

血必净对 ALI/ARDS 患者呼出气冷凝液中 NO 和 VEGF-A 的影响

薛垒喜¹ 陈建荣¹ 陶一江¹ 陈金亮¹ 徐志华² 蒋云书¹

摘要 **目的** 研究急性肺损伤(acute lung injury,ALI)/急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome,ARDS)患者使用血必净治疗后呼出气冷凝液(exhaled breath condensate,EBC)中一氧化氮(nitric oxide,NO)和血管内皮生长因子 A(vascular endothelial growth factor A,VEGF-A)改变的临床意义及对 EBC 检测技术效果的评价。**方法** 32 例 ICU 中行机械通气的 ALI/ARDS 患者,随机分为对照组和血必净治疗组,每组 16 例。对照组给予针对原发病的常规治疗,血必净治疗组在常规治疗的基础上联用血必净治疗,疗程 5 天。在诊断 ALI/ARDS 24 h 内和用药第 5 天使用改进的 EcoScreen 冷凝器收集 EBC 标本。采用 EIA 法测定 EBC 和血清中 NO 和 VEGF-A 的浓度。观察两组患者治疗前后 EBC 中 NO 和 VEGF-A 的变化。**结果** 与治疗前比较,两组治疗后 EBC 和血清中 NO 均有所下降、VEGF-A 均有所上升,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);治疗后血必净治疗组 EBC 和血清中 NO 均低于对照组($P < 0.05$),EBC 中 VEGF-A 高于对照组($P < 0.05$),血清中 VEGF-A 与对照组比较,差异无统计学意义。**结论** 血必净是一种可有效控制 ALI/ARDS 患者体内炎症反应的药物;采用 EBC 检测技术测定肺内 NO 和 VEGF-A 含量的变化,可判断 ALI/ARDS 患者肺部的炎症反应程度,有助于治疗效果的评价。

关键词 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征;血必净;呼出气冷凝液;一氧化氮;血管内皮生长因子 A

Effects of Xuebijing on Nitric Oxide and VEGF-A in Exhaled Breath Condensate of Patients with ALI/ARDS XUE Lei-xi¹, CHEN Jian-rong¹, TAO Yi-jiang¹, CHEN Jin-liang¹, XU Zhi-hua², and JIANG Yun-shu¹ 1 Department of Respiratory Diseases, Second Affiliated Hospital of Nantong University, Jiangsu (226001), China; 2 Department of Intensive Care Unit, Second Affiliated Hospital of Nantong University, Jiangsu (226001), China

ABSTRACT **Objective** To observe the clinical significance of changes of nitric oxide (NO) and vascular endothelial growth factor A (VEGF-A) in exhaled breath condensate (EBC) of patients with acute lung injury/acute respiratory distress syndrome (ALI/ARDS) after they were treated by Xuebijing (XBJ), and to evaluate the effect of the EBC detection technology. **Methods** Totally 32 ALI/ARDS patients receiving mechanical ventilation at intensive care unit (ICU) were randomly assigned to the treatment group and the control group, 16 cases in each group. Patients in the control group were treated by routine therapy, while those in the treatment group were treated by routine therapy + XBJ. The therapeutic course for all was 5 days. The EBC sample was collected by improved EcoScreen condenser within 24 h after confirmed diagnosis of ALI/ARDS and on the fifth day of medication. The levels of NO and VEGF-A were measured by EIA in EBC and serum. The changes of NO and VEGF-A in EBC were observed before and after treatment. **Results** Compared with before treatment, the level of NO in EBC and serum decreased and VEGF-A increased after treatment, showing statistical difference ($P < 0.05$, $P < 0.01$). After treatment the level of NO in EBC and serum was lower in the treatment group than in the control group ($P < 0.05$). The VEGF-A in EBC was higher in the treatment group than in the control group ($P < 0.05$). There was no statistical difference in the serum VEGF-A level between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusions** XBJ was an effective therapeutic drug capable to control the *in vivo* inflammation reaction in patients with ALI/ARDS. The detection of changes of VEGF-A and NO levels by EBC could judge the inflammatory reaction degree in ALI/ARDS patients, and help evaluating the therapeutic effect.

KEYWORDS acute lung injury/acute respiratory distress syndrome; Xuebijing; nitric oxide; vascular endothelium growth factor A; exhaled breath condensate

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)/急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是由心源性以外的各种肺内、外致病因素导致的急性、进行性呼吸衰竭。临床表现是以肺顺应性降低和难治性缺氧为特点的急性呼吸衰竭。ALI/ARDS 是临床常见的呼吸系统急危重症,死亡率高达 40%^[1],其中 28 天内病死率达 25%~30%^[2]。近年来很多学者开始研究中药对 ALI/ARDS 的治疗作用,血必净注射液是王今达教授根据菌、毒、炎并治理论研制的用于治疗脓毒症和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)的有效药物^[3]。

目前,国内外研究 ALI/ARDS 患者炎症反应的标本主要采用血浆、诱导痰(induced sputum, IS)、支气管镜肺泡灌洗液(bronchoscopic bronchoalveolar lavage fluid, BALF)等,而呼出气冷凝液(exhaled breath condensate, EBC)作为检测呼吸系统疾病生物学指标的一种新标本,具有实时、无创、简单、可多次重复、不改变呼吸道内环境等特点,与传统标本如 IS、BALF 等相比,具有动态监测气道炎症、评估药物疗效、预测预后等优点^[4]。本研究通过测定血必净治疗前后 EBC 中一氧化氮(nitric oxide, NO)和血管内皮生长因子 A(vascular endothelial growth factor A, VEGF-A)水平的变化,旨在进一步探讨血必净对 ALI/ARDS 患者的治疗作用。

资料与方法

1 诊断标准 参照 2000 年中华医学会呼吸病学分会制定的 ALI/ARDS 诊断标准^[5]。

2 纳入及排除标准 纳入标准:符合诊断标准,并签署知情同意书;排除标准:肺源性心脏病、急性心功能不全、严重的心律失常、风湿免疫性疾病、长期吸入糖皮质激素药物史等。

3 一般资料 32 例病例选自 2010 年 4—10 月在南通大学第二附属医院重症监护病房(ICU)手术后和因其他疾病入住 ICU 行机械通气的 ALI/ARDS 患者,其中原发病为多发伤者 9 例,脑出血者 5 例,上消化道大出血者 4 例,肺部感染和急性肠梗阻各 3 例,急性消化道穿孔和急性胰腺炎各 2 例,直肠吻合口瘘、败血症、骨盆骨折和溺水各 1 例;男性 20 例,女性 12 例,年龄 27~88 岁,平均(62.25±14.73)岁。32 例 ALI/ARDS 患者,随机分为对照组 16 例和血必净治疗

组 16 例。其中血必净治疗组男 10 例,女 6 例,年龄 27~87 岁,平均(63.38±14.37)岁;对照组男 10 例,女 6 例,年龄 28~88 岁,平均(65.56±13.54)岁。两组患者性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义。

4 药物、试剂及仪器 血必净(天津红日药业股份有限公司生产,生产批号:10030502,规格:10 mL/支);人一氧化氮酶免疫测定法(EIA)试剂盒(上海西塘生物科技有限公司,产品编号:F02057,批号:1010103);VEGF-A 酶免疫测定法(EIA)试剂盒(美国 RapidBio lab,产品编号:1R408S,批号:10091001);EcoScreen 呼出气冷凝液收集器(德国 JAEGER 公司);日立 7170A 自动分析仪(日本 Hitachi 公司);80-2 离心机酶标仪(上海手术器械厂);科美东雅微孔板发光分析仪;Roche OMNIC 动脉血气分析仪。

5 治疗方法 对照组:在针对原发病治疗的基础上,均予以抗炎、对症处理、有创机械通气等综合性治疗,机械通气遵循保护性肺通气策略。血必净治疗组:在常规治疗的基础上联用血必净注射液(50 mL 血必净加入 0.9%氯化钠注射液 100 mL 中静脉滴注,每日 2 次)治疗,疗程 5 天。在诊断 ALI/ARDS 24 h 内和第 5 天使用改进的 EcoScreen 冷凝器收集 EBC 标本^[6]。

6 EBC 和血清标本的采集 两组患者在 ICU 明确诊断 ALI/ARDS 的 24 h 内(即治疗前)和治疗第 5 天进行 EBC 标本收集。收集前,呼吸机管道更换为干燥的螺旋管,不连接湿化器,将改装后的 EcoScreen 冷凝器串联在呼吸机管道呼气端,每 20 min 可收集 EBC 标本约 2 mL。两组均同步抽取静脉血 5 mL,留取血清。EBC 和血清标本均 -70℃ 低温保存。ICU 病房环境稳定,温度控制在 20~25℃、湿度 45%~50%。

7 实验室检测 采用 EIA 酶标记法测定 EBC 和血清中 NO 和 VEGF-A 的浓度。严格按照说明书进行操作。

8 统计学方法 用 SPSS 17.0 统计学软件进行处理。计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示;两组间均数比较采用 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结果

两组 EBC 和血清中 NO 及 VEGF-A 水平比较(表 1)。两组治疗前 EBC 和血清中 NO 及 VEGF-A

表 1 两组 EBC 和血清中 NO 及 VEGF-A 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	EBC		血清	
			NO(μmol/mL)	VEGF-A(pg/mL)	NO(μmol/mL)	VEGF-A(pg/mL)
对照	16	治疗前	45.40 ± 5.99	46.34 ± 5.97	45.96 ± 5.78	807.34 ± 96.30
		治疗后	38.28 ± 8.63 *	52.47 ± 8.20 *	40.23 ± 7.35 *	901.25 ± 106.90 *
血必净治疗	16	治疗前	43.56 ± 8.23	48.18 ± 8.61	42.16 ± 8.18	820.36 ± 108.90
		治疗后	30.69 ± 4.95 **△	58.36 ± 7.64 **△	33.09 ± 5.27 **△	956.52 ± 113.93 **

注:与本组治疗前比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与对照组同期比较,△ $P < 0.05$

比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与治疗前比较,两组治疗后 EBC 和血清中 NO 均有所下降,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$),两组治疗后 EBC 和血清中 VEGF-A 均有所上升,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);治疗后血必净治疗组 EBC 和血清中 NO 均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),血必净治疗组 EBC 中 VEGF-A 高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而血必净组血清中 VEGF-A 与对照组比较,差异无统计学意义。

讨 论

ALI/ARDS 形成的根本原因是肺内过度、失控的炎性反应。全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)是感染、创伤等因素导致 ALI/ARDS 的共同途径。SIRS 是 ALI/ARDS 发病的重要机制,其中中性粒细胞和肺泡巨噬细胞在介导 ALI/ARDS 的发生发展中起了重要作用。中性粒细胞在肺泡内聚集、激活,释放多种肺损伤物质,如蛋白溶解酶、超氧化物和细胞因子;肺泡巨噬细胞局部释放肿瘤坏死因子(TNF)、白介素(IL)和白三烯(LT),促进中性粒细胞的渗出和聚集,释放出大量的炎症因子。

为了探索更加有效的治疗手段,很多学者开始研究中药对 ALI/ARDS 的治疗作用。血必净注射液是王今达教授根据菌、毒、炎并治理论研制的用于治疗脓毒症和 MODS 的有效药物,为多种活血化瘀中药的复方制剂,可强效拮抗内毒素及炎症介质,抑制炎症,控制感染,主要有效成分是从红花、赤芍、川芎、丹参、当归等中药中提取的红花黄色素 A、川芎嗪、丹参素、阿魏酸、芍药苷、原儿茶醛等,红花黄色素 A 有扩张冠脉和外周血管,增加组织耐缺氧能力,降低毛细血管通透性等作用;阿魏酸可调节机体免疫功能,减轻缺血再灌注损伤,清除氧自由基等;川芎嗪有降低血管通透性,清除氧自由基,防治 ALI/ARDS 和肾功能衰竭等作用;丹参素有清除氧自由基,调节免疫,拮抗内毒素等

作用^[7]。NO 是一种由内皮细胞、上皮细胞及炎症细胞等生成的一种小分子物质,大剂量的 NO 却可产生细胞毒性作用,损伤正常组织细胞,产生致病作用,其机制可能为:诱导型 NO 合酶(iNOS)被诱导,内皮细胞产生过量 NO 并聚积,NO 直接损伤气道组织细胞的 DNA、线粒体及含铁酶类的活性,在气道内的特殊化学环境中,和 O₂⁻ 形成毒性更强的过氧化亚硝酸(NO₂⁻/NO₃⁻)。血浆中大量的 NO 更多表现为细胞毒性作用,致毛细血管后微静脉渗出增多,加重肺通气/血流比例失调及加重支气管痉挛^[8]。然而,目前缺乏抑制 NO 生成的有效手段。

本研究显示,血必净治疗组和对照组治疗后患者 EBC 和血清中 NO 水平较治疗前明显下降(血必净组 $P < 0.01$, 对照组 $P < 0.05$),血必净组 EBC 和血清中 NO 水平较对照组明显下降,表明积极治疗能减轻 ALI/ARDS 患者的炎症反应和“氧化应激”,联用血必净会起到更好的效果。常规性治疗能减少细胞因子的合成和释放,降低 iNOS 的活性和含量,而血必净对这一过程起到了促进和加强作用,能减少急性炎症时毛细血管的通透性,减少炎性渗出,改善局部的血液循环,促进炎症吸收,并使炎症病灶局限化,抑制炎症肉芽肿的形成,减弱炎症因子对 iNOS 的刺激。血必净的治疗作用在 ALI/ARDS 的整个过程中具有明显的效果。

VEGF-A 主要在肺泡上皮细胞(特别是 II 型肺泡上皮细胞)、支气管上皮细胞表达,正常情况下,呼吸道上皮细胞内高浓度的 VEGF-A 不直接释放入血,而在 ALI/ARDS 急性期,肺泡上皮细胞和血管内皮受损,使肺泡气-血屏障遭到破坏,上皮细胞内的 VEGF-A 向血液释放,随后 VEGF-A 与血管内皮细胞表面的血管内皮生长因子受体结合,增加血管通透性。VEGF-A 是目前发现的作用最强、特异性最高的血管通透因子,能强烈地增加毛细血管后静脉和小静脉的通透性,作用是组胺的 5 万倍,且此效应不能被抗组胺

药和血小板活化因子抑制剂等阻断^[9], 体外研究显示^[10], VEGF-A 能够使 ALI/ARDS 内皮细胞通透性增加 50%, 加重肺水肿。

本研究资料显示: 行机械通气的 ALI/ARDS 患者给予常规性治疗(抗炎、液体管理、呼吸循环支持、营养支持等)后或在常规性治疗的基础上加用血必净治疗后, EBC 和血清中 VEGF-A 较治疗前均有所上升, 差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。治疗第 5 天, 血必净治疗组 EBC 中 VEGF-A 较对照组明显升高($P < 0.05$)。其原因可能为: 予以常规性治疗加用血必净治疗后均能减轻机体的炎症反应, 进而减轻了肺上皮细胞损伤的程度, VEGF-A 合成量增加; 液体管理措施可减少机体肺血管内液体的渗出, 同时呼吸机的支持, 明显提高肺泡氧分压和氧气的弥散功能, 改善机体的氧供, 纠正了缺氧的状态, VEGF-A 合成量增加。在治疗第 5 天, 血必净治疗组与对照组比较, 血清 VEGF-A 水平的升高, 差异无统计学意义($P < 0.05$), 提示 EBC 中检测 VEGF-A 的水平变化, 有可能比血清 VEGF-A 水平的变化更敏感。

采用 EBC 收集和检测技术研究 ALI/ARDS 患者 NO 和 VEGF-A 含量的变化, 是了解 ALI/ARDS 患者肺部的炎症反应的新方法, 较血清更具有有一定优势; 采用该评价方法, 观察血必净对于 ALI/ARDS 患者的治疗作用, 是一种有益的探索。

参 考 文 献

- [1] Rubenfeld GD, Herridge MS. Epidemiology and outcomes of acute lung injury[J]. Chest, 2007, 131(2): 554-562.
- [2] Bernard GR. Acute respiratory distress syn-

drome: a historical perspective[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2005, 172(7): 798-806.

- [3] 刘建军, 戴豪良. 中医药在重症胰腺炎治疗中的应用研究进展[J]. 中国中西医结合急救杂志, 1998, 5(5): 238-240.
- [4] 蒋云书, 陈建荣, 蔡映云. 呼出气冷凝液检测技术在机械通气患者中的应用[J]. 医学综述, 2011, 17(13): 2012-2014.
- [5] 中华医学会呼吸学会分会. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征的诊断标准(草案)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2000, 23(4): 203.
- [6] 张文彬, 陈建荣, 蔡映云. 改装 EcoScreen 冷凝器收集机械通气患者呼出气的研究[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2010, 9(4): 391-395.
- [7] 马俊清, 宋祖军. 血必净注射液治疗脓毒症、多器官功能障碍综合征的研究进展[J]. 中华老年多器官疾病, 2009, 8(1): 84-87.
- [8] Silkoff PE, Erzurum SC, Hunt JF, et al. ATS workshop proceedings: exhaled nitric oxide and nitric oxide oxidative metabolism in exhaled breath condensate[J]. Proc Am Thorac Soc, 2006, 3(2): 131-145.
- [9] Partovian C, Adnot S, Eddahibi S, et al. Heart and lung VEGF-A mRNA expression in rats with monocrotaline- or hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. Am J Physiol, 1998, 275(6): 1948-1956.
- [10] Thickett DR, Armstrong L, Christie SJ, et al. Vascular endothelial growth factor may contribute to increased vascular permeability in acute respiratory distress syndrome[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 164(9): 1601-1605.

(收稿: 2012-09-14 修回: 2012-12-26)

欢 迎 投 稿 欢 迎 订 阅