

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.03.009

沙丁胺醇对 COPD 兔支气管插管单肺通气中 LTB<sub>4</sub> 浓度的影响王丽<sup>1</sup>, 林涵森<sup>2</sup>, 邢珍<sup>1</sup>, 焦保良<sup>3</sup>, 王景川<sup>3</sup>, 李福龙<sup>1</sup>

(1. 河北北方学院附属第一医院麻醉科, 河北张家口 075000; 2. 河北省张家口市沙岭子医院精神内科 075131; 3. 河北北方学院第一临床学院, 河北张家口 075000)

**[摘要]** **目的** 观察沙丁胺醇对烟熏致慢性阻塞性肺疾病(COPD)实验兔模型单肺通气后血清和肺泡灌洗液中白三烯 B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>)浓度的影响。**方法** 健康新西兰大白兔 18 只分为正常组、COPD 组、COPD+沙丁胺醇组, 每组 6 只。除正常组以外的其他两组均采用实验组自行创造的方法构建了单纯烟熏致 COPD 实验兔模型。分别在给实验兔行右主支气管插管前(T<sub>0</sub>), 插管后即刻(T<sub>1</sub>), 插管后行单肺通气 30 min (T<sub>2</sub>), 插管后行单肺通气 60 min (T<sub>3</sub>) 采血测 LTB<sub>4</sub>, 行右主支气管插管单肺通气 60 min 后处死实验兔, 解剖后取少量双肺上叶作组织病理学观察, 取适量支气管肺泡灌洗液测 LTB<sub>4</sub> 的浓度。**结果** COPD 组中实验兔支气管肺泡灌洗液中 LTB<sub>4</sub> 的浓度比正常组明显升高(P<0.05), COPD+沙丁胺醇组中 LTB<sub>4</sub> 的浓度比 COPD 组明显降低(P<0.05)。肺组织形态学检查显示, COPD 组观察到炎性细胞侵入, 肺组织有明显的炎症性改变; COPD+沙丁胺醇组可见炎性细胞明显减少, 肺组织炎症性改变有一定改善。**结论** 支气管插管单肺通气中吸入沙丁胺醇能抑制 LTB<sub>4</sub> 的浓度。

**[关键词]** 肺疾病, 慢性阻塞性; 肺通气; 白三烯 B<sub>4</sub>; 支气管肺泡灌洗液; 沙丁胺醇**[中图分类号]** R614.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2017)03-0315-03Effects of salbutamol on leukotriene B<sub>4</sub> concentration during endobronchial intubation and one-lung ventilation in COPD rabbitsWang Li<sup>1</sup>, Lin Hanmiao<sup>2</sup>, Xing Zhen<sup>1</sup>, Jiao Baoliang<sup>3</sup>, Wang Jingchuan<sup>3</sup>, Li Fulong<sup>1</sup>

(1. Department of Anesthesia, the First Affiliated Hospital of Hebei North College, Zhangjiakou, Hebei 075000, China; 2. Department of Psychiatry, Shalingzi Hospital, Zhangjiakou, Hebei 075131, China; 3. First Clinical College, Hebei North College, Zhangjiakou, Hebei 075000, China)

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the effects of Salbutamol on leukotriene B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) concentration in serum and bronchoalveolar lavage fluid (BLF) of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) rabbits after endobronchial intubation and one-lung ventilation. **Methods** Totally 18 healthy New Zealand white rabbits were divided into 3 groups: normal control group, COPD group and COPD+salbutamol group, 6 rats in each group. A smoke-induced COPD rabbit model was established successfully in COPD group and COPD+salbutamol group. The level of serum LTB<sub>4</sub> was respectively measured before intubation(T<sub>0</sub>), at the moment after intubation(T<sub>1</sub>), 30 minutes after one-lung ventilation(T<sub>2</sub>), and 60 minutes after one-lung ventilation(T<sub>3</sub>). The rabbits were executed after 60 minutes through one-lung ventilation, then the superior lobe of double lungs were harvested for histopathology examination and the measurement of LTB<sub>4</sub> concentration in BLF. **Results** The concentration of LTB<sub>4</sub> in bronchoalveolar lavage fluid in COPD group was significantly higher than that in normal group (P<0.05), and the concentration of LTB<sub>4</sub> in COPD+salbutamol group was significantly lower than that in COPD group (P<0.05). Lung histomorphology showed that inflammatory cells were observed in COPD group and inflammatory changes were observed in lung tissue. In COPD+salbutamol group, inflammatory cells were decreased and inflammatory changes of lung tissue were improved. **Conclusion** Salbutamol inhalation can inhibit the release of LTB<sub>4</sub> in serum and LBT of COPD rabbits after one-lung ventilation.

**[Key words]** pulmonary disease, chronic obstructive; pulmonary ventilation; leukotriene B<sub>4</sub>; bronchoalveolar lavage fluid; salbutamol

大量临床研究发现长期吸烟易导致肺气肿、慢性支气管炎、慢性阻塞性肺疾病(COPD)等一系列肺损伤性疾病的发生<sup>[1-3]</sup>。研究显示, 2/3 的 COPD 患者存在不同程度的气道高反应<sup>[4]</sup>, COPD 患者在行静脉麻醉诱导气管插管等一系列强烈刺激下很容易发生气道痉挛。研究表明白三烯 B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) 可以使支气管平滑肌产生收缩作用。本实验应用烟熏致 COPD 兔模型来研究硫酸沙丁胺醇对此模型兔支气管插管单肺通气后血清和肺泡灌洗液中 LTB<sub>4</sub> 浓度的影响, 现报道如下。

**1 材料与方法****1.1 材料**

**1.1.1 实验动物** 选取健康的雌性新西兰大白兔 18 只, 体重(2.3±0.2) kg, 由河北北方学院动物实验中心集中饲养提

供, 许可证: SCXK(京)2011-0006。实验动物由专人饲养, 每日正常摄食水, 生存温度 18~25℃, 环境保持通风、通气。

**1.1.2 实验器材和试剂** ID3.0 mm 的单腔气管导管(泰利福医疗器械商贸有限公司), Seca-376 婴儿秤(上海威斯特科技有限公司), 双道微量注射泵 WZS-50f(浙江史密斯医学仪器有限公司), DHX-150 动物呼吸机(成都仪器厂), TDZ5-WS 低速多管架自动平衡离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司), SLEE CUT4062 旋转石蜡切片机(德国莱比信器械有限责任公司)。烟熏制品(张家口市卷烟厂), 注射用维库溴铵(浙江仙琚制药股份有限公司); 硫酸沙丁胺醇雾化吸入溶液(深圳大佛药业有限公司), LTB<sub>4</sub> 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(江苏希望生物科技有限公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 构建模型方法** 选取实验中心饲养的 18 只健康新西兰大白兔进行实验,分为正常组和烟熏组。将烟熏组放置于特定的自制兔笼中,兔笼内部分为上下两层,兔笼的四周用一次性手术小单包绕遮挡。在兔笼的上壁接一自行改装的换气扇,将烟熏组放置在兔笼的上层,下层放置薄铜板,将烟丝放在铜板上,然后将燃烧的酒精灯置于薄铜板的下方。每天点燃 15 g 烟丝,早晚各 1 次,每次燃烧持续 30 min,连续 70 d。正常组按实验中心常规进行饲养。每天观察实验兔的一般情况,每周固定时间称一次体质量并记录,70 d 持续烟熏后停止烟熏 1 周。单纯烟熏致 COPD 兔模型中测得的肺泡灌洗液中蛋白水平和血气分析结果,解剖肺组织取得的病理结果显示单纯烟熏致 COPD 兔模型已经成功建立,采取与前相同的方法获得 12 只 COPD 兔。

**1.2.2 实验方法** 18 只实验兔分为正常组(A组,  $n=6$ )、COPD 组(B组,  $n=6$ )、COPD+沙丁胺醇组(C组,  $n=6$ )。3 组实验兔术前均注射 20%乌拉坦(5 mL/kg)麻醉诱导成功后,置实验兔于手术台分离股静脉以备实验中采血,建立耳缘静脉通道后用微量注射泵注射,以 10 mL/h 流速持续输注复方氯化钠注射液,术中每隔 30 min 静脉注射维库溴铵注射液,剂量 0.1 mg/kg。在麻醉维持状态下给实验兔行气管切开术,在直视下插右主支气管插管行单肺通气。呼吸机吸呼比调节为 1:2,单肺通气时呼吸机参数:潮气量 5 mL/kg,呼吸频率:50 次/分钟,C 组行右主支气管插管后即刻在气管导管内注入 0.5%沙丁胺醇雾化溶液,给药剂量为 0.15 mg/kg。3 组实验兔均通过听诊法确认肺通气的效果,并且于双侧第 5~6 肋间行一小切口至胸腔,通过手术小切口观察肺的膨胀和萎陷程度。

**1.2.3 标本采集** 分别在以下 4 个时间点采集实验兔血 1.5 mL 测  $LTB_4$  的浓度:插管前( $T_0$ ),插管后即刻( $T_1$ ),插管后行单肺通气 30 min( $T_2$ ),插管后 60 min( $T_3$ )。对采血以 3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,冻存于  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  待测。单肺通气 60 min 后处死动物。甲醛溶液固定解剖采取的双肺上叶组织后用石蜡包埋,制作病理切片,采用苏木素-伊红染色后对切片进行组织学观察。用 0.9%生理盐水 5 mL 分 3 次对实验兔双肺行支气管肺泡灌洗,并对实验收集的肺泡灌洗液以 3 000 r/min 离心 10 min,离心后取上清液于  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  环境下冻存待测。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS18.0 对采集数据进行处理,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,组内比较采用配对  $t$  检验。检验水准  $\alpha=0.05$ ,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 3 组肺泡灌洗液分析结果** B 组  $[(20.25\pm 1.80)\text{ ng/L}]$  肺泡灌洗液中  $LTB_4$  浓度明显高于 A 组  $[(16.23\pm 1.35)\text{ ng/L}]$ ,两组比较差异有统计学意义 ( $P<0.05$ );C 组  $[(17.18\pm 0.23)\text{ ng/L}]$  中肺泡灌洗液中  $LTB_4$  浓度与 B 组比较差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),但其与 A 组相比差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

**2.2 3 组各时点血清  $LTB_4$  浓度结果**  $T_0$ 、 $T_1$ 、 $T_2$ 、 $T_3$  实验兔血清中  $LTB_4$  浓度各组比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ),见表 1。

### 2.3 肺组织形态学结果

**2.3.1 A 组肺组织形态学结果** A 组肺泡壁未见充血、水肿

及炎性细胞浸润,肺组织结构形态保持完整,见图 1。

表 1 3 组实验兔不同时间血清中  $LTB_4$  浓度 ( $\bar{x}\pm s$ , ng/L)

组别	$n$	$T_0$	$T_1$	$T_2$	$T_3$
A 组	6	10.01±0.39	10.94±0.60	13.59±1.44	14.86±1.11
B 组	6	11.12±1.24	12.27±1.21	12.86±1.06	13.83±1.30
C 组	6	9.24±0.20	11.86±0.43	12.70±0.48	12.78±0.25

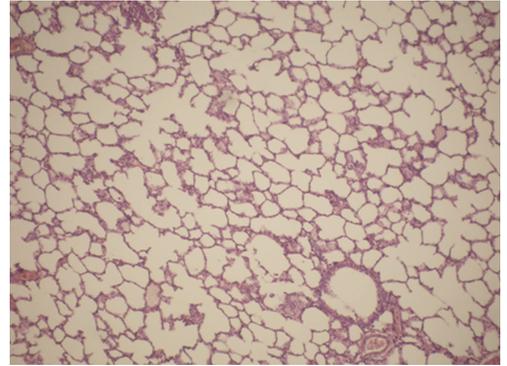


图 1 光镜下 A 组肺组织形态学(HE,  $\times 100$ )

**2.3.2 B 组肺组织形态学结果** B 组肉眼观察大体标本,有 4 例肺脏边缘有部分已变黑。肺泡间隔增宽,肺泡间隙可见中性粒细胞及淋巴细胞浸润。肺泡毛细血管明显扩张和充血。支气管周可见形成的淋巴小结,支气管内可见炎性渗出物。部分区域可见肺泡断裂融合形成肺大疱,弹力纤维成分减少,见图 2。

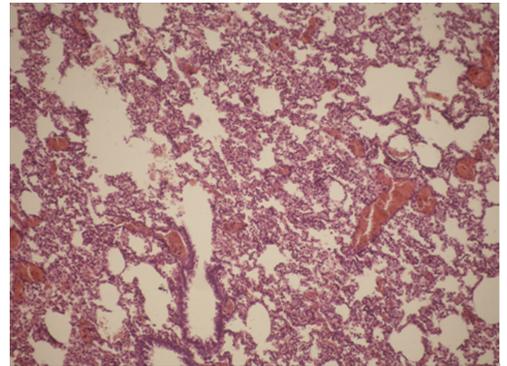


图 2 光镜下 B 组肺组织形态学(HE,  $\times 100$ )

**2.3.3 C 组肺组织形态学结果** C 组肺组织细支气管轻微扩张,毛细血管扩张充血减轻,见图 3。

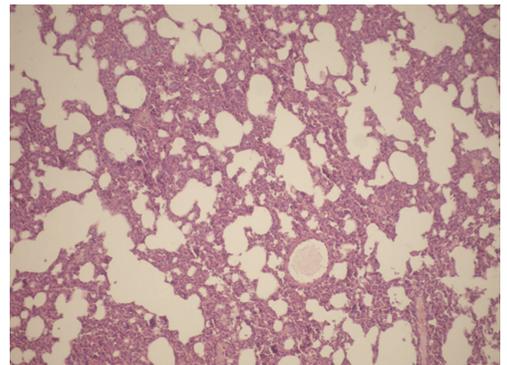


图 3 光镜下 C 组肺组织形态学(HE,  $\times 100$ )

## 3 讨论

COPD 是以持续气流阻塞进行性加重为特征的一种破坏性的肺部疾病,一般认为与慢性支气管炎和阻塞性肺气肿发生

有关的因素都可能参与 COPD 的发病,与吸入的有害气体及有毒颗粒引起的慢性炎症性反应增强有强相关性<sup>[5]</sup>。其中长期吸烟是导致 COPD 发病的一个重要因素,在这个因素的刺激下,体内多种炎症细胞趋化聚集在气道和肺泡内,进而引起体内炎症介质和细胞因子的进一步释放,触发炎症介质的级联放大反应,最终引起肺组织结构的破坏和气道壁结构的变化<sup>[6]</sup>。这种气道壁结构的改变使机体自主神经功能失调,副交感神经功能占主导地位,气道反应处于高敏状态,轻度刺激可致气道收缩痉挛<sup>[7]</sup>。临床观察发现大多数肺癌的患者有长期吸烟史,此类患者手术需在麻醉诱导下行双腔支气管插管单肺通气,减少患者插管刺激下引起的炎症介质释放导致的气道痉挛发生率。因此,本实验采用烟熏致 COPD 兔模型来研究气道高反应的发生机制,进而探讨有效的防治措施<sup>[8]</sup>。

LTB<sub>4</sub> 是气道中性粒细胞活化过程中的一种趋化因子,可以使肺泡巨噬细胞和中性粒细胞分泌一系列炎症介质<sup>[9]</sup>,促使机体炎症反应放大。大量实验研究显示 LTB<sub>4</sub> 参与了气道炎症反应的发生,尤其在 COPD 的发生、发展中发挥了重要的作用<sup>[10]</sup>。相关实验报道,LTB<sub>4</sub> 对支气管平滑肌的收缩作用比其他炎症递质(如组胺、血小板活化因子)强约 1 000 倍。LTB<sub>4</sub> 作用于靶组织的受体,引起支气管平滑肌收缩,使支气管管腔变窄,气道阻力明显增高,同时毛细血管壁渗出,炎症因子发生一系列趋化反应等,炎症反应使气道组织中的蛋白质和水分漏出,进而使黏膜发生水肿和充血等反应<sup>[11]</sup>。

沙丁胺醇是一种具有高度选择性的  $\beta_2$  受体激动剂,主要选择性作用于位于支气管平滑肌上的  $\beta_2$  肾上腺素受体,但其对心脏的  $\beta_1$  受体作用较弱,因此该药对支气管的扩张作用强,对心脏的兴奋作用小<sup>[12]</sup>。同时,该药能够加强气管黏膜纤毛的摆动,加大纤毛对气道的清除功能,进一步减轻气管毛细血管壁的炎症反应<sup>[13]</sup>。沙丁胺醇还降低了血管的通透性,从而减少了支气管壁炎症的渗出,减轻了气管黏膜的充血和水肿,改善了气道的通畅性,促进了肺功能的恢复<sup>[14]</sup>。本实验研究显示:B组肺泡间隔增宽,其间隙内可见中性粒细胞、淋巴细胞等炎症细胞浸润,支气管周围可见散在的淋巴小结,支气管周围毛细血管扩张充血,部分肺组织区域可见数个肺泡断裂后融合形成的肺大疱。C组支气管周毛细血管扩张不明显,充血明显改善,肺组织中细支气管呈轻微扩张状态学改变。B组在支气管插管单肺通气 1 h 后取得的肺泡灌洗液中 LTB<sub>4</sub> 的浓度比 A 组明显升高。C组在支气管插管单肺通气 1 h 后取得的肺泡灌洗液中 LTB<sub>4</sub> 的浓度比 COPD 组明显降低( $P < 0.05$ ),与 A 组相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。实验结果说明 COPD 兔模型在支气管插管及单肺通气的刺激后促使支气管平滑肌收缩因子 LTB<sub>4</sub> 释放,从而易导致气道痉挛的发作<sup>[15]</sup>。实验数据显示支气管插管后气管导管内吸入沙丁胺醇可以明显抑制 LTB<sub>4</sub> 的释放,为研究临床患者肺组织损伤的保护提供了实验依据,为临床预防和治疗支气管插管单肺通气可能诱发的气道痉挛提供了有力的理论基础。

本研究显示,B组兔模型血清 LTB<sub>4</sub> 浓度在支气管插管单肺通气后各时点与 A、C 组对应时点相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。可能 COPD 兔模型行支气管内插管单肺通气后引起 LTB<sub>4</sub> 的释放部位主要局限在气道腔,不足以引起血浆中 LTB<sub>4</sub> 浓度的显著变化。本研究中肺组织形态学结果提示 3 组中通气侧和非通气侧肺形态学改变没有明显差异,这可能与实验中单肺通气的时间短有关系。而 COPD 兔模型单肺通气

超过 3 h 的血浆 LTB<sub>4</sub> 浓度变化及沙丁胺醇对其的作用和影响有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] How C, Hou SK, Shih H, et al. Usefulness of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in differentiating between typical and atypical community-acquired pneumonia[J]. *Am J Emerg Med*, 2011, 29(6): 626-631.
- [2] Lin MT, Wei YF, Ku SC, et al. Serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in acute respiratory distress syndrome: a prospective observational cohort study[J]. *J Formos Med Assoc*, 2010, 109(11): 800-809.
- [3] Latour-Pérez J, Alcalá-López A, García-García MA, et al. Diagnostic accuracy of sTREM-1 to identify infection in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome[J]. *Clin Biochem*, 2010, 43(9): 720-724.
- [4] 冯艳, 强丽霞, 陈如华, 等. 白三烯及其调节剂在气道过敏性疾病中的应用[J]. *中国新药与临床杂志*, 2011, 30(3): 161-166.
- [5] 周其富, 蒋宗明, 王海勇. 沙丁胺醇对慢性阻塞性肺病患者单肺通气时肺萎陷的影响[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2012, 17(1): 88-91.
- [6] 陈宁, 徐燕, 张永红, 等. 慢性阻塞性肺病大鼠外周血中 Foxp3<sup>+</sup> 调节性 T 细胞及 IL-17、IL-6 水平的变化[J]. *中国现代医学杂志*, 2014, 24(27): 24-28.
- [7] 周付年. 沙丁胺醇与异丙托溴铵氧气驱动雾化吸入治疗慢性阻塞性肺病 148 例疗效观察[J/CD]. *世界最新医学信息文摘(电子版)*, 2014(4): 137.
- [8] 李新胜, 陈绍平, 贾钦尧, 等. COPD 患者血浆可溶性髓样细胞触发受体-1、白三烯 B4 测定及临床意义[J]. *四川医学*, 2015, 36(9): 1317-1319.
- [9] 李红英, 马珏, 李真, 等. 己酮可可碱对兔单肺通气急性肺损伤的保护作用[J]. *南方医科大学学报*, 2009, 29(12): 2446-2448.
- [10] 罗登攀, 张洪球, 樊最末, 等. COPD 急性加重期患者血浆白细胞介素-17 测定的临床意义[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2011, 21(8): 539-540.
- [11] 姚坚, 陈金亮, 陶一江. COPD 患者血清中 LTB<sub>4</sub> 和 TNF- $\alpha$  的检测及其临床意义[J]. *临床肺科杂志*, 2012, 17(3): 459-460.
- [12] 钱文君, 房鹏, 顾宗江. IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$  在慢性阻塞性肺病中的表达[J]. *实用临床医药杂志*, 2015, 19(15): 172-173.
- [13] Determann RM, Achouiti AA, El Solh AA. Infectious pleural effusions can be identified by sTREM-1 levels[J]. *Respir Med*, 2009, 104(2): 310-315.
- [14] 张敏, 程德云. 白三烯拮抗剂在慢性阻塞性肺疾病治疗中的价值[J]. *四川医学*, 2010, 31(12): 1870-1872.
- [15] 蓝岚, 张朝群, 古妙宁, 等. 单肺通气时程对胸科手术患者肺泡灌洗液肿瘤坏死因子- $\alpha$  及白细胞介素-8 的影响[J]. *广东医学*, 2013, 34(8): 1197-1200.