

大鼠心肺复苏后肺组织的损伤及其影响因素

李瑞东¹, 杨兴易^{1*}, 顾桂国²

(1. 第二军医大学长征医院急救科, 解放军急救医学中心, 上海 200003; 2. 上海市浦东新区人民医院急诊科, 上海 201200)

[摘要] 目的: 研究心肺复苏后大鼠肺组织细胞的损伤及其可能的影响因素。方法: 选择健康 SD 雄性大鼠 16 只, 随机均分为对照组和复苏组, 采用琥珀酰胆碱(0.15 mg/100 g)窒息合并冰氯化钾(0.5 mol/L, 0.12 ml/100 g, 4)致大鼠心跳骤停, 停跳 5 min 后开始心肺复苏, 制备大鼠呼吸心跳骤停-心肺复苏模型。复苏后 3 h 取动脉血行血气分析, 取静脉血离心采用放射免疫法测定血清中 TNF- α 含量, 取肺组织测定湿干质量比值(W/D)、髓过氧化物酶(MPO)活性和丙二醛(MDA)含量, 通过光镜和电镜观察肺组织细胞结构的变化。结果: 心肺复苏后 3 h 较对照组大鼠肺 W/D 值明显升高($P < 0.05$), PaO₂ 降低, 血清中 TNF- α 含量、肺组织 MDA 含量和 MPO 活性明显升高($P < 0.05$), 光镜、电镜观察结果显示肺组织细胞结构均有较明显受损的征象。结论: 心肺复苏后早期大鼠存在肺组织细胞损伤, 肺功能受损, 血清 TNF- α 升高, 氧自由基生成增多, 中性粒细胞(PMN)在肺组织聚集可能参与了复苏后肺组织细胞损伤的过程。

[关键词] 心肺复苏; 缺血再灌注损伤; 急性肺损伤; 髓过氧化物酶; 丙二醛

[中图分类号] R 605.974

[文献标识码] A

[文章编号] 0258-879X(2004)11-1169-04

Mechanism of lung injury after cardiopulmonary resuscitation in rats

LI Rui-Dong¹, YANG Xing-Yi^{1*}, GU Gui-Guo² (1. Department of Emergency, People's Hospital of Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Critical Care Medicine Center of PLA, Shanghai 200003, China; 2. Department of Emergency, People's Hospital of Pudong New Area, Shanghai 201200)

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the mechanism of lung injury after cardiopulmonary resuscitation (CPR) in rats. **Methods:** Cardiac arrest was induced by asphyxiation (succinylcholine) and ice-cold 0.5 mol/L KCl in rats and CPR was carried out 5 min after arrest. Sixteen adult male Sprague-Dawley rats were randomly allocated into 2 groups: control group ($n=8$) and CPR group ($n=8$). The blood gas analysis, serum level of tumor necrosis factor α (TNF- α), lung tissue wet mass/dry mass ratio (W/D), lung malondialdehyde (MDA) content and myeloperoxidase (MPO) activities were measured 3 h after CPR. The histological appearances of the lungs were observed under light and electron microscope. **Results:** Compared to the control group, the lung W/D, serum TNF- α , pulmonary MDA and MPO activity increased dramatically in CPR group while PaO₂ decreased 3 h after resuscitation ($P < 0.05$). Histological examination demonstrated the injuries of lung tissues and the changes of the ultrastructure after resuscitation. **Conclusion:** Although pulmonary dysfunction is not serious, there are pulmonary pathological and ultrastructure damages in the earlier period after CPR. The elevation of TNF- α in systemic circulation, increase of oxygen-derived free radicals and accumulation of pulmonary PMN may play important roles in pulmonary damage after CPR.

[KEY WORDS] cardiopulmonary resuscitation; ischemia-reperfusion injury; lung injury; myeloperoxidase; malondialdehyde

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2004, 25(11): 1169-1172]

* 心跳骤停、心肺复苏(CPR)的过程就是全身性缺血再灌注(I/R), 是一种复杂的全身性病理生理过程, 可引起全身炎症反应综合征(SIRS)^[1], 导致多个器官功能障碍、结构损伤, 发展为复苏后多器官功能障碍综合征(PR-MODS)^[2]。CPR后随着自主循环建立, 呼吸功能的恢复对患者至关重要。肺由于其自身结构和功能特点极易受损, 目前关于CPR后急性肺组织细胞损伤的研究尚未见报道。本实验目的在于通过研究CPR后大鼠肺组织细胞的急性损伤及其可能机制, 为临床PR-MODS的防治提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组 选择健康雄性SD大鼠16只, 体质量256~338 g, 49~56日龄, 由复旦大学医学院实验动物中心提供。随机将其均分为对照组和CPR组($n=8$)。

1.2 CPR模型的制备 术前禁食不禁水12 h, 称

* [基金项目] 上海市科技发展基金攻关计划(001119019)。

[作者简介] 李瑞东(1975-), 男(汉族), 博士生

E-mail: leeruidong@sina.com.cn

* Corresponding author. E-mail: xyprofessor@126.com

量, 氯胺酮 15 mg/100 g 经腹腔注射麻醉, 颈部正中切口, 行气管插管和左侧颈外静脉、右侧颈总动脉置管, 监测有创动脉血压、心电图、呼吸及直肠温度。操作完成并稳定 20 min 后经颈静脉注射肌松剂(琥珀酰胆碱, 0.15 mg/100 g)抑制呼吸, 合并 0.5 mol/L 冰氯化钾(4, 0.12 ml/100 g)停跳液致大鼠心跳骤停^[3]。持续 5 min 后行 CPR, 出现自主心律、脉搏波且收缩压 ≥ 60 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa), 持续 10 min 以上判定为自主循环恢复(ROSC)。所有实验参数设计和记录均参照复苏实验研究的 Utstein 模式^[4]。对照组仅进行插管等手术操作, 不进行心跳骤停和 CPR。

1.3 标本采集和检测 术后 3 h 采静脉血后处死, 血标本凝固后离心取血清, -20℃ 冰箱保存待测, 剪开左侧颈外静脉, 经右侧颈总动脉灌注生理盐水至流出液变清, 开胸取肺, 左右肺离断。

1.3.1 肺组织湿质量/干质量(W/D)测定^[5] 取右肺前、中叶, 滤纸吸干表面液体, 称湿质量, 然后置于 60℃ 烘箱中 48 h 去除水分, 再称干质量, 计算 W/D。

1.3.2 肺组织髓过氧化酶(MPO)活性和丙二醛(MDA)含量测定 右肺后叶及中间叶按南京建成生物工程研究所试剂盒说明书要求制备 5% 肺组织

匀浆, 按步骤测定。

1.3.3 TNF- α 检测 按北京福瑞生物工程公司放射免疫试剂盒说明书操作, 在放射免疫 γ 计数器上测定放射计数率, 根据标准曲线得出样品浓度。

1.3.4 动脉血气分析 取动脉血 0.2 ml, 采用丹麦 ABL-50 血气分析仪检测。

1.3.5 光镜检查 左肺动脉灌注 4% 多聚甲醛后, 将 3 mm \times 3 mm \times 6 mm 的左肺组织放入 4% 多聚甲醛液中常温固定, 石蜡包埋, 常规切片, H-E 染色, 日本 Olympus BX60 显微镜下观察。

1.3.6 电镜检查 大鼠左肺组织用锐利刀片切取 1 mm³ 大小 3 块, 放入 4%、2.5% 戊二醛固定 4 h, 0.1 mol/L PBS 漂洗, 2% 锇酸后固定 2 h, 乙醇丙酮梯度脱水, 812 包埋剂包埋, 超薄切片, 常规铅铀染色, 日立 HE-800 透射电镜下观察。

1.4 统计学处理 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较用 *t* 检验。统计学分析采用 SPSS11.0 统计软件。

2 结果

2.1 动脉血气分析 大鼠复苏后 3 h, CPR 组 pH 值较对照组明显降低 ($P < 0.05$), PaCO₂ 组间无统计学差异, PaO₂ 较对照组明显降低 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 大鼠复苏后 3 h 的动脉血气、血清 TNF- α 含量、肺组织 W/D、MPO 活性和 MDA 含量

Tab 1 Changes of arterial blood gas, serum TNF- α , lung W/D, activities of MPO and content of MDA in lung tissue 3 h after CPR

Group	pH	PaCO ₂ (p/mmHg)	PaO ₂ (p/mmHg)	TNF- α (β /ng \cdot ml ⁻¹)	W/D	MPO (μ B/U \cdot g ⁻¹)	MDA (μ B/mmol \cdot mg ⁻¹)
Control	7.38 \pm 0.03	31.6 \pm 3.8	101.6 \pm 7.3	0.959 \pm 0.289	3.53 \pm 0.33	1.072 \pm 0.325	1.58 \pm 0.36
CPR	7.22 \pm 0.09*	40.8 \pm 6.7	84.3 \pm 12.2*	1.469 \pm 0.280*	4.97 \pm 0.39*	2.182 \pm 0.356*	3.77 \pm 0.81*

(n = 8, $\bar{x} \pm s$)

1 mmHg = 0.133 kPa; * $P < 0.05$ vs control group

2.2 外周血 TNF- α 含量、肺组织 W/D、MPO 活性和 MDA 含量 复苏后 3 h, CPR 组较对照组大鼠肺 W/D 值明显升高 ($P < 0.05$), 血浆中 TNF- α 含量、肺组织 MDA 含量和 MPO 活性明显升高 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 光镜观察结果 对照组无明显病理改变, CPR 组光镜下可见肺泡腔狭窄, 肺泡壁增厚, 肺泡壁毛细血管扩张, 肺泡内有明显出血, 并有水肿液渗出(图 1)。

2.4 电镜观察结果 对照组肺内毛细血管内皮细胞无肿胀, 核染色质均匀分布, I 型肺泡上皮细胞内见吞饮小泡, II 型肺泡上皮细胞膜表面微绒毛较多,

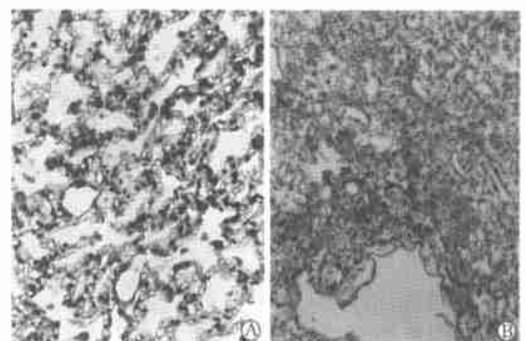


图 1 复苏后 3 h 肺组织光镜下的病理改变

Fig 1 Lung tissue pathology observed 3 h after CPR

A: Stenosis of alveolus, thickening of alveolus wall, dropsy effusion ($\times 200$); B: Evident alveolus hemorrhage ($\times 100$)

线粒体无肿胀, 嵴较多, 胞质中嗜钨性板层小体较丰富, 肺泡隔结缔组织薄(图 2A)。CPR 组肺内毛细血管内皮细胞肿胀, 可见核染色质聚集并靠核膜周边分布; I 型肺泡上皮细胞基膜有所增厚, 胞质内见一些空泡; II 型肺泡上皮细胞膜表面微绒毛减少, 基质中线粒体肿胀, 嵴减少, 有的呈空泡化, 且胞质中板层小体明显减少; 肺泡隔结缔组织增厚(图 2B)。

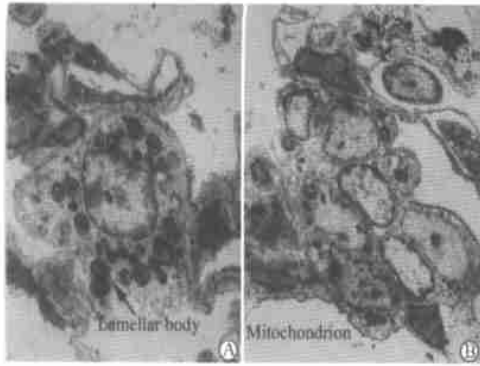


图 2 复苏后 3 h 肺组织电镜下的改变

Fig 2 Changes of lung tissue observed 3 h after CPR under electron microscope ($\times 4\ 000$)

A: The quantity of the lamellar bodies, the form of nucleolus and chromatin were normal in alveolar type II cell in control group; B: There were diminution of the lamellar bodies and vacuolization of mitochondrion in alveolar type II cell in CPR group

3 讨论

有效的 CPR 术后, 患者虽未出现死亡, 但 CPR 前存在的灌注衰竭和 CPR 后再灌注时由于多种自由基和致炎因子的大量释放, 使组织细胞由于再灌注出现弥漫性损伤, 导致细胞结构改变、通透性增加、组织水肿和炎症反应, 最终甚至可发展为病死率极高的 PR-MODS^[6]。Nage1 等^[7]通过对 2 228 例施行 CPR 的患者分析, 肺水肿的发生率为 46%。肺脏易受累至少有 3 方面的原因: (1) 肺是全身静脉血液回流的过滤器, 又是一个重要的代谢器官, 全身组织引流出的代谢产物、活性物质以及血中的异物都要经过或被阻留在肺; (2) 血中活化的中性粒细胞 (PMN) 也都要流经肺毛细血管, 肺毛细血管灌注压低、血管长而且分支少, PMN 在其中运动缓慢易于与内皮细胞接触并黏附, 在黏附后不易被血流冲走, 因此, PMN 易聚集于肺脏; (3) 肺含有丰富的巨噬细胞, 可被血中的促炎介质激活, 产生促炎因子, 引起炎症反应。

本实验中 CPR 后肺组织 W/D 明显升高, 说明肺组织水肿, 通透性增加, 呼吸膜增厚。血气分析显示 CPR 后 PaO₂ 较对照组明显降低, 与其肺 W/D 升高相一致。虽然 CPR 后早期肺功能改变并不严

重, 但在光镜和电镜下观察发现不论是肺脏的组织结构还是细胞超微结构都有较明显的受损征象, 是进一步发展为 PR-MODS 的肺组织和细胞的病理基础。

复苏后肺组织细胞损伤是 CPR 后全身性 I/R 损伤在肺部的表现。既有肺脏本身 I/R 的损伤, 也有其他远隔器官 I/R 损伤对肺的影响。一般而言, 肺外因素所致的肺损伤实际上是 SIRS 的一种表现^[8]。CPR 过程是一个炎症反应过程^[9, 10], SIRS 在心跳骤停 CPR 后是常见的一种非特异性反应^[11]。目前倾向认为 PMN 的激活、黏附及其产生的毒性物质是造成全身性 I/R 后肺组织细胞损伤的中心环节^[11], 而从再灌注组织中释放入血的代谢产物和炎症介质是使 PMN 激活及其在肺中聚集的必要物质。研究发现肺组织中 MPO 活性升高可导致 PMN 在组织内集聚程度增加, 两者呈现良好的线性关系^[12], 所以肺组织中 MPO 的活性能反映 PMN 在肺组织中的集聚程度。本实验观察到复苏后肺组织 MPO 活性显著增高, 同时肺组织病理学检查也发现, 复苏后肺组织内 PMN 浸润, 说明 PMN 参与了 CPR 后肺组织细胞的损伤。I/R 后肺损伤的发生与炎症细胞因子的增高明显相关。TNF 是最早出现的细胞因子, 主要是由单核巨噬细胞识别信号后产生的前炎症细胞因子, 启动炎症级联反应, 诱导 PMN 迁移、聚集, 从而不仅启动早期炎症反应, 而且维持炎症。本实验研究中复苏后短时间内肺组织 MDA 含量明显增加。目前认为缺血器官再灌注后都有自由基的增加, I/R 时氧自由基的产生是造成组织 I/R 损伤的主要原因。测定脂质过氧化反应的代谢产物 MDA 含量, 可间接反映氧自由基的生成及所致组织细胞损伤的程度^[13]。自由基可增加肺组织中细胞因子的表达^[14], 还可通过激活核转录因子 (NF- κ B) 促进中性粒细胞趋化因子 (CXC) 和血管内皮细胞黏附分子的形成, 使聚集在肺组织的 PMN 增多^[15], 堵塞毛细血管并释放炎症介质造成组织损伤, 导致间质水肿甚至肺泡水肿等急性肺损伤的病理改变。

[参考文献]

- [1] Geppert A, Zorn G, Karth GD, et al Soluble selections and the systemic inflammatory response syndrome after successful cardiopulmonary resuscitation [J]. *Crit Care Med*, 2000, 28 (7): 2360-2365.
- [2] 杜捷夫, 沈洪 第 44 例——心肺复苏后多器官功能障碍综合征 (Internet 网上专题讨论) [J]. *中国危重病急救医学*, 2002, 14(6): 383-385.

[3] Li MM, Payne RS, Tseng MT, et al. Correlates of delayed neuronal damage and neuroprotection in a rat model of cardiac-arrest-induced cerebral ischemia [J]. *Brain Res*, 1999, 826 (1): 44-52

[4] 陈尔真, 蒋 健. 复苏实验研究 Ustein 模式 [J]. *中国急救医学*, 1999, 19(2): 70-73

[5] Kawanae K, Murakawa M, Otsuki M, et al. Precordial compression without airway management induces lung injury in the rodent cardiac arrest model with central apnea [J]. *Resuscitation*, 2001, 51(2): 165-171

[6] Adrie C, Adib-Conquy M, Laurent I, et al. Successful cardiopulmonary resuscitation after cardiac arrest as a "sepsis-like" syndrome [J]. *Circulation*, 2002, 106(5): 562-568

[7] Nagel EL, Fine EG, Krischer JP, et al. Complications of CPR [J]. *Crit Care Med*, 1983, 11(1): 46-47

[8] 郭 仓. ARDS 与 MODS 二者发病机制的相互关联性 [J]. *中国危重病急救医学*, 1999, 11(2): 6970

[9] Cand S, Nanzak S, Morimoto Y, et al. Alteration of soluble-1 and P-selectins during cardiac arrest and CPR [J]. *Intensive Care Med*, 1999, 26(6): 588-593

[10] Gando S, Nanzak S, Morimoto Y, et al. Out-of-hospital cardiac arrest increases soluble vascular endothelial adhesion molecules and neutrophil elastase associated with endothelial injury [J]. *Intensive Care Med*, 2000, 26(1): 38-44

[11] Younger JG, Taqi AS, Jost PF, et al. The pattern of early lung parenchymal and air space injury following acute blood loss [J]. *Acad Emerg Med*, 1998, 5(7): 659-665

[12] Mullane KM, Kraemer R, Smith B. Myeloperoxidase activity as a quantitative assessment of neutrophil infiltration in ischemic myocardium [J]. *J Pharmacol Methods*, 1985, 14(3): 157-167

[13] 吴伟康, 罗汉川, 侯 灿, 等. 增龄对小鼠心肌氧自由基浓度、超氧化物歧化酶活性及丙二醛含量的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 1994, 14(4): 230-232

[14] Schwartz MD, Repine JE, Abraham E. Xanthine oxidase-derived oxygen radicals increase lung cytokine expression in mice subjected to hemorrhagic shock [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1995, 12(4): 434-440

[15] Sanders KA, Huecksteadt T, Xu P, et al. Regulation of oxidant production in acute lung injury [J]. *Chest*, 1999, 116(1 Suppl): 56S-61S

[收稿日期] 2004-06-14 [修回日期] 2004-10-12
[本文编辑] 孙 岩

· 研究简报 ·

医院内泌尿系感染 96 例原因分析

In-hospital urinary infection: an analysis of 96 cases

倪建平 (山西省晋中经纬医院护理部, 晋中 030601)

[关键词] 医院感染; 泌尿系统感染

[中图分类号] R 691.3 [文献标识码] B [文章编号] 0258-879X (2004) 11-1172-01

* 医院内泌尿系感染在西方国家居各部位医院感染之首, 占 30% ~ 50%; 而在我国占医院感染的 20.8% ~ 31.7%, 仅次于呼吸道感染^[1]。如何控制和减少医院内泌尿系感染的问题, 已受到越来越多的关注。为探讨医院内泌尿系感染的原因及预防对策, 对我院 1998~ 2002 年 96 例医院内泌尿系感染的病例进行回顾性调查分析, 现报告如下。

1 材料和方法

对我院 1998 年 1 月至 2002 年 12 月出院患者 23 635 例次, 采用回顾性调查方法, 逐一填写表格, 以 χ^2 检验方法进行统计分析处理。诊断标准依据 1997 年国家卫生部医政司《医院感染诊断标准》和王枢群教授编写的《医院感染学》^[1]。

2 结果

2.1 医院内泌尿系感染的发生率 调查病历 23 635 份, 发生医院感染 531 例次 (2.25%), 其中泌尿系感染 96 例次 (感染率 0.41%), 占医院内感染总例次的 18.08% (96/531)。

2.2 医院内泌尿系感染与年龄的关系 96 例次医院内泌尿系感染病例中, 年龄最小的 11 岁, 最大的 91 岁, 平均 51 岁。其中 60 岁者 61 例次 (63.54%), 18~ 59 岁者 32 例次

(33.34%), < 18 岁者 3 例次 (3.13%)。显示年龄越大感染率越高 ($\chi^2 = 78.8, P < 0.01$)。

2.3 医院内泌尿系感染与留置导尿管的关系 96 例次医院内泌尿系感染病例中, 66 例次 (68.75%) 留置尿管, 30 例次 (31.25%) 未留置尿管, 留置导尿管发生医院内感染的概率明显高于未留置尿管者 ($\chi^2 = 25.96, P < 0.01$)。66 例次留置导尿管患者中, 留置 1 d 发生医院内泌尿系感染者 1 例 (1.04%), 3 d 者 7 例 (7.29%), 7~ 13 d 者 9 例 (9.38%), 14 d 者 49 例 (51.04%), 占留置尿管发生院内泌尿系感染总例次的 74.24% (49/66)。拔管后发生泌尿系感染者 11 例, 占医院内泌尿系感染总例次的 11.46% (11/96)。

2.4 医院内泌尿系感染与科室分布关系 手术科室发生泌尿系感染 60 例, 占医院内泌尿系感染总数的 62.50%; 非手术科室 36 例, 占 37.50%。儿科、皮肤科、眼科、口腔科无一例泌尿系感染发生。

2.5 医院内泌尿系感染与抗生素使用情况 96 例次泌尿系感染病例中, 全部使用抗生素治疗。其中使用 1 种抗生素者

(下转第 1181 页)

* [作者简介] 倪建平 (1953-), 女 (汉族), 主管护师