

不同潮气量机械通气对急性呼吸窘迫综合征家兔凝血/纤溶的影响

王雪 沈锋

【摘要】 目的 观察不同潮气量(V_T)机械通气对油酸及内毒素二次打击诱导急性呼吸窘迫综合征(ARDS)家兔凝血/纤溶的影响。方法 按随机数字表法将40只雄性家兔分为假手术组、模型组、小 V_T 组(6 mL/kg)、常规 V_T 组(10 mL/kg)及大 V_T 组(15 mL/kg),每组8只。采用耳缘静脉序贯注射油酸0.1 mL/kg及内毒素脂多糖(LPS)500 μ g/kg的方法制备ARDS动物模型;假手术组仅给予等量生理盐水。不同 V_T 组均于制模后行机械通气,以LPS注射后6 h为实验终点。于注射LPS后30 min、360 min取颈动脉血测定动脉血氧分压并计算氧合指数;于注射LPS后5、120、240、360 min取颈内静脉血,检测活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)、纤维蛋白原(Fib)、抗凝血酶Ⅲ(AT-Ⅲ);实验结束时抽血并处死家兔,测定血清Ⅲ型前胶原肽(PⅢP)、纤溶酶原激活物抑制剂1(PAI-1)及肺组织PⅢP含量,测定肺组织湿/干质量(W/D)比值。结果 与假手术组比较,模型组30 min、360 min时氧合指数显著降低,肺W/D比值显著升高;PT、APTT 5 min时明显缩短,此后进行性延长;Fib、AT-Ⅲ于5 min时无明显变化,之后均明显降低;血清PAI-1、PⅢP及肺组织PⅢP均显著升高。各 V_T 组氧合指数与模型组比较差异无统计学意义,但小 V_T 组有升高趋势。小 V_T 组肺W/D比值最低(5.09±0.19),明显低于模型组(6.02±0.27, $P<0.01$);大 V_T 组为最高(6.27±0.32)。各 V_T 组PT、APTT均进行性延长,AT-Ⅲ进行性下降;而小 V_T 组120 min起PT、APTT较模型组明显缩短[PT(s):120 min:8.90±0.28比11.43±0.28,240 min:9.18±0.21比11.99±0.50,360 min:9.25±0.15比12.49±0.29;APTT(s):120 min:69.09±3.91比76.08±4.21,240 min:67.53±2.14比79.71±2.25,360 min:66.95±1.13比83.21±4.01,均 $P<0.05$],Fib(g/L)较模型组明显升高(120 min:3.80±0.09比3.38±0.15,240 min:3.91±0.05比2.47±0.16,360 min:4.06±0.13比2.39±0.16,均 $P<0.05$),AT-Ⅲ则与模型组差异无统计学意义,血清PAI-1、PⅢP及肺组织PⅢP含量明显降低[血清PAI-1(ng/L):1.14±0.26比1.63±0.91,血清PⅢP(ng/L):1.62±0.52比2.91±0.64,肺组织PⅢP(ng/L):4.40±0.58比5.75±0.47,均 $P<0.01$]。常规 V_T 组各指标变化趋势和幅度均较小 V_T 组小,PT于120 min及360 min、APTT于240 min及360 min时明显短于模型组,Fib于120 min及240 min时明显高于模型组(均 $P<0.05$);AT-Ⅲ、血清PAI-1和PⅢP及肺组织PⅢP含量与模型组比较差异均无统计学意义。而大 V_T 组360 min时PT和APTT较模型组明显延长,360 min时Fib明显低于模型组,肺组织PⅢP明显高于模型组。结论 二次打击致ARDS家兔凝血功能由高凝很快转为低凝,且存在纤溶抑制;机械通气时使用小 V_T 可明显改善凝血和纤溶,常规 V_T 无此作用,而大 V_T 则可明显加重凝血障碍及纤溶抑制。

【关键词】 急性呼吸窘迫综合征; 机械通气; 潮气量; 凝血/纤溶; 油酸; 内毒素; 家兔

Effects of mechanical ventilation with different tidal volumes on coagulation/fibrinolysis in rabbits with acute respiratory distress syndrome Wang Xue, Shen Feng. Department of Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China

Corresponding author: Shen Feng, Email: doctorshenfeng@163.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of mechanical ventilation with different tidal volumes (V_T) on coagulability and fibrinolytic characteristics in rabbits with acute respiratory distress syndrome (ARDS) induced by two-hits with oleic acid (OA) and lipopolysaccharide (LPS). **Methods** Forty healthy adult male rabbits were randomly divided into five groups (8 rabbits in each group): sham operation group, model group, low V_T group (6 mL/kg), routine V_T group (10 mL/kg), high V_T group (15 mL/kg). ARDS model was reproduced by sequential injection of 0.1 mL/kg OA and 500 μ g/kg LPS via auricular vein, and the rabbits in sham operation group received normal saline in

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.07.009

基金项目:贵州省科技基金(黔科学[2008]2283号);贵州省贵阳市社会发展与民生科技计划项目(筑科学[2012103]26号)

作者单位:550004 贵州贵阳,贵阳医学院附属医院重症医学科(王雪现在吉林医药学院附属医院重症医学科工作)

通信作者:沈锋, Email: doctorshenfeng@163.com

same volume. Mechanical ventilation was performed in different V_T groups after model reproduction, and the end of the experiment was determined as 6 hours after LPS injection. Blood was collected from the carotid artery at 30 minutes and 360 minutes after LPS injection, with which arterial partial pressure of oxygen (PaO_2) was determined, and oxygenation index was calculated. Internal jugular vein blood was collected at 5, 120, 240, and 360 minutes after LPS injection, and activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT), fibrinogen (Fib) and antithrombin III (AT-III) were determined. The blood was collected at the end of the experiment, and then the rabbits were sacrificed, and serum levels of procollagen type III (P-III-P), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) as well as P-III-P level in lung tissue were determined. The wet/dry weight ratio (W/D) of lung tissues was calculated. **Results** Compared with sham operation group, oxygenation index at both 30 minutes and 360 minutes were significantly decreased in model group, while W/D ratio was significantly increased. PT and APTT at 5 minutes were significantly shortened followed by a gradual increase. Fib and AT-III showed no change at 5 minutes followed by a gradual decrease, while serum PAI-1 and P-III-P as well as P-III-P in lung tissue were significantly increased. There was no significant difference in oxygenation index between all V_T groups and model group, with a tendency to increase in low V_T group. W/D ratio in low V_T group was the lowest (5.09 ± 0.19), and it was significantly lower than that of the model group (6.02 ± 0.27 , $P < 0.01$), while it was the highest in high V_T group (6.27 ± 0.32). PT and APTT in all V_T groups were gradually prolonged, and Fib and AT-III were gradually decreased. PT and APTT in low V_T group were significantly shorter than those in model group from 120 minutes on [PT (s): 120 minutes: 8.90 ± 0.28 vs. 11.43 ± 0.28 , 240 minutes: 9.18 ± 0.21 vs. 11.99 ± 0.50 , 360 minutes: 9.25 ± 0.15 vs. 12.49 ± 0.29 ; APTT (s): 120 minutes: 69.09 ± 3.91 vs. 76.08 ± 4.21 , 240 minutes: 67.53 ± 2.14 vs. 79.71 ± 2.25 , 360 minutes: 66.95 ± 1.13 vs. 83.21 ± 4.01 , all $P < 0.05$], Fib (g/L) was significantly elevated (120 minutes: 3.80 ± 0.09 vs. 3.38 ± 0.15 , 240 minutes: 3.91 ± 0.05 vs. 2.47 ± 0.16 , 360 minutes: 4.06 ± 0.13 vs. 2.39 ± 0.16 , all $P < 0.05$), and no significant difference was found in AT-III. Serum contents of PAI-1 and P-III-P as well as P-III-P in lung tissue were significantly lowered [serum PAI-1 (ng/L): 1.14 ± 0.26 vs. 1.63 ± 0.91 , serum P-III-P (ng/L): 1.62 ± 0.52 vs. 2.91 ± 0.64 , lung P-III-P (ng/L): 4.40 ± 0.58 vs. 5.75 ± 0.47 , all $P < 0.01$]. The change tendency of all parameters in routine V_T group was lower than that in low V_T group, PT at 120 minutes and 360 minutes, APTT at 240 minutes and 360 minutes was significantly shorter than that in model group, and Fib at 120 minutes and 240 minutes were significantly higher than those in model group (all $P < 0.05$). No significant difference was found in AT-III, serum PAI-1 and P-III-P as well as lung P-III-P as compared with model group. PT and APTT at 360 minutes in high V_T group were significantly longer than those in model group, Fib at 360 minutes was significantly lower than that in model group, and lung P-III-P was significantly higher than that in model group. **Conclusions** There are some important changes in coagulability which changes from a hyper state into a hypo coagulate state, while fibrinolysis is inhibited during the pathological process of ARDS produced by two-hit of OA and LPS. Mechanical ventilation with low V_T can obviously improve coagulability and fibrinolytic status, while ventilation with routine V_T has little effect on coagulability and fibrinolytic status. Mechanical ventilation with high V_T , however, will greatly deteriorate the coagulability and fibrinolytic function in ARDS.

【Key words】 Acute respiratory distress syndrome; Mechanical ventilation; Tidal volume; Coagulational/fibrinolytic; Oleic acid; Endotoxin; Rabbit

急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 病理过程中凝血 / 纤溶异常已引起了人们的重视^[1-3]。研究表明, ARDS 早期阶段即出现凝血 / 纤溶紊乱, 表现为凝血亢进和纤溶抑制^[4-5]。凝血亢进将引起肺血管内广泛微血栓形成, 进而导致肺泡死腔增加及通气 / 血流比例失调等, 是引起 ARDS 顽固性低氧血症的机制之一。而纤溶抑制将增加肺组织纤维蛋白沉积, 与肺组织纤维化密切相关。

机械通气是 ARDS 最为重要的治疗措施之一。针对 ARDS 肺容量减少、肺顺应性降低等病理生理特点, 21 世纪初在循证医学基础上有人提出了小潮气量 (V_T) 肺保护性通气策略^[6], 随后人们观察研究了小 V_T 的通气效果^[7-12], 多数研究得到了肯定的结

果^[6-7, 11-12]。此外, 还有研究发现, 对不存在肺部疾病的手术患者, 术中采用大 V_T (>12 mL/kg) 机械通气 (与 6 mL/kg 小 V_T 比较) 可导致支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中凝血酶 - 抗凝血酶复合物、可溶性组织因子、可溶性血栓调节蛋白及因子 VII a 明显增加, 活化蛋白 C (APC) 降低^[13], 提示不同 V_T 机械通气对肺局部组织凝血功能存在不同影响。本课题组前期研究结果表明, 4 mL/kg 的 V_T 机械通气可减轻盐酸吸入性 ARDS 大鼠肺组织炎症^[14]。在 ARDS 病程中, 鉴于炎症与凝血 / 纤溶功能异常存在密切关系^[15], 我们推测, 实施不同 V_T 机械通气对 ARDS 凝血 / 纤溶可能会产生不同的影响。为证实此推测, 本实验以家兔为研究对象, 复制 ARDS 模型, 观察不

同 V_T 机械通气对其凝血/纤溶的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂:戊巴比妥钠(北京索莱宝科技有限公司),试剂纯油酸(OA,重庆化学试剂厂),脂多糖(LPS,美国Sigma公司),磷酸盐缓冲液(PBS,武汉博士德生物工程有限公司),酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(美国R&D公司)。

1.2 实验动物及分组:40只健康雄性家兔,体质量1.5~2.0 kg,由贵阳医学院动物实验中心提供,动物合格证号:SCXK(黔)2012-001。按随机数字表法将家兔分为假手术组、模型组、小 V_T 组、常规 V_T 组及大 V_T 组,每组8只。

1.3 ARDS模型制备及处理:由耳缘静脉序贯注射OA 0.1 mL/kg、LPS 500 μ g/kg 制备ARDS动物模型;假手术组注射等量生理盐水。模型组及假手术组均不行机械通气;3个 V_T 组制模后行机械通气,小 V_T 组 V_T 为6 mL/kg、常规 V_T 组 V_T 为10 mL/kg,大 V_T 组 V_T 为15 mL/kg,呼气末正压(PEEP)均设置为5 cmH₂O(1 cmH₂O=0.098 kPa)。以LPS注射后6 h为实验终点。

本研究中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 动脉血氧分压(PaO₂)测定:分别于注射LPS后30 min及360 min经左侧颈动脉取血约0.5 mL测定PaO₂,并计算氧合指数。

1.4.2 凝血功能指标的测定:分别于注射LPS后5、120、240、360 min经颈内静脉取血2 mL,采用凝固法测定活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)、纤维蛋白原(Fib)、抗凝血酶Ⅲ(AT-Ⅲ)。

1.4.3 血清三型前胶原肽(PⅢP)及纤溶酶原激活物抑制剂1(PAI-1)的测定:实验结束后经颈内静脉取血4 mL,离心取血清置于-20℃冰箱保存。采用ELISA法检测血清PAI-1和PⅢP含量,操作按试剂盒说明书进行。

1.4.4 肺组织PⅢP测定:放血处死动物,取右侧膈叶肺组织制备肺组织匀浆,置于-80℃冰箱保存。采用ELISA法测定肺组织PⅢP含量。

1.4.5 肺组织湿/干质量(W/D)比值测定:放血处死家兔后取部分肺组织,吸水纸吸去肺脏表面液体后称湿质量(W),置于70℃干燥箱中烘干72 h后称干质量(D),计算W/D比值。

1.5 统计学分析:采用SPSS 19.0统计软件处理数据,实验数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间

比较采用单因素方差分析,两两比较采用*t*检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组氧合指数、肺W/D比值(表1):与假手术组比较,模型组、各 V_T 组氧合指数显著降低,肺W/D比值显著升高(均 $P<0.01$)。小 V_T 组360 min时氧合指数较30 min时有升高趋势,但差异无统计学意义($P=0.162$),而肺W/D比值显著低于模型组($P<0.01$)。常规 V_T 组、大 V_T 组氧合指数、肺W/D比值与模型组比较差异无统计学意义。

表1 不同 V_T 机械通气对ARDS家兔氧合指数、肺W/D比值的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	氧合指数(mmHg)		肺W/D 比值
		30 min	360 min	
假手术组	8	460.71±7.95	460.71±7.95	4.72±0.23
模型组	8	261.31±12.32 ^a	260.12±11.92 ^a	6.02±0.27 ^a
小 V_T 组	8	259.52±16.69 ^a	272.02±10.93 ^a	5.09±0.19 ^{ab}
常规 V_T 组	8	264.29±11.66 ^a	259.52±10.49 ^a	5.74±0.38 ^a
大 V_T 组	8	263.69±13.45 ^a	253.57±11.59 ^a	6.27±0.32 ^{ac}
<i>F</i> 值		389.110	561.920	40.420
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注: V_T 为潮气量,ARDS为急性呼吸窘迫综合征,肺W/D比值为肺湿/干质量比值;1 mmHg=0.133 kPa;与假手术组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与小 V_T 组比较,^c $P<0.01$

2.2 各组不同时间点凝血指标变化

2.2.1 PT和APTT(表2):模型组、各 V_T 组5 min时PT和APTT均显著短于假手术组(均 $P<0.01$),随时间延长,除小 V_T 组APTT于120 min达最长后逐渐缩短外,其余各组PT、APTT均呈进行性延长。模型组120 min起PT和APTT明显长于假手术组($P<0.05$ 或 $P<0.01$);小 V_T 组于120 min起PT、APTT明显短于模型组(均 $P<0.05$),且数值均逐渐向假手术组接近;常规 V_T 组PT、APTT于240 min起已明显长于假手术组(均 $P<0.01$),但升高幅度较模型组小;大 V_T 组PT于120 min起、APTT于240 min起均显著长于假手术组和小 V_T 组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。常规 V_T 组及大 V_T 组PT、APTT均进行性延长,以大 V_T 组延长幅度最明显。

2.2.2 Fib和AT-Ⅲ(表3):5 min时除大 V_T 组Fib明显低于假手术组($P<0.05$)外,其余各组Fib和AT-Ⅲ差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。之后模型组呈进行性降低的变化特点,120 min起Fib均明显低于假手术组(均 $P<0.01$);小 V_T 组Fib于120 min轻度降低后呈逐渐回升并接近假手术组的趋势;常规 V_T 组及大 V_T 组均呈逐渐降低的变

表 2 不同 V_T 机械通气对 ARDS 家兔不同时间点 PT 和 APTT 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	PT (s)				APTT (s)			
		5 min	120 min	240 min	360 min	5 min	120 min	240 min	360 min
假手术组	8	10.53 ± 0.60	10.53 ± 0.60	10.53 ± 0.60	10.53 ± 0.60	64.05 ± 1.94	64.05 ± 1.94	64.05 ± 1.94	64.05 ± 1.94
模型组	8	8.28 ± 0.57 ^a	11.43 ± 0.28 ^b	11.99 ± 0.50 ^a	12.49 ± 0.29 ^a	42.76 ± 1.89 ^a	76.08 ± 4.21 ^a	79.71 ± 2.25 ^a	83.21 ± 4.01 ^a
小 V _T 组	8	8.21 ± 0.52 ^a	8.90 ± 0.28 ^{ac}	9.18 ± 0.21 ^{ac}	9.25 ± 0.15 ^{ac}	43.25 ± 1.43 ^a	69.09 ± 3.91 ^{ac}	67.53 ± 2.14 ^{bc}	66.95 ± 1.13 ^{bc}
常规 V _T 组	8	8.64 ± 0.25 ^a	9.52 ± 0.23 ^{bcd}	11.14 ± 0.39 ^{ad}	11.94 ± 0.52 ^{acd}	41.43 ± 0.91 ^a	71.19 ± 2.06 ^a	72.33 ± 3.89 ^{ac}	79.80 ± 1.33 ^{ac}
大 V _T 组	8	8.34 ± 0.32 ^a	11.63 ± 0.54 ^{bd}	12.10 ± 0.44 ^{ad}	13.31 ± 0.40 ^{acd}	42.14 ± 0.99 ^a	74.18 ± 2.12 ^a	81.53 ± 2.02 ^{ac}	93.99 ± 3.83 ^{ac}
F 值		33.926	64.324	56.961	115.702	336.786	19.294	69.997	160.451
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: V_T 为潮气量, ARDS 为急性呼吸窘迫综合征, PT 为凝血酶原时间, APTT 为活化部分凝血活酶时间; 与假手术组比较, ^aP < 0.01, ^bP < 0.05; 与模型组比较, ^cP < 0.05; 与小 V_T 组比较, ^dP < 0.01, ^eP < 0.05

表 3 不同 V_T 机械通气对 ARDS 家兔不同时间点 Fib 和 AT-III 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	Fib (g/L)				AT-III (%)			
		5 min	120 min	240 min	360 min	5 min	120 min	240 min	360 min
假手术组	8	4.42 ± 0.28	4.42 ± 0.28	4.42 ± 0.28	4.42 ± 0.28	124.38 ± 10.73	124.38 ± 10.73	124.38 ± 10.73	124.38 ± 10.73
模型组	8	4.13 ± 0.22	3.38 ± 0.15 ^b	2.47 ± 0.16 ^b	2.39 ± 0.16 ^b	116.88 ± 5.28	95.38 ± 3.70 ^b	90.5 ± 3.66 ^b	86.13 ± 3.18 ^b
小 V _T 组	8	4.24 ± 0.21	3.80 ± 0.09 ^{bc}	3.91 ± 0.05 ^{ac}	4.06 ± 0.13 ^c	120.50 ± 6.02	96.75 ± 8.63 ^b	97.75 ± 8.43 ^b	96.88 ± 8.41 ^b
常规 V _T 组	8	4.12 ± 0.20	3.63 ± 0.12 ^{bc}	3.56 ± 0.14 ^{bcd}	2.54 ± 0.13 ^{bd}	122.25 ± 5.75	96.38 ± 7.67 ^b	91.63 ± 8.25 ^b	87.50 ± 6.68 ^b
大 V _T 组	8	4.04 ± 0.20 ^a	3.28 ± 0.12 ^{bd}	2.61 ± 0.36 ^{bd}	1.13 ± 0.06 ^{bcd}	123.38 ± 5.24	93.25 ± 7.98 ^b	87.13 ± 7.10 ^b	79.63 ± 4.84 ^{bd}
F 值		3.422	56.845	108.389	497.463	3.422	20.788	28.630	46.898
P 值		0.018	0.000	0.000	0.000	0.239	0.000	0.000	0.000

注: V_T 为潮气量, ARDS 为急性呼吸窘迫综合征, Fib 为纤维蛋白原, AT-III 为抗凝血酶 III; 与假手术组比较, ^aP < 0.05, ^bP < 0.01; 与模型组比较, ^cP < 0.05; 与小 V_T 组比较, ^dP < 0.01

化趋势, 且大 V_T 组变化幅度超过模型组。各 V_T 组 AT-III 也均呈逐渐降低趋势, 但小 V_T 组变化幅度最小, 以大 V_T 组变化幅度最大。

2.3 各组血清及肺组织纤溶指标的比较 (表 4): 模型组血清 PAI-1、P III P 及肺组织 P III P 均明显高于假手术组 (均 P < 0.01)。小 V_T 组各指标均显著低于模型组, 但大 V_T 组肺组织 P III P 含量高于模型组 (均 P < 0.01); 常规 V_T 组、大 V_T 组血清 PAI-1、P III P 及常规 V_T 组肺组织 P III P 与模型组比较差异均无统计学意义 (均 P > 0.05)。

表 4 不同 V_T 机械通气对 ARDS 家兔血清 PAI-1、P III P 及肺组织 P III P 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	血清 PAI-1 (ng/L)	P III P (ng/L)	
			血清	肺组织
假手术组	8	0.84 ± 0.14	0.88 ± 0.35	3.49 ± 0.52
模型组	8	1.63 ± 0.91 ^a	2.91 ± 0.64 ^a	5.75 ± 0.47 ^a
小 V _T 组	8	1.14 ± 0.26 ^c	1.62 ± 0.52 ^{bc}	4.40 ± 0.58 ^{ac}
常规 V _T 组	8	1.53 ± 0.10 ^{ad}	2.47 ± 0.57 ^a	5.70 ± 0.57 ^{bd}
大 V _T 组	8	2.04 ± 0.51 ^{ad}	3.23 ± 1.00 ^{ad}	6.82 ± 0.53 ^{acd}
F 值		22.387	17.625	47.304
P 值		0.000	0.000	0.000

注: V_T 为潮气量, ARDS 为急性呼吸窘迫综合征, PAI-1 为纤溶酶原激活物抑制剂 1, P III P 为三型前胶原肽; 与假手术组比较, ^aP < 0.01, ^bP < 0.05; 与模型组比较, ^cP < 0.01; 与小 V_T 组比较, ^dP < 0.05

3 讨论

本研究结果显示, 在 OA 及 LPS 注射后, 家兔 PT、APTT 首先表现为明显缩短, 之后进行性延长, 同时 Fib 及 AT-III 也呈进行性降低, 提示一个由高凝状态向低凝状态的转变过程; 其原因可能是在接受双重打击后, 机体迅速启动内、外源性凝血系统, 凝血酶作用加强, 肺组织广泛微血栓形成, 由此消耗大量的凝血因子及 Fib, 使得机体由高凝状态逐渐向低凝状态转变。研究表明, APC 能抑制 LPS 刺激大鼠单核细胞组织因子 (TF) 及蛋白酶激活受体 1 (PAR-1) 的表达^[16]; 通过提高脓毒症大鼠血浆 APC 能明显改善大鼠的凝血功能, 提示 APC 在维持机体凝血功能中也具有重要作用^[17]。由于肺损伤时一些细胞因子激活了中性粒细胞, 中性粒细胞释放的大量弹性蛋白酶与其他炎性介质协同引起血管内皮细胞损伤, 并激活凝血系统; 中性粒细胞活化还能使内皮细胞血栓调节蛋白脱落入血, 脱落的血栓调节蛋白失去了使蛋白 C (PC) 活化的能力, 使得 PC 的抗凝、促纤溶活性受到抑制, 从而降低机体抗凝血功能, 导致肺泡内环境发生变化, 由原来的促纤溶、抗凝转变为抗纤溶、促凝状态^[18]。另外, 在 LPS 刺激下, 肺血管内巨噬细胞也释放大量炎性介质, 损伤

血管内皮细胞,同样也会激活凝血系统^[19]。本实验中 OA 及 LPS 注射后动物很快(5 min)出现了凝血亢进,而 120 min 后转为低凝状态,与既往研究结果基本相符^[20],提示由 OA 及 LPS 等多重因素诱导的 ARDS 可能更需要早期抗凝治疗。

本研究选择 PAI-1 及 P III P 作为纤溶的相关指标。PAI-1 是一种丝氨酸蛋白酶抑制剂,主要由肺上皮细胞和成纤维细胞表达,能同单链或双链组织型纤溶酶原激活物(t-PA)起反应,通过调控纤溶酶原向纤溶酶的转换来调节纤溶过程;PAI-1 过度表达使急性肺损伤(ALI)患者的纤溶活性降低,能引起胶原物质和纤维蛋白沉着,增加肺纤维化。而 P III P 是 III 型前胶原转变成 III 型胶原时释放的多肽,是反映肺纤维化的一个早期指标,对肺纤维化具有较高的诊断价值^[21]。本研究结果显示,ARDS 家兔血清 PAI-1、P III P 及肺组织 P III P 含量均显著升高,提示存在纤溶抑制。导致纤溶抑制的机制可能是在 OA 及 LPS 等刺激下,APC 活性降低,其灭活 PAI-1 的能力下降;同时巨噬细胞受刺激后使 PAI-1 的表达增强;此外,肺血管内皮细胞受损,产生 t-PA 减少,t-PA/PAI-1 比例逐渐降低等,破坏了纤溶的动态平衡,均可造成纤溶抑制^[22-23]。

机械通气是治疗 ARDS 的重要措施。根据 V_T 的不同,机械通气可分为小 V_T (6~8 mL/kg)、常规 V_T (8~12 mL/kg) 和大 V_T 通气(12~15 mL/kg)^[24]。基础及临床研究表明,与大 V_T 相比,小 V_T 机械通气能降低 ARDS 病死率,减少机械性肺损伤^[6,11-12]。

本研究结果显示,采用 6 mL/kg 小 V_T 通气家兔氧合指数有升高趋势,同时凝血相关指标 PT、APTT、Fib、AT- III 及纤溶指标 PAI-1、P III P 均得到明显改善。因此我们认为,小 V_T 机械通气不仅对 ARDS 肺有较好的保护作用,同时还能有效纠正 ARDS 病程中存在的凝血/纤溶异常。其可能机制是:小 V_T 机械通气可以防止肺泡过度膨胀,保证肺泡有效复张,减少机械通气相关应力损伤^[7],减轻对肺内炎性细胞的机械性刺激,减少炎性因子分泌、释放,抑制肺部炎症反应^[24];此外,小 V_T 机械通气可保护内毒素诱导 ARDS 大鼠肺血管的舒张功能,防止呼吸机相关性肺损伤(VILI)^[12]。同时本研究联合适当的 PEEP (5 cmH₂O) 可防止呼气末肺泡塌陷,降低呼吸周期中肺泡所承受的剪切力,增加肺顺应性,改善肺内气体的分布^[8]。通过抑制 ARDS 肺组织炎症反应可减轻血管内皮细胞损伤,防止凝血

系统激活,同时可降低血栓调节蛋白的脱落,使得 APC 的抗凝、促纤溶活性抑制性降低,最终达到纠正凝血/纤溶功能异常的目的^[5,25]。但是小 V_T 是否还通过其他途径,如抑制肺组织细胞凋亡等改善凝血/纤溶有待进一步研究。

常规 V_T (10 mL/kg) 机械通气家兔无论从病理改变、肺水肿程度,或是凝血/纤溶相关指标来看,其效果明显不如小 V_T 通气,提示 10 mL/kg V_T 通气对 OA 及 LPS 双重打击诱导的 ARDS 家兔凝血/纤溶的异常没有起到明显的纠正作用,甚至可加重凝血/纤溶异常,提示 10 mL/kg V_T 机械通气不适合该组 ARDS 家兔。对于大 V_T (15 mL/kg) 机械通气,实验数据显示家兔肺 W/D 比值明显增加,PT、APTT、Fib、AT- III、PAI-1、P III P 指标更为异常,提示大 V_T 通气引起了明显的肺损伤,同时加重了 ARDS 家兔凝血/纤溶的异常。基础研究表明,大 V_T 通气可通过多种途径引起 VILI,如机械牵张上调肺动脉内皮细胞多种炎性因子的表达^[26],增加肺小窝蛋白-1(Cav-1)及相关信号链酶的表达^[7],增强肺组织氧化应激反应和促进细胞凋亡^[27],增强肺组织及全身炎症反应等^[28-29]。但大 V_T 加重 ARDS 凝血/纤溶的机制尚不完全清楚,可能与增加肺组织的炎症反应有关。

本实验中,常规 V_T 及大 V_T 机械通气后,ARDS 家兔的氧合指数降低,甚至低于未行机械通气家兔的氧合指数。究其原因,我们考虑可能与相应 V_T 通气导致肺损伤加重、通气/血流比例失调等有关。

综上所述,6 mL/kg 小 V_T 通气联合适当 PEEP 可明显改善 OA 及 LPS 诱导的 ARDS 家兔凝血/纤溶异常,但其确切改善机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] 董彦琴,李健,张旋.凝血和纤溶失衡在急性肺损伤中的作用[J].中国病理生理杂志,2009,25(5):1026-1029.
- [2] 穆恩,马晓春.抗凝治疗——急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征治疗的新思路[J].中华危重病急救医学,2011,23(1):55-59.
- [3] Sebag SC, Bastarache JA, Ware LB. Therapeutic modulation of coagulation and fibrinolysis in acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2011, 12(9): 1481-1496.
- [4] 周康仕.急性肺损伤患者早期凝血纤溶及炎症指标的研究[J].中国现代医药杂志,2009,11(7):29-31.
- [5] MacLaren R, Stringer KA. Emerging role of anticoagulants and fibrinolytics in the treatment of acute respiratory distress syndrome [J]. Pharmacotherapy, 2007, 27(6): 860-873.
- [6] Anon. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network [J]. N Engl J Med, 2000, 342(18): 1301-1308.

- [7] 林梵,肖军,张琛涛.不同潮气量机械通气对大鼠肺小窝蛋白-1及其相关信号链酶表达的影响[J].中华危重病急救医学,2013,25(3):154-158.
- [8] Zick G, Elke G, Becher T, et al. Effect of PEEP and tidal volume on ventilation distribution and end-expiratory lung volume: a prospective experimental animal and pilot clinical study [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (8) : e72675.
- [9] Hauber HP, Karp D, Goldmann T, et al. Effect of low tidal volume ventilation on lung function and inflammation in mice [J]. *BMC Pulm Med*, 2010, 10 : 21.
- [10] Determann RM, Royakkers A, Wolthuis EK, et al. Ventilation with lower tidal volumes as compared with conventional tidal volumes for patients without acute lung injury: a preventive randomized controlled trial [J]. *Crit Care*, 2010, 14 (1) : R1.
- [11] 杨君,刘飞,朱曦.高呼气末正压通气结合小潮气量对急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征患者预后影响的荟萃分析[J].中华危重病急救医学,2011,23(1):5-9.
- [12] Pan C, Wang J, Liu W, et al. Low tidal volume protects pulmonary vasomotor function from "second-hit" injury in acute lung injury rats [J]. *Respir Res*, 2012, 13 : 77.
- [13] Choi G, Wolthuis EK, Bresser P, et al. Mechanical ventilation with lower tidal volumes and positive end-expiratory pressure prevents alveolar coagulation in patients without lung injury [J]. *Anesthesiology*, 2006, 105 (4) : 689-695.
- [14] 杨舟,沈锋.戊乙奎醚联合机械通气对盐酸吸入性急性呼吸窘迫综合征大鼠炎症反应的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2014,21(1):50-54.
- [15] Christiaans SC, Wagener BM, Esmon CT, et al. Protein C and acute inflammation: a clinical and biological perspective [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2013, 305 (7) : L455-466.
- [16] 李银平,郑贵军,武子霞,等.血必净注射液对脓毒症大鼠活化蛋白C及凝血功能的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2008,15(6):361-364.
- [17] 归咏刚,姚咏明,柴艳芬.血必净注射液与活化蛋白C对脂多糖诱导大鼠单核细胞组织因子干预效果的比较研究[J].中国中西医结合急救杂志,2009,16(6):326-329.
- [18] 刘春艳,贾彤. ALI/ARDS 抗凝和纤溶治疗的研究进展[J].河北医药,2013,35(18):2829-2831.
- [19] 李胜亮,武志宏,张淑琴,等.脂多糖致肺血管内巨噬细胞分泌功能的改变[J].中华危重病急救医学,2011,23(3):176-178.
- [20] 陆晓华,张根葆,杨会杰,等.蝮蛇毒蛋白C激活物对家兔实验性DIC的干预作用[J].中国病理生理杂志,2010,26(8):1643-1645.
- [21] 周小焯,郑雪冰,刘畅,等.转化生长因子- β 1和III型前胶原肽在百草枯中毒引发肺纤维化中的作用及机制研究[J].中国实验诊断学,2010,14(4):569-571.
- [22] 叶伶,金美玲,徐晓波,等.急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征患者凝血纤溶系统的变化[J].复旦学报(医学版),2008,35(5):671-680.
- [23] 王春梅,张培荣,张勇,等.纤溶酶原激活物抑制物-1与急性脑梗死并发急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征的相关性研究[J].实用临床医药杂志,2012,16(24):23-25.
- [24] 郑康,郑亚安.肺保护性通气策略临床应用进展[J].中国全科医学,2011,14(24):2816-2818.
- [25] 周顺刚,贺志高,黄显凯,等.白细胞去除对内毒素血症犬凝血功能及肺损伤的影响[J].中华创伤杂志,2011,27(3):264-269.
- [26] 傅威,毛璞,张容,等.机械牵张对人肺动脉内皮细胞中细胞因子及细胞间黏附分子-1表达的影响[J].中华危重病急救医学,2013,25(8):484-488.
- [27] Makena PS, Gorantla VK, Ghosh MC, et al. Lung injury caused by high tidal volume mechanical ventilation and hyperoxia is dependent on oxidant-mediated c-Jun NH₂-terminal kinase activation [J]. *J Appl Physiol* (1985), 2011, 111 (5) : 1467-1476.
- [28] Pinheiro de Oliveira R, Hetzel MP, Dos Anjos Silva M, et al. Mechanical ventilation with high tidal volume induces inflammation in patients without lung disease [J]. *Crit Care*, 2010, 14 (2) : R39.
- [29] Determann RM, Royakkers AA, Schaeffers J, et al. Serum levels of N-terminal proB-type natriuretic peptide in mechanically ventilated critically ill patients—relation to tidal volume size and development of acute respiratory distress syndrome [J]. *BMC Pulm Med*, 2013, 13 : 42.

(收稿日期:2015-03-04)

(本文编辑:李银平)