

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00001

雾化吸入肺表面活性物质对急性肺损伤大鼠血液氧合水平的影响

闫亚敏¹, 李忆东², 宋兴磊², 王 燕², 卢 建^{2*}, 王志红^{1*}

1. 第二军医大学护理系临床护理教研室, 上海 200433
2. 第二军医大学基础部病理生理学教研室, 上海 200433

[摘要] **目的** 探讨雾化吸入肺表面活性物质(PS)对油酸型急性肺损伤(ALI)大鼠血液氧合水平的影响。**方法** 43只SD大鼠随机分为假手术组、模型组、雾化生理盐水组和雾化PS组。颈外静脉注入油酸(0.2 ml/kg)复制ALI模型,约1 h后雾化生理盐水组和雾化PS组分别雾化吸入生理盐水和160 mg PS。实验过程中测定大鼠血气分析指标和呼吸频率(BR)。计算大鼠存活率。**结果** 雾化吸入PS后,大鼠动脉血氧分压(PaO₂)及动脉血氧饱和度(SaO₂)均逐渐增加,至雾化吸入4 h后,PaO₂及SaO₂分别增加至99.4 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)及98.2%,与雾化生理盐水组相比,差异有统计学意义($P<0.05$);大鼠BR自雾化吸入PS 0.5 h后即开始下降,雾化吸入PS 4 h后,BR降至100次/min,低于同时时间点的雾化生理盐水组($P<0.05$)。雾化PS组大鼠的存活率为100%,与雾化生理盐水组(60%)相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 雾化吸入PS能明显提高ALI大鼠血液的氧合状况,改善大鼠的肺功能及提高其存活率。

[关键词] 气雾剂;肺表面活性物质;急性肺损伤;血气分析

[中图分类号] R 563 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)01-0001-04

Effect of aerosolized pulmonary surfactant on blood oxygenation in rats with acute lung injury

YAN Ya-min¹, LI Yi-dong², SONG Xing-lei², WANG Yan², LU Jian^{2*}, WANG Zhi-hong^{1*}

1. Department of Clinical Nursing, School of Nursing, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
2. Department of Pathophysiology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of aerosolized pulmonary surfactant (PS) on the blood oxygenation in rats with acute lung injury(ALI). **Methods** Forty-three SD rats were randomly divided into 4 groups; sham group (operated only, $n=10$), model group($n=10$), air-NS group (inhaling aerosolized normal saline, $n=10$), and air-PS group (inhaling aerosolized PS[160 mg], $n=13$). ALI rats were induced by oleic acid(0.2 ml/kg) through jugular vein. The arterial blood gas and breathing rates were determined during the experiment in all groups. The survival rates of all groups were determined after experiments. **Results** PS aerosolization led to a gradual increase of PaO₂ and SaO₂. Four hours after inhalation of aerosolized PS, the PaO₂ and SaO₂ increased to 99.4 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa) and 98.2%, respectively, which were significantly higher than those in the air-NS group ($P<0.05$). The breathing rate began to decrease 0.5 h after inhalation of aerosolized PS and decreased to 100 breaths/min 4 h later, which was significantly lower than that in the air-NS group at the same time point ($P<0.05$). The survival rate of animals in the air-PS group was 100%, also significantly higher than that in the air-NS group (60%, $P<0.05$). **Conclusion** Aerosolized PS through spontaneous breathing can improve the blood oxygenation, pulmonary function and survival rates of ALI rats.

[Key words] aerosols; pulmonary surfactant; acute lung injury; blood gas analysis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(1):1-4]

内源性肺表面活性物质(pulmonary surfactant, PS)是一种磷脂和蛋白的复合物,能够覆盖在肺泡气液交界面,具有降低肺泡表面张力,改善肺的通气和换气功能的作用。PS减少与新生儿呼吸窘迫综合征(NRDS)和急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(ALI/

ARDS)的发生密切相关。通过气道插管或经纤维支气管镜滴入外源性PS在临床上已常规用于治疗NRDS,对ALI/ARDS也显示了一定的治疗作用^[1-3]。滴入法的优点是疗效确定和起效快;缺点是侵入性操作,会给患者造成痛苦,对医务人员的技术要求高,操

[收稿日期] 2010-09-12 **[接受日期]** 2010-12-24

[基金项目] 军队“十一五”科技攻关项目(06G63),上海市科委重点基础项目(03JC14002)。Supported by the “11th Five-year Plan” for Scientific and Technological Project of PLA (06G63) and Key Program of Shanghai Science and Technology Committee (03JC14002).

[作者简介] 闫亚敏,硕士生。E-mail: yanyamin12@126.com

* 通讯作者(Corresponding authors). Tel: 021-81871018, E-mail: lujian326@163.com; Tel: 021-81871512, E-mail: hu70391@yahoo.com.cn

作不便;滴入过快可引起气管阻塞;滴入的 PS 在肺内分布不均匀等^[4-5]。第二军医大学基础部病理生理学教研室近期报道了一种新的氧气驱动雾化吸入 PS 的方法^[6],该法操作安全、简便,对吸入者不造成任何痛苦,吸入后能明显提高 ALI/ARDS 大鼠血的氧合水平。为了排除该法的治疗效果与同时吸入的氧气有关,本研究进一步采用空气驱动雾化吸入 PS 的方法,观察了雾化吸入 PS 制剂对油酸型 ALI 大鼠血氧合水平的影响,以确定雾化的 PS 能够进入肺泡发挥作用。

1 材料和方法

1.1 实验材料 油酸购自宜兴市第二化学试剂厂,使用前用 0.1%牛血清白蛋白(BSA)稀释 5 倍;所用 PS 混悬液是第二军医大学基础部病理生理学教研室将猪肺中提取的 PS 加入生理盐水后制备。该药已获得国家药品监督管理局的临床批文(批件号 2003L01685)。

1.2 实验动物分组与模型复制 43 只健康雄性 SD 大鼠,200~250 g,购自第二军医大学实验动物中心[实验动物生产许可证号 SCXK(沪)2007-0003,使用许可证号 SYXK(沪)2007-0003],在实验环境条件下饲养约 1 周后开始实验。将 SD 大鼠随机分为假手术组(sham 组, $n=10$)、模型组(model 组, $n=10$)、雾化吸入生理盐水组(air-NS 组, $n=10$)、雾化吸入 PS 组(air-PS 组, $n=13$)。以 20%乌拉坦按 6 ml/kg 的剂量腹腔内注射麻醉大鼠,行颈外动静脉插管,保留自主呼吸。除假手术组外,其余各组通过颈外静脉注入 0.2 ml/kg 的油酸复制 ALI 模型。约 1 h 后 air-PS 组雾化吸入 160 mg 的 PS,air-NS 组雾化吸入等体积的生理盐水,持续观察 4 h。

1.3 雾化方法 将保持麻醉状态大鼠的头颈部套入一个自制的塑料瓶中,瓶侧壁开孔以与外界相通,平衡容器内的压力,瓶口接 PARILCD 简易喷雾器

(德国百瑞有限公司),用导管与压缩空气瓶相连接。将 160 mg PS 混悬液用生理盐水稀释成 20 mg/ml (共 8 ml)的混悬液,分 2 次雾化。倒掉湿化瓶中的液体,先将 4 ml PS 装入喷雾器内。打开氧气罐阀门,控制空气流量为 4 L/min(依据 PS 雾化气溶胶粒径分布的测试结果),约 20 min 雾化完,于喷雾器内加入生理盐水 2 ml,将剩余的 PS 混匀后雾化。之后再加入 4 ml PS,按上述步骤重复一次。air-NS 组大鼠分 4 次雾化吸入等量生理盐水。

1.4 血气分析指标观察 采用 GEM Premier 3000 血气分析仪,分别于手术操作后、注入油酸后 30 min 和雾化吸入后 0.5、1、2、3、4 h 测定动脉血氧分压(PaO₂)、动脉血二氧化碳分压(PaCO₂)、pH 值、动脉血氧饱和度(SaO₂)。抽血测血气前计数各时间点大鼠的呼吸频率(BR),并于实验结束时计算存活率。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计软件进行数据处理。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用重复测量数据的方差分析,方差齐时使用 SNK 法,方差不齐时使用 Dunnett'C 法进行多重比较;存活率比较采用 χ^2 检验。检验水平(α)为 0.05。

2 结果

2.1 ALI 模型复制 颈静脉注入 0.2 ml/kg 油酸后 1 h 左右,大鼠 BR 明显加快,PaO₂ 降低至 60 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)左右,符合 ALI 的标准,且处死后肺有明显出血和水肿征象,表明模型复制成功。

2.2 雾化吸入 PS 对 ALI 大鼠 BR 的影响 如表 1 所示,注入油酸后,模型组及雾化吸入组大鼠 BR 均明显增加,与假手术组相比差异有统计学意义($P<0.05$)。雾化吸入 PS 0.5 h 后,大鼠 BR 开始下降,给药 4 h 后 BR 降至 100 次/min,低于同时间点 air-NS 组($P<0.05$)。结果表明,雾化吸入 PS 可降低 ALI 大鼠 BR。

表 1 雾化吸入 PS 对大鼠呼吸频率(BR)的影响

Tab 1 Effect of aerosolized PS on breathing rate(BR) in rats

Group	n	Baseline	Oleic acid injection	Time after PS aerosolization t/h				
				0.5	1	2	3	4
Sham	10	89.4±6.31	91.6±7.15	90.9±8.56	90.7±6.53	88.7±4.83	87.7±5.66	86.7±6.79
		89.1±5.44	144.9±8.70*▲	142.0±6.32*	137.8±6.97*	133.5±5.60*	132.3±3.74*	132.6±2.27*
Model	6	89.5±5.87	143.1±6.31*▲	141.7±7.90*	137.9±7.18*	134.7±2.67*	133.1±4.23*	133.1±3.67*
		87.3±5.89	143.5±7.31*▲	131.9±5.99△	124.1±6.71△	118.1±8.77△	109.3±6.43△	100.1±7.50△
Air-NS	6	89.5±5.87	143.1±6.31*▲	141.7±7.90*	137.9±7.18*	134.7±2.67*	133.1±4.23*	133.1±3.67*
Air-PS	13	87.3±5.89	143.5±7.31*▲	131.9±5.99△	124.1±6.71△	118.1±8.77△	109.3±6.43△	100.1±7.50△

PS: Pulmonary surfactant. * $P<0.05$ vs baseline of the same group; △ $P<0.05$ vs model group and air-NS group at the same time point; ▲ $P<0.05$ vs sham group

2.3 雾化吸入 PS 对 ALI 大鼠动脉血气指标的影响 如表 2 所示, 各处理组大鼠注入油酸后, PaO₂ 较注入前均下降 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 雾化吸入生理盐水和 PS 后, 大鼠的 PaO₂ 均逐渐升高, 但 air-PS 组 PaO₂ 上升更明显, 在给药后各时间点与模型组和 air-NS 组相比, 差异有统计学意义 ($P <$

0.05)。除此以外, 我们还观察了给药前后大鼠 PaCO₂ 及 pH 值的变化, 结果显示, 各组大鼠 PaCO₂ 在 35~42 mmHg 之间波动, pH 在 7.35~7.42 之间波动, 变化不明显, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果表明, 雾化吸入 PS 可提高 ALI 大鼠 PaO₂。

表 2 雾化吸入 PS 对大鼠 PaO₂ 的影响Tab 2 Effect of aerosolized PS on PaO₂ in rats(p/mmHg, $\bar{x} \pm s$)

Group	n	Baseline	Oleic acid injection	Time after PS aerosolization t/h				
				0.5	1	2	3	4
Sham	10	107.1 ±	106.8 ±	108.8 ±	111.8 ±	108.4 ±	112.1 ±	109.6 ±
		5.11	5.14	2.86	4.52	8.07	3.84	5.19
Model	6	110.6 ±	62.1 ±	65.1 ±	65.9 ±	68.3 ±	70.1 ±	69.5 ±
		4.58	3.60*	6.79*	7.38*	6.07*	5.11*	4.84*
Air-NS	6	109.8 ±	61.6 ±	57.5 ±	63.5 ±	67.2 ±	71.4 ±	76.2 ±
		4.10	2.12*	3.60*	5.56*	6.76*	6.67*	5.39*
Air-PS	13	107.4 ±	64.0 ±	70.0 ±	76.8 ±	87.3 ±	97.5 ±	99.4 ±
		5.72	4.06*	3.72 [△]	4.95 [△]	8.53 [△]	11.64 [△]	7.47 [△]

1 mmHg=0.133 kPa; PS: Pulmonary surfactant. * $P < 0.05$ vs baseline of the same group, [△] $P < 0.05$ vs model group and air-NS group at the same time point

2.4 雾化吸入 PS 对 ALI 大鼠 SaO₂ 的影响 如表 3 所示, 与模型组相比, 雾化吸入生理盐水和 PS 后, 大鼠的 SaO₂ 均逐渐升高。但 air-PS 组 SaO₂ 上升更明

显, 雾化后 4 h 的 SaO₂ 升至 98.2%, 高于同时时间点的模型组和 air-NS 组 ($P < 0.05$), 接近于假手术组水平。结果表明, 雾化吸入 PS 可提高 ALI 大鼠 SaO₂。

表 3 雾化吸入 PS 对大鼠 SaO₂ 的影响Tab 3 Effect of aerosolized PS on SaO₂ in rats(% , $\bar{x} \pm s$)

Group	n	Baseline	Oleic acid injection	Time after PS aerosolization t/h				
				0.5	1	2	3	4
Sham	10	98.5 ±	98.8 ±	98.8 ±	99.0 ±	99.0 ±	99.0 ±	99.0 ±
		0.58	0.45	0.36	0.52	0.07	0.00	0.00
Model	6	98.6 ±	87.5 ±	89.3 ±	89.5 ±	89.5 ±	90.5 ±	90.5 ±
		0.32	1.29*	0.92*	0.57*	0.57*	0.58*	0.58*
Air-NS	6	98.8 ±	87.6 ±	86.3 ±	92.2 ±	92.2 ±	92.4 ±	93.2 ±
		0.82	0.52*	0.72*	1.09*	1.09*	0.61*	0.79*
Air-PS	13	98.4 ±	87.0 ±	92.8 ±	97.2 ±	97.2 ±	97.8 ±	98.2 ±
		0.41	0.74*	1.18 [△]	1.20 [△]	1.20 [△]	0.86 [△]	0.75 [△]

PS: Pulmonary surfactant. * $P < 0.05$ vs baseline of the same group; [△] $P < 0.05$ vs model group and air-NS group at the same time point

2.5 雾化吸入 PS 对 ALI 大鼠存活率的影响 雾化吸入 PS 后观察 4 h, air-PS 组大鼠存活率为 100% (13/13), 而 air-NS 组和模型组大鼠仅 60% (6/10) 存活 ($P < 0.05$)。结果表明, 雾化吸入 PS 可提高 ALI 大鼠的存活率。

3 讨论

PS 是脂溶性的, 其制剂以混悬液的形式存在。传统的方法是气道滴入或者经纤维支气管镜滴入。

因滴入方法在操作技术上要求高, 患者比较痛苦, 且存在滴入过快易导致气道阻塞等问题, 因此国外一些单位自 20 世纪 90 年代就尝试用雾化吸入的方法给药, 用的比较多的是用连接呼吸机的超声雾化方法。该法利用超声将 PS 击碎为直径 (1.6 ± 2.0) ~ (3.0 ± 2.0) μm 的微粒, 这符合药理学上对雾化吸入药物微粒直径大小的要求^[7-8]。动物实验和一些临床试验也证实用这种方法吸入 PS 后有改善呼吸功能、降低死亡率的效果^[4,9]。但该法用药后起效慢,

用量比较大,且均需使用呼吸机^[10-11],这就使得PS只能在较大医院的重症监护病房中应用,限制了早期用药以防止ARDS发生的可能性。因此有必要探讨新的更为简便和有效的雾化吸入方法。

我们之前报道了一种新的氧气驱动雾化吸入PS的方法,该方法利用氧气形成射流,将PS混悬液喷射成细小的微粒后通过氧气面罩吸入。该方法的优点是:(1)非侵入性操作,用药时不需气管插管,对患者安全、无痛苦;(2)不需要呼吸机和呼吸监护设备,在一般医院就可以进行;(3)对医务人员的技术要求不高,护士就可以操作。前期动物实验已证明用该法吸入PS在提高氧分压、减轻肺损伤方面的效果与传统的滴入方法相似^[6]。但是由于该方法是氧气驱动,动物在吸入PS的同时也吸入了氧气,因此,血液氧合的提高和动物生存率的提高不能排除氧气的作用。肺泡是PS的作用部位^[12],雾化吸入PS后,使其能够进入远端肺泡发挥作用,这是取得治疗效果的关键。研究表明,颗粒直径1~2 μm是PS沉积肺泡上皮理想的物理状态^[13]。我们以前用激光检测了雾化后PS微粒的大小,证实其直径小于2 μm,理论上讲,这种小直径的微粒能够进入肺泡,但是缺少进一步的功能检测。本实验采用空气驱动雾化吸入的方法给药,其目的是在排除吸氧的情况下观察我们所用的雾化方法能否使PS被吸入后进入肺泡发挥作用。

本实验我们采用了油酸复制ALI动物模型。以模型组和air-NS组作为对照,用空气驱动雾化吸入PS,结果发现,与模型组和air-NS组的动物相比,空气驱动雾化吸入PS可显著降低大鼠的呼吸频率,明显提高大鼠氧分压和氧饱和度,并可提高模型大鼠的存活率。这些结果与前期氧气驱动雾化吸入PS所得结果^[6]相似,表明PS被雾化吸入后能进入肺内发挥改善肺的呼吸功能、提高ALI大鼠血液氧合水平的作用。

总之,本实验进一步证明雾化吸入PS的方法是一种新的简便、安全和有效的PS给药方式,不管采用氧气和空气作为驱动气体都有效,一般医院都会配备氧气瓶或者采用壁式供氧装置,因此采用氧气驱动更为方便,而且ALI/ARDS患者都有缺氧症状,用氧气驱动雾化吸入时患者可同时吸入PS和氧气,对于治疗更为有利。但是在氧气利用有困难的情况下,空气驱动也是可行的。这种雾化方法简便、安全、有效,可给尚不需要使用呼吸机的早期患者吸入以预防ALI/ARDS,也可在没有呼吸机的紧急情况下使用。

[参考文献]

- [1] Donn S M, Dalton J. Surfactant replacement therapy in the neonate: beyond respiratory distress syndrome[J]. *Respir Care*, 2009, 54: 1203-1208.
- [2] Friedrich I, Borgermann J, Splittgerber F H, Brinkmann M, Reidemeister J C, Silber R E, et al. Bronchoscopic surfactant administration preserves gas exchange and pulmonary compliance after single lung transplantation in dogs[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2004, 127: 335-343.
- [3] Davidson W J, Dorscheid D, Spragg R, Schulzer M, Mak E, Ayas N T. Exogenous pulmonary surfactant for the treatment of adult patients with acute respiratory distress syndrome: results of a meta-analysis[J]. *Crit Care*, 2006, 10: R41.
- [4] Bahlmann H, Sun B, Nilsson G, Curstedt T, Robertson B. Aerosolized surfactant in lung-lavaged adult rats: factors influencing the therapeutic response[J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2000, 44: 612-622.
- [5] Tashiro K, Yamada K, Konzaki T, Yamamoto K, Ohmura S, Kobayashi T, et al. Aerosolized surfactant therapy for endotoxin-induced experimental acute respiratory distress syndrome in rats[J]. *Br J Anaesth*, 2001, 87: 266-271.
- [6] Sun Y, Yang R, Zhong J G, Fang F, Jiang J J, Liu M Y, et al. Aerosolized surfactant generated by a novel noninvasive apparatus reduced acute lung injury in rats[J]. *Crit Care*, 2009, 13: R31.
- [7] Lutz C, Carney D, Finck C, Picone A, Gatto L A, Paskanik A, et al. Aerosolized surfactant improves pulmonary function in endotoxin-induced lung injury[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998, 158: 840-845.
- [8] Lewis J F, Ikegami M, Jobe A H, Tabor B. Aerosolized surfactant treatment of preterm lambs[J]. *J Appl Physiol*, 1991, 70: 869-876.
- [9] Anzueto A, Baughman R P, Guntupalli K K, Weg J G, Wiedemann H P, Raventos A A, et al. Aerosolized surfactant in adults with sepsis-induced acute respiratory distress syndrome. Exosurf Acute Respiratory Distress Syndrome Sepsis Study Group[J]. *N Engl J Med*, 1996, 334: 1417-1421.
- [10] Frerking I, Gunther A, Seeger W, Pison U. Pulmonary surfactant: functions, abnormalities and therapeutic options[J]. *Intensive Care Med*, 2001, 27: 1699-1717.
- [11] Cranshaw J, Griffiths M J, Evans T W. The pulmonary physician in critical care-part 9: non-ventilatory strategies in ARDS[J]. *Thorax*, 2002, 57: 823-829.
- [12] Zuo Y Y, Veldhuizen R A, Neumann A W, Petersen N O, Possmayer F. Current perspectives in pulmonary surfactant— inhibition, enhancement and evaluation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1778: 1947-1977.
- [13] Mazela J, Merritt T A, Finer N N. Aerosolized surfactants[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2007, 19: 155-162.

[本文编辑] 尹 茶