

• 论著 •

大黄萃取液对兔心肺复苏后脑组织炎症因子表达水平的影响

文航华¹ 周雪英² 董勇²¹ 三峡大学第一临床医学院急诊医学科, 湖北宜昌 443000; ² 浙江大学明州医院急诊医学科, 浙江宁波 315000
通信作者: 董勇, Email: 632769729@qq.com

【摘要】 目的 观察大黄萃取液对兔心肺复苏(CPR)后脑组织中炎症因子表达水平的影响,探讨大黄萃取液保护日本大耳兔 CPR 后脑损伤的可能作用机制。**方法** 选择日本大耳白兔 60 只,按随机数字表法分为正常对照组、模型组、大黄萃取液组、亚低温处理组、大黄萃取液联合亚低温处理组,每组 10 只。另取 10 只备用。采用经皮电刺激心肌诱发心室纤颤(室颤)复制兔心搏骤停模型,心搏骤停 6 min 后严格参照 Utstein 模式及时行 CPR 术。复苏有效后亚低温处理组和大黄萃取液联合亚低温处理组立即给予控温仪头部保护,温度维持在 33~36℃;正常对照组、模型组、亚低温处理组均给予 0.9% 氯化钠溶液 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹ 灌胃;大黄萃取液组、大黄萃取液联合亚低温处理组则给予 5 mL·kg⁻¹·d⁻¹ 大黄萃取液灌胃预处理。复苏有效后继续维持呼吸生命支持处理,2 h 后处死兔取脑组织,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定脑组织中促炎因子肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-6(IL-6)和抗炎因子白细胞介素-4(IL-4)、转化生长因子-β1(TGF-β1)含量;采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)测定脑组织中白细胞三烯通路相关因子 5-脂氧合酶(5-LOX)、半胱氨酰白细胞三烯受体(CysLT1、CysLT2)的蛋白表达水平。**结果** 与正常对照组比较,模型组 TNF-α、IL-6 含量和 5-LOX、CysLT1、CysLT2 的蛋白表达水平均明显升高[TNF-α(μg/L): 355.70±42.67 比 197.99±55.78, IL-6(μg/L): 196.80±54.38 比 90.06±30.33, 5-LOX/GAPDH: 0.84±0.02 比 0.32±0.02, CysLT1/GAPDH: 0.91±0.02 比 0.19±0.02, CysLT2/GAPDH: 0.90±0.02 比 0.32±0.02, 均 P<0.05], 而 IL-4 和 TGF-β1 含量均明显降低[IL-4(μg/L): 6.12±1.72 比 17.11±2.90, TGF-β1(μg/L): 101.52±27.10 比 220.85±59.80, 均 P<0.05];与模型组比较,大黄萃取液组、亚低温处理组、大黄萃取液联合亚低温处理组 TNF-α、IL-6 和 5-LOX、CysLT1、CysLT2 的蛋白表达水平均明显降低[TNF-α(μg/L): 238.60±47.69, 251.53±51.77, 223.58±32.85 比 355.70±42.67, IL-6(μg/L): 104.72±28.50, 121.46±36.02, 138.27±34.27 比 196.80±54.38, 5-LOX/GAPDH: 0.63±0.02, 0.55±0.04, 0.44±0.02 比 0.84±0.02, CysLT1/GAPDH: 0.53±0.02, 0.60±0.02, 0.32±0.02 比 0.91±0.02, CysLT2/GAPDH: 0.53±0.02, 0.60±0.02, 0.45±0.02 比 0.90±0.02, 均 P<0.05], IL-4 和 TGF-β1 含量均明显升高[IL-4(μg/L): 7.85±2.42, 7.69±2.32, 11.86±2.87 比 6.12±1.72, TGF-β1(μg/L): 201.75±55.91, 200.07±46.82, 218.62±51.25 比 101.52±27.10, 均 P<0.05]。大黄萃取液组、亚低温处理组、大黄萃取液联合亚低温处理组 TNF-α、IL-6、IL-4、TGF-β1 含量和 CysLT1、CysLT2 的蛋白表达水平比较差异均无统计学意义,对 5-LOX 蛋白表达水平的影响以大黄萃取液联合亚低温处理组较大黄萃取液组和亚低温处理组更显著。**结论** 大黄萃取液及亚低温脑保护治疗均能降低兔 CPR 术后脑组织中 TNF-α、IL-4 含量及 5-LOX、CysLT1、CysLT2 的蛋白表达水平,二者效果相当,但联用不能增强这种作用。大黄萃取液与低温脑保护的这种保护作用可能与抑制 5-LOX 白细胞三烯受体通路相关因子介导的炎症反应有关。

【关键词】 大黄; 心肺复苏; 脑损伤; 炎症因子**基金项目:** 浙江省宁波市自然科学基金(202003N4294)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2023.04.009

Effects of Rhubarb extract on inflammatory factors in post-cardiac pulmonary resuscitation brain tissues of rabbit

Wen Hanghua¹, Zhou Xueying², Dong Yong²¹Department of Emergency, the First College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University, Yichang 443000, Hubei, China; ²Department of Emergency, Zhejiang University Mingzhou Hospital, Ningbo 315000, Zhejiang, China
Corresponding author: Dong Yong, Email: 632769729@qq.com

【Abstract】 Objective To observe the effect of Rhubarb extract on the expression of inflammatory factors in the post-brain tissue of rabbit after cardiopulmonary resuscitation(CPR) and explore the possible mechanism of Rhubarb extract in protecting the brain injury after CPR in Japanese big-eared rabbit. **Methods** Sixty Japanese big-eared white rabbits were randomly divided into normal control group, model group, Rhubarb extract group, hypothermia treatment group, and Rhubarb extract combined with hypothermia treatment group, with 10 rabbits in each group. The other 10 spares. The rabbit cardio arrest model was replicated by percutaneous electrical stimulation of myocardium to induce ventricular fibrillation (VF), and CPR was performed in time after 6 minutes of cardiac arrest according to the

Utstein style strictly. After effective resuscitation, the hypothermia treatment group and Rhubarb extract combined with the hypothermia treatment group were immediately protected by the thermostat, and the temperature was maintained at 33–36°C. The rabbits in normal control group, the model group, and the hypothermia treatment group were given 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹ gavage of 0.9% sodium chloride solution. The Rhubarb extract group, Rhubarb extract combined with hypothermia treatment group were given 5 mL·kg⁻¹·d⁻¹ Rhubarb extract gavage pretreatment. After effective resuscitation, basic life support treatment was continued, 2 hours later, the rabbits were sacrificed and the brain tissue were taken. Pro-inflammatory factors including tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) and also with anti-inflammatory factors interleukin-4 (IL-4) and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), Western blotting test was used to determine the expression of leukotriene pathway correlation factors 5-lipoxygenase (5-LOX) and cysteinyl leukotriene receptor (CysLT1, CysLT2). **Results** Compared with the normal control group, the content of TNF- α , IL-6 and protein expression of 5-LOX, CysLT1 and CysLT2 in the model group were significantly increased [TNF- α (μ g/L): 355.70 $\pm$ 42.67 vs. 197.99 $\pm$ 55.78, IL-6 (μ g/L): 196.80 $\pm$ 54.38 vs. 90.06 $\pm$ 30.33, 5-LOX/GAPDH: 0.84 $\pm$ 0.02 vs. 0.32 $\pm$ 0.02, CysLT1/GAPDH: 0.91 $\pm$ 0.02 vs. 0.19 $\pm$ 0.02, CysLT2/GAPDH: 0.90 $\pm$ 0.02 vs. 0.32 $\pm$ 0.02, all $P < 0.05$], while the content of IL-4 and TGF- β 1 were significantly reduced [IL-4 (μ g/L): 6.12 $\pm$ 1.72 vs. 17.11 $\pm$ 2.90, TGF- β 1 (μ g/L): 101.52 $\pm$ 27.10 vs. 220.85 $\pm$ 59.80, both $P < 0.05$]. Compared with the model group, the content TNF- α , IL-6 and protein expression of 5-LOX, CysLT1 and CysLT2 in Rhubarb extract group, hypothermia treatment group, Rhubarb extract combined with hypothermia treatment group were significantly reduced [TNF- α (μ g/L): 238.60 $\pm$ 47.69, 251.53 $\pm$ 51.77, 223.58 $\pm$ 32.85 vs. 355.70 $\pm$ 42.67, IL-6 (μ g/L): 104.72 $\pm$ 28.50, 121.46 $\pm$ 36.02, 138.27 $\pm$ 34.27 vs. 196.80 $\pm$ 54.38, 5-LOX/GAPDH: 0.63 $\pm$ 0.02, 0.55 $\pm$ 0.04, 0.44 $\pm$ 0.02 vs. 0.84 $\pm$ 0.02, CysLT1/GAPDH: 0.53 $\pm$ 0.02, 0.60 $\pm$ 0.02, 0.32 $\pm$ 0.02 vs. 0.91 $\pm$ 0.02, CysLT2/GAPDH: 0.53 $\pm$ 0.02, 0.60 $\pm$ 0.02, 0.45 $\pm$ 0.02 vs. 0.90 $\pm$ 0.02, all $P < 0.05$], while the content of IL-4 and TGF- β 1 were significantly increased [IL-4 (μ g/L): 7.85 $\pm$ 2.42, 7.69 $\pm$ 2.32, 11.86 $\pm$ 2.87 vs. 6.12 $\pm$ 1.72, TGF- β 1 (μ g/L): 201.75 $\pm$ 55.91, 200.07 $\pm$ 46.8, 218.62 $\pm$ 51.25 vs. 101.52 $\pm$ 27.10, all $P < 0.05$]. There were no significant differences in the content of TNF- α , IL-6, IL-4, TGF- β 1, expression of CysLT1 and CysLT2 in Rhubarb extract, hypothermia treatment group and Rhubarb extract combined with hypothermia treatment group. The expression of 5-LOX protein was more affected in the Rhubarb extract combined with hypothermia treatment group, than that of the Rhubarb extract group and the hypothermia treatment group. **Conclusion** Both Rhubarb extract and hypothermia brain protective therapy could reduce the content of TNF- α , IL-4 and protein expression of 5-LOX, CysLT1 and CysLT2 in the brain tissues after rabbit CPR, and the protective effects were similar, but the combination of them could not enhance this effect. This effect of Rhubarb extract with cryogenic brain protection may be related to the inhibitory inflammatory response mediated by the 5-LOX leukotriene receptor pathway correlative factors.

【Key words】 Rhubarb; Cardiopulmonary resuscitation; Brain injury; Inflammatory factor

Fund program: Natural Science Foundation of Ningbo, Zhejiang Province of China (202003N4294)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2023.04.009

心搏骤停是最严重的心脏急症,已成为目前全球性的重大公共健康问题^[1]。据统计,全球心搏骤停发生率约为 20~140/10 万人。在我国,每年院外心搏骤停发生率约 41.8/10 万人^[2]。随着心肺复苏(cardiopulmonary resuscitation, CPR)技术的不断进步,约 25%~40% 的心搏骤停患者可在 CPR 后自主循环恢复(return of spontaneous circulation, ROSC)^[3]。但 ROSC 后仍有 55%~71% 的患者临床死亡,其中死亡最主要的原因即为脑损伤,幸存患者也常遗留较严重且不可逆的神经损害,导致严重残疾^[4]。本课题组前期的研究提示,大黄对复苏后综合征具有保护作用^[5-7],但具体机制仍不清楚。本研究观察大黄萃取液对兔 CPR 后脑组织促炎因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和抗炎因子 IL-4、转化生长因子- β (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)以及白细胞三烯通路相关因子 5-脂氧化酶(5-lipoxygenase, 5-LOX)表达水平的影响,探讨

大黄萃取液对兔 CPR 后脑损伤的可能保护机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器: TNF- α 、IL-6、IL-4、TGF- β 1 检测试剂盒(上海江莱生物科技有限公司);半胱氨酰白细胞三烯受体(cysteinyl leukotriene receptor, CysLT1、CysLT2)试剂盒(英国 Abcam 公司), 5-LOX 试剂盒(美国 CST 公司);大黄萃取液(上海问生生物科技有限公司);HX-200 动物有创呼吸机(上海益联医学仪器发展有限公司);BL-420S 生物机能实验系统(上海益联科教设备有限公司);ZLJ-2000 型医用控温仪(长春市安泰电子产品有限公司)。

1.2 实验动物及分组: 选择健康雄性日本大耳白兔 60 只,由湖北中医药高等专科学校动物中心提供,动物合格证号:42815900000089。按随机数字表法将动物分为正常对照组、模型组、大黄萃取液组、亚低温处理组、大黄萃取液联合亚低温处理组,每组 10 只。另 10 只备用。所有大耳兔均在三峡大学动物实验中心 SPF 级标准兔笼单独饲养,控制

温度(24 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度(55 ± 2)%。

1.3 模型制备及处理: 分组处理 1 周后,正常对照组不进行干预,其余 4 组均采用经皮电刺激心肌诱发心室纤颤(室颤)复制兔心搏骤停/CPR 模型。具体操作:术前 12 h 禁食水,于右侧耳缘静脉注射 3% 戊巴比妥 $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 麻醉动物,将麻醉理想的大耳白兔仰卧位固定,于颈部和腹股沟处备皮。沿日本大耳白兔颈部正中切开皮肤,长度约 4~6 cm,逐步分离气管后行气管插管术,接 HX-200 动物呼吸机(模式为控制呼吸、呼吸频率 25 次/min、吸入氧浓度 0.60、潮气量 $15 \sim 20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$);进而分离右侧腹股沟动脉并留置动脉导管,用肝素($20 \sim 25 \text{ U/kg}$)冲管,有创血压通过压力换能器与 BL-420S 生物机能实验系统连接,显示动脉波形,记录动脉收缩压和舒张压;待心率、呼吸、血压平稳后继续观察 30 min(麻醉剂充分代谢后),分别经胸骨左缘心尖搏动点最强处左右两侧(距离 0.5 cm)先后经皮肤垂直将电极针刺入皮下,然后倾斜 15° 沿心脏方向进针 2 cm。选择 50 V 直流恒流电进行,连续单个电刺激,单次刺激时间为 100 ms,刺激波宽 1 ms,频率 50 Hz,将初始电流设为 5 mA,心搏骤停成功后仍需继续刺激 2 min。对于初始电流诱发心搏骤停失败或成功后观察期间模型兔恢复自主心律且满足动脉收缩压 $>30 \text{ mmHg}$ ($1 \text{ mmHg} \approx 0.133 \text{ kPa}$)者,需要重新检查并调整导电细针位置,3 min 后以 1 mA 递增电流强度,如电流强度至 7 mA 仍不能诱导心搏骤停或很快恢复自主心律为制模失败。心搏骤停 6 min 后严格参照 Utstein 模式及时行 CPR 术。于胸骨体正中进行按压,按压频率为 160~200 次/min。CPR 有效的标志为心电图出现正常 QRS 波群,可触及明显大动脉搏动或平均动脉压大于 60 mmHg 以上。CPR 持续 15 min 未成功者,则宣布死亡。

1.4 动物处理方法: 正常对照组、模型组、亚低温处理组均给予 0.9% 氯化钠溶液 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃;大黄萃取液处理组、大黄萃取液联合亚低温处理组则给予 $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 大黄萃取液灌胃。亚低温处理组以及大黄萃取液联合亚低温处理组在 CPR 成功后立即给予控温仪保护头部,将温度维持在 $33 \sim 36^{\circ}\text{C}$ 。

1.5 检测指标及方法: 复苏有效后继续维持呼吸生命支持,2 h 后处死动物取脑组织,冷藏于 -80°C 冰箱备用。

1.5.1 采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked

immunosorbent assay, ELISA)检测各组脑组织炎症指标含量:取适量脑组织,裂解并处理得到匀浆,离心取上清液,采用 ELISA 检测脑组织 TNF- α 、IL-6、IL-4、TGF- β 1 含量。严格按照试剂说明书操作。

1.5.2 采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting) 测定脑组织 5-LOX、CysLT1、CysLT2 的蛋白表达水平:取 100 mg 脑组织,用二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)法测定蛋白浓度,以 $25 \mu\text{g}$ 蛋白上样量计算上样体积,上样后进行电泳分离,转膜后加入脱脂奶粉封闭 2 h,再加入 5-LOX、CysLT1、CysLT2 及 3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GADPH)一抗(均为兔抗, CysLT1、CysLT2 1:500 稀释, 5-LOX 1:500 稀释),孵育过夜并经含吐温的 Tris 盐缓冲液(Tris buffered saline with Tween, TBST)洗膜后加入二抗,再次室温孵育 1 h,电化学发光法(chemiluminescence substrate, ECL)显色,拍照,采用 ImageJ 软件分析灰度值,以目的蛋白与 GADPH 灰度值的比较表示目的蛋白的表达量。

1.6 统计学方法: 使用 SPSS 27.0 统计软件进行分析,符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间数据比较采用单因素方差分析,多组数据的比较采用 SNK 分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组兔脑组织 TNF- α 、IL-6 含量比较(表 1): 模型组脑组织促炎因子 TNF- α 、IL-6 含量均较正常对照组明显升高,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$);大黄萃取液组、亚低温处理组及大黄萃取液联合亚低温处理组 TNF- α 、IL-6 含量均明显低于模型组(均 $P < 0.05$);大黄萃取液组与亚低温处理组 TNF- α 、IL-6 含量比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);大黄萃取液联合亚低温处理组 TNF- α 和 IL-6 与大黄萃取液组或亚低温处理组比较差异亦无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

表 1 各组兔脑组织中 TNF- α 、IL-6 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	TNF- α ($\mu\text{g/L}$)	IL-6 ($\mu\text{g/L}$)
正常对照组	10	197.99 ± 55.78	90.06 ± 30.33
模型组	10	355.70 ± 42.67^a	196.80 ± 54.38^a
大黄萃取液组	10	238.60 ± 47.69^b	104.72 ± 28.50^b
亚低温处理组	10	251.53 ± 51.77^b	121.46 ± 36.02^b
大黄萃取液联合 亚低温处理组	10	223.58 ± 32.85^b	138.27 ± 34.27^b

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$

2.2 各组兔脑组织中 IL-4、TGF- β 1 含量比较 (表 2): 模型组抗炎因子 IL-4、TGF- β 1 含量均较正常对照组明显降低 (均 $P < 0.05$); 大黄萃取液组、亚低温处理组和大黄萃取液联合亚低温处理组 IL-4、TGF- β 1 含量均明显高于模型组 (均 $P < 0.05$); 大黄萃取液组与亚低温处理组 IL-4 和 TGF- β 1 含量比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$); 大黄萃取液联合亚低温处理组与亚低温处理组比较差异亦无统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

表 2 各组兔脑组织中 IL-4、TGF- β 1 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)			
组别	动物数 (只)	IL-4 ($\mu\text{g/L}$)	TGF- β 1 ($\mu\text{g/L}$)
正常对照组	10	17.11 $\pm$ 2.90	220.85 $\pm$ 59.80
模型组	10	6.12 $\pm$ 1.72 ^a	101.52 $\pm$ 27.10 ^a
大黄萃取液组	10	7.85 $\pm$ 2.42 ^b	201.75 $\pm$ 55.91 ^b
亚低温处理组	10	7.69 $\pm$ 2.32 ^b	200.07 $\pm$ 46.83 ^b
大黄萃取液联合亚低温处理组	10	11.86 $\pm$ 2.87 ^b	218.62 $\pm$ 51.25 ^b

注: 与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$

2.3 各组兔脑组织中 5-LOX、CysLT1、CysLT2 的蛋白表达水平比较 (表 3; 图 1): 模型组 5-LOX 和 CysLT1、CysLT2 的蛋白表达均较正常对照组明显升高 (均 $P < 0.05$); 大黄萃取液组、亚低温处理组以及大黄萃取液联合亚低温处理组上述指标的蛋白表达水平均明显低于模型组 (均 $P < 0.05$), 大黄萃取液组和亚低温处理组 5-LOX 和 CysLT1、CysLT2 的蛋白表达水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 大黄萃取液联合亚低温处理组 5-LOX 蛋白表达的降低程度较大黄萃取液组和亚低温处理组更显著 (均 $P < 0.05$)。

表 3 各组兔脑组织 5-LOX、CysLT1、CysLT2 的蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)				
组别	动物数 (只)	5-LOX 蛋白 (5-LOX/GADPH)	CysLT1 蛋白 (CysLT1/GADPH)	CysLT2 蛋白 (CysLT2/GADPH)
正常对照组	10	0.32 $\pm$ 0.02	0.19 $\pm$ 0.02	0.32 $\pm$ 0.02
模型组	10	0.84 $\pm$ 0.02 ^a	0.91 $\pm$ 0.02 ^a	0.90 $\pm$ 0.02 ^a
大黄萃取液组	10	0.63 $\pm$ 0.02 ^b	0.53 $\pm$ 0.02 ^b	0.53 $\pm$ 0.02 ^b
亚低温处理组	10	0.55 $\pm$ 0.04 ^b	0.60 $\pm$ 0.02 ^b	0.60 $\pm$ 0.02 ^b
大黄萃取液联合亚低温处理组	10	0.44 $\pm$ 0.02 ^{bed}	0.32 $\pm$ 0.02	0.45 $\pm$ 0.02

注: 与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$; 与亚低温处理组比较, ^d $P < 0.05$



图 1 各组兔脑组织中 CysLT1、CysLT2、5-LOX 的蛋白表达水平比较

3 讨论

随着 CPR 技术的进步, 发达国家心搏骤停后 ROSC 率已达 40% ~ 60%, 但患者最终出院率仅 10% 左右^[1]。复苏后综合征会明显影响其生存率, 主要表现为 ROCS 后出现不可逆的脑损伤及多器官功能衰竭 (multiple organ failure, MOF), 最终导致患者死亡^[8-9]。如何减轻和防治复苏后综合征, 继而提高患者生存率, 降低致残率, 是当前临床医学的研究热点之一^[9]。

复苏后综合征的实质是多种因素参与的临床疾病, 与多器官功能障碍综合征 (multiple organ dysfunction syndrome, MODS) 和全身炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS) 有相似之处, 炎症反应及炎症细胞因子在其中起着重要作用^[10]。TNF- α 是由淋巴细胞分泌的早期炎症反应促炎因子。TNF- α 释放可以直接强化炎症反应过程, 通过上调一些二次炎症介质的表达以及诱导其他促炎因子的释放, 导致炎症反应平衡失控^[11-12]。过量的炎症因子将导致体内“瀑布式”炎症反应。“瀑布式”炎症损伤在复苏后综合征的发生发展中发挥着重要作用^[11]。CPR 后, 体内单核细胞同时也分泌 IL-6, IL-6 也是促炎细胞因子, 与 TNF- α 一道继而激活核转录因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B), 启动炎症反应, 造成脑细胞炎性损伤, 从而诱导脑细胞凋亡^[12-13]。本实验中, 模型组相关促炎因子 TNF- α 与 IL-6 均明显增高, 而大黄萃取液组 TNF- α 和 IL-6 明显降低。提示大黄可能通过抑制炎症反应起始阶段而达到保护脑细胞目的。大黄萃取液联合亚低温处理组脑 TNF- α 进一步降低。提示大黄萃取液联合亚低温处理对由 CPR 所致的脑损伤保护具有协同作用。与 TNF- α 不同的是, 相比较大黄萃取液组及亚低温处理组, 大黄萃取液联合亚低温处理组 IL-6 并没有显示出进一步的抑制, 其机制还有待进一步探讨。

在炎症反应发生的同时, 依靠免疫反应等其他机制, 抗炎因子也会随之升高, 继而达到调控炎症的目的, 避免机体进一步损伤^[14-15]。其中就包括抗炎细胞因子如 IL-4、TGF- β 1^[15-16]。CPR 后, 促炎因子大量释放, 抗炎因子被抑制, 导致促炎 / 抗炎因子比例失衡^[16-17]。这种“瀑布式”炎症损伤和促炎 / 抗炎因子比例失衡, 是加重脑损伤的关键因素^[18-19]。本实验中, 模型组抗炎因子 IL-4、TGF- β 1 较正常对照组明显下降。而给予大黄萃取液处理后, 促炎

因子被明显抑制,抗炎因子明显升高,使得促炎/抗炎因子失衡得到缓解,从而减轻了 CPR 术后的脑损伤。此外,研究表明,白细胞三烯通路是体内重要的炎症通路,是多种炎症反应的共同通路,在脑缺血缺氧/再灌注损伤中发挥重要作用^[20-21]。本实验中模型组 5-LOX 以及 CysLT1、CysLT2 的蛋白表达水平均较其他组均明显升高。

有研究证实,临床亚低温治疗可改善 CPR 后患者脑功能,并可显著提高存活率^[22-24]。但来自大样本的数据表明,亚低温治疗的疗效并不显著,其真实效果有待商榷^[25-26]。本实验结果提示,早期亚低温治疗有助于减轻 CPR 后脑损伤。但亚低温处理联合大黄萃取液其保护作用较二者单独使用效果更显著。

本课题组前期的研究已证实,大黄萃取液预处理能抑制心搏骤停/CPR 实验动物脑组织神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)和 S100 β 的蛋白表达水平,具有脑保护作用^[5]。同时对 CPR 后兔肺及肾组织具有保护作用,但其具体机制尚不十分明确。本研究结果显示,大黄萃取液及亚低温脑保护治疗均能降低兔 CPR 后脑组织 TNF- α 、IL-4 含量及 5-LOX 的蛋白表达水平,且二者效果相当,但联用不能增强这种作用。证实大黄可应用于 CPR 后脑保护,其主要作用机制可能与调节促炎/抗炎相关因子体内平衡,抑制白细胞三烯炎症通路有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 徐胜勇,于学忠.心肺复苏的研究热点和进展[J].中国中西医结合急救杂志,2015,22(3):330-333. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.03.027.
- [2] Kleinman ME, Perkins GD, Bhanji F, et al. ILCOR scientific knowledge gaps and clinical research priorities for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care: a consensus statement [J]. Circulation, 2018, 137 (22): e802-e819. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000561.
- [3] 薛继可,冷巧云,高玉芝,等.急诊科心搏骤停患者心肺复苏预后的影响因素[J].中华急诊医学杂志,2013,22(1):28-34. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2013.01.007.
- [4] 杨虹,成静,陈芳,等.丁苯酞对家兔心脏骤停复苏后炎症反应和脑损伤的作用[J].中国急救医学,2019,39(8):793-797. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2019.08.018.
- [5] 董勇,褚韵赞,张希洲,等.大黄萃取液对兔心肺复苏后脑组织 NSE 及 S100 β 蛋白表达的影响[J].中国急救医学,2018,38(6):515-518. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2018.06.012.
- [6] 董勇,占景琼,徐雯,等.大黄萃取液对兔 CPR 后肾脏 NGAL 及 IL-18 表达的影响[J].中华危重病急救医学,2017,29(10):907-910. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.10.009.
- [7] 董勇,张希洲,占景琼,等.大黄萃取液对心肺复苏后兔肺 TNF- α 及 IL-8 表达的影响[J].临床急诊杂志,2017,18(5):366-368. DOI: 10.13201/j.issn.1009-5918.2017.05.011.
- [8] Khan JN, Nazir SA, Singh A, et al. Relationship of myocardial strain and markers of myocardial injury to predict segmental recovery after acute ST-segment-elevation myocardial infarction [J]. Circ Cardiovasc Imaging, 2016, 9 (6): e003457. DOI: 10.1161/CIRCIMA GING.115.003457.
- [9] Rittenberger JC, Doshi AA, Reynolds JC, et al. Postcardiac arrest management [J]. Emerg Med Clin North Am, 2015, 33 (3): 691-712. DOI: 10.1016/j.emc.2015.04.011.
- [10] Huet O, Dupic L, Batteux F, et al. Postresuscitation syndrome: potential role of hydroxyl radical-induced endothelial cell damage [J]. Crit Care Med, 2011, 39 (7): 1712-1720. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3182186d42.
- [11] Roberts BW, Kilgannon JH, Chansky ME, et al. Association between initial prescribed minute ventilation and post-resuscitation partial pressure of arterial carbon dioxide in patients with post-cardiac arrest syndrome [J]. Ann Intensive Care, 2014, 4 (1): 9. DOI: 10.1186/2110-5820-4-9.
- [12] 夏金明,赖登攀,何旋芳.心肺复苏患者 NF- κ B 亚基 P65、TNF- α 的变化及相关性分析[J].中国现代医生,2018,56(7):27-30.
- [13] Pan J, Zhu JY, Kee HS, et al. A review of compression, ventilation, defibrillation, drug treatment, and targeted temperature management in cardiopulmonary resuscitation [J]. Chin Med J (Engl), 2015, 128 (4): 550-554. DOI: 10.4103/0366-6999.151115.
- [14] 徐奇奇,高红梅,窦琳,等.黄芩注射液对脓毒症炎症反应调控作用的研究[J].中国中西医结合急救杂志,2017,24(2):180-183. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.02.019.
- [15] Halbertsma FJ, Mohns T, Bok LA, et al. Prevalence of systemic air-embolism after prolonged cardiopulmonary resuscitation in newborns: a pilot study [J]. Resuscitation, 2015, 93: 96-101. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2015.06.007.
- [16] Wang DW, Lou XQ, Jiang XM, et al. Oxymatrine protects against the effects of cardiopulmonary resuscitation via modulation of the TGF- β 1/Smad3 signaling pathway [J]. Mol Med Rep, 2018, 17 (3): 4747-4752. DOI: 10.3892/mmr.2018.8373.
- [17] Dong GJ, Yang J, Zhao X, et al. Anisodamine hydrobromide ameliorates cardiac damage after resuscitation [J]. Exp Ther Med, 2022, 23 (6): 422. DOI: 10.3892/etm.2022.11349.
- [18] Chang Y, Zhu J, Wang D, et al. NLRP3 inflammasome-mediated microglial pyroptosis is critically involved in the development of post-cardiac arrest brain injury [J]. J Neuroinflammation, 2020, 17 (1): 219. DOI: 10.1186/s12974-020-01879-1.
- [19] Topjian AA, de Caen A, Wainwright MS, et al. Pediatric post-cardiac arrest care: a scientific statement from the American Heart Association [J]. Circulation, 2019, 140 (6): e194-e233. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000697.
- [20] He ZL, Tao D, Xiong JM, et al. Phosphorylation of 5-LOX: the potential set-point of inflammation [J]. Neurochem Res, 2020, 45 (10): 2245-2257. DOI: 10.1007/s11064-020-03090-3.
- [21] Tu XK, Zhang HB, Shi SS, et al. 5-LOX inhibitor zileuton reduces inflammatory reaction and ischemic brain damage through the activation of PI3K/Akt signaling pathway [J]. Neurochem Res, 2016, 41 (10): 2779-2787. DOI: 10.1007/s11064-016-1994-x.
- [22] Bernard SA, Gray TW, Buist MD, et al. Treatment of comatose survivors of out-of-hospital cardiac arrest with induced hypothermia [J]. N Engl J Med, 2002, 346 (8): 557-563. DOI: 10.1056/NEJMoa003289.
- [23] Dankiewicz J, Cronberg T, Lilja G, et al. Hypothermia versus normothermia after out-of-hospital cardiac arrest [J]. N Engl J Med, 2021, 384 (24): 2283-2294. DOI: 10.1056/NEJMoa2100591.
- [24] 袁伟,李春盛.亚低温治疗在心脏复苏中的应用与研究进展[J].中华危重病急救医学,2016,28(12):1165-1169. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.12.023.
- [25] Dankiewicz J, Cronberg T, Lilja G, et al. Targeted hypothermia versus targeted normothermia after out-of-hospital cardiac arrest (TTM2): a randomized clinical trial-rationale and design [J]. Am Heart J, 2019, 217: 23-31. DOI: 10.1016/j.ahj.2019.06.012.
- [26] 赵旭岩,隋欣.亚低温治疗在心脏复苏后患者中的应用进展[J].医学综述,2021,27(7):1380-1384. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2021.07.024.

(收稿日期:2023-02-07)

(责任编辑:邸美仙)