

## · 基础研究 ·

# 参附注射液对家兔心肺复苏后心肌保护作用的机制研究

苏天生<sup>1</sup> 卢 静<sup>1</sup> 罗继红<sup>2</sup> 王志民<sup>1</sup> 张明炜<sup>1</sup> 张国和<sup>1</sup> 林 磊<sup>1</sup>

**摘要 目的** 探讨参附注射液对家兔缺氧型心跳骤停-心肺复苏(cardiac arrest-cardiopulmonary resuscitation, CA-CPR)模型血清肌钙蛋白 T(cTnT)、TNF- $\alpha$  的影响。**方法** 家兔 18 只采用夹闭气管法复制缺氧型 CA-CPR 模型,按照随机数字表法分为参附注射液组、乌司他汀组和生理盐水组,每组 6 只。参附组给予参附注射液 2 mL/kg(生理盐水稀释至 5 mL),乌司他汀组予 2.5 万 U/kg(生理盐水稀释至 5 mL),生理盐水组予生理盐水 5 mL,分别在复苏后 8、15、22 min 缓慢注射,并分时点检测血清 cTnT、TNF- $\alpha$  值。**结果** 与本组夹管前比较,3 组复苏后 30、60、120 min 血清 cTnT、TNF- $\alpha$  浓度均升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与生理盐水组同期比较,复苏后 30、60、120 min 参附注射液组血清 cTnT 明显降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),参附注射液组及乌司他汀组复苏后 120 min TNF- $\alpha$  明显降低( $P < 0.05$ )。**结论** 参附注射液对心肺复苏期间 cTnT、TNF- $\alpha$  的升高有明显的抑制作用。

**关键词** 参附注射液;心跳骤停;心肺复苏;心肌肌钙蛋白 T;肿瘤坏死因子- $\alpha$

Protective Effect of Shenfu Injection on Rabbit Myocardium after Cardiopulmonary Resuscitation: a Mechanism Study SU Tian-sheng<sup>1</sup>, LU Jing<sup>1</sup>, LUO Ji-hong<sup>2</sup>, WANG Zhi-min<sup>1</sup>, ZHANG Ming-wei<sup>1</sup>, ZHANG Guo-he<sup>1</sup>, and LIN Lei<sup>1</sup> 1 Department of Emergency, Second People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou (350003); 2 Department of Scientific Research, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou (350108)

**ABSTRACT Objective** To observe the effects of Shenfu Injection (SI) on serum cardiac troponin T (cTnT) and TNF- $\alpha$  in cardiac arrest-cardiopulmonary resuscitation (CA-CPR) model rabbits. **Methods** Anoxia CA-CPR model was prepared in 18 rabbits using closing trachea method, and then they were divided into 3 groups according to random number table, i.e., the SI treatment group, the Ulinastatin group, and the normal saline (NS) group, 6 in each group. SI (2 mL/kg SI, diluted by 5 mL NS) was injected to rabbits in the SI group. 25,000 U/kg Ulinastatin (diluted by 5 mL NS) was injected to rabbits in the Ulinastatin group. NS was injected to rabbits in the NS group (5 mL). All the injections were slowly performed at 8, 15, 22 min after resuscitation. Serum levels of cTnT and TNF- $\alpha$  were detected at different time points. **Results** Compared with the same group before intervention, serum levels of cTnT and TNF- $\alpha$  were significantly increased in the 3 groups at 30, 60, and 120 min after resuscitation ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Compared with the NS group at the same time points, serum levels of cTnT were significantly decreased in the SI group at 30, 60, and 120 min after resuscitation ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Serum TNF- $\alpha$  level in the Ulinastatin group and the SI group at 120 min after resuscitation decreased obviously ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** SI had obvious inhibition on increased serum levels of cTnT and TNF- $\alpha$  during CPR.

**KEYWORDS** Shenfu Injection; cardiac arrest; cardiopulmonary resuscitation; cardiac troponin T; tumor necrosis factor- $\alpha$

基金项目:福建省卫生厅青年科研项目(No. 2012 - 2 - 65);福建省教育厅中青年教育科研项目(No. JB13102)

作者单位:1. 福建中医药大学附属第二人民医院急诊科(福州 350003);2. 福建中医药大学科研处(福州 350108)

通讯作者:苏天生, Tel:0591 - 87878120, E-mail: sutiansheng820917@163.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20170330. 181

在心跳骤停(cardiac arrest, CA)及心肺复苏(cardiopulmonary resuscitation, CPR)期间,由于心肌缺血和再灌注损伤导致的复苏后心肌功能不全,是 CPR 成功后患者早期死亡的主要原因之一<sup>[1,2]</sup>。因此,CPR 期间如何保护心肌组织、减轻心肌损伤来提高复苏后自主循环的稳定性及存活率,是 CPR 研究领域中的一个重要课题。笔者采用家兔缺氧型 CA-CPR 模型,在自主循环恢复后使用参附注射液,探讨参附注射液对家兔缺氧型 CA-CPR 模型血清肌钙蛋白 T(cTnT)、TNF- $\alpha$  变化的影响,为参附注射液在 CA 和 CPR 中的临床应用提供新的实验依据。

## 材料与方 法

1 动物 家兔(普通级)18 只,体重 2.0 ~ 2.5 kg,雌雄各半,由福建中医药大学动物实验中心提供,动物合格证号:(闽检证字)第 2013A001 号。

2 主要试剂及仪器 参附注射液:每毫升含人参皂甙 Rb1 (C54H92O23) 0.5 mg,乌头碱 (C34H47NO11) 0.1 mg,雅安三九药业有限公司,批号:050809。乌司他汀注射液(Ulilastatin, UTI):广东天普生化医药股份有限公司,批号:20040505。cTnT 试剂盒由罗氏试剂(上海)有限公司提供,批号:2400746。TNF- $\alpha$  试剂盒由北京博奥森生物技术有限公司提供,批号:hj-C14127。美国惠普公司(HEWL ETT2PACKARD) CMS24 型全功能监护仪;有创动脉血压压力转换器;安保 matic 手提呼吸机。

3 造模方法及干预方法 18 只家兔采用随机数字表法分为参附注射液组、乌司他汀组、生理盐水组,每组 6 只。3 组均采用夹闭气管窒息法<sup>[3]</sup>复制缺氧型 CA-CPR 模型,术前 12 h 禁食不禁水。以 3% 戊巴比妥钠 (20 mg/kg) 耳缘静脉注射麻醉,右侧颈外静脉置管供静脉给药,左侧颈总动脉置管测平均动脉压(mean arterial pressure, MAP),并行气管切开置管;常规心电监护及 MAP 监测等。在呼气末夹闭气管致缺氧型 CA,在夹闭气管 8 min 后松开夹闭的气管,给予呼吸机辅助呼吸(呼吸机参数:呼吸频率 70 次/min、潮气量 6 mL/kg),并予胸外按压至自主循环恢复。自主循环恢复标准<sup>[4]</sup>:持续 4 h 以上 MAP > 60 mmHg、自主心律、脉搏波、可触及明显的心脏搏动、动物皮肤黏膜紫绀明显减轻。干预方式参照参考文献<sup>[4]</sup>:参附注射液组于自主循环恢复后 8、15、22 min 以参附注射液 (2 mL/kg:相当于临床常用量的 6 倍)用生理盐水稀释至 5 mL 颈外静脉缓慢注射;乌司他汀组以乌司他汀注射液(2.5 万 U/kg:相当于临床常用量

的 6 倍)用生理盐水稀释至 5 mL 颈外静脉注射;生理盐水组予生理盐水 5 mL 颈外静脉注射。全部维持至自主循环恢复后 4 h,计算 4 h 存活率。分别于夹管前 10 min、自主循环恢复后 30、60、120 min 抽取动脉血,标本静置 30 min 后 3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,-30 °C 冰箱保存。

## 4 检测指标及方法

4.1 循环恢复时间、呼吸恢复时间 从开始 CPR 至确认自主循环已恢复的时间,从开始 CPR 至确认自主呼吸已恢复的时间。

4.2 检测血清 cTnT 含量 采用化学发光法测定。

4.3 检测血清 TNF- $\alpha$  水平 采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定。

5 统计学方法 应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计处理,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示;组间比较采用两样本 *t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1 实验完成情况 造模后家兔精神尚可,动作敏捷,两耳转动自如;被毛浓密,柔软而富有光泽;两眼圆而明亮,眼角无眼屎等分泌物;肌肉丰满,结实;肛门周围清洁干燥。参附注射液组和乌司他汀组实际完成 6 只,两组自主循环全部维持至 4 h,4 h 存活率 100%;生理盐水组实际完成 5 只,1 只自主循环恢复后 15 min 死亡,4 h 存活率 87.5%;各组间 4 h 存活率比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

2 各组循环恢复时间、呼吸恢复时间比较(表 1) 各组家兔循环恢复时间、呼吸恢复时间组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 1 各组心肺复苏后循环呼吸比较 ( $s, \bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	循环恢复时间	呼吸恢复时间
生理盐水	5	105.41 $\pm$ 12.26	375.00 $\pm$ 156.31
参附注射液	6	96.37 $\pm$ 8.69	259.98 $\pm$ 129.97
乌司他汀	6	101.30 $\pm$ 19.11	362.00 $\pm$ 141.15

3 各组不同时间点血清 cTnT 浓度比较(表 2) 与本组夹管前比较,3 组 CPR 后 30、60、120 min 血清 cTnT 浓度升高( $P < 0.05, P < 0.01$ )。与生理盐水组同期比较,CPR 后 30、60、120 min 参附注射液血清 cTnT 明显降低( $P < 0.05, P < 0.01$ ),与乌司他汀组各时点比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

4 各组不同时间点 TNF- $\alpha$  水平比较(表 3) 与本组夹管前比较,3 组 CPR 后 30、60、120 min 血清

表 2 各组不同时间点血清 cTnT 浓度比较( $\mu\text{g/L}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	夹管前 10 min	CPR 后 30 min	CPR 后 60 min	CPR 后 120 min
生理盐水	5	0.014 ± 0.003	0.042 ± 0.021 *	0.079 ± 0.034 *	0.210 ± 0.073 **
参附注射液	6	0.016 ± 0.012	0.017 ± 0.001 * <sup>△</sup>	0.026 ± 0.015 * <sup>△△</sup>	0.055 ± 0.014 * <sup>△</sup>
乌司他汀	6	0.011 ± 0.026	0.027 ± 0.050 *	0.057 ± 0.018 *	0.150 ± 0.080 *

注:与本组夹管前比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ;与生理盐水组同期比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ,<sup>△△</sup> $P < 0.01$

表 3 各组不同时间点血清 TNF- $\alpha$  浓度比较( $\text{pg/mL}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	夹管前 10 min	CPR 后 30 min	CPR 后 60 min	CPR 后 120 min
生理盐水	5	49.26 ± 4.21	71.96 ± 7.65 **	90.06 ± 12.30 **	104.54 ± 14.63 **
参附注射液	6	49.71 ± 6.02	60.52 ± 6.49 *	69.38 ± 13.06 *	75.59 ± 14.39 * <sup>△</sup>
乌司他汀	6	48.96 ± 2.85	62.05 ± 6.74 *	70.97 ± 13.27 *	77.25 ± 14.72 * <sup>△</sup>

注:与本组夹管前比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ;与生理盐水组同期比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$

TNF- $\alpha$  浓度升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与生理盐水同期组比较,CPR 后 120 min 参附注射组和乌司他汀组血清 TNF- $\alpha$  明显降低( $P < 0.05$ ),余时点比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

## 讨 论

心跳骤停属于中医学“脱证”、“厥证”、“厥脱证”范畴,中医学认为厥脱证的病机主要是气血内乱,阳气耗脱,多见阳气暴脱的厥脱证。心跳骤停心肺复苏后心肌受缺血和再灌注的双重损伤,心脏骤停导致机体处于最严重的休克状态,氧输送和细胞能量代谢几乎停止,当经历心肺复苏并最终到达自主循环恢复时,机体血管内皮细胞的活化及各类炎性因子的释放,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<sup>[5]</sup>。同时,大量心肌酶释放,进一步加重心肌损伤,形成恶性循环,导致心肌细胞凋亡,进而心室壁张力增加、心室壁硬度异常、心脏扩大,最终造成心室重构、心力衰竭<sup>[6]</sup>。

参附注射液是由具有“益气固脱、回阳救逆”作用的参附汤,经现代技术提炼的静脉制剂,人参大补元气,附子大辛大热,温壮肾阳,二者合用温阳益气,中医认为是回阳救逆之要药。现代研究发现,其主要有效成分为人参皂甙和乌头类生物碱,具有扩张冠状动脉,改善心肌供血,提高心肌收缩力,降低心肌耗氧量,减轻钙超载,清除氧自由基,抑制炎症反应,从而减轻细胞膜损伤,促进损伤的心肌细胞功能恢复,具有“多靶效应”<sup>[7]</sup>。目前参附注射液已广泛应用于临床急危重症抢救,其对心肺复苏后多器官的保护作用越来越受到重视。已有研究表明,参附注射液对心肺复苏模型大鼠的心脏功能具有较好的改善作用,并可减轻其机体氧化应激状态和心肌损伤,并抑制心肌细胞凋亡<sup>[8]</sup>。从参附注射液的作用机制分析,参附注射液促进损伤心肌的恢

复作用可能与增加冠状动脉血流、抑制缺氧引起的心肌凋亡有关。本实验观察家兔心肺复苏后心肌细胞损伤关键指标 cTnT 和心肌细胞凋亡重要指标 TNF- $\alpha$  在参附注射液作用下的变化,以探讨益气回阳救逆中药对家兔心肺复苏后心肌保护作用的机制。

cTnI 是仅存在于心肌细胞的特异性调节蛋白,是肌钙蛋白复合体中的抑制单位,心肌损伤后释放入血,对心肌损伤的诊断具高度敏感和特异性,已成为评价心肌损伤的特异性指标<sup>[9]</sup>。刘琼等<sup>[10]</sup>观察了 112 例心跳骤停初期复苏成功患者复苏后 4 h 内的血清 cTnT 水平,发现在自主循环恢复后 0.5 ~ 4 h cTnT 均逐渐升高。TNF- $\alpha$  是一种具有多种生物活性的细胞因子,如果产生过多可进一步诱导 IL-6、IL-8、IL-10 等细胞因子的产生,引起连锁和放大效应即瀑布效应,最终会导致多脏器功能衰竭(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)的发生甚至死亡<sup>[11]</sup>。若能抑制心跳骤停复苏后升高的 TNF- $\alpha$  的水平,那么就有可能减轻机体的全身炎症反应综合征和进一步阻断 MODS 的发生、发展进程<sup>[12]</sup>,而其中关键一环就是抑制心肌细胞凋亡、坏死。TNF- $\alpha$  促进心室重构的作用在一定程度上与调节基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)表达有关。Bradham WS 等<sup>[13]</sup>进行体外研究证实 TNF- $\alpha$  可直接或通过调控 MMPs 表达间接参与心室重构。本研究结果与既往相关研究结论一致<sup>[14,15]</sup>,共同证实了参附注射液对心肺复苏患者心肌梗死再灌注损伤过程中心功能的保护作用。

综上所述,本研究结果提示参附注射液对家兔缺氧型 CA-CPR 模型 CPR 期间心肌损伤有明显的保护作用并具有抗心肌细胞凋亡抑制心室重构作用。但本研究的观察时间相对较短,还不够深入,对心肺复苏后家兔远期的心脏保护作用及其他抗心肌细胞凋亡机制研究尚需进一步的实验依据。

利益冲突:无。

### 参 考 文 献

- [1] 朱志军, 杨兴易, 陈学云, 等. 复苏犬心肌损伤的实验研究[J]. 中华急诊医学杂志, 1998, 7(2): 87-89.
- [2] 樊寻梅. 心肺复苏的最新进展——第六届 WOLF CREEK 会议纪要[J]. 中华急诊医学杂志, 2001, 10(6): 404-405.
- [3] 何明丰, 张英俭, 黎练达, 等. 气管夹闭窒息法家兔心脏骤停模型的研究[J]. 中华实验外科杂志, 2004, 21(3): 375-376.
- [4] 张英俭, 何明丰, 刘绍辉, 等. 参附注射液对家兔心脏骤停-心肺复苏模型循环恢复的影响[J]. 中国中医急救, 2005, 14(5): 460-461.
- [5] 杨军, 李春盛, 吴彩军, 等. 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[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(8): 967-974.
- [6] 陈灏珠, 林果为, 王吉耀主编. 实用内科学[M]. 第 14 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 1477-1484.
- [7] 胡金玲, 李凤君, 胡春荣, 等. 参附注射液对猝死复苏患者心肌保护作用的临床探讨[J]. 心血管康复医学杂志, 2009, 18(1): 73-75.
- [8] 童世君, 马君. 参附注射液对大鼠心肺复苏模型心脏功能的影响及心肌损伤的保护作用[J]. 中药材, 2016, 39(8): 1865-1868.
- [9] 路晟, 刘学政, 刘新桥, 等. 针刺对心肺复苏家兔心肌 cTnT 水平影响的实验研究[J]. 陕西中医, 2014, 35(5): 625-626.
- [10] 刘琼, 周发春, 徐日方. 心肺骤停自主循环恢复患者心肌损伤的临床研究[J]. 重庆医科大学学报, 2006, 31(3): 430-431, 433.
- [11] Geppert A, Zorn G, Karth GD, et al. Soluble selectins and the systemic inflammatory response syndrome after successful cardiopulmonary resuscitation[J]. Crit Care Med, 2000, 28(7): 2360-2365.
- [12] 肖敏, 杨敬宇, 李小燕, 等. 兔心肺复苏后全身炎症反应综合征的动态变化[J]. 中华急诊医学杂志, 2011, 20(8): 830-834.
- [13] Bradham WS, Moe G, Wendt KA, et al. TNF-alpha and myocardial matrix metalloproteinase in heart failure; relationship to LV remodeling[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002, 282(4): H1288-H1295.
- [14] 童世君, 马君. 参附注射液对大鼠心肺复苏模型心脏功能的影响及心肌损伤的保护作用[J]. 中药材, 2016, 39(8): 1865-1868.
- [15] 朱丹, 王文君, 孙兴华. 参附注射液对血管性痴呆模型大鼠学习记忆能力及神经细胞凋亡的影响[J]. 中医临床研究, 2016, 8(7): 10-11.

(收稿:2015-08-15 在线:2017-10-31)

责任编辑:白霞

英文责编:张晶晶

## 中国中西医结合杂志社微信公共账号已开通

中国中西医结合杂志社已经开通微信公共账号,可通过扫描右方二维码或者搜索微信订阅号“中国中西医结合杂志社”加关注。本杂志社将通过微信不定期发送《中国中西医结合杂志》、*Chinese Journal of Integrative Medicine* 的热点文章信息,同时可查看两本期刊的全文信息,欢迎广大读者订阅。

