

创伤性湿肺并发 ARDS 纤溶患者血清中 NF-KB p65 表达的分析

张超¹, 达晶¹, 杨智¹, 杨力涛¹, 贾永¹, 王军岐¹, 葛鹏¹, 沈锋²

(1. 宝鸡市中心医院胸外科, 陕西宝鸡 721008; 2. 贵州医科大学附属医院胸外科, 贵阳 550000)

摘要:目的 分析创伤性湿肺并发急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 纤溶患者血清中 NF-KB p65 表达特点。方法 2017年11月~2018年11月选取宝鸡市中心医院胸外科收治的创伤性湿肺并发 ARDS 患者 62 例, 设为观察组; 另选取同期收治的 62 例创伤性湿肺患者, 设为参考组; 选取同期收治的 62 例轻微肺部损伤患者, 设为对照组。入院和治疗 1 周后, 对比三组血 NF-KB p65 表达、纤维蛋白溶解情况、凝血酶原时间 (PT)、活化部分凝血活酶时间 (APTT)、凝血酶时间 (TT) 和纤维蛋白原 (FIB) 水平变化情况。结果 入院时, 观察组、参考组和对照组血 NF-KB p65 表达阳性率分别为 98.39%, 67.74% 和 9.68%, 观察组血 NF-KB p65 表达阳性率高于参考组和对照组 ($\chi^2=6.023$, 11.276), 参考组高于对照组 ($\chi^2=9.120$), 差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$)。观察组纤维蛋白原含量低于参考组和对照组, 参考组纤维蛋白原含量低于对照组, 观察组凝血酶原时间、活化部分凝血活酶时间和凝血酶时间高于参考组和对照组, 参考组凝血酶原时间、活化部分凝血活酶时间和凝血酶时间高于对照组。治疗 1 周后, 观察组、参考组和对照组血 NF-KB p65 表达阳性率分别为 11.29%, 9.68% 和 9.68%, 三组血 NF-KB p65 表达阳性率差异无统计学意义 ($\chi^2=0.062\sim 0.206$, 均 $P>0.05$); 三组纤维蛋白原含量、凝血酶原时间、活化部分凝血活酶时间和凝血酶时间对比, 差异均无统计学意义 (均 $P>0.05$)。结论 创伤性湿肺并发 ARDS 患者, 具有血 NF-KB p65 表达升高、纤维蛋白原含量下降和凝血功能异常的特征。血 NF-KB p65 表达可作为评析患者肺部疾病进展和危重程度的可靠指标。

关键词: 血 NF-KB p65; 创伤性湿肺; 急性呼吸窘迫综合征; 纤溶

中图分类号: R563; R446.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 04-053-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.04.013

Expression of Blood NF-KB p65 in Patients with Traumatic Wet Lung Complicated with ARDS Fibrinolysis

ZHANG Chao¹, DA Jing¹, YANG Zhi¹, YANG Li-tao¹, JIA Yong¹, WANG Jun-qi¹, GE Peng¹, SHEN Feng²

(1. Department of Thoracic Surgery, Baoji Central Hospital, Shaanxi Baoji 721008, China; 2. Department of Thoracic Surgery, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550000, China)

Abstract: Objective To analyze the expression of NF-KB p65 in the serum of patients with traumatic wet Lung complicated with acute respiratory distress syndrome (ARDS) fibrinolysis. **Methods** From November 2017 to November 2018, 62 patients with traumatic wet Lung complicated with ARDS fibrinolysis admitted to the Thoracic Surgery Department of Baoji Central Hospital were selected as the observation group, another 62 patients with traumatic wet lung admitted at the same time were selected as the reference group, and 62 patients with slight lung injury admitted at the same time were selected as the control group. One week after admission and treatment, the expression of NF KB p65, fibrinolysis, prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), thrombin time (TT) and fibrinogen (FIB) were compared among the three groups. **Results** At the time of admission, the positive rates of NF-KB p65 expression in the blood of the observation group, the reference group and the control group were 98.39%, 67.74% and 9.68%, respectively. The positive rate of p65 expression in the observation group was higher than that in the reference group and the control group, the difference was statistically significant ($\chi^2=6.023$, 11.276, all $P < 0.05$). The fibrinogen content in the observation group was lower than that in the reference group and the control group, the prothrombin time, activated partial thromboplastin and thrombin time in the observation group were higher than those in the reference group and the control group, and the clotting time in the reference group was higher than that in the reference group and the control group. Prothrombin time, activated partial thromboplastin time and thrombin time were

基金项目: 贵州省留学人员科技创新项目 (编号 201647719)。

作者简介: 张超 (1984-), 男, 本科, 主治医师, 研究方向: 胸部创伤基础与临床, E-mail: 1225935710@qq.com。

通讯作者: 沈锋, 男, E-mail: 15038410@163.com。

higher than those in the control group. After one week of treatment, the positive rates of NF-KB p65 expression in the observation group, the reference group and the control group were 11.29%, 9.68% and 9.68%, respectively. There was no significant difference in the positive rates of NF-KB p65 expression among the three groups, and there was no significant difference in fibrinogen content, prothrombin time, activated partial thromboplastin time and thrombin time among the three groups ($\chi^2=0.062\sim 0.206$, all $P>0.05$). **Conclusion** The patients with ARDS had the characteristics of increased expression of NF KB p65, decreased fibrinogen content and abnormal coagulation function. The expression of NF KB p65 in blood can be used as a reliable index to evaluate the progress and severity of pulmonary disease.

Keywords: blood NF-KB p65; traumatic wet lung; ARDS; fibrinolysis

创伤性湿肺是一种肺实质损伤,其致病机理尚不明确,但普遍认为与猛烈的钝性撞击相关,包括坠落、车祸等^[1],急性呼吸窘迫综合征(ARDS)是创伤性湿肺的常见并发症,主要特点为顽固性低氧血症,这使得创伤性湿肺并发 ARDS 患者的病死率居高不下,该类患者的临床表现特异性之一是纤溶^[2]。有学者分析认为,血液中凝血、抗凝、纤溶三个系统之间的平衡,是血液系统健康与否的关键^[3]。转录因子 NF-KB 在人体固有免疫和适应性免疫反应中发挥重要作用,与人体炎症关系密切。有效分析血 NF-KB p65 表达在创伤性湿肺并发 ARDS 患者纤溶的影响,可实现上述理论的丰富化,为患者预后改善提供支持。目前相关研究仍有不足,不利于患者的救治,为丰富相关理论,本研究设计对照实验,采用三组平行对照的方式,在现有理论基础,强调不同创伤性湿肺并发 ARDS 患者、非 ARDS 患者之间的差异评估,研究报道如下:

1. 材料与方法

1.1 研究对象 选取宝鸡市中心医院胸外科 2017 年 11 月~2018 年 11 月收治的 62 例创伤性湿肺并发 ARDS 患者为观察组,男性 38 例,女性 24 例,年龄 24~71 岁,平均年龄 39.2 ± 4.8 岁。另选取同期收治的 62 例创伤性湿肺患者为参考组,男性 37 例,女性 25 例,年龄 23~71 岁,平均年龄 39.4 ± 4.7 岁。选取同期收治的 62 例轻微肺部损伤患者为对照组,男性 39 例,女性 23 例,年龄 22~72 岁,平均年龄 39.3 ± 4.8 岁。三组患者的年龄、性别等一般资料对比,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。纳入标准:①患者和家属签署知情同意书,本研究经院伦理委员会批准;②观察组患者 CT 诊断资料和临床表现,符合创伤性湿肺和《ARDS 诊断和治疗指南》中的疾病诊断标准^[4];参考组患者 CT 诊断资料符合创伤性湿肺的疾病诊断标准^[5];对照组患者 CT 诊断资料符合轻微肺部损伤诊断标准^[6]。排除标准:①中途退出患者;②已并发多器官功能衰竭;③其他医院转入的对象;④其他可能导致血 NF-KB p65 表达显著上升的疾病,如急腹症、恶性肿瘤、急性冠脉综合征等。

1.2 试剂与仪器 收集不同患者血样作为样本。主

要仪器:GelView 6000 化学发光凝胶成像系统,广州云星仪器有限公司;电泳仪、PCR 仪及半干转膜仪,美国 Bio-rad 公司;普通光学显微镜,日本奥林巴斯公司;Thermo Varioskan flash 酶标仪、 -80°C 冰箱,美国 Thermo 公司;低温离心机,美国 I E C 公司。主要试剂:NF-kB p65 鼠抗人多克隆抗体(Santa Cruz 公司),PV-9000 免疫组化染色试剂盒(北京中杉金桥公司)。所有血样制备 4 份,三个组别患者的血样分别进行存放和标记区分。以 PBS 作为阴性对照,替代一抗。利用血样进行血 NF-KB p65 表达的分析。应用生化分析仪(URIT-8020)测定患者凝血功能。

1.3 方法 入院时、治疗 1 周后,对三组纤维蛋白溶解行为进行分析,了解血 NF-KB p65 表达的特点。观察三组凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)和纤维蛋白原(FIB)水平变化。采用免疫组化法检测 NF-kB p65 表达。阳性表达判定^[7]:切片由宝鸡市中心医院病理科 2 名副主任医师以双盲法独立观察,在 $\times 400$ 的高倍镜下每张切片随机选择视野 10 个,观察阳性细胞百分比与细胞着色强度。①阳性细胞百分比评分:以阳性细胞百分比 $< 6\%$ 为 0 分,以阳性细胞百分比 $6\%\sim 26\%$ (包括 6% 不包括 26%) 为 1 分,以阳性细胞百分比 $26\%\sim 51\%$ (包括 26% 不包括 51%) 为 2 分,以阳性细胞百分比 $51\%\sim 75\%$ (包括 51% 不包括 75%) 为 3 分,以阳性细胞百分比 $\geq 75\%$ 为 4 分;②细胞着色强度:以阴性(-)为 0 分,以弱阳性(+)为 1 分,以中阳性(++)为 2 分,以强阳性(+++)为 3 分。两项得分相乘为评分结果:以阴性(-)为 0 分至 2 分,以弱阳性(+)为 3 分至 5 分,以中阳性(++)为 6 分至 8 分,以强阳性(+++)为 9 分至 12 分。

1.4 统计学分析 所用统计学软件为 SpSS21.0。计量资料采用 t 检验,以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示;计数资料以 χ^2 检验,以率(%)表示。三组之间比较采用 F 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2. 结果

2.1 三组纤溶过程中血 NF-KB p65 表达特点 入院时,观察组血 NF-KB p65 表达阳性率为 98.39%

(61/62), 参考组为 67.74% (42/62), 对照组为 9.68% (6/62)。观察组高于参考组 ($\chi^2=6.023, P<0.05$)、对照组 ($\chi^2=11.276, P<0.05$), 参考组高于对照组 ($\chi^2=9.120, P<0.05$), 差异均有统计学意义。

治疗 1 周后, 观察组血 NF-KB p65 表达阳性率为 11.29% (7/62), 参考组为 9.68% (6/62), 对照组为 9.68% (6/62)。观察组与参考组相比 ($\chi^2=0.206, P>0.05$); 与对照组相比 ($\chi^2=0.206, P>0.05$);

$P>0.05$); 参考组与对照组相比 ($\chi^2=0.062, P>0.05$), 差异均无统计学意义。

2.2 三组凝血功能指标比较 见表 1。入院时, 观察组 FIB 低于参考组、对照组, 参考组 FIB 低于对照组; 观察组 PT, APTT, TT 高于参考组、对照组, 参考组 PT, APTT, TT 高于对照组, 差异均具有统计学意义 ($P<0.05$)。治疗 1 周后, 三组 FIB, PT, APTT, TT 对比, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 1 三组凝血功能比较 (n=62)

项目	对照组	参考组	观察组	参考组 vs 对照组		观察组 vs 参考组		
				F	P	F	P	
入院时	FIB (g/L)	2.03	1.22	0.53	3.26	0.0015	3.55	0.0010
	PT (s)	11.05	14.18	18.26	4.012	0.0023	4.088	0.0019
	APTT (s)	25.5	30.9	44.5	4.595	0.0021	4.753	0.0001
	TT (s)	12.6	16.7	20.8	4.280	0.0043	4.464	0.0037
治疗 1 周后	FIB (g/L)	2.03	2.02	1.99	0.033	0.1522	0.035	0.1423
	PT (s)	11.05	11.76	11.82	0.042	0.1342	0.043	0.1338
	APTT (s)	25.5	25.6	25.8	0.057	0.1632	0.059	0.1526
	TT (s)	12.6	12.5	12.8	0.043	0.1352	0.044	0.1351

3 讨论

3.1 血 NF-KB p65 表达特点 血 NF-KB p65 即核因子 KB p65, 该物质最早为大卫·巴尔提莫发现, 核因子 KB 是一个蛋白家族, 与 B 细胞 k- 轻链增强子进行选择结合, 实现很多基因的呈现、表达^[7]。在此前生物实验中, 技术人员在动物细胞中发现 NF-KB, 其典型的表达特征为随外界刺激增加而加强, 二者呈现为典型的正相关^[8]。实验过程中, 技术人员以细胞因子、辐射、重金属、病毒等不同类型的元素进行模拟, 当细胞分子的刺激加强后, 大鼠体内血 KB p65 阳性率由 0.6% 上升至 93%; 当辐射刺激加强时, 大鼠体内的血 KB p65 阳性率由 0.6% 上升至 98%; 当重金属刺激加强时, 大鼠体内血 KB p65 阳性率由 0.6% 上升至 96%; 当病毒刺激加强时, 大鼠体内的血 KB p65 阳性率由 0.6% 上升至 27%, 并在之后的 2 天内达到 99%, 有分析认为血 KB p65 阳性率与外界刺激的强弱程度直接相关, 相关刺激对机体的影响决定血 KB p65 表达结果, 一般规律为外界刺激越强, 血 KB p65 的表达阳性率越强^[8]。还有, 在细胞的炎症反应、免疫应答等过程中, 血 KB p65 也具有重要作用, 其错误调节可能导致疾病加重^[9]。

3.2 创伤性湿肺并发 ARDS 患者血 NF-KB p65 表达、纤溶的变化 纤溶即纤维蛋白溶解, 机体内血液在凝固的过程中, 可形成纤维蛋白, 其形成与纤维蛋白原数目的活力存在相关性, 当血液凝固为血栓或进入高凝状态下时, 又可能重新溶解, 这一过

程即为纤溶。机体内纤维蛋白一般可维持在一个稳定水平, 过高、过低均可能导致机体血液流动情况异常, 如纤维蛋白溶解亢进, 会导致流血不止; 反之可能形成血栓。本研究中, 观察组纤维蛋白原含量低于参考组、对照组, 可能原因: 观察组创伤性湿肺并发 ARDS 患者纤溶多属于继发性纤溶亢进, 即凝血酶亢进继发的纤溶酶亢进, 患者出现血凝块、高凝状态后, 纤维蛋白开始降解, 产生 D- 二聚体等物导致凝血指标出现异常, 包括纤维蛋白原含量、凝血酶原时间、活化部分凝血活酶时间、凝血酶时间等变化。影响创伤性湿肺并发 ARDS 患者纤溶的因素包括治疗因素、机体免疫应答因素、并发症因素等, 其中机体免疫应答与血 NF-KB p65 表达具有显著关联^[10]。

而创伤性湿肺并发 ARDS 患者纤溶发生变化, 带有一定的规律性, 又存在个体差异, 进一步分析则发现: 在纤溶过程中, 三组患者血 NF-KB p65 的表达并不相同, 患者病情越严重, 其纤溶的情况变化越明显。可能由于创伤性湿肺并发 ARDS 患者在严重疾病过程中出现肺外或肺内继发急性渗透性肺水肿和进行性缺氧性呼吸衰竭, 还有肺组织损伤的病理和功能改变。而未并发 ARDS 的患者仅受到创伤因素影响, 加上轻微肺部损伤患者创伤较轻, 故这两组患者的创伤很难对肺组织病理和功能产生较大影响。对于观察组和参考组患者, 此时机体可出现血 NF-KB p65 表达变化, 基本规律为血 NF-KB p65 升高, 但随着积极的治疗, 1 周后观察组和参

考组患者血 NF-KB p65, 凝血功能、纤维蛋白原含量恢复正常水平。

3.3 血 NF-KB p65 表达对创伤性湿肺并发 ARDS 患者纤溶的影响机理 创伤性湿肺并发 ARDS 患者纤溶受到影响, 其中相当一部分创伤组织细胞参与炎症反应、急性排斥反应、细胞增生及凋亡等病理过程。上述过程又会引发一些机体病理改变或者单纯的生理变化, 典型变化之一是血 NF-KB p65 表达的异常。如患者体内的免疫系统受到外界刺激进行免疫应答, 其巨噬细胞、中性粒细胞可能在各类免疫因子的影响下出现基因转录, 表达为 i NOS 等, 导致机体持续产生生理变化。创伤性湿肺并发 ARDS 患者体细胞活力并非完全丧失, 当这种基因转录无法得到控制, 可能导致一些内源性的病理变化, 使血 NF-KB p65 参与到疾病进程中, 加剧患者病情^[11]。在本文对比研究中发现, 创伤性湿肺并发 ARDS 患者血 NF-KB p65 表达会随着病情加剧而上升, 阳性率接近 100%。

本研究, 当肺部组织功能因创伤出现下降后, 组织内的血液循环首先出现异常, 随着病情变化对机体产生负面影响, 如严重缺血的组织可能在短时间内坏死, 在此过程中, 患者体内的血 NF-KB p65 活力始终处于增强状态, 且不断活化, 缺血位置也可促进血 NF-KB p65 表达增强。而纤维蛋白持续溶解与此相关, 血 NF-KB p65 表达水平的持续增加, 是该物质与 B 细胞 k- 轻链增强子进行选择结合, 表现为其表达水平越高, 相关结合的速率越快, 纤维蛋白的溶解速度也越快。另外, 肺部组织细胞本身处于持续分裂状态中, 正常情况下, 所有体细胞均处于平衡状态, 血液的抗凝、凝结和纤溶过程是稳定的。而患者发生创伤性湿肺并发 ARDS, 其尚有活力的体细胞依然在增殖, 但血氧供应已不足, 血 NF-KB p65 大量结合 B 细胞 k- 轻链增强子, 包括纤维蛋白的溶解在内, 机体基因转录等活动均受到影响, 并发生纤溶功能紊乱, 使患者病情加重。如患者仅患创伤性湿肺、无 ARDS 病情, 其体内血 NF-KB p65 表达水平可维持在一个较低的状态, 凝血功能虽然出现变化, 但病理变化相对较轻。而在接受有效治疗后, 上述病情变化得到控制, 患者血 NF-KB p65 表达、纤维蛋白原含量和凝血功能均可恢复。

此外, 在创伤的刺激下, 创伤性湿肺并发 ARDS 患者可能细胞外基质功能明显下降, 肺部细胞的电荷评估功能衰退, 血 NF-KB p65 等物质生物活性增加, 并通过细胞壁渗透到血管中、组织中, 血 NF-KB p65 的表达也因此增强^[13-16]。本研究中, 三组患者血 NF-KB p65 与纤溶情况基本符合上述特

点, 患者病情越重, 纤溶过程中血 NF-KB p65 阳性率越高。

综上所述, 创伤性湿肺并发 ARDS 患者, 具有血 NF-KB p65 表达升高、纤维蛋白原含量下降、凝血功能异常的特征。血 NF-KB p65 表达可作为评析患者肺部疾病进展和危重程度的可靠指标。

参考文献:

- [1] 梁盛辉. 收治创伤性湿肺 98 例临床分析 [J]. 现代医学与健康研究, 2018,2(17):162,164.
LIANG Shenghui. Clinical analysis of 98 cases of traumatic wet lung [J]. Modern Medicine and Health Research, 2018,2 (17): 162, 164
- [2] 郭伟. 机械通气治疗胸部外伤并发创伤性湿肺的临床分析 [J]. 中外医学研究, 2018, 16 (19): 163-164.
GUO Wei. Clinical analysis of mechanical ventilation in the treatment of thoracic trauma complicated with traumatic wet lung [J]. Chinese and Foreign Medical Research, 2018,16 (19): 163-164
- [3] 王赞. 创伤性湿肺 67 例诊疗分析 [J]. 中国城乡企业卫生, 2015, 30 (3): 173-174.
WANG Yun. Diagnosis and treatment of 67 cases of traumatic wet lung [J]. Chinese Journal of Urban and Rural Enterprise Hygiene, 2015,30 (3): 173-174
- [4] 王朋妹, 张忠伟, 申丽华, 等. sCD163 在急性呼吸窘迫综合征中的预后评估价值 (英文) [J]. 复旦学报 (医学版), 2018, 45 (1): 22-33.
WANG Pengmei, ZHANG Zhongwei, SHEN Lihua, et al. The prognostic value of sCD163 in patients with acute respiratory distress syndrome (English) [J]. Fudan University Journal of Medical Sciences, 2018, 45 (1): 22-33.
- [5] 王世祥. 创伤性湿肺 35 例诊治的临床分析 [J]. 实用医技杂志, 2015, 22 (6): 639-640.
WANG Shixiang. Clinical analysis of 35 cases of traumatic wet lung [J]. Journal of Practical Medical Techniques, 2015,22 (6): 639-640
- [6] 吴安琪, 侯伟, 孟玲玲, 等. ALI/ARDS 患者使用保护性通气策略对于肺部损伤的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2018, 18 (11): 2194-2196.
WU Anqi, HOU Wei, MENG Lingling, et al. The influence of lung damage by using protective ventilation strategy for ALI/ARDS patients [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2018, 18 (11): 2194-2196.
- [7] 王解, 蔺萍, 王润和. NF-KB p65 蛋白在皮肤鳞状细胞癌中的表达及临床意义 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 27 (7): 795-797.
WANG Jie, LIN Ping, WANG Runhe. Expression and clinical significance of NF-KB p65 protein in cutaneous squamous cell carcinoma [J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2019,27 (7): 795-797
- [8] 黄德辉, 何炳华, 郭庆聪, 等. 依达拉奉对行单侧通气开胸手术患者血气指标及炎症因子、氧化应激水平的影响 [J]. 山东医药, 2018, 58 (6): 76-78.
HUANG Dehui, HE Binghua, GUO Qingcong, et al. Effect of edaravone on blood gas index, inflammatory factors and oxidative stress level in patients undergoing unilateral ventilation thoracotomy [J]. Shandong Medical Journal, 2018, 58 (6): 76-78.

(下转 64 页)