

慢性阻塞性肺病患者血清 LCN1 和 LCN2 的表达水平及临床意义*

邱淑佳 (上海同济大学附属杨浦医院呼吸内科, 上海 200090)

摘要:目的 探讨慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者血清脂质运载蛋白1(LCN1)、脂质运载蛋白2(LCN2)的表达水平及临床意义。**方法** 选取2015年5月~2017年4月上海同济大学附属杨浦医院收治的COPD患者93例,其中急性加重期53例设为加重期组,稳定期40例设为稳定期组。另选取在该院同期行健康体检者40例作为对照组。分别采用酶联免疫试剂盒检测LCN1,LCN2和高敏C反应蛋白(hs-CRP),分析LCN1,LCN2与临床资料的相关性。**结果** 加重期组、稳定期组及正常对照组年龄、性别、BMI相比差异无统计学意义($F/\chi^2=1.599\sim2.028$,均 $P>0.05$),加重期组hs-CRP,中性粒细胞,白细胞计数均显著升高,FEV1/FVC,FEV1% pred及 PaO_2 均显著降低($F=64.942\sim481.808$,均 $P<0.05$)。加重期组血清中LCN1,LCN2表达水平明显高于稳定期组($t=19.088,18.904$,均 $P<0.05$)。COPD患者血清中LCN1,LCN2水平与年龄、性别、BMI无显著相关性($r=0.010\sim0.161$, $P>0.05$),与hs-CRP,中性粒细胞百分比、白细胞计数呈显著的正相关性($r=0.418\sim0.712$,均 $P<0.05$),与FEV1/FVC,FEV1% pred及 PaO_2 呈明显负相关性($r=-0.482\sim-0.782$,均 $P<0.05$)。多元线性回归分析,hs-CRP,中性粒细胞、白细胞计数、FEV1/FVC,FEV1% pred均为LCN1和LCN2的独立影响因素($OR=0.329\sim4.035$, $P<0.05$)。**结论** LCN1和LCN2在COPD急性加重患者血清中均呈显著高表达,与COPD急性加重密切相关,推测LCN1和LCN2可能为诊断COPD潜在分子标志物。

关键词:慢性阻塞性肺疾病;脂质运载蛋白;高敏C反应蛋白

中图分类号:R563;R446.112 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2017)06-067-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.06.019

Expression Levels of Serum LCN1 and LCN2 in Patients with Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Its Clinical Significance

QIU Shu-jia (Department of Respiratory Medicine, Shanghai Yangpu Hospital
Affiliated to Tongji University, Shanghai 200090, China)

Abstract: Objective To investigate the expression level of serum LCN1 and LCN2 in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and its clinical significance. **Methods** From May 2015 to April 2017 in Shanghai Yangpu Hospital Affiliated to Tongji University 93 cases with chronic obstructive pulmonary disease were collected as the research object, the acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in 53 patients, was as the exacerbation group, and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in 40 patients, was as stable group. Another 40 cases were selected to hospital for physical examination, volunteers were set as normal control group. Venous blood was collected, patients sera by ELISA kit for detection of LCN1, LCN2 and high sensitive C reactive protein (hs-CRP), correlation analysis between LCN1, LCN2 and clinical parameters of patients respectively. **Results** The exacerbation group, stable group and normal control group with age, gender, BMI had no significant difference ($F/\chi^2=1.599\sim2.028$, all $P>0.05$). In the exacerbation group, the expression of hs-CRP, neutrophil percentage, and white blood cell count were significantly increased, but FEV1/FVC, FEV1% pred and PaO_2 were significantly decreased ($F=64.942\sim481.808$, all $P<0.05$). The serum levels of LCN1 and LCN2 in the exacerbation group were significantly higher than those in the stable group ($t=19.088, 18.904$, all $P<0.05$). The expression of LCN1, LCN2 in serum of COPD patients with age, sex, BMI had no significant correlation ($r=0.010\sim0.161$, all $P>0.05$), it showed a significant positive correlation with hs-CRP, neutrophil percentage, white blood cell count ($r=0.418\sim0.712$, all $P<0.05$), and there was a negative correlation with FEV1/FVC, FEV1% pred and PaO_2 ($r=-0.482\sim-0.782$, $P<0.05$). Multiple linear regression analysis showed that the percentage of hs-CRP, the percentage of neutrophils, WBC count, and FEV1/FVC, FEV1% pred were independent factors of LCN1, LCN2 ($OR=0.329\sim4.035$, $P<0.05$). **Conclusion** Both LCN1 and LCN2 are highly expressed in serum of patients with COPD, and the expression of LCN1 and LCN2 was closely related to the acute attack of COPD. It would be speculated that LCN1 and LCN2 may be potential molecular marker for the diagnosis of acute exacerbation of COPD.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease; lipocalin; hypersensitive C-reactive protein (hs-CRP)

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种呼吸道炎症性疾

* 作者简介:邱淑佳(1982—),女,本科,主要从事慢性阻塞性肺疾病、肺部感染、阻塞性睡眠呼吸暂停综合症的诊治,E-mail:2908576901@qq.com.

病,其主要特征为不完全可逆的气流受限。COPD 具有较高发病率与致死率,据报道此种疾病已经成为全球第四位致死病因^[1]。COPD 主要集中在中老年人群,不仅对患者身心健康带来极大的影响,同时也给患者家庭及社会造成巨大的经济负担^[2]。COPD 是以炎症为核心,由多种因素构成的疾病。近期有关学者提出^[3~5],脂质运载蛋白(lipocalin, LCN)能够间接导致肺组织基质降解增加,造成肺组织结构重塑,进而导致 COPD 患者气道受损气流受限加剧,因此其认为 LCN 可能是造成肺气肿和发生气道重塑的关键因素。本研究通过进一步探讨 COPD 患者血清中 LCN1,LCN2 的表达水平及与临床指标的关系,试图为临床诊断及治疗提供新的生物学指标。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2015 年 5 月~2017 年 4 月上海同济大学附属杨浦医院收治的 COPD 患者 93 例,所有患者均符合中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组发布的慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)^[6],并根据其指南将本组患者分为急性加重期和稳定期,其中急性加重期 53 例(加重期组),稳定期患者 40 例(稳定期组)。所有患者均排除并发支气管扩张、肿瘤以及肝肾功能障碍、免疫系统疾病,20 天内有使用过抗菌药物;急性发作期病程大于 3 天的患者。另选取在我院同期进行健康体检志愿者 40 例作为正常对照组。男性 25 例,女性 15 例,年龄 43~72 岁,平均年龄 54.68±7.24 岁。本组受试者经全面检查无心、肝、肾等疾病,近 2 周无急性感染,无慢性咳嗽、咳痰及气短史。本研究已取得我院伦理委员会批准同意。

1.2 试剂与仪器 LCN1 检测试剂盒购自上海康朗生物科技有限公司,货号:k1B706Hu。LCN2 检测试剂盒购自齐一生物科技(上海)有限公司,货号:QY-H11049。DxH800 血液分析仪与全自动生

化免疫分析仪购自贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司。ABL80 血气分析仪购自雷度米特医疗设备(上海)有限公司。MasterScreen™ PFT System 肺功能仪购自上海耶格医疗器械有限公司。

1.3 方法

1.3.1 血清 LCN1,LCN2 表达水平检测:采集患者入院 24 h 内及治疗稳定后清晨空腹状态下的静脉血,4℃ 条件下静置 2 h。4℃ 条件下,4 500 r/min 离心 10 min,收集上清,于-80℃ 条件下保存备用。分别利用 LCN1 检测试剂盒和 LCN2 检测试剂盒对采集的血清中 LCN1,LCN2 表达水平进行检测。

1.3.2 临床指标检测:测定患者身高体重计算体重指数((body mass index,BMI);采用 ABL80 血气分析仪检测患者入院时空腹状态呼吸的桡动脉血中动脉血氧分压(partial pressure of oxygen, PaO₂);用 DxH800 血液分析仪检查患者入院 24 h 内及治疗稳定后清晨空腹状态下采集的静脉血中白细胞计数与中性粒细胞百分比。利用超敏 C 反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein, hs-CRP)检测试剂盒检测血清中 hs-CRP 表达水平。利用 MasterScreen™ PFT System 肺功能仪检测第 1 秒用力呼气容积(forced expiratory volume in one second,FEV1),用力肺活量(forced vital capacity,FVC),计算 FEV1/FVC,根据患者年龄、体重及身高计算 FEV1% pred^[7]。

1.4 统计学分析 采用 SPSS20.0 统计软件进行分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间行方差分析,两组间进行 *t* 检验。计数资料采用百分数表示,采用卡方检验。利用 Pearson 检验及多元线性回归分析进行相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组临床资料比较 见表 1。

表 1 两组临床资料比较($\bar{x} \pm s$)

指 标	加重期组(<i>n</i> =53)	稳定期组(<i>n</i> =40)	正常对照组(<i>n</i> =40)	F/χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)	57.41±11.32	53.95±3.16	54.96±4.79	2.028	0.137
性别(男/女)	32/21	25/15	25/15	0.384	0.825
BMI 指数	24.65±3.63	23.43±3.30	23.79±1.92	1.599	0.207
hs-CRP(mg/L)	14.06±2.76* [#]	5.34±0.72*	3.16±0.84	294.837	0.000
中性粒细胞百分比(%)	82.03±5.29* [#]	73.36±3.28*	70.67±2.91	64.942	0.000
白细胞计数($\times 10^9/L$)	9.89±0.83* [#]	6.89±0.39*	4.63±0.66	448.395	0.000
FEV1/FVC(%)	59.14±3.26* [#]	73.03±5.19*	86.09±3.22	302.729	0.000
FEV1% pred	41.14±5.20* [#]	71.03±7.19*	84.03±2.18	481.808	0.000
PaO ₂ (mmHg)	72.38±7.19* [#]	89.18±4.28*	93.41±3.14	131.896	0.000

注:*与正常对照组相比, $P < 0.05$;[#]与稳定期组相比, $P < 0.05$ 。

各组患者年龄、性别、BMI 相比差异无统计学意义($F=0.137\sim 0.825$, 均 $P>0.05$)。与正常对照组相比,加重期组和稳定期组患者 hs-CRP,中性粒细胞百分比,白细胞计数均显著升高($t=3.245\sim 10.654$, 均 $P<0.05$),加重期组和稳定期组患者 FEV1/FVC, FEV1% pred 及 PaO₂ 均显著降低($t=4.032\sim 11.698$, 均 $P<0.05$)。

表2 各组血清 LCN1, LCN2 水平比较

组别	加重期组($n=53$)	稳定期组($n=40$)	正常对照组($n=40$)	F	P
LCN1	132.09±16.16 [*] #	71.02±14.01 [*]	21.71±5.08	408.282	0.000
LCN2	148.62±17.67 [*] #	82.53±15.29 [*]	13.79±4.01	688.911	0.000

注: * 与正常对照组相比, $P<0.05$; # 与稳定期组相比, $P<0.05$ 。

2.3 LCN1, LCN2 与 COPD 临床资料的相关性

见表3。COPD 患者血清中 LCN1, LCN2 表达与年龄、性别、BMI 无明显相关性($r=0.010\sim 0.161$, 均 $P>0.05$), 与 hs-CRP, 中性粒细胞百分比、白细胞计数呈显著的正相关性($r=0.418\sim 0.712$, 均 $P<0.05$), 与 FEV1/FVC, FEV1% pred 及 PaO₂ 呈明显负相关性($r=-0.482\sim -0.782$, 均 $P<0.05$)。

2.4 影响 COPD 患者 LCN1, LCN2 的因素分析

见表4。多元线性回归分析显示, hs-CRP, 中性粒细胞百分比、白细胞计数、FEV1/FVC, FEV1% pred 为 LCN1, LCN2 的独立影响因素(OR = 0.329~4.035, $P<0.05$)。

2.2 两组患者血清 LCN1 和 LCN2 水平比较 见表2。与正常对照组比较,加重期组和稳定期组血清中 LCN1, LCN2 水平均显著升高, 差异有统计学意义($t=7.625\sim 20.698$, 均 $P<0.05$), 且加重期组 LCN1, LCN2 水平显著高于稳定期组, 差异有统计学意义($t=19.088, 18.904$, 均 $P<0.05$)。

表3 LCN1, LCN2 与各临床参数相关性分析结果

指标	LCN1		LCN2	
	r	P	r	P
年龄	0.123	0.461	0.034	0.876
性别	0.161	0.373	0.010	0.993
BMI	0.152	0.391	0.052	0.592
hs-CRP	0.418	0.038	0.428	0.027
中性粒细胞百分比	0.579	0.029	0.679	0.009
白细胞计数	0.683	0.003	0.712	0.002
FEV1/FVC	-0.482	0.036	-0.496	0.023
FEV1% pred	-0.593	0.021	-0.623	0.011
PaO ₂	-0.628	0.005	-0.782	0.001

表4 影响 COPD 患者 LCN1, LCN2 多元线性回归分析结果

变量	LCN1						LCN2					
	β	SE	Wald 值	P	95%CI	OR 值	β	SE	Wald 值	P	95%CI	OR 值
hs-CRP	0.975	0.060	3.076	0.003	2.667~7.780	3.256	0.378	0.082	5.076	0.000	1.667~4.783	2.034
中性粒细胞百分比	0.245	0.125	2.564	0.013	1.047~3.690	2.043	0.298	0.119	1.664	0.011	2.247~6.692	4.035
白细胞计数	0.233	0.180	2.483	0.019	1.120~4.735	2.369	0.319	0.178	2.483	0.003	2.120~7.735	3.562
FEV1/FVC	-0.097	0.042	4.261	0.000	0.053~0.786	0.465	-0.078	0.054	4.261	0.000	0.213~0.986	0.618
FEV1% pred	-1.650	0.074	3.014	0.000	0.431~0.747	0.329	-1.892	0.067	3.014	0.000	0.331~0.847	0.556
PaO ₂	-0.086	0.052	0.452	0.619	0.534~1.071	0.985	-0.068	0.037	0.252	0.819	0.234~1.071	0.796

3 讨论 目前关于慢性阻塞性肺疾病(COPD)发病机制尚不清楚,临床尚未出现特效的治疗药物,急性加重是导致死亡率居高不下的主要原因^[8,9]。因此,寻找能够及早对患者做出准确诊断的分子标志物成为目前迫切的需要。目前有少数的分子标志物已经被证实,IL-6, IL-8, CRP 和 TNF- α 等蛋白表达量的升高与 COPD 急性加重密切相关^[10,11]。其中 CRP 是急性时相反应蛋白,目前已有多项证明其在反映 COPD 急性加重期细菌感染严重程度具有显著的效果,同时也是判断疗效的敏

感指标。TNF- α 是由活化后单核巨噬细胞产生,其异常升高将导致内皮细胞形成,进而造成 IL-6 等炎症介质释放。有学者研究显示^[12], COPD 患者 IL-6, IL-8, CRP 和 TNF- α 水平明显高于对照组,急性加重期明显高于稳定期,其认为上述炎症因子均参与 COPD 发病及发展过程。本研究结果显示,加重期组及稳定期组患者 hs-CRP 表达量,中性粒细胞百分比、白细胞计数均显著升高,而 FEV1/FVC, FEV1% pred 及 PaO₂ 均显著降低;与稳定期组患者相比,加重期组患者 FEV1/FVC,

FEV1% pred 及 PaO₂ 均显著降低,此结果也说明 CRP, IL-6 等炎症因子不仅能够直接反映 COPD 炎症情况,同时也能评估 COPD 的严重程度以及指导治疗和判断预后。但是为能够更加精准的判断 COPD 急性加重,目前仍需要大量的分子标志物来共同辅助判断。

脂质运载蛋白(LCNs)是一类胞外小分子蛋白,广泛存在于生物界,目前已被鉴定的脂质运载蛋白种类多达 40 余种。脂质运载蛋白是一个蛋白家族,其主要参与将激素和脂类物质转运至细胞的过程^[13]。最近研究发现,LCNs 还具有介导呼吸道炎症的作用。其中,LCN1 和 LCN2 目前已被证实肺部感染等疾病中发挥着一定的作用^[14]。LCN1 主要表达于泪液、唾液及呼吸道腺体中,另外在支气管肺泡灌洗液和痰中也检测到 LCN1 的表达^[15]。本研究结果显示,LCN 随着 COPD 疾病严重程度增加而呈现增加的趋势,且与 hs-CRP,中性粒细胞百分比、白细胞计数以及肺功能指标具有显著的相关性。多元线性回归分析显示,hs-CRP,中性粒细胞百分比、白细胞计数、FEV1/FVC, FEV1% pred 为 LCN1 的独立影响因素。推测 LCN1 可能为诊断 COPD 急性加重期潜在分子标志物。

LCN2 具有多种生理功能,例如诱导细胞凋亡、腺体的退化等。LCN2 广泛存在于呼吸道、肾脏、消化道等多种组织中,正常条件下 LCN2 通常表现为低表达,在炎症等情况下表现为高表达^[16]。曾皋等^[17]针对小鼠肺炎性病理损伤研究发现,相比肺炎性病理损伤小鼠中 LCN2 表达水平较对照组明显升高,且随着损伤的加重,表达量也逐渐增加,提示 LCN2 表达水平与肺组织炎性病理损伤程度有一定程度关联。本研究结果显示,LCN 随着 COPD 疾病严重程度增加而呈现增加的趋势; LCN2 与 hs-CRP,中性粒细胞百分比、白细胞计数及肺功能指标也具有显著的相关性,推测可能由于 LCNs 主要是由中性粒细胞分泌产生,而中性粒细胞的活化和聚集是导致 COPD 发生的重要环节,因此 LCNs 可在一定程度上反映中性粒细胞的活性,同时也说明 COPD 患者中性粒细胞处于激活状态,因此认为 LCNs 可以作为 COPD 的判断标准之一。多元线性回归分析显示,hs-CRP,中性粒细胞百分比、白细胞计数、FEV1/FVC, FEV1% pred 为 LCN2 的独立影响因素。推测,LCN2 可能为诊断 COPD 急性加重期潜在分子标志物。

综上所述,LCN1 和 LCN2 在 COPD 患者血清中均呈显著高表达,与 COPD 急性加重密切相关,推测 LCN1 和 LCN2 可能为诊断 COPD 急性加重

期潜在分子标志物,其具体机制还有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Chung SM, Lee SY. Evaluation of appropriate management of chronic obstructive pulmonary disease in Korea: based on health insurance review and assessment service (HIRA) claims[J]. Tuberculosis & Respiratory Diseases, 2017, 80(3): 241-246.
- [2] Castillo A, Edriss H, Selvan K, et al. Characteristics of patients with congestive heart failure or chronic obstructive pulmonary disease readmissions within 30 days following an acute exacerbation[J]. Qual Manag Health Care, 2017, 26(3): 152-159.
- [3] Mishra J, Dent C, Tarabishi R, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery[J]. The Lancet, 2005, 365(9466): 1231-1238.
- [4] Haase M, Bellomo R, Devarajan P, et al. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis[J]. American Journal of Kidney Diseases, 2009, 54(6): 1012-1024.
- [5] Shemin D, Dworkin LD. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for early acute kidney injury[J]. Critical Care Clinics, 2011, 27(2): 379-389.
- [6] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2013, 36(4): 255-264. Chronic obstructive pulmonary disease group of respiratory diseases branch of Chinese Medical Association. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic obstructive pulmonary disease (Revised Edition 2013) [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2013, 36(4): 255-264.
- [7] 陈学昂, 李素云, 王明航, 等. 影响慢性阻塞性肺疾病急性加重住院患者预后的因素分析[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(6): 1358-1361. Chen XA, Li SY, Wang MH, et al. Factors analysis of prognosis on acute exacerbation chronic obstructive pulmonary disease[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2017, 35(6): 1358-1361.
- [8] 江雁琼, 张艳玲, 贺端明, 等. 肝素结合蛋白与 1, 25-(OH)₂ D₃ 在慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者血清中的表达水平及临床意义[J]. 广州医科大学学报, 2016, 44(2): 18-21.

(下转 73 页)

- Jiang YQ, Zhang YL, He DM, et al. Serum expression levels and clinical significance of heparin binding protein and 1,25-(OH)₂D₃ in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Academic Journal of Guangzhou Medical University, 2016, 44(2): 18-21.
- [9] Cazzola M, Calzetta L, Rinaldi B, et al. Management of chronic obstructive pulmonary disease in patients with cardiovascular diseases[J]. *Drugs*, 2017, 77(7): 721-732.
- [10] 谢圆媛, 杨丹芬. 老年 COPD 患者外周血单核细胞 TLR2, TLR4 的表达及其与炎症因子的关系研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2015, 30(4): 80-83, 86.
- Xie YY, Yang DF. Study on the expressions of TLR2, TLR4 in peripheral blood mononuclear cells and its correlation with the inflammatory factors levels of the elderly patients with COPD[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2015, 30(4): 80-83, 86.
- [11] Celli BR, Locantore N, Yates J, et al. Inflammatory biomarkers improve clinical prediction of mortality in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*, 2012, 185(10): 1065-1072.
- [12] 杜海莲, 岳红梅. 慢性阻塞性肺疾病患者血清 IL-17, IL-6, IL-8, CRP, TNF- α 的变化及其相关性[J]. *昆明医科大学学报*, 2015, 36(9): 95-97.
- Du HL, Yue HM. The Changes and correlation of serum IL-17, IL-6, IL-8, CRP and TNF- α of patients with chronic obstructive pulmonary diseases[J]. *Journal of Kunming Medical University*, 2015, 36(9): 95-97.
- [13] Kim H, Hur M, Lee S, et al. Proenkephalin, neutrophil gelatinase-associated lipocalin, and estimated glomerular filtration rates in patients with sepsis[J]. *Annals of Laboratory Medicine*, 2017, 37(5): 388-397.
- [14] Dittrich AM, Meyer HA, Hamelmann E. The role of lipocalins in airway disease[J]. *Clinical & Experimental Allergy*, 2013, 43(5): 503-511.
- [15] Nicholas BL, Skipp P, Barton S, et al. Identification of lipocalin and apolipoprotein A1 as biomarkers of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*, 2010, 181(10): 1049-1060.
- [16] Asimakopoulou A, Borkham-Kamphorst E, de Leur EV, et al. Data on lipocalin 2 and phosphatidylinositol 3-kinase signaling in a methionine- and choline-deficient model of non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Data in Brief*, 2017, 13(1): 644-649.
- [17] 曾 皋, 刘安雷, 刘 洁, 等. 脂多糖诱导小鼠急性肺损伤与脂钙蛋白 2 表达[J]. *中国急救医学*, 2014, 34(1): 57-61.
- Zeng G, Liu AL, Liu J, et al. The correlation between acute lung injury and the expression of lipocalin 2 in mice challenged by lipopolysaccharide[J]. *Chinese Journal of Critical Care Medicine*, 2014, 34(1): 57-61.