

目标温度控制联合 PGE₁ 对心肺复苏后大鼠 脑微血管内皮缺血再灌注损伤的保护*

魏薇, 赖世超, 谢勇, 刘伯夫, 何亚荣, 胡海, 万智[△]

四川大学华西医院 急诊科(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨目标温度控制(TTM)、前列腺素 E₁(PGE₁)及两者联合干预措施对心跳骤停后自主循环恢复(ROSC)大鼠的脑微血管内皮缺血再灌注损伤是否存在保护作用。方法 经食道交流电致颤建立 ROSC 大鼠模型。设立假手术组、ROSC 组、PGE₁ 组、TTM 组和 PGE₁/TTM 联合干预组。采用 HE 染色检测脑组织细胞肿胀及微血栓形成情况。脑组织进行 CD34/TUNEL 荧光双染和血管内皮钙黏蛋白素(VE-cadherin)/血管内皮生长因子受体荧光双染,比较脑微血管内皮细胞损伤程度。运用荧光定量 PCR 技术测定脑组织匀浆中 VE-cadherin 和血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)的 mRNA 表达水平。结果 TTM、PGE₁ 及其联合干预措施可以不同程度地减轻脑组织水肿,减少微血栓的形成以及微血管内皮细胞的凋亡,缓解脑微血管内皮细胞 VE-cadherin 蛋白的破坏,且以联合干预组更为显著。3 种干预措施可有效抑制脑组织中 VE-cadherin mRNA(0.5 h)和 VCAM-1 mRNA(4 h 和 8 h)表达水平的上升($P < 0.05$)。结论 TTM 和 PGE₁ 均对 ROSC 大鼠的脑微血管内皮缺血再灌注损伤具有不同程度保护能力,且两者的联合干预效果较单独干预强。

【关键词】 心肺复苏 脑微血管内皮细胞 缺血再灌注损伤 目标温度控制 前列腺素 E₁

The Protective Effect of Target Temperature Management Combined with Prostaglandin E₁ on Ischemia/Reperfusion Injury of Cerebral Micro-vascular Endothelium of ROSC Rat WEI Wei, LAI Shi-chao, XIE Yong, LIU Bo-fu, HE Ya-rong, HU Hai, WAN Zhi[△]. Department of Emergency, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: 303680215@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the protective effect of target temperature management (TTM) combined with prostaglandin E₁ (PGE₁) on ischemia/reperfusion (I/R) injury of cerebral micro-vascular endothelium cell (CMEC) in the return of spontaneous circulation (ROSC) rats with successful cardiopulmonary resuscitation. **Methods** Transoesophageal cardiac pacing with alternating current was used to induce ventricular fibrillation in rats. Five groups were set: Sham group (S group), ROSC group (R group), PGE₁ group (P group), TTM group (T group) and PGE₁/TTM group (PT group). Cell edema and micro-thrombus formation in cerebral tissue were evaluated through HE staining. I/R injury of CMEC was evaluated through CD34/TUNEL and vascular endothelial (VE)-cadherin/VE growth factor receptor double fluorescent immunohistochemistry staining. VE-cadherin mRNA and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) mRNA expression in cerebral tissue lysate was analyzed by fluorescence quantitative PCR. **Results** TTM, PGE₁ and PGE₁/TTM could significantly improve cerebral interstitial edema, micro-thrombus, and inflammatory cells infiltration in the brain tissue, and reduce the apoptosis and VE-cadherin protein loss of CMEC. PGE₁/TTM showed better protective effect. These 3 interventions also inhibited the rapid elevation of VE-cadherin mRNA (0.5 h) and VCAM-1 mRNA (4 h and 8 h) expression ($P < 0.05$), which might indicate the less I/R injury of CMEC of ROSC rat. **Conclusion** Both PGE₁ and TTM could alleviate I/R injury of CMEC from ROSC rat after CPR separately, while PGE₁/TTM combined intervention might have synergistic better effect.

【Key words】 CPR CMEC Ischemic/reperfusion injury TTM PGE₁

近年来,随着急救技术和设备的革新,恢复心脏骤停患者的初期自主循环,已不再是急诊科医师救治的职责终点。尽早实施前期干预,改善心跳骤停成功复苏患者后期的缺血再灌注损伤,达到最优化

* 成都市高校院所应用成果转化项目(No. 11DXYB294SF-027)资助

△ 通信作者, E-mail: 303680215@qq.com

的远期康复目标——神经功能的恢复,已成为急诊医师需要面临的巨大挑战。虽然心脏骤停后缺血再灌注损伤可导致严重的脑损伤已是不争的事实,但其所涉及的复杂的细胞分子效应机制,大部分却尚未可知^[1]。研究证实,血管内皮细胞参与了心跳骤停后自主循环恢复(return of spontaneous circulation, ROSC)的缺血再灌注损伤的整个过程,并且已成为心脏骤停后综合征(post cardiac arrest syndrome, PCAS)研究非常关键的部分^[2]。

随着对心跳骤停后 ROSC 脑损伤治疗研究的不断深入,目标温度控制(target temperature management, TTM)逐渐被纳入 PCAS 患者神经保护性治疗策略的主流。2015 年美国心脏病协会(american heart association, AHA)发布的心肺复苏指南中,更是明确提出了“对心跳骤停 ROSC 后的昏迷患者使用 TTM”的建议^[3]。但是,由于 PCAS 脑损伤的处理是由一系列综合性的治疗措施所组成,且实施 TTM 期间是否对其它药物的代谢和效用有所影响,目前尚未得到充分研究。前列腺素 E₁(prostaglandin E₁, PGE₁)属于天然前列腺素类物质,具有扩张血管平滑肌、抑制血小板聚集、降低血液黏滞度和红细胞聚集性、改善微循环等作用。PGE₁ 对卒中中等造成的脑组织缺血再灌注损伤的保护作用也已经被证实和肯定^[4]。但是,目前尚无 PGE₁ 对 ROSC 后缺血再灌注损伤所导致的脑微血管内皮细胞功能障碍的调节效应的评估。基于此,本研究旨在探讨 TTM 和 PGE₁ 对心跳骤停后 ROSC 大鼠脑微血管内皮细胞的缺血再灌注损伤是否存在保护效应,以及两者的联合干预策略是否具有协同效应。

1 材料和方法

1.1 实验动物和主要试剂

39 只清洁级健康成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠,12~14 周龄,体质量(370±20) g,由四川达硕生物科技有限公司提供。Select Secure Model 3830 双极心脏起搏电极导线用于诱发室颤(Medtronic 公司)。主要实验试剂包括 5 μg/mL 前列地尔注射液(北京泰德制药有限公司)、血管内皮钙黏蛋白素(VE-cadherin)抗体(Cell Signaling Technology 公司)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)抗体(Abcam 公司)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)和 CD34 抗体(Bioworld 公司),原位末端标记法(TUNEL)试剂盒(Cayman 公司)。RNA 提取 RNAprep pure 试剂盒,反转录 Quant cDNA 和荧光定量以及

SuperReal PreMix 试剂盒购自北京天根生化科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物模型的建立 采用频率 50 Hz、电流 6 mA、波宽 4 ms 的电流参数,将 36 只 SD 大鼠经食道进行电击致颤。持续电击 150 s 以后,维持至 4 min,建立大鼠心跳骤停模型^[5]。此后,采用自行设计并制作的小动物胸外按压器,对心跳骤停大鼠以 200 次/min 的频率进行胸外按压,从而建立大鼠心跳骤停后 ROSC 模型^[6]。

1.2.2 实验分组及流程 设立假手术组(S 组,3 只),并将 36 只成功建立心跳骤停 ROSC 模型的大鼠,随机均分为 4 组,每组 9 只。ROSC 对照组(R 组)、PGE₁ 干预组(P 组,按照 1 μg/kg 剂量将 PGE₁ 配置成为 1 mL 溶液,采用微泵以 1 mL/min 的速度匀速泵入)、TTM 干预组(T 组,采用体外物理降温在 0.5 h 内将大鼠体温降至(33±1)℃)和 PGE₁ 联合 TTM 干预组(PT 组,诱导亚低温同 TTM 组,同时亦给予 PGE₁)。本实验的研究时限是复苏成功 ROSC 后 8 h。选择在 0.5、4 和 8 h 时间点,每组各处死 3 只大鼠进行相关指标检测。

1.2.3 脑组织病理学观察 实验结束后,处死大鼠取出脑组织,观察脑组织外观的水肿情况和出血灶,进行常规石蜡切片,苏木精-伊红(HE)染色后,在光镜下观察细胞水肿、炎性细胞浸润、坏死及微血栓的形成情况。

1.2.4 脑组织微血管内皮细胞损伤检测 取复苏成功后 8 h 时大鼠的脑组织进行 CD34/TUNEL 荧光双染(CD34 阳性为绿色,TUNEL 阳性为红色,CD34/TUNEL 阳性为粉红色)和 VE-cadherin/VEGFR 荧光双染(VEGFR 免疫荧光标记血管内皮细胞为绿色,VE-cadherin 为红色,双染叠加时为粉红色),比较脑组织中微血管内皮细胞损伤程度。

1.2.5 脑组织 VE-cadherin 和 VCAM-1 mRNA 的表达 采用荧光定量 PCR 检测脑组织匀浆中的血管内皮 VE-cadherin 和 VCAM-1 的表达。用荧光定量 PCR 试剂盒进行反转录和定量扩增,记录扩增结果,计算目的基因相对于内参 β-actin 的表达倍数,然后分析比较实验组与对照组脑组织 VE-cadherin 和 VCAM-1 mRNA 的表达。

1.3 统计学方法

计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组之间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠脑组织病理学观察

见图 1。外观可见 S 组大鼠脑组织结构清晰, 无明显肿胀和局部渗血灶; R 组脑组织肿胀明显, 且可见局部渗血病灶; 而 P 组和 T 组的脑组织肿胀和局部渗血病灶情况相较 R 组有所减轻; PT 组的上述损伤的缓解程度较单独干预组更加明显。大鼠脑

组织 HE 染色(图 2)可见 S 组大鼠脑组织细胞排列整齐、紧密, 细胞胞浆丰富, 核膜清晰, 核仁可见。R 组大鼠脑组织细胞肿胀明显, 结构紊乱, 可见局灶出血性改变及微血栓形成, 少许炎性细胞浸润。随再灌注时间延长, 上述损伤性改变的范围扩大, 呈弥漫性改变。P 组和 T 组大鼠脑组织损伤仍显著, 但在相同时间点, 较 R 组有所减轻。与单独干预组相比, 同一时间点, PT 组大鼠上述情况改善明显。

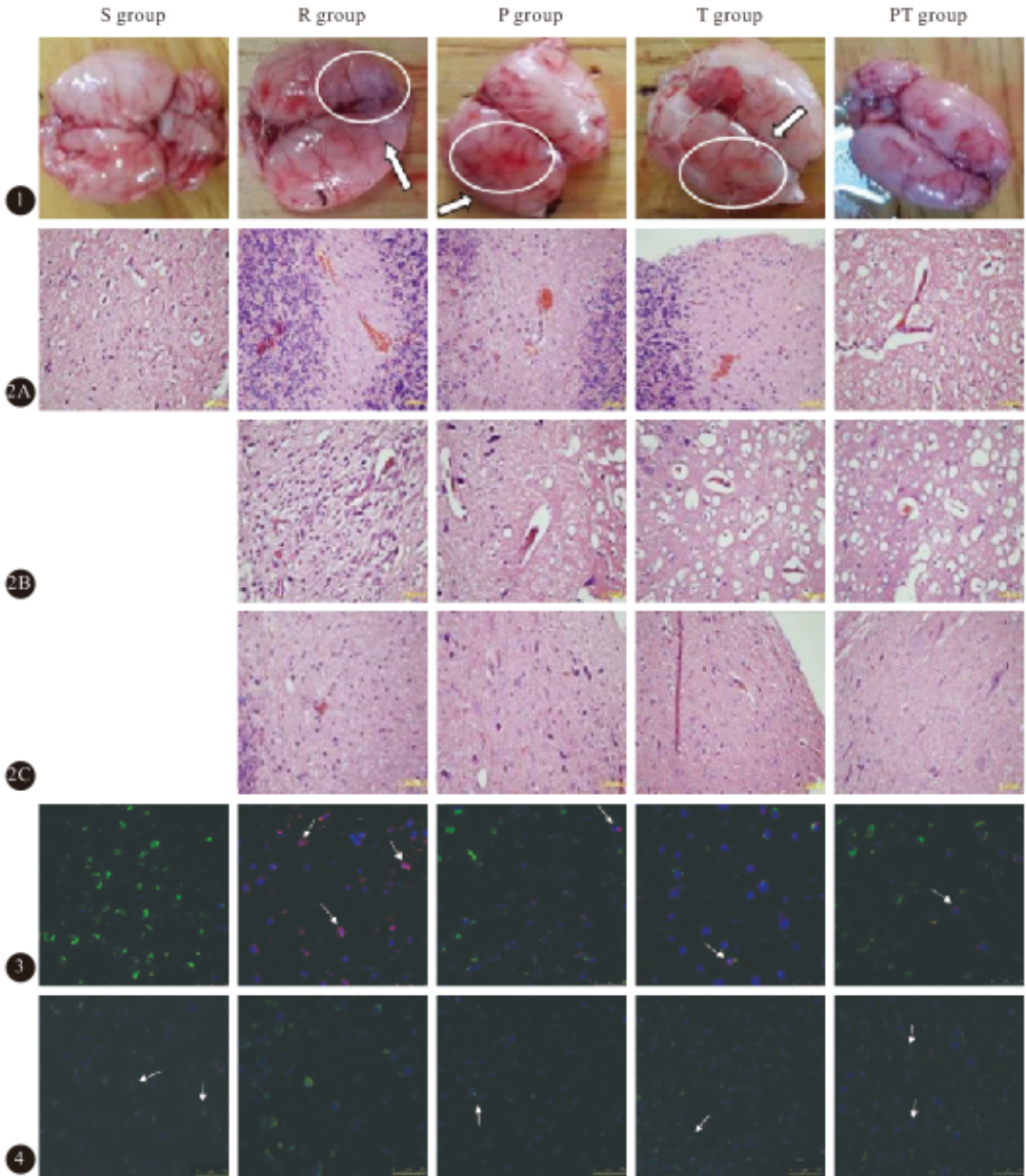


图 1 不同干预措施下 ROSC 大鼠脑组织外观变化 图 2 不同干预措施下 ROSC 大鼠脑组织 HE 染色的变化。HE ×200 图 3 不同干预措施对 ROSC 大鼠脑组织微血管内皮细胞凋亡的影响。×400 图 4 不同干预措施对 ROSC 大鼠脑微血管内皮细胞 VE-cadherin 表达的影响。×400

Fig 1 Morphologic change of the ROSC rats' whole brains with different interventions Fig 2 HE stained histological evaluation of ROSC rats' brains with different interventions (A: 0.5 h; B: 4 h; C: 8 h). ×200 Fig 3 CD34/TUNEL double fluorescent IHC staining of ROSC rats' CMECs (↑: apoptotic cell) with different interventions. ×400 Fig 4 VE-cadherin /VEGFR double fluorescent IHC staining of ROSC rats' CMECs (↑) with different interventions. ×400

2.2 大鼠脑微血管内皮细胞凋亡及 VE-cadherin 表达

CD34/TUNEL 染色后,S 组脑微血管内皮细胞呈现散在绿色斑点,无明显凋亡。R 组脑微血管内皮细胞呈现明显粉红色,绿色荧光染色的内皮细胞少见,凋亡显著。而 P 组、T 组和 PT 组可见凋亡内皮细胞,但数量较 R 组少,见图 3。

免疫荧光双染显示,S 组 VE-cadherin 蛋白在脑微血管内皮细胞表达均匀、清晰,R 组表达显著减少,而 P 组和 T 组均有少部分表达,PT 组的表达数量较两种干预措施单独作用时有所增多,见图 4。

2.3 大鼠脑组织 VCAM-1 mRNA 的表达

如图 5 所示,复苏后 0.5 h,大鼠脑组织中的 VCAM-1 mRNA 表达水平较 S 组急剧上升,但随着时间延长,逐渐下降。在 0.5 h,R 组与 P 组、T 组以及 PT 组之间差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 3 种干预措施均能减缓 VCAM-1 mRNA 表达的升高程度,但 3 种干预措施组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。在 4 h 和 8 h 各组之间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

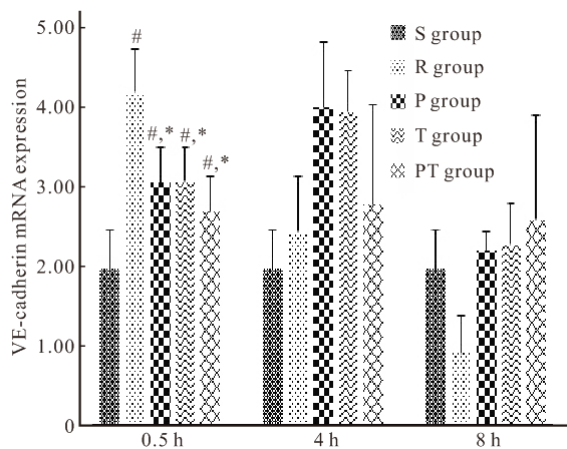


图 5 不同干预措施对 ROSC 大鼠脑组织 VCAM-1 mRNA 表达水平的影响

Fig 5 VCAM-1 mRNA expression of ROSC rats' brains with different interventions

$P < 0.05$, vs. S group; * $P < 0.05$, vs. R group

2.4 大鼠脑组织 VCAM-1 mRNA 表达水平

复苏后,R 组、P 组、T 组和 PT 组大鼠脑组织中的 VCAM-1 mRNA 表达较 S 组高($P < 0.05$),且在 4 h 达到高峰。在 4 h 和 8 h 时间点,R 组与 T 组、P 组以及 PT 组之间差异有统计学意义($P < 0.05$),3 种干预措施均能减缓 VCAM-1 mRNA 表达的升高程度,但此 3 种干预措施组之间差异无统

计学意义($P > 0.05$)。见图 6。

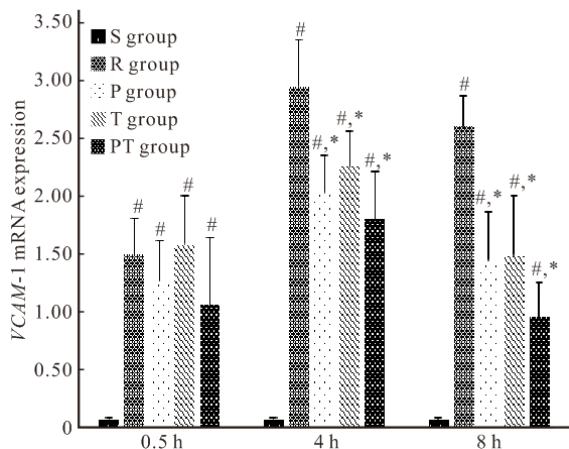


图 6 不同干预措施对 ROSC 大鼠脑组织 VCAM-1 mRNA 表达水平的影响

Fig 6 VCAM-1 mRNA expression of ROSC rats' brains with different interventions

$P < 0.05$, vs. S group; * $P < 0.05$, vs. R group

3 讨论

3.1 心跳骤停后对脑微血管内皮细胞的保护是早期脑复苏的重要组成部分

心脏骤停时,弥漫性的脑缺血会对脑神经功能造成严重影响^[7]。复苏后的缺血再灌注损伤对脑循环的直接或间接的影响,亦是引起死亡或致残的重要原因。无论是采用侧流暗视视野成像技术直接观测 ROSC 后脑组织的微循环状况,还是通过检测脑组织和血液样本中的各种蛋白、因子等,间接反映脑微循环受损程度^[8],其始动环节始终脱离不了缺血再灌注期间,由于缺血缺氧对能量代谢的影响、炎症反应、血管舒缩功能失衡以及凝血和补体系统的激活等因素对血管内皮细胞的损伤^[9]。因此,保护脑微血管内皮细胞应成为心跳骤停后早期脑复苏的重要目标。我们通过 HE 染色检测 ROSC 大鼠脑组织切片微血栓形成情况,并对脑组织进行 CD34/TUNEL 荧光双染观测血管内皮细胞的凋亡情况,结果均显示出 ROSC 后缺血再灌注对大鼠脑微血管内皮细胞的显著损伤。本研究直接将研究对象定位于脑微血管内皮细胞,从而可以更加直观、准确地研究和讨论所采取干预措施是否对血管内皮细胞产生保护效应,使研究结果更加具有说服力。

3.2 脑血管内皮细胞黏附分子可能是复苏后早期缺血再灌注损伤的重要标记物

血管内皮细胞损伤的标记物众多,但采用 VE-cadherin 和 VCAM-1 作为心跳骤停时血管内皮损

伤标志物的研究并不多见。VE-cadherin 属于钙黏素家族中的一员,是血管内皮细胞黏附连接的主要分子,是维持血管内皮细胞极性和完整性必不可少的内皮细胞特异性钙黏蛋白^[10]。心跳骤停的研究中,对 VE-cadherin 的研究也仅限于肺组织^[11]。而 VCAM-1 是细胞黏附分子免疫球蛋白超家族中的一种,主要分布于血管内皮细胞表面,正常情况下表达水平较低或不表达,当内皮细胞激活后其表达增强,与淋巴细胞、单核细胞表面的 β_1 整合素 VLA₁ 相结合,介导这些细胞的黏附及游出^[12]。BISSCHOP 等^[13]的研究显示了 VCAM-1 在心跳骤停患者早期阶段的明显变化。本研究采用 VE-cadherin/VEGFR 荧光双染的检测方法发现,大鼠脑组织微血管内皮中 VE-cadherin 蛋白表达明显降低,从而证实了缺血再灌注损伤对微血管内皮系统细胞间连接结构的破坏,在心肺复苏后早期就已经发生。

当微血管内皮细胞受损时,细胞表面黏附分子表达数量降低,机体可以通过诱导贮存在细胞内的黏附分子转移到细胞表面和诱导黏附分子的重新合成两种方式补充。转移的过程发生迅速,只需数秒钟,但维持时间短暂。重新合成过程发生较为迟缓,一般需数小时,但维持时间较长。我们运用组织匀浆荧光定量 PCR 的方法对 VE-cadherin 和 VCAM-1 mRNA 表达的检测结果显示,复苏后,由于微血管内皮细胞 VE-cadherin 表达的受损,机体在短期之内(0.5 h)出现 VE-cadherin mRNA 表达的高峰,但由于储备的逐渐耗竭,随着时间的延长,其表达逐渐下降,8 h 后低于正常对照水平。VCAM-1 mRNA 表达水平亦会在复苏后明显增高,4 h 达到高峰,随着时间的延长逐渐下降。这些结果说明,复苏后脑组织微血管内皮缺血再灌注损伤显著。同时,也正是由于损伤的存在,机体会通过上调自身修复的潜能来弥补损伤的持续发展。所以,内皮细胞黏附分子可能是复苏早期评估缺血再灌注损伤对血管内皮细胞损伤程度的重要标记物。而且,这些血管内皮黏附分子的代谢情况可以从血液标本中检测,可能具有一定的临床应用价值。

3.3 PGE₁ 对心肺复苏后脑微血管内皮的保护作用

由于 PGE₁ 对内皮细胞的多途径、多机制、多器官的保护效应已经得以证实,这使之在心脏、肝脏、肾脏、肺、肠道和肢端的急/慢性缺血再灌注损伤性疾病中得以广泛应用。同时也有很多研究从不同的

发病机制和作用途径诠释了 PGE₁ 的神经保护作用^[4,14]。但是至今却鲜有涉及 PGE₁ 在心脏骤停导致的脑血管内皮细胞的缺血再灌注损伤的研究。本研究按照 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量将 PGE₁ 应用于复苏后 ROSC 大鼠,HE 染色和 TUNEL 法的结果显示,PGE₁ 可减轻 ROSC 大鼠脑组织外观的组织肿胀,减少微血栓的形成,缓解脑细胞水肿、炎性细胞浸润,在一定程度上抑制了缺血再灌注损伤诱导的微血管内皮细胞的凋亡。采用 PGE₁ 干预后,ROSC 大鼠脑组织 VE-cadherin/VEGFR 荧光双染,以及组织匀浆中 VE-cadherin 和 VCAM-1 mRNA 表达的检测结果表明,PGE₁ 可以在复苏后初期显著减缓脑组织中 VE-cadherin (0.5 h) 和 VCAM-1 (4 h 和 8 h) mRNA 表达水平的上升,从而保持 VE-cadherin mRNA 的稳定表达,减缓缺血再灌注损伤对微血管内皮细胞 VE-cadherin 蛋白的破坏,使机体通过自身调节的方式诱导和补充微血管内皮细胞表面的 VE-cadherin 蛋白分子,从而保护了微血管内皮系统细胞间重要的连接结构。本研究将 PGE₁ 应用于心肺复苏大鼠模型的尝试,为今后尝试临床应用研究提供了参考依据。

3.4 针对心肺复苏脑神经修复的综合治疗策略,应将 TTM 与其它治疗进行联合研究

本研究的实验对象是 ROSC 大鼠的脑微血管内皮细胞,而目前的研究已经证实 TTM 可以通过降低机体代谢率(体温每降低 1 $^{\circ}\text{C}$,机体代谢率下降 6%~7%),抑制细胞凋亡,减少炎症因子和自由基的释放等途径,对神经系统具有保护性效用。这也使之在各种原因引起的缺血缺氧性脑病、代谢性脑病、卒中以及创伤性脑损伤的治疗中占有一席之地^[15]。如今,对于伴有意识障碍的 PCAS 患者而言,TTM 已经成为其初始治疗阶段纠正神经功能损伤的甚为重要的措施^[3]。但是,PCAS 患者的神经保护治疗,绝不是单纯实施 TTM 就可以完全达到预期目标。PCAS 患者的治疗策略一定是综合性的。TTM 会改变机体温度,从而很可能对其它药物的吸收、分布、代谢和效用产生影响。所以,本研究在探讨联合治疗策略时,必须评估 TTM 对另一种治疗措施的影响。

PGE₁ 在广泛分布于肺、肾和脂肪组织的 15 羟前列腺素脱氢酶的催化下,C15 上的羟基氧化生成酮基,再经一系列变化形成代谢终末产物。虽然,已有研究者从实施 TTM 时肝脏清除和代谢功能、II 相酶功能、转运功能、肾脏清除和药物效应改变等方

面,对 TTM 实施时可能对药物代谢影响的部分途径和机制进行了探讨^[16],但是,对于 PGE₁ 在亚低温时的药物疗效的研究非常有限,仅有的文献提示二者对于肺的缺血再灌注损伤具有协同效应^[17]。目前,无论是在基础还是临床科研,都尚未涉及 PGE₁ 在心肺复苏中的应用。故本研究将 PGE₁ 和 TTM 联合干预与单独干预措施进行对比,结果发现,联合干预具备更强地减轻脑组织水肿、降低炎性细胞浸润、减少细胞凋亡以及缓和微血管内皮细胞 VE-cadherin 蛋白急剧破坏等效应,从而显示出对于脑组织微血管内皮细胞的保护作用。但是,联合干预措施对脑组织 VE-cadherin 和 VCAM-1 mRNA 表达水平的影响与单独干预差异没有统计学意义。这可能提示,在所研究的时段内,联合干预措施尚未显示出维持机体诱导和补充 VE-cadherin 等黏附分子潜能的优势。

3.5 研究缺陷

由于实验条件和设备的限制,本研究采用经食道交流电刺激诱导大鼠室颤制作大鼠心跳骤停模型,而非较为经典的经右心起搏导管交流电致颤法。这可能造成本研究的心跳骤停模型的电流刺激参数、致颤时间和复苏效果等与其它文献报道的有所差异。研究过程中所选择标记物的检测方法(荧光免疫染色)是对蛋白产物的间接分析。故在进一步的研究中,还应针对相关蛋白,采用定量免疫印迹法(Western blot)和酶联免疫吸附试验(ELISA)进行直接检测,以增强实验结果的说服力。临床上,对于心跳骤停后 ROSC 昏迷患者的神经功能恢复的观察和评估时限通常为 72 h,所以本研究的研究时间相对较短。因此,在后期实验中,可将研究时限延长,以保证研究结果对于临床治疗策略的参考价值。

综上所述,复苏后 ROSC 大鼠脑组织微血管内皮细胞结构功能障碍是机体缺血再灌注损伤的重要组成部分,亦是 PCAS 神经保护策略研究的重要平台。PGE₁ 和 TTM 均对 ROSC 大鼠脑微血管内皮细胞的缺血再灌注损伤具有不同程度保护能力,且两者的联合干预策略较单独干预可能具有协同效应。

参 考 文 献

[1] CHALKIAS A, XANTHOS T. Post-cardiac arrest brain injury: pathophysiology and treatment. *J Neurol Sci*, 2012, 315(1/2):1-8.

[2] ADAMS JA. Endothelium and cardiopulmonary resuscitation. *Crit Care Med*, 2006, 34(12 Suppl):S458-S465.

[3] CALLAWAY CW, DONNINO MW, FINK EL, *et al.* Part

8: Post-Cardiac Arrest Care. 2015 American Heart Association Guidelines Update for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Circulation*, 2015, 132(18 Suppl 2):S465-S482.

[4] LING L, ZHANG S, JI Z, *et al.* Therapeutic effects of lipoprostaglandin E₁ on angiogenesis and neurogenesis after ischemic stroke in rats. *Int J Neurosci*, 2016, 126(5):469-477.

[5] 周俊, 黄国庆, 李湘民, 等. 不同刺激参数及其组合对经食道电刺激诱导大鼠心搏骤停的影响. *中国急救复苏与灾害医学杂志*, 2013, 8(7):596-598.

[6] CHEN MH, LIU TW, XIE L, *et al.* Ventricular fibrillation induced by transoesophageal cardiac pacing: a new model of cardiac arrest in rats. *Resuscitation*, 2007, 74(3):546-551.

[7] HARUKUNI I, BHARDWAJ A. Mechanisms of brain injury after global cerebral ischemia. *Neurol Clin*, 2006, 24(1):1-21.

[8] SECHER N, OSTERGARRD L, IVERSEN NK, *et al.* Preserved cerebral microcirculation after cardiac arrest in a rat model. *Microcirculation*, 2015, 22(6):464-474.

[9] ADAMS JA. Endothelium and cardiopulmonary resuscitation. *Crit Care Med*, 2006, 34(12):S458-S465.

[10] GIANNOTTA M, TRANI M, DEJANA E. VE-Cadherin and endothelial adherens junctions: active guardians of vascular integrity. *Dev Cell*, 2013, 26(5):441-454.

[11] CHEN F, KONDO N, SONOBE M, *et al.* Expression of endothelial cell-specific adhesion molecules in lungs after cardiac arrest. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2008, 7(3):437-440.

[12] OSBORN L, HESSION C, TIZARD R, *et al.* Direct expression cloning of vascular cell adhesion molecule 1, a cytokine-induced endothelial protein that binds to lymphocytes. *Cell*, 1989, 59(6):1203-1211.

[13] BISSCHOPS LL, VAN DER HOEVEN JG, MOLLNES TE, *et al.* Seventy-two hours of mild hypothermia after cardiac arrest is associated with a lowered inflammatory response during rewarming in a prospective observational study. *Crit Care*, 2014, 18(5):546-553.

[14] KIKUCHI S, SHINPO K, NIINO M, *et al.* Prostaglandin E₁ protects cultured spinal neurons against the effects of nitric oxide toxicity. *Neuropharmacology*, 2002, 42(5):714-723.

[15] PERMAN SM, GOYAL M, NEUMAR RW, *et al.* Clinical applications of targeted temperature management. *Chest*, 2014, 145(2):386-393.

[16] ZHOU J, POLOYAC SM. The effect of therapeutic hypothermia on drug metabolism and drug response: cellular mechanisms to organ function. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2011, 7(7):803-816.

[17] CHIANG CH, WU K, YU CP, *et al.* Hypothermia and Prostaglandin E₁ produce synergistic attenuation of ischemia-reperfusion lung injury. *Am J Respir Crit Med*, 1999, 160(4):1319-1323.