

## 乌司他丁联合地塞米松对机械通气大白兔肺保护研究

刘伯毅, 郑晓丽, 郑翔, 方志成, 刘培

(湖北医药学院附属太和医院 重症医学科, 湖北 十堰, 442000)

**摘要:** 目的 探讨乌司他丁联合地塞米松对呼吸机相关性肺损伤(VILI)大白兔肺保护中的作用。方法 将30只健康雄性大白兔随机分成3组(每组各10支):对照组(I组):插管后不行机械通气,静脉注射生理盐水5 mL。大潮气量机械通气组(II组)及乌司他丁联合地塞米松干预组(III组):插管后机械通气(潮气量:25 mL/kg。频率30次/min,吸呼比1:3,FiO<sub>2</sub>为21%,PEEP为0 kPa,通气时间:24 h)。II组:开始机械通气时静脉注射生理盐水5 mL。III组:静脉注射乌司他丁10万U、地塞米松5 mg/kg,用生理盐水稀释至5 mL。测定肺组织湿/干质量(W/D)值、制备肺组织石蜡切片,在显微镜下观察肺组织病理学变化,并检测肺组织TNF- $\alpha$ 、CC16、TGF- $\beta$ 1变化。结果 II组、III组肺组织W/D、TNF- $\alpha$ 、CC16、TGF- $\beta$ 1与I组比较显著变化( $P < 0.001$ ),同时,III组相应指标较II组也明显变化( $P < 0.01$ )。肺组织病理切片:II组可见肺间质和肺泡腔水肿,肺内炎性细胞浸润;III组较II组肺水肿轻。结论 乌司他丁联合地塞米松在机械通气的过程中有肺保护作用,可防治VILI。

**关键词:** 乌司他丁; 地塞米松; 机械通气; 肺损伤

中图分类号: R 563 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2013)03-009-03 DOI: 10.7619/jcmp.201303003

## Protective effects of ulinastatin combined with dexamethasone in rabbits with ventilator induced lung injury

LIU Boyi, ZHENG Xiaoli, ZHENG Xiang, FANG Zhicheng, LIU Pei

(Taihe Hospital Affiliated to Hubei Medical University, Shiyan, Hubei, 442000)

**ABSTRACT: Objective** To explore the protective effects of ulinastatin combined with dexamethasone in rabbits with ventilator induced lung injury. **Methods** Thirty healthy male rabbits were randomly divided into three groups(10 rabbits in each group). The control group (group I) received no mechanical ventilation after intubation, and were intravenously 5 mL physiological saline. High tidal volume mechanical ventilation group (group II) and ulinastatin combined with dexamethasone group (group III) were administered mechanical ventilation (tidal volume, 25 mL/kg; frequency, 30 times/min; respiratory absorption ratio, 1:3; PEEP, 0 kPa, FiO<sub>2</sub>, 21%; ventilation time, 24 h) Group II was intravenously injected with 5 mL physiological saline once mechanical ventilation started. Group III was intravenously injected with 100 000 U ulinastatin and 5 mg/kg dexamethasone. The wet and dry weight (W/D) ratio of lung tissue was calculated. Lung tissue sections were prepared for biopsies. The lung tissue specimens were collected for detecting the levels of TNF- $\alpha$ , CC16 and TGF- $\beta$ 1. **Results** Lung tissue W/D, TNF- $\alpha$ , CC16, and TGF- $\beta$ 1 in group II and group III were significantly higher compared with group I ( $P < 0.001$ ). Lung tissue W/D and TNF- $\alpha$ , CC16 and TGF- $\beta$ 1 in group III were significantly reduced compared with group II ( $P < 0.01$ ). Lung tissue biopsy: lung tissue visible pulmonary interstitial and alveolar space edema, pulmonary inflammatory cell infiltration could be found in group II. Pulmonary edema was weaker in Group III compared with group II. **Conclusion** Ulinastatin combined with dexamethasone has a protective effect on VILI.

**KEY WORDS:** ulinastatin; dexamethasone; mechanical ventilation; lung injury

机械通气可能导致肺损伤,即呼吸机相关肺损伤,一旦发生呼吸机相关性肺损伤(VILI),可

收稿日期: 2012-12-08

通信作者: 郑晓丽, Email: 421659357@qq.com

加重肺功能障碍,出现更严重的低氧血症。因此,近年来 VILI 得到广泛的关注和重视,发生与高压、高容量通气及肺部炎症反应等有关,目前主要采用肺保护通气策略进行预防。尽管如此,仍有 VILI 发生。本文旨在通过实验研究,探讨药物在机械通气中肺保护的作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物分组

健康成年雄性日本大白兔 30 只,体质量 1.6~2.3 kg(由湖北医药学院动物实验中心提供)。随机分为对照组(I组),大潮气量机械通气组(II组)及乌司他丁、地塞米松干预组(III组),每组 10 支。I 组不进行机械通气,II 组进行机械通气,III 组机械通气同时给予乌司他丁、地塞米松干预。

### 1.2 实验方法

实验前,大白兔禁食 12 h,禁水 2 h。用 3% 戊巴比妥钠 30mg/kg 静脉注射麻醉后,经气管插管(ID4.0),穿刺颈静脉,持续静脉泵入咪达唑仑 0.04~0.2 mg/(kg·h)。I 组:插管后不行机械通气,静脉注射生理盐水 5 mL。II 组及 III 组:插管后接 HX-300S 动物呼吸机(成都泰盟科技有限公司)机械通气。通气模式:SIMV。参数设置:潮气量:25 mL/kg。频率:30 次/min,吸呼比为 1:3,FiO<sub>2</sub> 为 21%,PEEP 为 0 kPa,通气时间:24 h。II 组:开始机械通气时静脉注射生理盐水 5 mL。III 组:静脉注射乌司他丁 10 万 U、地塞米松 5 mg/kg,用生理盐水稀释至 5 mL。

### 1.3 观察指标

1.3.1 肺组织湿/干质量(W/D)值的测定:3 组取同侧肺段一小块肺组织称湿质量(W),然后将肺组织置于 80 °C 烘箱烘干 24 h,称干质量(D),计算 W/D 值。

1.3.2 肺组织 TNF- $\alpha$ 、CC16、TGF- $\beta$ 1 测定:实验结束后断头处死大白兔,取左肺中央部分 1 cm × 1 cm 肺组织称质量,加生理盐水(100 mg 肺组织加生理盐水 0.9 mL 比例),用玻璃匀浆器制备肺组织匀浆,以 1000 r/min 的速度离心 20 min,取上清液,置于 -20 °C 冰箱冻存。采用 ELISA 法测定 TNF- $\alpha$ , 双抗体夹心 ELISA 法检测肺 CC16 含量,链霉素亲和-生物素-过氧化酶复合物(SABC)法测定 TGF- $\beta$ 1 蛋白表达量。

1.3.3 病理学检查:取左肺组织 1 块,用 4% 多聚甲醛溶液固定 12 h,用 PBS 液冲洗,石蜡包埋,HE 染色,制备石蜡组织切片,在显微镜下观察肺组织病理学变化。

### 1.4 统计学方法

使用 SPSS 15.0 软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 *t* 检验进行统计学处理, $P < 0.05$  有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 肺组织 W/D 比较

II 组、III 组与 I 组对比有差异( $P < 0.001$ ),III 组与 II 组对比也有差异( $P < 0.01$ )。见表 1。

### 2.2 肺组织 TNF- $\alpha$ 、CC16、TGF- $\beta$ 1 变化

II 组、III 组 TNF- $\alpha$ 、CC16、TGF- $\beta$ 1 与 I 组对比有显著差异( $P < 0.001$ ),III 组与 II 组对比也有差异( $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 肺组织 W/D、TNF- $\alpha$ 、CC16、TGF- $\beta$ 1 变化( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	肺组织/(W/D)	TNF- $\alpha$ /(ng/mL)	CC16	TGF- $\beta$ 1
I 组	10	3.78 ± 0.31	8.89 ± 0.56	1.097 ± 0.061	4.03 ± 0.59
II 组	10	9.15 ± 0.53 <sup>Δ</sup>	22.09 ± 1.90 <sup>Δ</sup>	0.487 ± 0.007 <sup>Δ</sup>	15.39 ± 1.98 <sup>Δ</sup>
III 组	10	5.10 ± 0.33 <sup>Δ▲</sup>	13.98 ± 0.38 <sup>Δ▲</sup>	0.786 ± 0.018 <sup>Δ▲</sup>	9.08 ± 0.61 <sup>Δ▲</sup>

注:与 I 组比较:Δ $P < 0.001$ ,与 II 组比较,▲ $P < 0.01$

### 2.3 病理学检查

I 组肺组织无明显充血、损伤及水肿(图 1); II 组可见肺间质和肺泡腔水肿,肺内炎性细胞浸润(图 2); III 组较 II 组肺水肿轻。

## 3 讨论

VILI 是机械通气严重的并发症,导致 VILI 的

机制包括<sup>[1-3]</sup>:①机械性损伤。机械通气导致气道压力升高、高容量通气导致渗透性肺水肿、肺泡反复扩张与塌陷导致的肺不张等;②生物伤。机械通气激活炎性细胞,释放大量炎症介质,导致肺损伤。VILI 主要表现:①肺损伤<sup>[4]</sup>。病理切片可见肺泡破裂、肺水肿、肺泡炎性细胞浸润等。肺外观可见充血、水肿,肺重量增加,肺 W/D 升

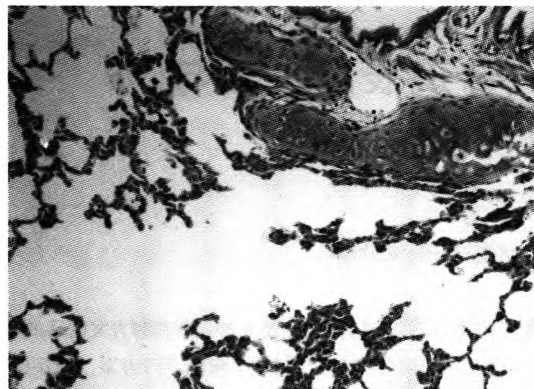


图1 I组肺组织切片 400倍

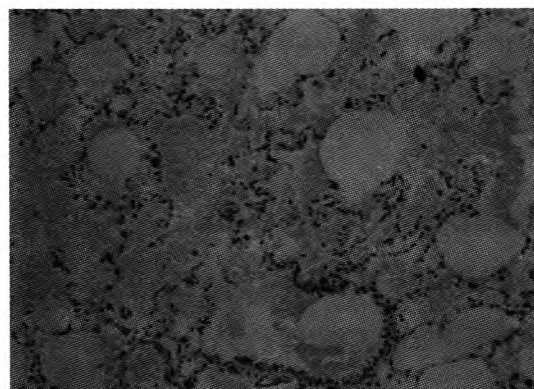


图2 II组肺组织切片 400倍

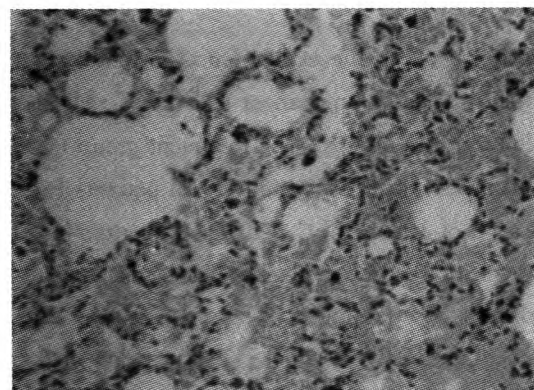


图3 III组肺组织切片 400倍

高。②生物标志物的变化。大量炎症介质释放,使肺组织 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  等炎症介质水平升高<sup>[5]</sup>。肺组织具有炎症调控作用的 CC16 表达减少<sup>[6]</sup>,促进肺部成纤维细胞的分化、生长与增殖的 TGF- $\beta$ 1 升高<sup>[7]</sup>。本研究即通过观察肺组织 W/D、肺组织病理学变化及 TNF- $\alpha$ 、CC16、TGF- $\beta$ 1 等生物学指标变化,探讨机械通气过程中肺损伤情况及药物的肺保护情况。

目前,机械通气过程中,主要通过小潮气量、低平台压等肺保护措施通气策略预防 VILI<sup>[8]</sup>,目的是减少机械性肺损伤。但由于生物伤的原因,尽管采取肺保护措施通气策略,仍不能完全预防

VILI 的发生<sup>[9]</sup>。是否可以通过干预生物伤而防治 VILI,近年得到重视与研究。本实验通过大潮气量机械通气制作 VILI 动物模型,结果显示,通气 24 h 后大白兔肺组织 W/D 升高 ( $P < 0.001$ ),肺组织病理切片可见肺间质和肺泡腔水肿,肺内炎性细胞浸润,肺组织 TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1 升高 ( $P < 0.001$ ),CC16 下降 ( $P < 0.001$ ),表明已发生肺损伤,VILI 模型制作成功。通过应用乌司他丁、地塞米松干预,结果肺组织 W/D 下降 ( $P < 0.01$ )、肺组织病理切片损伤减轻, TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1 下降 ( $P < 0.01$ ),CC16 升高 ( $P < 0.01$ ),表明在机械通气过程中乌司他丁联合地塞米松可能有肺保护作用。

乌司他丁是一种广谱酶抑制剂,能抑制体内丝氨酸蛋白酶活性,起到抑制炎症介质的释放、减少炎性细胞浸润的作用。有研究表明,在脂多糖诱导的 AIL 模型中,乌司他丁组 TNF- $\alpha$  明显低于肺损伤组<sup>[10]</sup>,在 VILI 临床研究中也得到相同结论<sup>[11]</sup>。同时,乌司他丁还可通过促进 CC16 的合成,提高肺组织 CC16 水平,抑制肺组织炎症反应,预防和减轻 VILI<sup>[12]</sup>。地塞米松具有非特异性抗炎作用,在体内可抑制中性粒细胞和内皮细胞黏附,抑制 NF- $\kappa$ Bp65 的活化而减少 TNF- $\alpha$  等炎症介质的产生。在动物肺纤维化模型中,地塞米松干预后,血清 TGF- $\beta$ 1 水平下降<sup>[13]</sup>。在动物哮喘模型中,地塞米松干预后,血清 CC16 水平升高<sup>[14]</sup>。将乌司他丁与地塞米松联合应用,起双重干预作用,减轻肺损伤。在损伤性肺损伤临床研究中已得到证实<sup>[15]</sup>。

#### 参考文献

- [1] 许厚仁,马龙先.机械通气致肺损伤的研究进展[J].南昌大学学报:医学版,2010,50(7):123.
- [2] Uhlig S, Uhlig U. Pharmacological interventions in ventilator-induced lung injury[J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2004, 25(11): 592.
- [3] Donn S M, S inha S K. Minimising ventilator induced lung injury in preterm infants[J]. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2006, 91(3): 226.
- [4] 郑翔,刘伯毅,方志成,等.细胞凋亡在呼吸机相关性肺损伤中的作用[J].东南大学学报:医学版,2011,30(2):360.
- [5] Dos Santos C C, Slutsky A S. Cellular Responses to Mechanical Stress Invited Review: Mechanisms of ventilator-induced lung injury: a perspective[J]. J Appl Physiol, 2000, 89(4): 1645.

(下转第15面)

铂无关。

因此,在 NSCLC 患者中, $\beta$ -tubulin III 的表达高低可以作为预测紫杉醇化疗耐药的一个指标,从而指导临床用药。

#### 参考文献

- [1] 陈斯泽,陈雪梅,丁颖,等.多西紫杉醇、卡培他滨和顺铂联合方案治疗转移性鼻咽癌的研究[J].南方医科大学学报,2011,31(7):1114.
- [2] 陈斯泽,陈雪梅,丁颖,等.DC方案与PF方案化疗与同步放疗治疗中晚期食管鳞癌[J].南方医科大学学报,2011,31(4):727
- [3] 欧阳举,杜先凤.多西紫杉醇联合卡培他滨及亚叶酸钙治疗晚期胃癌87例临床分析[J].海南医学院学报,2011,17(11):1500
- [4] Kavallaris M. Microtubules and resistance to tubulin-binding agents[J]. Nat Rev Cancer, 2010, 10(4): 194.
- [5] Jung M, Koo J S, Moon Y W, et al. Overexpression of class III beta tubulin and amplified HER2 gene predict good response to paclitaxel and trastuzumab therapy[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e45127.
- [6] Alli E, Yang J M, Ford J M, et al. Reversal of stathmin-mediated resistance to paclitaxel and vinblastine in human breast carcinoma cells[J]. Mol Pharmacol, 2007, 71(5): 1233.
- [7] Eng L, Ibrahim-zada I, Jarjanazi H, et al. Bioinformatic analyses identifies novel protein-coding pharmacogenomic markers associated with paclitaxel sensitivity in NCI60 cancer cell lines [J]. BMC Med Genomics, 2011, 4: 18.
- [8] Hammond J W, Cai D, Verhey K I. Tubulin modifications and their cellular functions[J]. Curr Opin Cell Biol, 2008, 20(1): 71.
- [9] Wade R H. Microtubules: an overview[J]. Methods Mol Med, 2007, 137: 1.
- [10] Wade R H. On and around microtubules: an overview[J]. Mol Biotechnol, 2009, 43(2): 177.
- [11] Mozzetti S, Ferlini C, Concolino P, et al. Class III beta-tubulin overexpression is a prominent mechanism of paclitaxel resistance in ovarian cancer patients[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(1): 298.
- [12] Tommasi S, Mangia A, Lacalamita R, et al. Cytoskeleton and paclitaxel sensitivity in breast cancer: the role of beta-tubulins [J]. Int J Cancer, 2007, 120(10): 2078.
- [13] Sève P, Reiman T, Dumontet C. The role of beta III  $\beta$ -tubulin in predicting chemoresistance in non-small cell lung cancer [J]. Lung Cancer, 2010, 67(2): 136.
- [14] Kang C H, Jang B G, Kim D W, et al. The prognostic significance of ERCC1, BRCA1, XRCC1, and beta III-tubulin expression in patients with non-small cell lung cancer treated by platinum- and taxane-based neoadjuvant chemotherapy and surgical resection[J]. Lung Cancer, 2010, 68(3): 478.

(上接第11面)

- [6] 罗佛全,傅华群.急性肺损伤大鼠肺组织 CC16 的表达及其对肺局部炎症反应的调控[J].现代免疫学,2005,25(6):502.
- [7] 唐仕芳,朱洪春,李华强.转化生长因子 TGF- $\beta$ 1 在新生大鼠高浓度氧致肺损伤中的作用研究[J].重庆医学,2009,38(4):438.
- [8] The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome[J]. New Engl J Med, 2000, 342(18): 1301.
- [9] Lee S H, Lopez J R, Li J. Conformational coupling of DHPR and RyR1 in skeletal myotubes is influenced by long-range allostery[J]. Am J Physiol cell Physiol, 2004, 286: C179.
- [10] 张新颖,刘奉琴,刘海燕.乌司他丁对急性肺损伤大鼠 TNF- $\alpha$ 、IL-10 mRNA 及 P38MAPK 表达的影响[J].基础医学与临床,2011,31(9):1015.
- [11] 杨勇,徐海虹.乌司他丁对呼吸机相关性肺损伤患者细胞因子的影响[J].现代实用医学,2009,21(2):148.
- [12] 王晓艳,张新日.乌司他丁对机械通气致肺损伤大鼠肺组织 CC16 表达的影响[J].中国比较医学杂志,2011,21(4):24.
- [13] 王凤强,王爱华,尹迎秋,等.地塞米松对平阳霉素致肺纤维化大鼠肺组织病理形态、超微结构及血清 TGF- $\beta$ 1、IL-8 动态变化的影响[J].山东大学学报:医学版,2010,48(7):27.
- [14] 孙惠泉,郝创利,范丽萍,等.地塞米松对哮喘小鼠模型血清 CC16 的影响[J].中国血液流变学杂志,2008,18(3):335.
- [15] 张荣伟.乌司他丁联合地塞米松治疗创伤性肺损伤的临床疗效观察[J].浙江创伤外科,2010,15(3):283.