

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.15.016

低分子肝素雾化吸入对急性肺损伤治疗作用的实验研究

谢念林 曹祥[△] 严四军 邓波荣 徐绍敢

(中国人民解放军第161医院心胸外科 湖北武汉 430014)

摘要 目的:急性肺损伤死亡率高且目前尚无有效可靠的治疗方法,本研究旨在探讨低分子肝素雾化吸入对急性肺损伤的治疗作用。**方法:**健康纯种白兔24只,随机分成3组(n=8):①正常对照组,②生理盐水雾化组,③低分子肝素雾化治疗组。各组分别测定动脉血气、肺干/湿重比、支气管肺泡灌洗液总蛋白含量和凝血功能。**结果:**与正常对照组相比,生理盐水雾化组和低分子肝素雾化治疗组动脉血氧合指数、肺干/湿重比值显著降低(P<0.05),支气管肺泡灌洗液总蛋白含量显著升高(P<0.05),而低分子肝素雾化治疗组较生理盐水雾化组动脉血氧合指数、肺干/湿重比值显著升高(P<0.05),支气管肺泡灌洗液总蛋白含量显著降低(P<0.05);凝血酶原时间以及活化部分凝血活酶时间生理盐水雾化组和低分子肝素雾化治疗组间没有显著差异(P>0.05),但均较正常对照组延长(P<0.05)。**结论:**低分子肝素雾化吸入治疗可以改善肺换气,提高氧合,降低肺泡渗出,并且对凝血功能没有明显的副作用,可以在一定程度上缓解急性肺损伤。本研究为急性肺损伤的治疗提供了新的思路和实验依据。

关键词:低分子肝素;雾化治疗;急性肺损伤

中图分类号:R563;R965 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)15-2867-04

Therapeutic Effects of Low Molecular Weight Heparin Nebulization on Acute Lung Injury

XIE Nian-lin, CAO Xiang[△], YAN Si-jun, DENG Bo-rong, XU Shao-gan

(Department of Thoracocardiovascular Surgery, 161 Hospital of PLA, Wuhan, Hubei, 430014, China)

ABSTRACT Objective: As high mortality and lack of effective treatment of acute lung injury, the purpose of this study is to explore the therapeutic effects of low molecular weight heparin nebulization on acute lung injury. **Methods:** Twenty-four rabbits were randomly divided into three groups (n=8): control group, saline nebulization group and low molecular weight heparin nebulization group. Arterial blood gas, ratio of dry/wet lung, content of total protein in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and blood coagulation were monitored in three groups respectively. **Results:** Compared with control group, oxygenation index and ratio of dry/wet lung in both saline nebulization group and low molecular weight heparin nebulization group decreased significantly (P<0.05). Content of total protein in BALF increased significantly (P<0.05). While oxygenation index and ratio of dry/wet lung in low molecular weight heparin nebulization group increased significantly (P<0.05), content of total protein in BALF decreased significantly (P<0.05) compared with saline nebulization group. There was no significant difference (P>0.05) in prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (APTT) between saline nebulization group and low molecular weight heparin nebulization group although both of them increased significantly (P<0.05) compare with control group. **Conclusion:** Low molecular weight heparin nebulization may improve pulmonary gas exchange, increase oxygenation index and decrease alveolar exudation without apparent adverse effects, and therefore attenuate acute lung injury to some extent. This study provided new idea and experimental data for treatment of acute lung injury.

Key words: Low molecular weight heparin; Nebulization therapy; Acute lung injury

Chinese Library Classification: R563; R965 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)15-2867-04

前言

急性肺损伤(Acute lung injury, ALI)是由多种损伤原因造成的肺损害性疾病,以顽固性低氧血症和呼吸窘迫为主要临床特征,以血管通透性增高、肺泡内血管外纤维蛋白沉积和大量

富含蛋白水肿液积聚为病理基础的一组临床综合征^[1]。由于其死亡率高,故探讨急性肺损伤的保护及治疗方法越来越受到人们的重视。急性肺损伤过程中存在肺泡内凝血及纤溶的复杂变化^[2-3],肺部损伤受到炎症介质释放和凝血变化的双重影响^[4],其主要病理表现之一是凝血功能紊乱^[5-7]。众所周知,肝素作为一种天然抗凝物质,其抗凝作用在体内还是体外都很强,临床上早已把它作为抗凝剂广泛使用,除此之外,肝素还可以抑制炎症、改善微循环,调节凝血功能紊乱,因此可能对急性肺损伤有一定的治疗作用。相比之下,低分子肝素是一种由普通肝素通过亚硝酸分解纯化而成的低分子肝素钠或钙盐,具有快速和持

作者简介:谢念林(1977-),男,博士,主治医师,主要研究方向:心胸外科基础及临床研究。电话:027-50660084, E-mail: xienianlin7@gmail.com

[△]通讯作者:曹祥, E-mail: maoerer@sina.com

(收稿日期:2013-12-13 接受日期:2014-01-12)

续的抗血栓形成作用,并能改善血流动力学,其生物利用度高,半衰期较普通肝素明显延长,出血危险性较低,因此更加安全和便于使用^[9]。故本实验通过建立急性肺损伤模型,观察低分子肝素雾化吸入治疗后动脉血气、肺干/湿重比、支气管肺泡灌洗液总蛋白含量和凝血功能等指标的改变,从而探讨低分子肝素雾化吸入对急性肺损伤治疗作用。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

健康纯种白兔 24 只,随机分成 3 组(n=8):① 正常对照组,不建立急性肺损伤模型,只作为各指标检测的平行对照;② 生理盐水雾化组,建立急性肺损伤模型后给予生理盐水雾化吸入;③ 低分子肝素雾化治疗组,建立急性肺损伤模型后给予低分子肝素雾化吸入(1 U/g)。

1.2 创伤性急性肺损伤模型的建立

生理盐水雾化组和低分子肝素雾化治疗组动物注射 1% 戊巴比妥钠 1 mg/kg 体重,固定于撞击台,以右侧胸壁第 4 或 5 肋间与腋中线交界处为撞击点,呼气末准静态撞击。压缩幅度均为 20%,撞击质量 5.7 kg,撞击面积 3.14 cm²,撞击初速度为 20 m/s^[9]。

1.3 动脉血气分析

动物麻醉后置颈动脉插管,雾化吸入处理 24 h 后取动脉血,AVI Mini 型血气分析仪测定动脉血氧合指数。

1.4 肺干/湿重比测定

雾化吸入处理 24 h 后杀死动物,取一小块肺组织称重后置于 50 °C 烤箱,烘烤至恒重称干重,计算肺干/湿重比值。

1.5 支气管肺泡灌洗液(BALF)总蛋白测定

完整取下肺组织,用生理盐水 5~10 mL 灌洗 2~3 次,混匀灌洗液,留取上清液。按 Lowry 法进行,在标准管、样品管和空白管各加 12% NaOH 100 mL 混合 15 min,加入试剂甲 3 mL,再加入试剂乙 100 U,静置 30 min 后测 A 值。蛋白标准为牛血清白蛋白,蛋白含量以 BALF 总量和体重校正,以 mg/kg 表示。

1.6 凝血功能测定

雾化吸入处理 24 h 后,从耳缘静脉抽取 1.8 mL 静脉血注入真空管,测定凝血酶原时间以及活化部分凝血活酶时间。

1.7 统计学处理数据

数据以均数±标准差表示,统计分析采用单因素方差分析(ANOVA),P<0.05 为有统计学意义。

2 结果

2.1 低分子肝素雾化吸入对动脉血氧合指数的影响

如图 1 所示,与正常对照组相比,生理盐水雾化组动脉血氧合指数显著降低(P<0.05),低分子肝素雾化治疗组虽然也比正常对照组显著降低(P<0.05),但与生理盐水雾化组相比显著升高(P<0.05)。

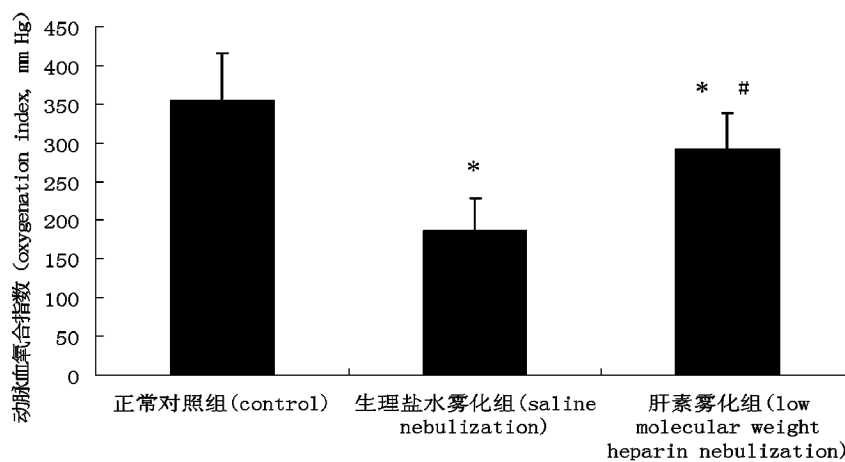


图 1 低分子肝素雾化吸入对动脉血氧合指数的影响

Fig.1 Effects of low molecular weight heparin nebulization on oxygenation index

注:*P<0.05 vs 正常对照组,#P<0.05 vs 生理盐水雾化组。

Note: *P<0.05 vs control group, #P<0.05 vs saline nebulization group.

2.2 低分子肝素雾化吸入对肺干/湿重比值的影响

与动脉血氧合指数的变化趋势相似,生理盐水雾化组和低分子肝素雾化治疗组肺干/湿重比值均较正常对照组显著降低(P<0.05),但低分子肝素雾化治疗组比生理盐水雾化组明显升高(P<0.05,图 2)。

2.3 低分子肝素雾化吸入对支气管肺泡灌洗液总蛋白含量的影响

从图 3 可以看出,支气管肺泡灌洗液(BALF)总蛋白含量在生理盐水雾化组和低分子肝素雾化治疗组均较正常对照组

显著升高(P<0.05),而与生理盐水雾化组相比,低分子肝素雾化治疗组支气管肺泡灌洗液(BALF)总蛋白含量显著降低(P<0.05)。

2.4 低分子肝素雾化吸入对凝血功能的影响

为了检测低分子肝素雾化吸入对凝血功能的影响,我们选择了凝血酶原时间以及活化部分凝血活酶时间作为观察指标,如图 4 和图 5 所示,凝血酶原时间以及活化部分凝血活酶时间均较正常对照组延长(P<0.05),但生理盐水雾化组和低分子肝素雾化治疗组间没有显著差异(P>0.05)。

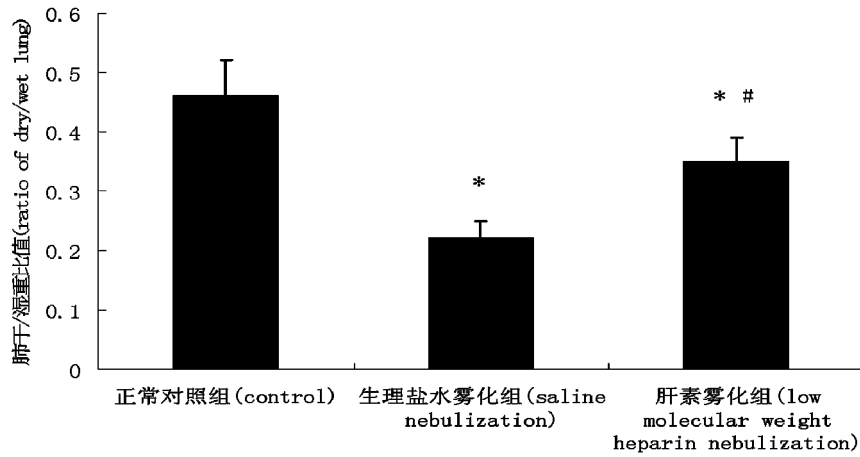


图2 低分子肝素雾化吸入对肺干/湿重比值的影响

Fig.2 Effects of low molecular weight heparin nebulization on ratio of dry/wet lung

注:*P<0.05 vs 正常对照组,#P<0.05 vs 生理盐水雾化组。

Note: *P<0.05 vs control group, #P<0.05 vs saline nebulization group.

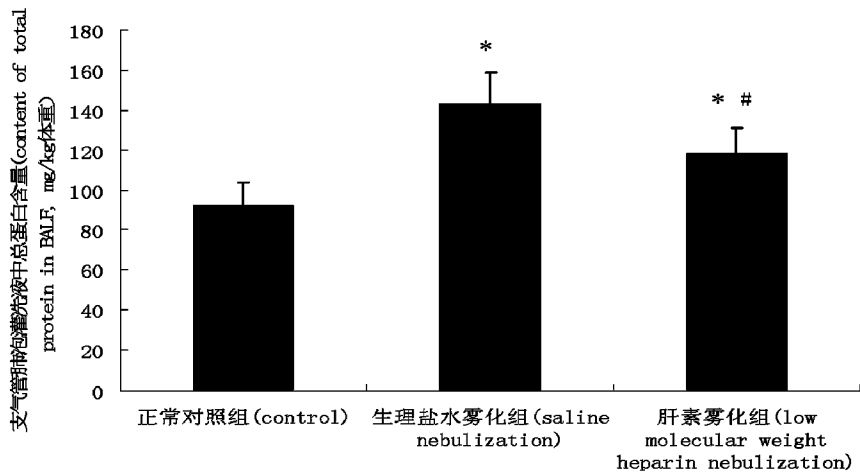


图3 低分子肝素雾化吸入对支气管肺泡灌洗液(BALF)总蛋白含量的影响

Fig.3 Effects of low molecular weight heparin nebulization on content of total protein in BALF

注:*P<0.05 vs 正常对照组,#P<0.05 vs 生理盐水雾化组。

Note: *P<0.05 vs control group, #P<0.05 vs saline nebulization group.

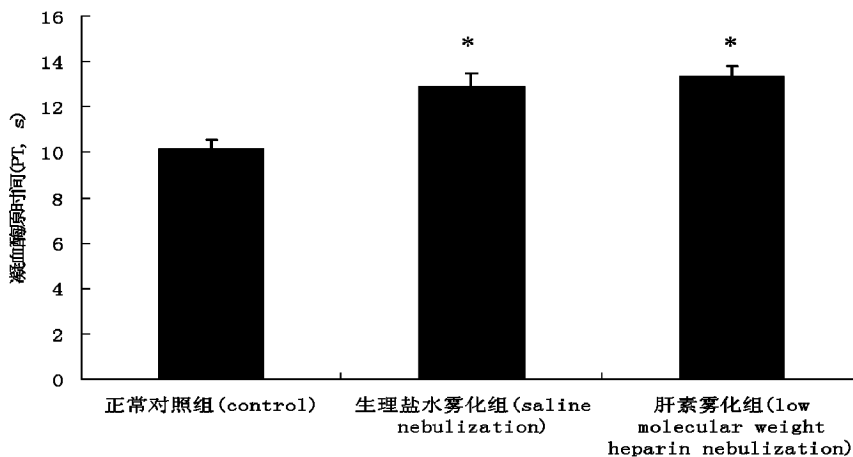


图4 低分子肝素雾化吸入对凝血酶原时间的影响

Fig.4 Effects of low molecular weight heparin nebulization on PT

注:*P<0.05 vs 正常对照组。

Note: *P<0.05 vs control group.

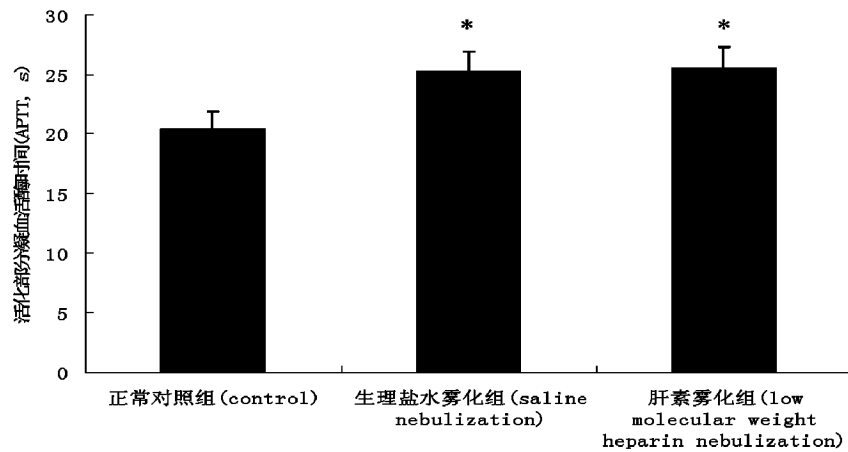


图5 低分子肝素雾化吸入对活化部分凝血活酶时间的影响

Fig.5 Effects of low molecular weight heparin nebulization on APTT

注:* $P < 0.05$ vs 正常对照组。

Note: * $P < 0.05$ vs control group.

3 讨论

由于急性肺损伤存在凝血功能紊乱,所以使用诸如肝素这样的抗凝剂可能具有一定的治疗作用^[9],近年来有关急性肺损伤的肝素治疗研究也越来越多。王美堂等的研究表明,肝素对急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征可能有一定的治疗作用^[11];马静波等选择低分子肝素钙对急性肺损伤进行治疗,发现有一定治疗作用^[12];Han等的研究也证明了肝素对急性肺损伤的治疗作用^[13];另有研究报道,肝素治疗可以减轻脂多糖引起的急性肺损伤^[14,15]。上述研究虽然探讨并提出了肝素对急性肺损伤的治疗作用,但均采用肝素静脉给药途径,可能存在局部作用降低、引起全身并发症等不利的影响。为了避免这些问题,我们提出局部雾化吸入给药的新思路,研究了雾化吸入低分子肝素对急性肺损伤的治疗作用。

有文献报道,肝素治疗急性肺损伤可以升高肺干/湿重比值^[16,17],降低支气管肺泡灌洗液总蛋白含量^[18],对急性肺损伤有一定的保护作用。在本实验中我们也选择动脉血氧合指数、肺干/湿重比值、支气管肺泡灌洗液总蛋白含量等作为反映急性肺损伤的观察指标。研究结果显示,生理盐水雾化组比正常对照组动脉血氧合指数、肺干/湿重比值显著降低($P < 0.05$),支气管肺泡灌洗液总蛋白含量显著升高($P < 0.05$),提示创伤性急性肺损伤模型的建立成功,肺换气降低,肺含水量升高,肺泡渗出增多,生理盐水雾化吸入对于急性肺损伤没有明显的治疗作用;而与生理盐水雾化组相比,低分子肝素雾化吸入治疗组动脉血氧合指数、肺干/湿重比值显著升高($P < 0.05$),支气管肺泡灌洗液总蛋白含量显著降低($P < 0.05$),提示低分子肝素雾化吸入可以缓解急性肺损伤的上述病理表现,提高肺换气,降低肺含水量和肺泡渗出,对急性肺损伤有一定的治疗作用,这与以往的文献报道结果一致。

凝血酶原时间及活化部分凝血活酶时间是评价凝血功能的常用指标,我们对这两个指标的检测结果也表明,急性肺损伤可以导致凝血酶原时间及活化部分凝血活酶时间显著延长($P < 0.05$),提示存在凝血功能紊乱,以往的研究中也有类似的报

道^[19,20]。我们的结果还表明,低分子肝素雾化吸入对凝血酶原时间以及活化部分凝血活酶时间没有显著影响($P > 0.05$),提示本实验条件下低分子肝素雾化吸入对凝血功能没有明显的影响。

综上所述,本研究通过对急性肺损伤动物模型的研究发现,低分子肝素雾化吸入治疗可以改善肺换气,提高氧合,降低肺泡渗出,并且对凝血功能没有明显的副作用,提示低分子肝素雾化吸入可以在一定程度上缓解急性肺损伤。本研究从药物选择和给药方式上为急性肺损伤的治疗提供了新的思路和实验依据,但其确切的临床疗效还需要进一步的临床试验来证实,而低分子肝素雾化吸入对急性肺损伤保护作用的具体机制也有待更深入的研究。

参考文献(References)

- [1] Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342: 1334-1349
- [2] Dahlem P, Bos AP, Haitsma JJ, et al. Alveolar fibrinolytic capacity suppressed by injurious mechanical ventilation [J]. *Intensive Care Med*, 2005, 31(5): 724-732
- [3] Dahlem P, Bos AP, Haitsma JJ, et al. Mechanical ventilation affects alveolar fibrinolysis in LPS-induced lung injury [J]. *Eur Respir J*, 2006, 28(5): 992-998
- [4] Schultz MJ, Haitsma JJ, Zhang H, et al. Pulmonary coagulopathy as a new target in therapeutic studies of acute lung injury or pneumonia-a review[J]. *Crit Care Med*, 2006, 34(3): 871-877
- [5] Liu YG, Li CS. Coagulation dysfunctions in patients with systemic inflammatory response syndrome[J]. *Chinese Journal of Internal Medicine*, 2004, 43(2): 94-97
- [6] Gando S, Kameue T, Matsuda N, et al. Imbalances between the levels of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in ARDS patients [J]. *Thromb Res*, 2003, 109(2/3): 119-124
- [7] Idell S. Coagulation, fibrinolysis, and fibrin deposition in acute lung injury[J]. *Crit Care Med*, 2003, 31(Supp 1): S213-220
- [8] Al-Ansari E, Du HK, Yu L, et al. Low-molecular-weight heparin inhibits hypoxic pulmonary hypertension and vascular remodeling in guinea pigs[J]. *Chest*, 2007, 132(6): 1898-1905

(下转第 2905 页)

- [17] West R, Hill K, Hewison J, et al. Psychological disorders after stroke are an important influence on functional outcomes: a prospective cohort study[J]. Stroke, 2010, 41(8): 1723-1727
- [18] Leung DP, Liu KP. Review of self-awareness and its clinical application in stroke rehabilitation[J]. Int J Rehabil Res, 2011, 34(3): 187-195
- [19] 潘素兰, 杨瑞春. 早期心理干预对脑卒中后并发抑郁患者预后的影响[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2011, 14(17): 51-52
Pan Su-lan, Yang Rui-chun. The early psychological intervention on post-stroke prognosis of depression in patients with[J]. Chinese Journal of Practical Nervous Diseases, 2011, 14(17): 51-52
- [20] 贺红娟, 柴宗举. 心理干预对卒中后抑郁患者心理及神经功能康复的影响[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2012, 15(22): 34-35
He Hong-juan, Chai Zong-ju. The influence of psychological intervention on psychological and neurological functional recovery after stroke patients with depression[J]. Chinese Journal of Practical Nervous Diseases, 2012, 15(22): 34-35

(上接第 2870 页)

- [9] 张金洲, 刘维永, 易定华, 等. 兔胸部撞击伤后呼吸功能的改变[J]. 中华实验外科杂志, 2005, 22(7): 784-786
Zhang Jin-zhou, Liu Wei-yong, Yi Ding-hua, et al. Changes of lung function after chest-impacted injuries in rabbits [J]. Chin J Exp Surg, 2005, 22(7): 784-786
- [10] Feistritz C, Wiedermann CJ. Effects of anticoagulant strategies on activation of inflammation and coagulation[J]. Expert Opin Biol Ther, 2007, 7(6): 855-870
- [11] 王美堂, 何建, 梅冰, 等. 肝素对急性肺损伤 / 急性呼吸窘迫综合征的治疗作用[J]. 中国急救医学, 2007, 27(5): 443-445
Wang Mei-tang, He Jian, Mei Bing, et al. Therapeutic effects of heparin on acute lung injury or acute respiratory distress syndrome in rabbits [J]. Chin J Crit Care Med, 2007, 27(5): 443-445
- [12] 马静波, 沙婷, 桑黎黎, 等. 低分子肝素钙对家兔急性油酸型肺损伤的影响[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2011, 32(8): 1202-1203
Ma Jing-bo, Sha Ting, Sang Li-li, et al. Protective effect of low molecular weight heparin calcium on oleic acid-induced acute lung injury in rabbits [J]. Journal of Qiqihar University of Medicine, 2011, 32(8): 1202-1203
- [13] Han J, Ding R, Zhao D, et al. Unfractionated heparin attenuates lung vascular leak in a mouse model of sepsis: Role of RhoA/Rho kinase pathway[J]. Thromb Res, 2013, 132(1): e42-47
- [14] Mu E, Ding R, An X, et al. Heparin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting nitric oxide synthase and TGF-beta/Smad signaling pathway[J]. Thromb Res, 2012, 129(4): 479-485
- [15] Wang M, He J, Mei B, et al. Therapeutic effects and anti-inflammatory mechanisms of heparin on acute lung injury in rabbits[J]. Acad Emerg Med, 2008, 15(7): 656-663
- [16] Li LF, Huang CC, Lin HC, et al. Unfractionated heparin and enoxaparin reduce high stretch ventilation-augmented lung injury—a prospective, controlled animal experiment[J]. Crit Care, 2009, 13(4): R108
- [17] 杨琼, 杨少华, 王春奎. 肝素对急性肺损伤治疗保护作用的实验研究[J]. 齐鲁医学杂志, 2004, 19(3): 224-229
Yang Qiong, Yang Shao-hua, Wang Chun-kui. Therapeutic and Protective Effects of Heparin on Acute Lung Injury[J]. Med J Qilu, 2004, 19(3): 224-229
- [18] 刘宏, 赵金垣, 王世俊, 等. 肝素对急性肺损伤防治作用观察[J]. 大同医学学报, 1997, 17(2): 20-27
Liu Hong, Zhao Jin-yuan, Wang Shi-jun, et al. The therapeutic effect of heparin on acute lung injury[J]. Journal of Datong Medical College, 1997, 17(2): 20-27
- [19] Walsh TS, Stanworth SJ, Prescott RJ, et al. Prevalence, management, and outcomes of critically ill patients with prothrombin time prolongation in United Kingdom intensive care units[J]. Crit Care Med, 2010, 38(10): 1939-1946
- [20] Han YJ, Park JD, Choi JW, et al. Coagulopathy as a prognostic factor of acute lung injury in children[J]. J Korean Med Sci, 2012, 27(12): 1541-1546