

纤维支气管镜肺减容术治疗绵羊肺气肿模型的实验研究

冯志军¹, 路武杰², 滕伟³, 郭俊华², 黄志昂², 王红燕², 靳建军¹, 王静¹

(1. 郑州大学第一附属医院呼吸与危重症医学科, 郑州 450052; 2. 河南大学第一附属医院呼吸内科, 开封 475001; 3. 河南大学第一附属医院心内科, 开封 475001)

【摘要】目的:探讨经纤支镜射频置管建立气道旁路肺减容术治疗绵羊肺气肿模型的有效性 & 优越性。**方法:**将 16 只 6 月龄雌性绵羊随机分为 A、B 2 组, 木瓜蛋白酶方法建立肺气肿模型。A 组经纤支镜射频建立气道旁路并放置支架, 2 组均给予内科治疗。分别测 2 组绵羊术前和术后 24 h、4、8 周的第 1 秒用力呼气容积(forced expiratory volume in one second, FEV_{1.0}), 且进行比较, A 组定期行胸部 CT 检查, 2 组动物治疗 8 周均予以处死, 行病理学检查。**结果:**①成功复制绵羊肺气肿动物模型 16 只, A 组术中、术后无并发症出现; ②A 组胸部 CT 示术后 4 周及 8 周, 在治疗区均出现肺容积缩小, 出现肺不张表现; ③2 组不同时间点 FEV_{1.0} 水平差异有统计学意义($F_{\text{时间}}=1\ 352.409, P=0.000$), 2 种治疗手段效果差异有统计学意义($F_{\text{组间}}=5\ 004.278, P=0.000$), 治疗手段和时间之间有交互作用($F_{\text{交互}}=1\ 325.058, P=0.000$); ④病理示 A 组治疗区见肺泡萎陷区, 非治疗区域见肺气肿, 肺泡萎陷区见粒细胞和淋巴细胞浸润; B 组见肺气肿的肺泡组织。**结论:**该技术治疗绵羊肺气肿模型具有有效性 & 优越性。

【关键词】纤维支气管镜肺减容术; 绵羊; 肺气肿

【中图分类号】R563.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-04-11

作者简介: 冯志军, Email: kffzj2013@aliyun.com,

研究方向: 呼吸系统疾病。

通信作者: 王静, Email: wangjing@zzu.edu.cn。

基金项目: 河南省卫生厅医学科技攻关项目(编号: 200903107); 河

南省教育厅自然科学研究资助项目(编号: 2009A320002);

河南省科技厅科技发展计划项目(编号: 092102310064)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxh.000014.html>

[J]. Acta Paediatr, 2009, 98(11): 1729-1737.

[14] Li J, Xu M, Fan Q, et al. Tanshinone IIA ameliorates seawater exposure-induced lung injury by inhibiting aquaporins (AQP) 1 and AQP5 expression in lung [J]. Respir Physiol Neurobiol, 2011, 176(1-2): 39-49.

[15] Shen Y, Wang Y, Chen Z, et al. Role of aquaporin 5 in antigen-induced airway inflammation and mucous hyperproduction in mice [J]. J Cell Mol Med, 2011, 15(6): 1355-1363.

[16] Borok Z, Verkman AS. Lung edema clearance: 20 years of progress; invited review: role of aquaporin water channels in fluid transport in lung and airways [J]. J Appl Physiol, 2002, 93(6): 2199-2206.

[17] 谭利平, 许峰, 匡凤梧. 水通道蛋白 5 在高氧性肺损伤中表达及调节机制 [J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(8): 462-465.

[18] Wu T, Xing J, Birukova AA. Cell-type-specific crosstalk between p38 MAPK and Rho signaling in lung micro- and macrovascular barrier dysfunction induced by Staphylococcus aureus-derived pathogens [J]. Transl Res, 2013, 162(1): 45-55.

[19] Wang Y, Lu S, Li X, et al. The lipid-bound apolipoprotein A-I cysteine mutant (N74C) inhibits the activation of NF- κ B, JNK and p38 in endotoxemic mice and RAW264.7 cells [J]. PLoS One, 2012, 7(12): e51327.

[20] 谭利平, 许峰, 匡凤梧. MAPKs 通路在高氧性肺损伤发病机制中的作用 [J]. 重庆医科大学学报, 2010, 35(11): 1613-1618.

[21] Pathan N, Franklin JL, Eleftherohorinou H, et al. Myocardial depressant effects of interleukin 6 in meningococcal sepsis are regulated by p38 mitogen-activated protein kinase [J]. Crit Care Med, 2011, 39(7): 1692-1711.

[22] Chang YS, Kim YJ, Yoo HS, et al. Alpha-phenyl-N-tert-butyl-nitron attenuates hyperoxia-induced lung injury by down-modulating inflammation in neonatal rats [J]. Exp Lung Res, 2009, 35(3): 234-249.

[23] Min JH, Codipilly CN, Nasim S, et al. Synergistic protection against hyperoxia-induced lung injury by neutrophils blockade and EC-SOD overexpression [J]. Respir Res, 2012(13): 58.

[24] Zhang H, Fang J, Wu Y, et al. Mesenchymal stem cells protect against neonatal rat hyperoxic lung injury [J]. Expert Opin Biol Ther, 2013, 13(6): 817-829.

[25] Devaney J, Contreras M, Laffey JG. Clinical review: gene-based therapies for ALI/ARDS: where are we now? [J]. Crit Care, 2011, 15(3): 224.

(责任编辑: 冉明会)

Treatment of pulmonary emphysema sheep model through bronchoscopic lung volume reduction: an experimental study

Feng Zhijun¹, Lu Wujie², Teng Wei³, Guo Junhua², Huang Zhiang²,
Wang Hongyan², Jin Jianjun¹, Wang Jing¹

(1. Department of Respiratory and Critical Medicine, the First Affiliated Hospital, Zhengzhou University;
2. Department of Respiratory, the First Affiliated Hospital, Henan University; 3. Department of Cardiology,
the First Affiliated Hospital, Henan University)

[Abstract] **Objective:** To explore the effectiveness and superiority of establishing airway bypass through bronchoscopic radio frequency catheter lung volume reduction in the sheep model of pulmonary emphysema. **Methods:** Sixteen female sheep aged 6 months were divided into group A and group B randomly and emphysema models were established by means of papain. Group A set up airway bypass through bronchoscopic radio frequency catheter. Both groups were given medical treatment. Forced expiratory volume in one second (FEV_{1.0}) of every sheep before the treatment, 24 h, 4 weeks and 8 weeks after the treatment were measured and compared. Thoracic CT of group A was examined regularly. All sheep were executed at 8 weeks after the treatment and were applied to do pathological examination. **Results:** ① sixteen sheep were copied into pulmonary emphysema model successfully. No obvious intraoperative and postoperative abnormality was observed in group A. ② Thoracic CT of group A at 4 weeks and 8 weeks after the operation showed that: lung volume of the treatment area shrunk and atelectasis appeared. ③ FEV_{1.0} levels at different time points were significantly different ($F_{\text{time}}=1\ 352.409, P=0.000$); treatment effects of two therapies were significantly different ($F_{\text{group}}=5\ 004.278, P=0.000$), and therapies and time were interactive ($F_{\text{time} \times \text{group}}=1\ 325.058, P=0.000$). ④ Pathological examination showed that: in group A, alveolar atelectatic area was seen in treatment area and emphysema in non treatment area; granulocyte and lymphocyte infiltrated in alveolar atelectasis. Alveolar tissue emphysema was seen in group B. **Conclusion:** Establishing the airway bypass through bronchoscopic radio frequency catheter lung volume reduction is effective and is superior to medical treatment in the sheep model of pulmonary emphysema.

[Key words] bronchoscopic lung volume reduction; sheep; emphysema

肺气肿是由于吸烟、感染、大气污染等有害因素刺激,引起终末细支气管远端的组织弹性减退,过度膨胀、充气,肺容量增大,并伴有肺泡壁和细支气管的破坏,而无明显纤维化病变^[1],是威胁人类生命的主要疾病之一。国际肺气肿治疗试验明确显示外科肺减容术能有效改善患者肺功能,提高患者运动耐量和生活质量,但并发症发生率和死亡率较高^[2]。而经纤维支气管镜肺减容术(bronchoscopic lung volume reduction, BLVR)是通过纤维支气管镜技术,造成靶区肺组织的萎缩,达到肺容积减少的目的,且能成功降低外科肺减容术的麻醉和围手术期风险,自从 2003 年首例 BLVR 报道, BLVR 日益成为研究的热点^[3-10]。该研究旨在探讨经纤支镜射频置管建立气道旁路肺减容术治疗绵羊肺气肿模型的有效性及其优越性。

1 材料和方法

1.1 材料

雌性健康 6 月龄绵羊 16 只(河南省实验动物中心提供),体质量 20~30 kg,射频探针(无线电射频探针,国产华南牌),冠脉支架 24 支(国产冠脉支架,中科院长春光机电物理研究所生产,长 15 mm,直径 3 mm),5%戊巴比妥钠(北京化

学试剂公司)、氯胺酮和安定。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立方法 将 16 只绵羊随机分为 A、B 2 组。用木瓜蛋白酶建立肺气肿模型。每只动物用浓度为 5%的戊巴比妥钠 0.2 ml/kg、氯胺酮(7.5 ml/kg)和安定(0.25 ml/kg)腹腔注射进行基础麻醉,静滴安定和氯胺酮维持麻醉。将绵羊侧卧于手术台上,靶侧向下,在 P40 型纤维支气管镜(Olympus 公司)引导下经鼻插入 7.5~8.5 号单腔气管插管,经纤维支气管镜钳道插入 5~6 F 导管,在靶侧选肺叶支气管深部,每次给予木瓜蛋白酶 75 U/kg 后,机械通气 15~20 min,机械通气参数设置为:潮气量 12 ml/kg,呼吸频率 15 次/min,氧流量 6 L/min。每周应用 1 次,连续 4~6 周经胸部 CT 证实制成肺气肿模型(图 1)。

1.2.2 治疗前 治疗前使用 flexiVent 动物肺功能仪检测所有动物模型的肺功能。第 1 秒用力呼气容积(forced expiratory volume in one second, FEV_{1.0}),每只绵羊均测量 10 次,取其平均值。并记录进食、活动情况、体温等。

1.2.3 治疗 A 组采用射频探针(4.0 MHz 射频电波),经纤维支气管镜下达到靶区段支气管,建立气道旁路并置入冠脉支架(3 个/只),记录术中并发症:咯血、气胸、支气管痉挛发作等,2 组均给予内科治疗。

1.2.4 治疗后 治疗 24 h、4 周及 8 周使用肺功能测定仪检测每只绵羊的肺功能(FEV_{1.0}),每只绵羊均测量 10 次,取其平均值。并记录进食、活动情况、体温等。A 组 8 只绵羊术后 4 周及 8 周行胸部 CT 检查。

1.2.5 病理标本制作 治疗 8 周,静推戊巴比妥钠处死动物, A 组取全肺充气后肉眼观察萎陷区域,在萎陷区和非萎陷区附近取材, B 组在给予木瓜蛋白酶附近取材, 10% 福尔马林溶液固定 1 周,石蜡包埋、制作切片, HE 染色后,镜下观察。

1.3 统计学处理

使用 SPSS 17.0 (版本号: 17.10.0.1015) 统计软件录入数据进行统计分析, $FEV_{1.0}$ 以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用重复测量定量资料的方差分析进行比较, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 绵羊肺气肿动物模型的建立

成功复制绵羊肺气肿动物模型 16 只, 整个过程进食、活动情况、体温等均无明显异常。A 组采取经纤维支气管镜射频置管建立气道旁路并置入支架, 其中 1 例术中有少量出血, 经吸引和局部给予肾上腺素后出血停止, 余 7 例无出血现象, 术后一般情况良好, 无发热、咯血、气胸、支气管痉挛发作等。

2.2 胸部 CT 结果

2 组动物在治疗前靶区透光度明显增强 (图 1), 提示肺气肿形成; A 组术后 4 周及 8 周, 在治疗区域均出现肺容积缩小, 出现肺不张表现 (图 2、3)。

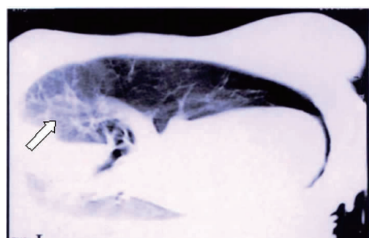


图 1 示右下肺肺气肿

图 1 胸部 CT 示右下肺肺气肿

Fig.1 Emphysema in the lower right lung displayed by thoracic CT

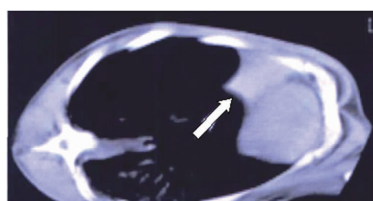


图 2 示 A 组术后 4 周肺不张

图 2 A 组术后 4 周胸部 CT 示肺不张

Fig.2 Atelectasis of group A at 4 weeks after the operation displayed by thoracic CT

表 1 2 组绵羊肺气肿模型各个时间点的 $FEV_{1.0}$ 水平 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 $FEV_{1.0}$ level of emphysema models of two groups at different time points ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (n)	$FEV_{1.0}$ 水平 (ml)			
		治疗前	治疗后 24 h	治疗后 4 周	治疗后 8 周
A 组	8	230.87 $\pm$ 6.73	422.25 $\pm$ 14.78	565.15 $\pm$ 15.73	649.13 $\pm$ 16.10
B 组	8	232.13 $\pm$ 6.33	232.88 $\pm$ 6.96	233.75 $\pm$ 6.45	234.25 $\pm$ 7.05

注: $F_{\text{组间}}=5.004.278, P=0.000; F_{\text{时间}}=1.352.409, P=0.000; F_{\text{交互}}=1.325.058, P=0.000$

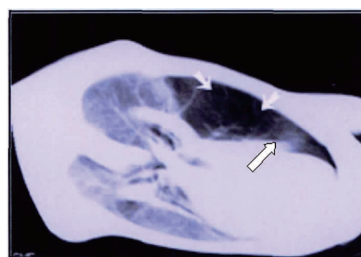


图 3 示 A 组术后 8 周肺气肿及肺不张

图 3 A 组术后 8 周胸部 CT 示肺气肿及肺不张

Fig.3 Atelectasis and emphysema of group A at 8 weeks after the operation

2.3 肺功能检查结果

不同时间点 $FEV_{1.0}$ 水平差异有统计学意义, 随着治疗时间的推移, A 组 $FEV_{1.0}$ 水平呈增加的趋势, B 组 $FEV_{1.0}$ 水平无明显变化。2 种治疗手段效果差异有统计学意义, 治疗手段和时间之间有交互作用 (表 1)。

2.4 病理学改变

A 组射频置管治疗区域可见肺泡萎陷区 (瘢痕组织) 而在非治疗区域可见肺气肿, 肺泡萎陷区可见粒细胞和淋巴细胞浸润 (图 4)。B 组可见肺气肿的肺泡组织 (图 5)。

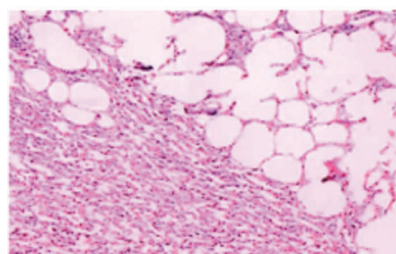


图 4 A 组术后 8 周出现的肺泡萎陷区与肺气肿区 (HE, 4x)

Fig.4 Alveolar atelectatic area and emphysema area in group A at 8 weeks after the operation (HE, 4x)

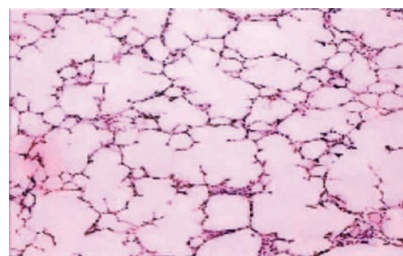


图 5 B 组绵羊肺气肿的肺泡组织 (HE, 4x)

Fig.5 Alveolar tissue emphysema of group B (HE, 4x)

3 讨 论

肺气肿是呼吸系统的常见病、多发病,是由于小气道萎陷、肺组织破坏导致肺弹性回缩力减低和过度膨胀为特点的疾病。目前对于已经形成的肺气肿病变尚无治疗方法可以使其逆转,各种治疗的目的在于延缓肺气肿病变的发展,改善呼吸功能,提高患者工作、生活能力^[1]。

BLVR 是为缓解肺气肿患者呼吸困难症状的一种新的治疗方法,主要包括:①气道内置入阻塞装置;②置入支气管内单向活瓣;③注入生物胶粘剂;④人工气道旁路法。目前前 3 种方法的研究较多,而关于人工气道旁路法的报道尚不多见,国内亦无经纤维支气管镜射频置管建立气道旁路肺减容术的相关动物实验及临床应用报道。笔者选择绵羊 16 只,成功复制为肺气肿动物模型,A 组 8 只绵羊经纤维支气管镜射频置管建立气道旁路,其中冠脉支架起到支撑作用,保持旁路通畅,并且与组织相容性好,过程顺利,无并发症出现。胸部 CT 显示术后出现肺不张、肺功能结果显示 FEV_{1.0} 水平增加、病理学改变出现肺泡萎陷区,分别从影像学、功能学、病理学角度显现出该技术的有效性。2 组动物模型的肺功能相比较,结果显示:该技术和内科治疗这两种治疗手段的效果差异具有统计学意义,该技术明显优于内科治疗。

Lausberg 等^[11]利用肺移植术中被切除的高度气肿的患肺 12 例进行经纤维支气管镜射频置管建立气道旁路肺减容术体外试验的研究结果显示:FEV_{1.0} 由(245 ± 10) ml 上升到(447 ± 199) ml;增加 2 个支架,FEV_{1.0} 则增至(666 ± 284) ml,与作者的研究结果所显示的该技术的有效性基本一致。

该技术提示经纤维支气管镜引导在大气道和气肿肺组织之间人为建立非解剖性间接通道,通过呼出气量增加可达到肺减容的目的。其理论基础在于减少过度气肿组织,改善呼吸力学状态,改善肺功能。即解除余肺受压,使其充分通气,同时气管床开放,增加灌流,改善静态肺功能;重塑胸廓,改善膈肌力学状态,恢复组织弹性回缩力,改善动态肺功能。

王晖和岳云^[12]的研究结果显示:BLVR 术后,靶区肺组织发生萎陷、纤维化乃至实变;靶区通气量和血流灌注量下降,其中通气量下降较为明显,区域通气/血流降低;总体肺循环量无减少,肺动脉压力未见改变;术后肺血流重新分布,循环量趋向通气功能较好的区域。至于通气血流的重新分布与术后肺功能改善情况的相关性,及其与其他机制的相互作用,则有待于进一步研究。

另外,Rendina 等^[13]的相关研究结果显示,于 10 个肺叶切除患者建立 29 个气道旁路,于 5 个肺移植患者建立 18 个气道旁路,仅有 2 例出现微量出血(出血量 ≤ 20 ml),通过吸引及局部给予肾上腺素均得到缓解,未出现其他并发症,与作者的研究结果所显示的该技术创伤小、并发症少等相一致。

总之,经纤维支气管镜射频置管建立气道旁路肺减容术能够有效治疗绵羊肺气肿模型,同时具有创伤小、并发症少、操作简便、适应证广等优点,具有一定的优越性,值得进行临床试验。

参 考 文 献

- [1] 王吉耀.内科学[M].2 版.北京:人民卫生出版社,2010:35.
- [2] Criner GJ, Cordova F, Sternberg AL, et al. The National Emphysema Treatment Trial (NETT): part II: lessons learned about lung volume reduction surgery[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 184(8): 881–893.
- [3] Hopkinson NS, Kemp SV, Toma TP, et al. Atelectasis and survival after bronchoscopic lung volume reduction for COPD[J]. Eur Respir J, 2011, 37(6): 1346–1351.
- [4] Hopkinson NS, Toma TP, Hansell DM, et al. Effect of bronchoscopic lung volume reduction on dynamic hyperinflation and exercise in emphysema[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2005, 171(5): 453–460.
- [5] Gompelmann D, Eberhardt R, Michaud G, et al. Predicting atelectasis by assessment of collateral ventilation prior to endobronchial lung volume reduction: a feasibility study[J]. Respiration, 2010, 80(5): 419–425.
- [6] Herth FJ, Gompelmann D, Stanzel F, et al. Treatment of advanced emphysema with emphysematous lung sealant (AeriSeal)[J]. Respiration, 2011, 82(1): 36–45.
- [7] Sciruba FC, Ernst A, Herth FJ F, et al. A randomized study of endobronchial valves for advanced emphysema[J]. N Engl J Med, 2010, 363(13): 1233–1244.
- [8] Slebos DJ, Klooster K, Ernst A, et al. Bronchoscopic lung volume reduction coil treatment of patients with severe heterogeneous emphysema[J]. Chest, 2012, 14(3): 574–582.
- [9] Moore AJ, Cetti E, Haj-Yahia S, et al. Unilateral extrapulmonary airway bypass in advanced emphysema[J]. Ann Thorac Surg, 2010, 89(3): 899–906.
- [10] Shah PL, Slebos DJ, Cardoso PF, et al. Bronchoscopic lung-volume reduction with Exhale airway stents for emphysema (EASE trial): randomised, sham-controlled, multicentre trial[J]. Lancet, 2011, 378(9795): 997–1005.
- [11] Lausberg HF, Chino K, Patterson GA, et al. Bronchial fenestration improves expiratory flow in emphysematous human lungs[J]. Ann Thorac Surg, 2003, 75(2): 393–397.
- [12] 王晖, 岳云. 单侧经支气管镜肺减容术对 COPD 犬通气血流影响的实验研究[J]. 医学研究杂志, 2008, 37(4): 27–32.
- [13] Rendina EA, De Giacomo T, Venuta F, et al. Feasibility and safety of the airway bypass procedure for patients with emphysema[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2003, 125(6): 1294–1299.

(责任编辑:唐秋姗)