

参附注射液对窒息法心脏骤停动物模型 复苏后肺损伤的影响

杨 军 李春盛 吴彩军 杭晨晨

摘要 目的 通过猪心脏骤停窒息模型探讨参附注射液对此类肺损伤保护作用的可能机制。**方法** 34 只健康近交系五指山小型猪使用气管插管夹闭方法制作窒息型心脏骤停动物模型及行标准的心肺复苏术,其中 18 只成功恢复自主循环(return of spontaneous circulation, ROSC),使用随机数字表法分为两组:参附组($n=9$):于 ROSC 后即刻以参附注射液 0.24 mg/min 的剂量持续静脉泵入直至复苏后 6 h;盐水组($n=9$):于 ROSC 后即刻持续静脉泵入相同剂量及速度的生理盐水直至复苏后 6 h。通过血气分析仪测量基础状态、ROSC 即刻、ROSC 后 15 min、30 min、1 h、2 h、4 h 及 6 h 的氧代谢及呼吸力学指标[包括:氧合指数(OI)、呼吸指数(RI)、氧输送(DO_2)、氧消耗(VO_2)、氧摄取(O_2ER)、二氧化碳分压($PaCO_2$)及血乳酸(LAC),并监测同一时刻动物的肺顺应性(Cdyn)、气道阻力(Raw)、血管外肺水指数(EVLWI)和肺血管通透性指数(PVPI)];酶联免疫吸附法测定 Na^+-K^+-ATP 酶活性、 $Ca^{2+}-ATP$ 酶活性、SOD 及 MDA 含量、TNF- α 、IFN- γ 和 IL-4 浓度,计算 IFN- γ /IL-4 值;利用 TUNEL 法检测细胞凋亡并计算凋亡指数(AI);免疫组织化学法检测 Bcl-2、Bax 蛋白浓度,计算 BAX/BCL-2 值;Western blot 法检测 Caspase-3 蛋白定量。**结果** 至 ROSC 后 6 h,参附组存活率为 88.9%(8/9),盐水组存活率为 66.7%(6/9);参附组平均生存时间(5.77 ± 0.71)h 长于盐水组(4.77 ± 0.59)h,两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。与基础状态比较,两组的 OI 和 Cdyn 在 ROSC 即刻明显降低($P < 0.05$),而 RI、 DO_2 、 VO_2 、 O_2ER 、Raw、EVLWI、PVPI、 $PaCO_2$ 和 LAC 在 ROSC 即刻则显著升高($P < 0.05$),各指标不论升高或降低均随时间延长而恢复;与盐水组比较,参附组在 ROSC 后的各个时间点,OI、Cdyn、 DO_2 、 VO_2 和 O_2ER 显著高于盐水组($P < 0.05$, $P < 0.01$),而 RI、Raw、EVLWI、PVPI、 $PaCO_2$ 和 LAC 则低于盐水组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与盐水组比较,参附组 Na^+-K^+-ATP 酶、 $Ca^{2+}-ATP$ 酶、SOD 水平、IFN- γ 水平、IFN- γ /IL-4 值及 Bcl-2 浓度升高,而 MDA、TNF- α 、IL-4 水平、AI、Bax/Bcl-2 及 Caspase-3 蛋白水平降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 参附注射液能改善细胞能量代谢,提高细胞的抗氧化能力并减少氧化应激,减少炎症介质的释放和并调节 Th1/Th2 的平衡,同时减轻肺组织细胞凋亡,从而实现心肺复苏后肺损伤的保护。

关键词 心脏骤停;心肺复苏;参附注射液;窒息;肺损伤

Protective Effect of Shenfu Injection on Postresuscitation Lung Injury in a Porcine Model of Asphyxia-induced Cardiac Arrest YANG Jun, LI Chun-sheng, WU Cai-jun, and HANG Chen-chen
Department of Emergency, Beijing Chaoyang Hospital, Capital Medical University, Beijing (100020)

ABSTRACT Objective To observe the protective effect of Shenfu Injection (SFI) on post-resuscitation lung injury in a porcine model of asphyxia-induced cardiac arrest. **Methods** Thirty-four anaesthetized Wuzhi Mountain inbred miniature piglets of both sexes were subjected to asphyxia by intubation clipping, followed by standard cardiopulmonary resuscitation. Eighteen successfully resuscitated pigs [with recovery of return of spontaneous circulation (ROSC)] were divided into the SFI group and the normal saline (NS) group according to random digit table, 9 in each group. SFI at 0.24 mg/min was intravenously pumped to piglets in the SFI group immediately from ROSC to 6 h after resuscitation, while NS at 0.24

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81372025)

作者单位:首都医科大学附属北京朝阳医院急诊科(北京 100020)

通讯作者:李春盛, Tel: 010-85231051, E-mail: lichunsheng1962@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.08.0967

mg/min was intravenously pumped to piglets in the NS group immediately from ROSC to 6 h after resuscitation. Oxygen metabolism, respiratory mechanics indices including oxygenation index (OI), respiration index (RI), oxygen delivery (DO_2), oxygen consumption (VO_2), oxygen extraction ratio (O_2ER), $PaCO_2$, lactic acid (LAC) were detected using blood gas analyzer at basic state, immediately after ROSC, 15 and 30 min, 1, 2, 4, and 6 h after ROSC. Dynamic lung compliance (Cdyn), airway resistance (Raw), external vascular lung water index (EVLWI), pulmonary vascular permeability index (PVPI) were monitored at each aforesaid time point. Activities of $Na^+ - K^+ - ATPase$ and $Ca^{2+} - ATPase$, contents of SOD and MDA, concentrations of TNF- α , IFN- γ , and IL-4 were determined using ELISA. IFN- γ /IL-4 ratio was calculated. Cell apoptosis was detected using TUNEL and apoptotic index (AI) calculated. Protein concentrations of Bcl-2 and Bax were detected using immunohistochemical assay, and Bax/Bcl-2 ratio calculated. Caspase-3 protein was quantitatively detected using Western blot. Results The survival rate was 88.9% (8/9) in the SFI group and 66.7% (6/9) in the NS group at 6 h after ROSC. The mean survival time was (5.77 \pm 0.71) h in the SFI group, longer than that in the NS group [(4.77 \pm 0.59)h, $P > 0.05$]. Compared with the basic state, OI and Cdyn obviously decreased immediately after ROSC ($P < 0.05$); RI, DO_2 , VO_2 , O_2ER , Raw, EVLWI, PVPI, $PaCO_2$, and LAC obviously increased immediately after ROSC ($P < 0.05$). All indices were recovered as time went by. Compared with the NS group, OI, Cdyn, DO_2 , VO_2 , and O_2ER at each time points after ROSC were significantly higher in the SFI group than in the NS group ($P < 0.05$, $P < 0.01$); RI, Raw, EVLWI, PVPI, $PaCO_2$, and LAC were significantly lower in the SFI group than in the NS group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the NS group, activities of $Na^+ - K^+ - ATPase$ and $Ca^{2+} - ATPase$, contents of SOD, level of IFN- γ , IFN- γ /IL-4 ratio, concentrations of Bcl-2 increased more; MDA, TNF- α , IL-4 level, AI, Bax/Bcl-2 ratio, Caspase-3 protein level decreased more ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Conclusion SFI could improve cell energy metabolism, enhance antioxidant capacity of cells, reduce the release of inflammatory mediators, regulate the Th1/Th2 balance, and attenuate cell apoptosis of lung tissue, thereby protecting post-resuscitation lung injury.

KEYWORDS cardiac arrest; cardiopulmonary resuscitation; Shenfu Injection; asphyxia; lung injury

心脏骤停与心肺复苏的有关研究已开展 50 余年,虽有一定进展但临床医师仍面临自主循环恢复 (return of spontaneous circulation, ROSC) 后患者存活率低的难题。“心脏骤停后综合征 (post-cardiac arrest syndrome, PCAS)”正是造成这一现象的重要原因。PCAS 是一个极其复杂的病理生理过程,包括在心脏骤停后的脑损伤、心肌损害、缺血/再灌注损伤及原发疾病的损害^[1-3]。心、脑的损害更多的为人们所关注^[2],然而 ROSC 后患者经常出现顽固性的低氧血症甚至急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS),并导致死亡^[1-3],这一现象提示心脏骤停/心肺复苏后肺损伤作为 PCAS 的重要组成部分需要更多的关注^[1]。

中医药是我国文化宝库中的瑰宝,其疗效正越来越多的为国内外同行所关注。参附注射液 (Shen-Fu injection, SFI)^[4] 出自宋代严用和《严氏济生方》中“参附汤”,由人参和附子组成,其主要成分为人参皂苷和乌头碱,用于治疗厥脱症 (休克或心脏骤停) 已有近 800 年历史^[4]。因 SFI 对大脑、脊髓、肾脏、肠道、

肝脏尤其是心脏等器官的缺血/再灌注损伤有着不同程度的保护作用^[5-8],目前在临床多广泛用于创伤、休克及多器官功能障碍等疾病的治疗。

笔者在对室颤致心脏骤停动物模型的研究中发现,参附注射液对肺损伤有明显的保护作用,能改善肺组织缺氧及通气功能,减轻肺水肿及肺瘀血^[4]。因此,笔者通过建立窒息法致心脏骤停的动物模型,进一步研究参附注射液对心肺复苏后肺损伤的保护作用以及可能机制。

材料与方法

1 动物 34 只健康五指山小型猪 (近交系),月龄 12~14 周,体重 (18 \pm 2) kg,雌雄各半,购自中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,许可证号:SYXK (京) 2008-0007。在实验过程中遵循首都医科大学实验室实验动物使用管理规定,并得到首都医科大学实验动物管理委员会及首都医科大学附属北京朝阳医院伦理委员会的批准。

2 药物 参附注射液,有效成分包括人参皂甙

(>0.8 mg/mL)、乌头碱(<0.1 mg/mL)为雅安三九药业有限公司生产,生产批号:090311。

3 试剂及仪器 氯胺酮(1 mg,江苏恒瑞医药股份有限公司,批号:KH20023);丙泊酚(20 mg,阿斯利康公司,批号:ET764);瑞芬太尼(1 mg,宜昌人福药业,批号:061104);呼气末二氧化碳分压探测仪(CO₂SMOplus monitor, PA; Respirationics Inc, Murrysville);呼吸机(Drager Evita 2 dura; Drager, Germany);PiCCO plus (PiCCO-Pulse Contour Cardiac Output, Pulsion Medical Systems, Germany)容量监护仪;连续心排血量监测仪(Edwards Life Sciences, Irvine, CA);生物实验监测系统(BL-420F Data Acquisition & Analysis System);除颤监测仪(Philips HeartStart MRx, 荷兰飞利浦医疗系统公司)。

4 模型制备前准备 实验动物术前 12 h 禁食不禁水。肌注氯胺酮(10 mg/kg),耳缘静脉静注丙泊酚(1.0 mg/kg)以诱导麻醉。随后以丙泊酚[9 mg/(kg·h)]联合芬太尼[1 μg/(kg·h)]维持麻醉及镇痛。经口置入直径 6.5 F 的气管插管接呼吸机及 PA,呼吸机参数设置为同步间歇指令通气(synchronized intermittent mandatory ventilation, SIMV)加压力支持通气(pressure support ventilation, PSV)方式,PSV 10 cm H₂O, FiO₂21%,潮气量 8 mL/kg,通气频率每分钟 12 次,吸呼比值 1:2,通过调节潮气量维持呼气末二氧化碳分压在 35 ~ 40 mmHg 之间,通过呼吸机监测气道阻力和肺顺应性;于右侧股动脉置入直径 5F 的 Outlook 血管造影导管至主动脉弓并连接 PiCCO plus 容量监护仪,以监测动脉血压、平均动脉压、血管外肺水指数、肺血管通透性指数及抽取动脉血;于右侧股静脉置入直径 7F 的 Swan-Ganz 漂浮导管至肺动脉,连接爱德华连续心排血量监测仪,连续监测血流动力学各参数,并作为补液通道及抽取中心静脉血;心电图由生物实验监测系统连续记录;所有导管使用前均经过校正,其位置通过出现典型压力波确定,所有动物给予生理盐水[10 mL/(kg·h)]静脉滴入以补充丢失液体。手术过程中无动物死亡。

5 心脏骤停窒息模型制备 实验动物在术后观察 60 min,待各项生理指标达到稳定状态后记录基础指标。随后予静脉推注维库溴铵 0.2 mg/kg,以防止在窒息过程中出现喘息样动作,在呼气末移除呼吸机并夹闭气管插管,观察实验动物血压变化,以主动脉收缩压低于 30 mmHg 作为窒息型心脏骤停制模成功的判断标准^[9]。制模成功后记录时间,打开夹闭的气管插管,

等待 8 min 后开始人工胸外按压(cardiopulmonary resuscitation, CPR)并连接机械通气(FiO₂ 100%),应用具备 Q-CPR 技术的 Philips HeartStart MRx 除颤监测仪控制心外按压的频率[每分(100 ± 10)次]、按压深度及胸廓回弹,持续按压 2 min 为 1 个循环,每个循环末分析心电波形,若为室颤,则电击除颤(双向指数截断波,4 J/kg)。若在 CPR 4 min 后没有 ROSC,经中心静脉予肾上腺素 0.02 mg/kg 稀释后静推,依次类推直至 ROSC 或复苏失败终点。ROSC 标准:平均动脉压 ≥ 50 mmHg,持续超过 10 min^[10];30 min 后若动物仍未达到 ROSC,则判定为死亡。

6 分组及给药方法 34 只实验动物在制模过程中,死亡 16 只,死亡率 47.1%,18 只(雌雄比例为 11:7)达到 ROSC。成功 ROSC 实验动物应用随机数字表法分为参附组和盐水组,各 9 只。参附组动物从 ROSC 后 15 min 起至 6 h 止,持续静脉滴入参附注射液(0.24 mg/min)^[4,5],盐水组给予相同剂量的生理盐水。所有使用的药物对实验人员保密,以保证所有实验动物机械通气保持一致。ROSC 后 6 h,予以实验动物安乐死:静脉注入 60 mg 丙泊酚深度麻醉后注入 20 mL 氯化钾(10 mmol/L)。

7 检测指标及方法

7.1 氧代谢及呼吸力学指标 收集基础状态、ROSC 即刻、ROSC 后 15 min、30 min、1 h、2 h、4 h 及 6 h 的动脉血和混合静脉血,通过血气分析仪测量/计算氧合指数(OI)、呼吸指数(RI)、氧输送(DO₂)、氧消耗(VO₂)、氧摄取(O₂ER)、二氧化碳分压(PaCO₂)及血乳酸(LAC),并监测同一时刻动物的肺顺应性(Cdyn)、气道阻力(Raw)、血管外肺水指数(EVLWI)和肺血管通透性指数(PVPI)。

7.2 病理检测 动物安乐死后立即分离肺组织并对大体标本照相,取右肺上叶组织用生理盐水冲净后投入 10% 甲醛溶液及 4% 多聚甲醛溶液中浸泡固定 24 h,经脱水、蜡封、切片、苏木素-伊红(HE)染色后,于光镜下观察肺组织病理结构;取新鲜左肺上叶组织放入 2.5% 戊二醛溶液中固定后切成 1 mm × 1 mm × 1 mm 的小块,经冲洗、固定、脱水包埋聚合及切片染色后,使用日立 H-600 透射电镜观察肺组织超微结构。

7.3 Na⁺-K⁺-ATP 酶、Ca²⁺-ATP 酶、SOD、MDA 水平检测 采用酶联免疫吸附测定的方法通过测定 ATP 分解出的磷元素光密度来测定组织内的 Na⁺-K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶活性。酶活性的计算公式:[(样本的光密度 - 对照光密度) × 标准浓度 × 稀释倍数 × 6] / (标准光密度 × 蛋白浓度);利用

酶联免疫吸附测定的方法测定 SOD 及 MDA 含量。

7.4 TNF- α 、IFN- γ 、IL-4 和 IFN- γ /IL-4 检测
利用 ELISA 法检测肺组织 TNF- α 、IFN- γ 和 IL-4 的浓度,通过计算得到 IFN- γ /IL-4 的值。

7.5 AI、BAX、BCL-2 和 BAX/BCL-2 检测 利用 TUNEL 法检测细胞凋亡,光镜下观察细胞核染为棕黄色为凋亡细胞,每例标本的切片随机选取 5 个高倍镜视野($\times 400$),以凋亡细胞数/细胞总数 $\times 100\%$ 表示凋亡指数(apoptotic index, AI);利用免疫组织化学法检测 Bcl-2、Bax 蛋白浓度,通过计算得到 BAX/BCL-2 的值。

7.6 Caspase-3 蛋白表达检测 采用 Western blot 法检测 Caspase-3 蛋白定量。

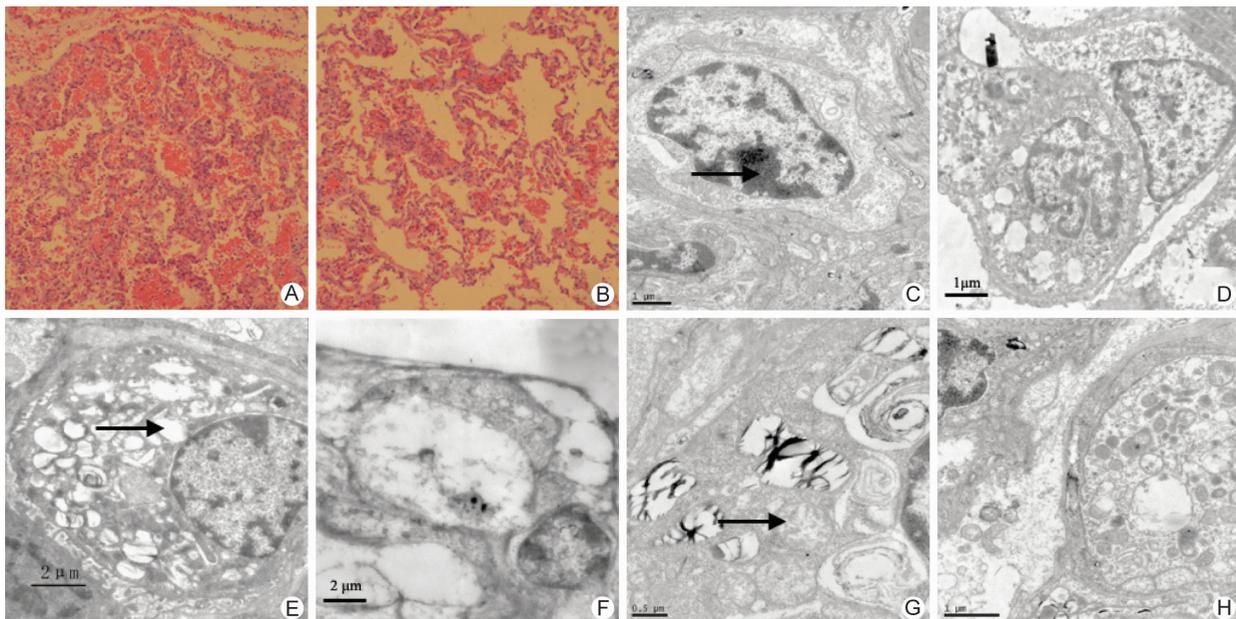
8 统计学方法 采用 SPSS 17.0 进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;组内各时间点的数据比较采用配对 *t* 检验或单因素方差分析,组间连续变量的比较采用 *Student's t* 检验,多重比较采用 *Bonferroni* 方法进行校正;生存曲线分析采用 *Log Rank* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 动物情况 至 ROSC 后 6 h,参附组存活率为 88.9% (8/9),盐水组存活率为 66.7% (6/9);参附组平均生存时间(5.77 ± 0.71)h 长于盐水组(4.77 ± 0.59)h,两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

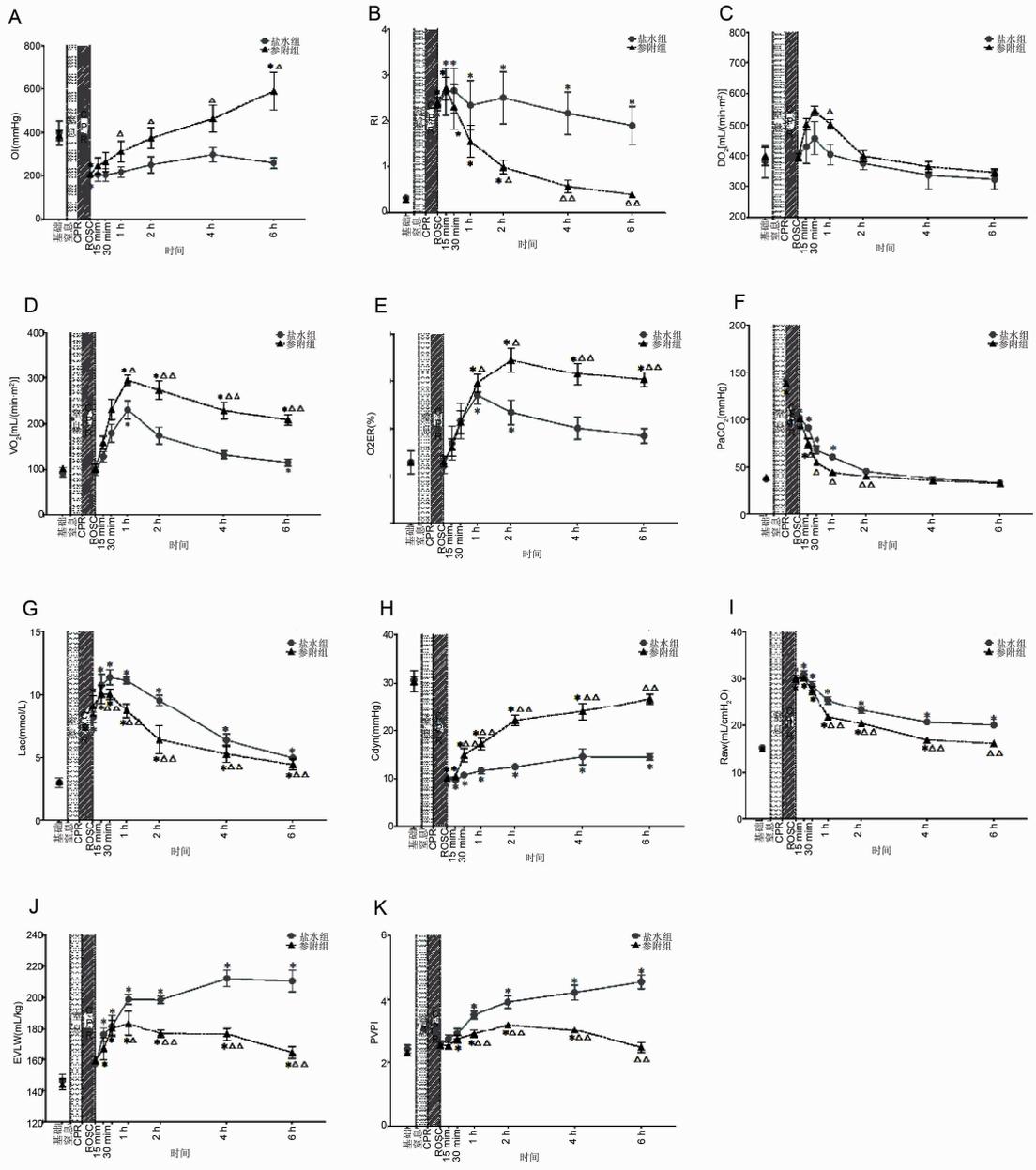
2 两组病理结果比较(图 1) 肉眼可见:两组肺组织均可见明显淤血、出血及梗死灶。光镜下:盐水组肺组织可见肺毛细血管扩张,肺间质水肿及出血较重,肺泡壁增厚,肺泡破坏,炎症细胞浸润严重,参附组肺间质水肿相对较轻,出血及肺泡破坏较轻。电镜下:两组肺组织均可见严重的细胞凋亡现象,表现为细胞核变形,部分细胞核固缩变小,核染色质成块状凝集,凝聚在核边缘,细胞内有大量包含体和空泡结构,线粒体的双层膜和线粒体嵴结构模糊,电子密度减低,囊泡化明显。盐水组细胞凋亡更为严重。

3 两组氧代谢及呼吸力学指标结果比较(图 2) 在基础状态,两组的 OI、RI、DO₂、VO₂、O₂ER、Cdyn、Raw、EVLWI、PVPI、PaCO₂ 和 LAC 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与基础状态比较,两组的 OI 和 Cdyn 在 ROSC 即刻明显降低($P < 0.05$),而 RI、DO₂、VO₂、O₂ER、Raw、EVLWI、PVPI、PaCO₂ 和 LAC 在 ROSC 即刻则显著升高($P < 0.05$),各指标不论升高或降低均随时间延长而恢复;与盐水组比较,参附组在 ROSC 后的各个时间点,OI、Cdyn、DO₂、VO₂ 和 O₂ER 显著高于盐水组($P < 0.05$, $P < 0.01$),而 RI、Raw、EVLWI、PVPI、PaCO₂ 和 LAC 则低于盐水组($P < 0.05$, $P < 0.01$);在 ROSC 后 6 h,参附组的 OI、VO₂、O₂ER 显著高于基础状态($P < 0.05$),而盐水组的 OI 和 Cdyn 显著低于基础状态($P < 0.05$),RI、Raw、EVLWI 及 PVPI 显著高于基础状态($P < 0.05$)。



注: A、B 为光镜结果,HE 染色,放大倍数为 200;C~H 为电镜结果,放大倍数为 5 000;A、C、E、G 为盐水组;B、D、F、H 为参附组;箭头处提示细胞核变形,核染色质成块状凝集在核边缘,细胞内有大量包含体和空泡结构,线粒体的双层膜和线粒体嵴结构模糊

图 1 两组肺组织病理学结果比较



注:A为O₂;B为RI;C为DO₂;D为VO₂;E为O₂ER;F为P_aCO₂;G为Lac;H为Cdyn;I为Raw;J为EVLWI;K为PVPI;与基础状态比较,*P<0.05;与盐水组比较,ΔP<0.05,ΔΔP<0.01

图2 两组氧化代谢及呼吸力学指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

表1 两组Na⁺-K⁺-ATP酶、Ca²⁺-ATP酶、SOD和MDA浓度比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Na ⁺ -K ⁺ -ATPase (U)	Ca ²⁺ -ATPase (U)	SOD (U/mL)	MDA (mmol/L)
盐水	6	1.052 ± 0.356	0.352 ± 0.162	125.366 ± 7.445	5.698 ± 0.672
参附	8	1.443 ± 0.224 *	0.670 ± 0.298 *	184.987 ± 9.132 **	4.662 ± 0.804 *

注:与盐水组比较,*P<0.05,**P<0.01

4 两组Na⁺-K⁺-ATP酶、Ca²⁺-ATP酶、SOD和MDA浓度比较(表1) 与盐水组比较,参附组Na⁺-K⁺-ATP酶、Ca²⁺-ATP酶和SOD的水平升高,而MDA水平降低,差异有统计学意义(P<

0.05, P<0.01)。 5 两组TNF-α、IFN-γ、IL-4水平比较(图3) 与盐水组比较,参附组IFN-γ水平和IFN-γ/IL-4升高,TNF-α和IL-4的水平降低,差异有统计学意义

义 ($P < 0.05$)。

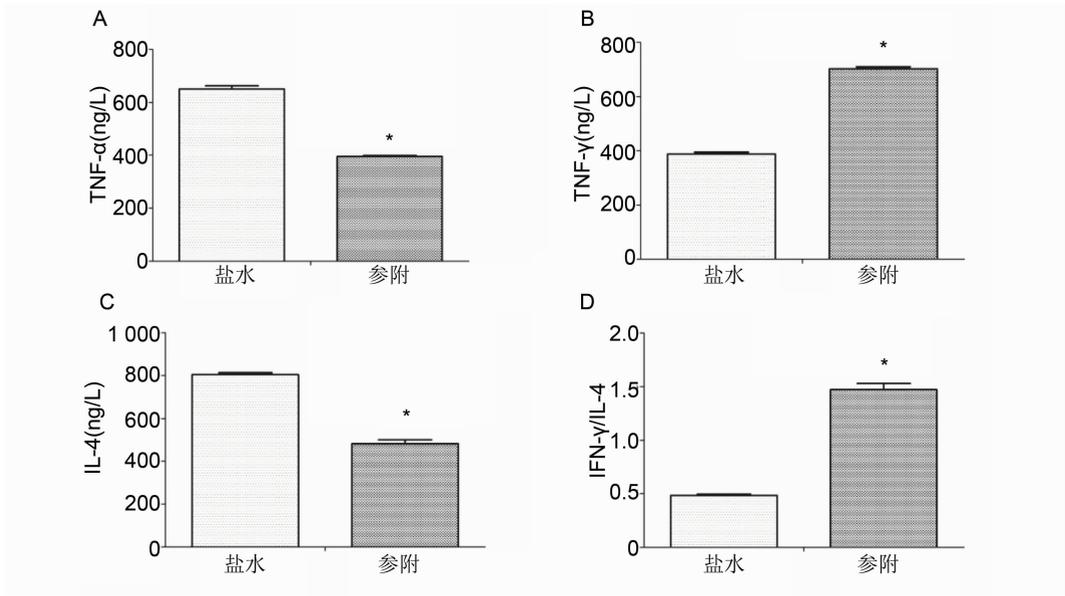
6 两组 AI、Bax、Bcl-2、Bax/Bcl-2 浓度及 Caspase-3 蛋白水平比较(表 2,图 4) 与盐水组比较,参附组 Bcl-2 浓度表达升高,但 AI、Bax/Bcl-2 及 Caspase-3 蛋白水平降低($P < 0.01$)。

讨 论

窒息是导致心脏骤停的一个主要原因。与室颤导致的心脏骤停比较,窒息导致的心脏骤停往往伴随着组织细胞内能量储备的全部耗竭,且机械电分离和全心停搏更为常见,因此复苏更困难且病死率极高^[11],而即使

达到 ROSC,脏器的损伤也更加严重,预后更差^[12,13]。

本实验中,与基础状态时各项指标相比,从 ROSC 即刻至 6 h,盐水组实验动物的 OI 和 DO₂ 明显降低,而 RI、VO₂、O₂ER、P_aCO₂ 和 LAC 明显升高且维持在较高的水平;肺顺应性显著下降,而气道阻力、EVLWI 和 PVPI 明显升高。此外,通过光镜及电镜的观察还能发现严重的细胞凋亡和细胞损伤,特别是肺泡 II 型上皮细胞的凋亡、肺泡破坏与炎症细胞浸润、间质出血及水肿、血管内皮损伤和气-血屏障的破坏。以上结果提示,窒息致心脏骤停的动物模型在达到 ROSC 后,会出现严重的急性肺损伤。



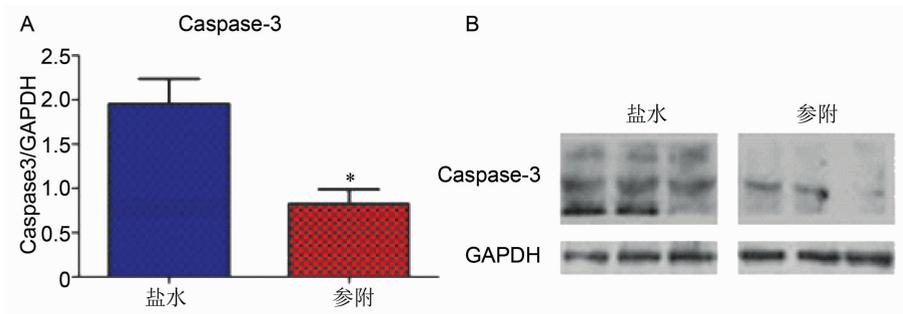
注:A 为 TNF-α;B 为 TNF-γ;C 为 IL-4;D 为 IFN-γ/IL-4;与盐水组比较,* $P < 0.05$

图 3 两组 ROSC 后 6 h 肺组织内 TNF-α、TNF-γ、IL-4 和 IFN-γ/IL-4 浓度比较

表 2 两组 AI、Bax、Bcl-2、Bax/Bcl-2 浓度及 Caspase-3 蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	AI (%)	Bax (μg/L)	Bcl-2 (μg/L)	Bax/Bcl-2
盐水	6	49.020 ± 9.170	991.945 ± 117.809	133.707 ± 15.797	7.457 ± 0.901
参附	8	20.615 ± 7.959*	998.540 ± 167.011	193.111 ± 5.458*	5.188 ± 0.984*

注:与盐水组比较,* $P < 0.01$;图 3 同



注:A 为两组 ROSC 后 6 h 肺组织内 Caspase-3 蛋白表达比较;与盐水组比较,* $P < 0.01$;

B 为两组 ROSC 后 6 h 肺组织内 Caspase-3 蛋白电泳图(n=3)

图 4 两组 ROSC 后 6 h 肺组织内 Caspase-3 蛋白表达比较

在同一时间点,参附组 OI 、 DO_2 、 VO_2 和 O_2ER 同盐水组相比显著升高,而 RI 明显降低, $PaCO_2$ 和血清 LAC 水平更快的恢复至接近基础状态,且血清 LAC 水平明显降低,肺顺应性和气道阻力优于盐水组, $EV-LWI$ 和 $PVPI$ 明显低于盐水组。这些结果提示:参附注射液有助于改善肺通气和氧合,提高氧输送和氧摄取的能力,通过改善组织细胞的氧化代谢状态,达到纠正缺氧、高碳酸血症及酸中毒的目的,同时在减少肺组织的结构损伤及减轻肺水肿、肺淤血方面亦有较显著的作用。而普通病理及超微结构电镜结果也证实了这一结果。

严重的缺氧及伴随缺氧出现的代谢性酸中毒是窒息后肺损伤发生的重要原因:缺氧及酸中毒可以抑制 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶和 $Ca^{2+} - ATP$ 酶的活性,导致缺血/再灌注损伤后肺水肿的发生及组织细胞功能障碍^[14];同时使活性氮、中性粒细胞和髓过氧化物酶被激活,进一步加重肺损伤^[15]。而缺血/再灌注损伤是窒息导致心脏骤停后肺损伤的另一个重要的原因^[16]。在这一过程中,氧自由基的释放及其对肺上皮细胞的损伤至关重要,而 SOD 和 MDA 在氧自由基的清除及内皮细胞损伤方面扮演着重要角色^[17];在实验中参附组肺组织内的 $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶、 $Ca^{2+} - ATP$ 酶及 SOD 的活性均明显高于盐水组,而 MDA 的含量明显低于盐水组。这一结果显示,参附注射液有助于减轻心肺复苏后肺水肿,改善肺组织细胞的能量代谢,增强细胞的抗氧化能力并减轻内皮细胞损伤,对心脏骤停心肺复苏后肺损伤具有保护作用。

肺细胞凋亡在急性肺损伤的发生和发展过程中发挥着重要的作用,缺氧、酸中毒及缺血/再灌注损伤是导致细胞凋亡的重要诱因^[18-20]。取实验动物的肺组织标本进行电镜及 $TUNEL$ 法检查结果均提示,在窒息导致的心脏骤停的动物肺组织中,肺细胞凋亡的现象非常明显,提示肺损伤严重。但参附组 AI 和 $Caspase$ 蛋白远低于盐水组,而 $Bcl-2$ 蛋白高于盐水组。由于在细胞发生凋亡的过程中,细胞内 $Bcl-2$ 蛋白、 Bax 蛋白及 $Caspase$ 家族蛋白发挥着至关重要的作用^[21,22],因此上述结果提示,参附注射液可以抑制细胞凋亡,显著提高包括肺组织细胞在内的多类组织细胞的生存率,从而减轻肺损伤的程度。

心脏骤停时,机体处于最严重的休克状态,氧输送和细胞能量代谢近于停止,当经历心肺复苏并最终到达 $ROSC$ 时,机体血管内皮细胞的活化及各类炎症因子的释放,系统炎症反应及机体免疫抑制,导致产生一系列的组织损伤。在最终形成 $MODS$ 的过程中, $Th1$

和 $Th2$ 细胞间的平衡被破坏至关重要^[23]。目前已知, $TNF-\alpha$ 、 $IL-4$ 和 $IFN-\gamma$ 与 $Th1$ 和 $Th2$ 细胞间平衡的保持密切相关,其中 $TNF-\alpha$ 、 $IL-4$ 过度释放可以导致 $Th1/Th2$ 平衡的破坏,而这一细胞间平衡的存在对于调节免疫功能和炎症反应非常重要^[24]。本实验中,参附组 $TNF-\alpha$ 和 $IL-4$ 明显低于盐水组,而 $IFN-\gamma$ 和 $IFN-\gamma/IL-4$ 则明显高于盐水组。这一结果提示,参附注射液对心脏骤停心肺复苏后肺损伤的保护作用可能与抑制炎症因子如 $TNF-\alpha$ 和 $IL-4$ 的释放,从而达到稳定 $Th1/Th2$ 细胞间平衡的机制有关。

中医学认为,“参附汤”具有回阳救逆、益气固脱的作用,主治因元气大亏、阳气暴脱所致的四肢不温、呼吸微弱、面色苍白、脉微欲绝等症。现代药理研究证明,附子含有去甲猪毛菜碱对 β 受体和 α 受体均有兴奋作用,能明显增加组织器官的血供,改善动脉系统组织器官的缺氧状态^[25];而人参皂甙不仅可以促进糖、蛋白质和脂肪的代谢^[26],还具有清除氧自由基,减轻脏器缺血-再灌注损伤的作用^[5-8]。本实验也证实了参附注射液对心肺复苏后肺损伤确实具有保护作用,对于改善此类患者预后具有积极的意义。

本研究的局限在于:由于实验动物与人在生理结构等方面的差异,特别是健康的实验动物与病人间此类差异明显,动物实验结果不能照搬到临床等工作中,同时受实验动物数量所限,实验结果具有一定的局限性。

参 考 文 献

- [1] Neumar RW, Nolan JP, Adrie C, et al. Post-cardiac arrest syndrome: epidemiology, pathophysiology, treatment, and prognostication [J]. *Circulation*, 2008, 118(23): 2452-2483.
- [2] Laver S, Farrow C, Turner D, et al. Mode of death after admission to an intensive care unit following cardiac arrest [J]. *Intens Care Med*, 2004, 30(11): 2126-2128.
- [3] Huang Y, Rabb H, Womer KL. Ischemia-reperfusion and immediate T cell responses [J]. *Cell Immunol*, 2007, 24(8): 4-11.
- [4] Zhang MY, Ji XF, Wang S, et al. Shenfu Injection attenuates post-resuscitation lung injury in a porcine model of cardiac arrest [J]. *Resuscitation*, 2012, 83(9): 1152-1158.
- [5] Ji XF, Yang L, Zhang MY, et al. Shenfu Injection attenuates post-resuscitation myocardial dysfunction in a porcine model of cardiac arrest [J]. *Shock*, 2011, 35(5): 530-536.

- [6] 武军元, 李春盛. 应激程控刺激的心脏骤停模型 [J]. 中华急诊医学杂志, 2008, 17(10): 1063-1065.
- [7] Welty KE, Carraway MS, Ortel TL, et al. Coagulation and inflammation in acute lung injury [J]. *Thromb Haemost*, 2002, 88(1): 17-25.
- [8] Nolan JP, Laver SR, Welch CA, et al. Outcome following admission to UK intensive care units after cardiac arrest: a secondary analysis of the IC-NARC Case Mix Programme Database [J]. *Anaesthesia*, 2007, 62(12): 1207-1216.
- [9] Tsai MS, Huang CH, Tsai SH, et al. The difference in myocardial injuries and mitochondrial damage between asphyxial and ventricular fibrillation cardiac arrests [J]. *Am J Emerg Med*, 2012, 30(8): 1540-1548.
- [10] Pantazopoulos LN, Xanthos TT, Vlachos I, et al. Use of the impedance threshold device improve survival rate and neurological outcome in a swine model of asphyxial cardiac arrest [J]. *Crit Care Med*, 2012, 40(3): 861-868.
- [11] Mayr VD, Wenzel V, Voelckel WG, et al. Developing a vasopressor combination in a pig model of adult asphyxial cardiac arrest [J]. *Circulation*, 2001, 104(14): 1651-1656.
- [12] Wu CJ, Guo ZJ, Li CS, et al. Risk factor analyses for the return of spontaneous circulation in the asphyxiation cardiac arrest porcine model [J]. *J Chin Med*, 2015, 128(8): 1096-1101.
- [13] Wu CJ, Li CS, Zhang Y, et al. Application of positron emission tomography in the detection of myocardial metabolism in pig ventricular fibrillation and asphyxiation cardiac arrest models after resuscitation [J]. *Biomed Environ Sci*, 2014, 27(7): 531-536.
- [14] 董文度, 刘新卷, 傅更锋, 等. 兔海水淹溺肺水肿发生机制的实验研究 [J]. *生物医学工程杂志*, 2000, 17(2): 196-201.
- [15] Liu YL, Chacko BK, Ricksecker A, et al. Modulatory effects of hypercapnia on *in vitro* and *in vivo* pulmonary endothelia-neutrophil adhesive responses during inflammation [J]. *Cytokine*, 2008, 44(1): 108-117.
- [16] Wang S, Wu JY, Guo ZJ, et al. Effect of rescue breathing during cardiopulmonary resuscitation on lung function after restoration of spontaneous circulation in a porcine model of prolonged cardiac arrest [J]. *Crit Care Med*, 2013, 41(1): 102-110.
- [17] Tian JW, Fu FH, Geng MY, et al. Neuroprotective effect of 20(S)-ginsenoside Rg₃ on cerebral ischemia in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2005, 274(2): 92-97.
- [18] Fisher S, Maclean AA, Liu MY, et al. Dynamic changes in apoptotic and necrotic cell death correlate with severity of ischemia-reperfusion injury in lung transplantation [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 162(5): 1932-1939.
- [19] Ficsher S, Cassivi SD, Xavier AM, et al. Cell death in human lung transplantation: apoptosis induction in human lung during ischemic and after transplantation [J]. *Ann Surg*, 2000, 231(3): 424-431.
- [20] Stammberger U, Gaspert A, Hillinger S, et al. Apoptosis induced by ischemia and reperfusion in experimental lung transplantation [J]. *Ann Thorac Surg*, 2000, 69(5): 1532-1536.
- [21] Ashkenazi A, Dixi VM. Death receptors: Signaling and modulation [J]. *Science*, 1998, 281(5381): 1305-1308.
- [22] Green DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis [J]. *Science*, 1998, 281(5381): 1309-1312.
- [23] Gu W, Li CS, Yin WP, et al. Expression imbalance of transcription factors GATA-3 and T-bet in post-resuscitation myocardial immune dysfunction in a porcine model of cardiac arrest [J]. *Resuscitation*, 2013, 84(6): 848-853.
- [24] Karimova A, Pinsky DJ. The endothelial response to oxygen deprivation: biology and clinical implications [J]. *Intens Care Med*, 2001, 27(1): 19-31.
- [25] 石正蒙, 顾桂国, 吴国祯, 等. 参附注射液对心肺复苏后大鼠心肌细胞保护作用的研究 [J]. *临床急诊杂志*, 2005, 6(3): 16-19.
- [26] 夏中元, 郑利民. 参附注射液防护肠粘膜缺血再灌注损伤的实验研究 [J]. *中华创伤杂志*, 2001, 74(4): 235.

(收稿:2014-11-13 修回:2015-12-28)