 (1): 46-51. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2016.01.009. Qin K, Kuang XC, Sun XY, et al. Alterations of macrophage subsets and the regulation of Ulinastatin in the immunosuppressed mouse with severe pulmonary infection [J/CD]. Pract J Organ Transplant, 2016, 4 (1): 46-51. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2016.01.009.
- [19] 牛占丛, 段国辰, 刘军肖, 等. 血红素加氧酶-1 对脓毒症小鼠肺损伤炎症反应的调节作用 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2016, 23 (4): 373-377. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.04.009. Niu ZC, Duan GC, Liu JX, et al. The regulation of heme oxygenase-1 on inflammatory response in mice with lung injury induced by sepsis [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2016, 23 (4): 373-377. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.04.009.
- [20] Zhu YB, Wang Q, Liu YL, et al. Effect of partial liquid ventilation on oleic acid-induced inflammatory responses in piglets [J]. Chin Med J (Engl), 2010, 123 (15): 2088-2093.
- [21] 陶一帆, 田方敏, 郭向阳, 等. 不同剂量脂多糖在不同作用时间下诱导小鼠急性肺损伤的效果评价 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22 (2): 142-146. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.02.11. Tao YF, Tian FM, Guo XY, et al. An evaluation of effects on induction of acute lung injury in mice by different doses of lipopolysaccharide and different durations [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2015, 22 (2): 142-146. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.02.11.

(收稿日期: 2016-12-23)