

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.15.002

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190626.1601.031.html(2019-06-27)

复方丹参注射液对大鼠心肺复苏后凝血功能及血液流变学的影响*

占 钻¹,曹春水¹,江 娟¹,殷 勤¹,刘 坚¹,黄 亮¹,钱克俭²,刘 勇^{1△}

(南昌大学第一附属医院:1.急诊科;2.重症医学科,南昌 330006)

[摘要] **目的** 观察复方丹参注射液对大鼠心肺复苏(CPR)后凝血功能及血液流变学的影响。**方法** 选取健康雄性 SD 大鼠 54 只,分为:假手术组(A组)、生理盐水对照组(B组)和复方丹参注射液干预组(C组),每组各 18 只。各组均行麻醉、左侧股动静脉置管及气管插管,B组和C组用窒息法建立心搏骤停模型并进行 CPR,C组于复苏成功后即刻于腹腔内注射复方丹参注射液 10 mg/kg,B组给予等量的生理盐水;A组于置管后 6、24 及 48 h 各取 6 只大鼠留取标本,B组和C组于 CPR 自主循环恢复(ROSC)后 6、24 及 48 h 各取 6 只大鼠留取标本,分别检测凝血功能及血液流变学各项指标。**结果** 与 A 组比较,B组 ROSC 后 6 h 凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)均明显缩短($P < 0.05$),ROSC 后 24、48 h PT、APTT 明显延长($P < 0.05$),C组 ROSC 后各时间点 PT、APTT 均明显延长($P < 0.05$);B组及C组各时间点 D-二聚体、全血黏度、血浆黏度、纤溶酶原激活物(t-PA)及纤溶酶原激活抑制物(PAI-1)水平均明显升高($P < 0.05$);与 B 组比较,C组 ROSC 后 6 h PT 及 APTT 明显延长($P < 0.05$),ROSC 后 24、48 h 明显缩短($P < 0.05$),ROSC 后 24、48 h D-二聚体水平均明显降低($P < 0.05$),各时间点全血黏度、血浆黏度、t-PA 及 PAI-1 水平明显降低($P < 0.05$)。**结论** 复方丹参注射液可改善 CPR 后大鼠凝血功能及血液流变学指标。

[关键词] 心肺复苏术;凝血功能;血液流变学**[中图法分类号]** R459.7**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2019)15-2524-04

The effects of compound salvia miltiorrhiza injection on the coagulation function and hemorheology in rats after cardiopulmonary resuscitation*

ZHAN Zuan¹, CAO Chunshui¹, JIANG Juan¹, YIN Qin¹, LIU Jian¹,
HUANG Liang¹, QIAN Kejian², LIU Yong^{1△}

(1. Department of Emergency; 2. Intensive Care Unite, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effects of compound salvia miltiorrhiza injection on the coagulation function and hemorheology in rats after cardiopulmonary resuscitation (CPR). **Methods** A total of 54 healthy male rats were selected and divided into the sham operation group (group A), the saline control group (group B) and the compound salvia miltiorrhiza injection intervention group (group C), with 18 rats in each group. Anesthesia, left femoral arteriovenous catheterization and tracheal intubation were performed on rats of each group, asphyxia cardiac arrest model and CPR were performed on rats in group B and group C. The rats in group C was treated with compound salvia miltiorrhiza injection of 10 mg/kg through intraperitoneal immediately after CPR, and an equal dosage of saline was given to the rats in group B. Each 6 rats were selected to obtain specimens at 6, 24 and 48 h after catheterization in group A, and each 6 rats were selected to obtain specimens at 6, 24 and 48 h after spontaneous circulation recovery (ROSC) during CPR in group B and group C. The blood coagulation function and blood rheology indicators were detected. **Results** Compared with group A, the prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (APTT) in group B were significantly shortened at 6 h after ROSC ($P < 0.05$), while which were prolonged at 24 h and 48 h after ROSC ($P < 0.05$), the PT and APTT in group C were significantly prolonged at all time points ($P < 0.05$). The D-dimer, whole blood viscosity, plasma viscosity, plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) levels in group B and group C were all significantly increased ($P < 0.05$). Compared with group B, the PT and APTT in group C were significantly prolonged at 6 h after ROSC ($P < 0.05$), while which were significantly

* 基金项目:江西省卫生厅中医药科技项目(700955001)。作者简介:占钻(1982-),主治医师,硕士,主要从事急诊危重病方面的研究。

△ 通信作者,E-mail:190260897@qq.com。

shortened at 24 h and 48 h after ROSC ($P < 0.05$). The D-dimer level in group C was significantly reduced at 24 h and 48 h after ROSC ($P < 0.05$), and the whole blood viscosity, plasma viscosity, t-PA and PAI-1 levels at each time point in group C were significantly reduced ($P < 0.05$). **Conclusion** Compound salvia miltiorrhiza injection can improve the coagulation function and hemorheology indicators of rats after CPR.

[Key words] cardiopulmonary resuscitation; coagulation function; hemorheology

心肺复苏(cardiopulmonary resuscitation, CPR)后继发多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)是临床治疗的难点,复苏后凝血功能紊乱和血液流变学异常是导致 MODS 的一个重要原因,常见的西医药物治疗无显著突破。复方丹参注射液作为我国的传统经典中药已在临床上广泛应用,既往研究显示其具有改善微循环、抑制血小板聚集、抗血栓形成及改善血液流变学作用,而目前缺乏有关复方丹参注射液对 CPR 后凝血功能及血液流变学影响的研究。本课题将就这方面进行研究,旨在探索中医药在复苏后治疗中的疗效。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康雄性 SD 大鼠 54 只,体质量(230±50)g,购于南昌大学动物实验中心(动物许可证编号:赣实动管第 96021 号),将所有大鼠分为 3 组:假手术组(A 组)、生理盐水对照组(B 组)、复方丹参注射液干预组(C 组),每组各 18 只大鼠。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备 实验参照经典窒息法模型并加以改进。大鼠术前禁食 12 h,自由饮水。称重后用 3%戊巴比妥(剂量:首剂 35 mg/kg,补充麻醉:10 mg·kg⁻¹·h⁻¹)腹腔注射麻醉,皮下接心电图导联。遵循无菌原则,对大鼠进行气管切开并插管,左侧股动静脉置管,连接心电监护仪,监测血压、呼吸频率、心率等生命体征。待大鼠稳定 10 min 后,于呼气末夹闭气管插管至心搏骤停。心搏骤停指标:心电图呈现室颤、心搏停止或电-机械分离,收缩压小于 25 mm Hg。于夹闭气管 8 min 后开始进行 CPR,静脉注射肾上腺素 20 μg/kg,呼吸机辅助通气 100%纯氧,通气频率 90 次/分钟,并快速进行胸外按压,按压频率 120 次/分钟,按压深度为大鼠胸廓前后径的 1/3。连续监测并记录呼吸频率、心率、心电图、股动脉压。自主循环恢复(return of spontaneous circulation, ROSC)指标:出现自主心律且平均动脉压大于或等于 60 mm Hg并持续 10 min。经 10 min CPR 仍无效者终止抢救并弃之不用。C 组各大鼠在复苏成功后即刻给予腹腔内注射复方丹参注射液 10 mL/kg,B 组于复苏成功即刻注射与 C 组复方丹参注射液等量的生理盐水,A 组仅进行麻醉、气管插管及左侧股动静脉置管,不进行窒息、CPR 及药物干预。大鼠需检测的血液标本经心脏抽取,具体方法:3%戊巴比妥腹腔注射麻醉,在膈肌下剪开腹腔,从腹腔内剪开膈肌造成气胸,肺缩小后再剪断肋骨,充分暴露心脏,用注射针头取血各 2 mL。A 组大鼠经麻醉、气管插管及股

动静脉置管后 6、24、48 h 各留取 6 只抽取标本,B 组和 C 组则分别于 ROSC 后 6、24、48 h 各留取 6 只大鼠抽取标本。

1.2.2 检测指标及相关技术 使用迈瑞 C3510 全自动凝血分析仪行凝血功能检测,具体项目包括:凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、D-二聚体,使用北京世帝科学仪器公司 LG-R-80 B 血液黏度测试仪测定各组血液流变学指标,具体项目包括全血黏度及血浆黏度。使用美国 Bio TEK 公司生产的 ELX 800 型酶标仪及上海太阳生物技术有限公司生产的试剂盒以酶联免疫吸附试验测定纤溶酶原激活物(t-PA)及纤溶酶原激活抑制物(PAI-1)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,若方差齐,两组间比较采用两独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析;若方差不齐,采用秩转换的非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠凝血功能检测结果比较 与 A 组相应时间点相比,B 组 ROSC 后 6 h PT 及 APTT 缩短($P < 0.05$),ROSC 后 24 h 及 48 h 延长($P < 0.05$),C 组 ROSC 后各时点 PT 及 APTT 均延长($P < 0.05$),B 组及 C 组 ROSC 后各时间点 D-二聚体水平均升高($P < 0.05$)。与 B 组相应时间点相比,C 组 ROSC 后 6 h PT 及 APTT 均延长($P < 0.05$),ROSC 后 24 h 及 48 h 均缩短($P < 0.05$),C 组 D-二聚体于 ROSC 后 24 h 及 48 h 均降低($P < 0.05$),见表 1。

表 1 各组凝血功能指标比较($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	时间(h)	PT(s)	APTT(s)	D-二聚体(mg/L)
A 组	6	15.92±1.06	20.25±1.56	0.42±0.03
	24	15.48±0.82	20.42±2.79	0.38±0.07
	48	15.23±1.58	19.63±1.65	0.37±0.06
B 组	6	13.83±1.64*	17.27±1.97*	1.13±0.22*
	24	24.75±1.49*	36.33±3.73*	2.52±0.30*
	48	25.53±2.33*	42.90±3.03*	3.12±0.62*
C 组	6	20.72±3.59*#	27.53±3.68*#	1.01±0.16*
	24	19.78±1.79*#	31.38±2.66*#	1.45±0.12*#
	48	18.62±0.98*#	32.47±1.74*#	2.00±1.88*#

*: $P < 0.05$,与 A 组同时间点比较;#: $P < 0.05$,与 B 组比较同时间点相比

2.2 各组大鼠血液流变学检测结果比较 与 A 组相应时间点相比,B 组及 C 组各时间点全血黏度及血浆黏度均升高($P < 0.05$);与 B 组相应时间点相比,C 组各时间点全血黏度及血浆黏度均降低($P < 0.05$),见表 2。

表 2 各组血液流变学指标比较($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	时间(h)	全血黏度(mPa·s)				血浆黏度 (100 s ⁻¹ , mPa·s)
		高切(200 s ⁻¹)	中切(30 s ⁻¹)	中切(5 s ⁻¹)	低切(1 s ⁻¹)	
A 组	6	3.37±0.19	4.18±0.38	4.83±0.42	5.21±0.66	1.64±0.38
	24	3.27±0.37	4.05±0.35	4.91±0.40	5.39±0.37	1.75±0.30
	48	3.32±0.31	4.01±0.54	4.83±0.62	5.46±0.76	1.72±0.40
B 组	6	6.02±0.42*	6.54±0.55*	7.33±0.54*	8.29±0.63*	4.11±0.46*
	24	5.18±0.37*	5.66±0.69*	7.00±0.19*	7.83±0.74*	3.54±0.45*
	48	4.74±0.81*	5.29±0.47*	6.61±0.57*	7.09±0.51*	2.98±0.45*
C 组	6	4.38±0.37*#	5.27±0.36*#	6.56±0.57*#	7.24±0.83*#	3.16±0.78*#
	24	4.33±0.67*#	4.73±0.67*#	6.43±0.48*#	7.01±0.29*#	2.96±0.34*#
	48	3.84±0.43*#	4.71±0.50*#	5.87±0.53*#	6.35±0.51*#	2.31±0.39*#

*: $P < 0.05$, 与 A 组同时时间点比较; #: $P < 0.05$, 与 B 组同时时间点比较

2.3 各组大鼠纤溶指标检测结果比较 与 A 组相应时间点相比, B 组及 C 组各时间点 t-PA 及 PAI-1 水平平均升高($P < 0.05$); 与 B 组相应时间点相比, C 组各时间点 t-PA 及 PAI-1 水平平均降低($P < 0.05$), 见表 3。

表 3 各组纤溶指标水平比较($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	时间(h)	t-PA(ng/mL)	PAI-1(ng/mL)
A 组	6	0.11±4.90	1.81±0.10
	24	0.11±7.41	1.64±0.19
	48	0.11±2.98	1.95±0.17
B 组	6	0.18±12.70*	2.24±0.15*
	24	0.22±15.24*	4.34±0.21*
	48	0.16±10.73*	4.20±0.28*
C 组	6	0.15±9.47*#	2.01±0.11*#
	24	0.19±14.99*#	3.67±0.09*#
	48	0.14±10.28*#	3.50±0.17*#

*: $P < 0.05$, 与 A 组同时时间点比较; #: $P < 0.05$, 与 B 组同时时间点比较

3 讨 论

CPR 后部分患者会继发难以逆转的 MODS^[1-2], 其中一个重要的病理生理基础为机体凝血-纤溶系统功能的紊乱及血液流变学的改变^[3-5], 相关研究显示, CPR 后早期机体普遍存在凝血-纤溶系统功能紊乱及血液流变学异常^[6-7], 并且凝固系统的活性强于内源性纤溶系统活性^[8], 从而导致广泛微血管血栓形成及之后的多器官功能障碍。本研究结果显示, 大鼠 CPR 后 6 h PT 及 APTT 较假手术组明显缩短, 复苏后 12 h 及 24 h PT 及 APTT 明显延长, PAI-1 及 t-PA 在 CPR 后 24 h 内逐渐升高, 24 h 后逐渐下降, 提示在复苏后早期即出现凝血及纤溶异常, 但各时间点 D-二聚体逐渐升高, 提示血液凝固系统的活性要强于内源性纤溶系统活性, 同时全血黏度和血浆黏度明显升高, 提示血液处于高凝状态。目前, 多数学者认为心搏骤停及 CPR 过程中的组织缺氧、酸中毒及缺血再灌注损伤等因素导致组织和血管内皮细胞损伤, 从而激活内源性及外源性凝血系统, 形成广泛微血栓影响各组织器官灌注, 进而导致多器官功能损伤^[9-10]。而心脏骤停过程中组织器官血液灌流量明显下降及复苏再

灌注过程中产生的大量氧自由基等衍生物对血细胞的破坏作用直接导致复苏后血液高黏滞状态。

近年来, 对于 CPR 后继发凝血障碍及血液流变学异常的治疗措施研究较多, 其中溶栓治疗及一些抗凝药物的使用是研究的热点, 这些研究一般是基于以急性心肌梗死及肺栓塞为病因继发心脏骤停而展开的, 但该类药物相关的出血风险及不确定的生存率改善程度等因素导致其实际应用仍存在很大争议^[11]。因此, 本课题组将研究方向转向作用相对温和的具有活血化瘀效的传统中医药复方丹参注射液。药理研究证明, 丹参水溶性成分具有改善微循环、抑制血小板聚集、抗血栓、抗氧化、清除自由基、促进组织恢复等多重作用^[12-13], 其在多种疾病状态下具有较好的应用价值。陈金钟^[14]研究证实, 丹参注射液能明显改善心肌梗死大鼠的血液流变学异常。林熙等^[15]研究发现丹参注射液治疗脂多糖诱导的弥漫性血管内凝血模型家兔, 可明显改善其凝血活性。在既往的急性肺损伤动物模型中, 丹参注射液不但能抑制炎症反应, 还能有效改善凝血功能紊乱及预后^[16]。本课题通过复制大鼠 CPR 模型, 观察复方丹参注射液干预后的疗效, 结果显示, 复方丹参注射液干预组大鼠 PT 及 APTT 在 ROSC 后 6 h 较生理盐水对照组明显延长, 而 24 h 及 48 h 明显缩短, 并且复方丹参注射液干预组大鼠各时间点 PAI-1、t-PA 及 D-二聚体较生理盐水对照组明显下降, 提示复方丹参注射液不仅可纠正复苏后早期的血液浓缩, 同时可以阻断后期的凝血时间延长, 避免出血倾向, 凝血-纤溶系统紊乱得到一定的改善。此外, 研究结果中药物干预后全血黏度和血浆黏度明显下降, 提示该药物改善了大鼠复苏后血液的高凝状态。

综上所述, 早期给予复方丹参注射液对于大鼠 CPR 后凝血-纤溶系统及血液流变学紊乱具有一定的改善作用, 但具体机制还需进一步研究论证。

参考文献

- [1] 李洪祥, 张东, 刘忠民, 等. 心肺复苏后多器官功能障碍患者早期乳酸清除率与预后的相关性[J]. 中华急诊医学杂

志, 2013, 22(8): 842-845.

- [2] KRUPICKOVÁ P, MORMANOVÁ Z, BOUCEK T, et al. Microvascular perfusion in cardiac arrest: a review of microcirculatory imaging studies[J]. *Perfusion*, 2018, 33(1): 8-15.
- [3] ADRIE C, MONCHI M, LAURENT I, et al. Coagulopathy after successful cardiopulmonary resuscitation following cardiac arrest: implication of the protein C anticoagulant pathway[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46(1): 21-28.
- [4] BISSCHOPS L L, POP G A, TEERENSTRA S, et al. Effects of viscosity on cerebral blood flow after cardiac arrest[J]. *Crit Care Med*, 2014, 42(3): 632-637.
- [5] KOAMI H, SAKAMOTO Y, SAKURAI R, et al. Thromboelastometric analysis of the risk factors for return of spontaneous circulation in adult patients with out-of-hospital cardiac arrest[J]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0175257.
- [6] GONG P, ZHANG M Y, ZHAO H, et al. Effect of mild hypothermia on the Coagulation-Fibrinolysis system and physiological anticoagulants after cardiopulmonary resuscitation in a porcine model[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e67476.
- [7] 高飞, 严洁. 血栓弹力图监测亚低温治疗对心肺复苏患者凝血功能的影响[J]. *中国急救医学*, 2018, 36(11): 1019-1022.
- [8] BOTTIGER B W, MOTSCH J, BOHRER H, et al. Activation of blood coagulation after cardiac arrest is not balanced adequately by activation of endogenous fibrinolysis[J]. *Circulation*, 1995, 92: 2572.
- [9] HU C L, WEN J, LIAO X X, et al. Effects of therapeutic hypothermia on coagulopathy and microcirculation after cardiopulmonary resuscitation in rabbits[J]. *Am J Emerg Med*, 2011, 29(9): 1103-1110.
- [10] 郭权, 李永宁, 李润久. 心肺脑复苏早期应用肝素对重要脏器保护作用的研究综述[J]. *临床医药文献杂志*, 2017, 4(79): 15617.
- [11] PERROTT J, HENNEBERRY R J, ZED P J. Thrombolytics for cardiac arrest: case report and systematic review of controlled trials[J]. *Ann Pharmacother*, 2010, 44(12): 2007-2013.
- [12] 陈俞材, 方莲花, 杜冠华. 丹参水溶性化合物抗心肌缺血作用的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(2): 162-165.
- [13] 陶伍元, 邓柳霞, 张文武. 丹参酮 II A 磺酸钠对百草枯中毒大鼠肺组织 5-脂氧化酶表达的影响[J]. *中国急救医学*, 2017, 37(7): 659-663.
- [14] 陈金钟. 丹参注射液对大鼠心肌缺血的干预作用[D]. 西安: 第四军医大学, 2008.
- [15] 林熙, 祈洁珍, 邱鹏新, 等. 复方丹参注射液抗脂多糖诱导的兔弥漫性血管内凝血[J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(3): 464-468.
- [16] 徐敏, 黄亮, 李闰云, 等. 复方丹参对急性肺损伤患者血小板活化因子表达及凝血功能的影响[J]. *中国急救医学*, 2010, 30(1): 31-34.

(收稿日期: 2019-02-18 修回日期: 2019-04-08)

(上接第 2523 页)

综上所述, PI3K/Akt 信号通路调控肺泡上皮细胞 α -ENaC 的表达, 对 ARDS 肺水肿液的清除起作用, 同时也为疾病治疗提供靶点。

参考文献

- [1] YANG C Y, CHEN C S, YIANG G T, et al. New insights into the immune molecular regulation of the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2): 588.
- [2] SHARP C, MILLAR A B, MEDFORD A R. Advances in understanding of the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome[J]. *Respiration*, 2015, 89(5): 420-434.
- [3] MATALON S, BARTOSZEWSKI R, COLLAWN J F. Role of epithelial sodium channels (ENaC) in the regulation of lung fluid homeostasis[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 309(11): L1229-1238.
- [4] 李雯, 戚迪, 陈兰, 等. Vaspin 通过 PI3K/Akt 通路发挥抗炎及血管内皮保护作用减轻脂多糖致急性呼吸窘迫综合征小鼠肺损伤[J]. *南方医科大学学报*, 2018, 38(3): 283-288.
- [5] XU C Q, LIU B J, WU J F, et al. Icariin attenuates LPS-induced acute inflammatory responses: involvement of PI3K/Akt and NF-kappaB signaling pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 642(1/3): 146-153.
- [6] MATTHAY M A, ZEMANS R L, ZIMMERMAN G A, et al. Acute respiratory distress syndrome[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 14, 5(1): 18.
- [7] AZZAM Z S, SZNAJDER J I. Lung edema clearance: relevance to patients with lung injury[J]. *Rambam Maimonides Med J*, 2015, 6(3): e0025.
- [8] MA X, BAI Y. IGF-1 activates the PI3K/AKT signaling pathway via upregulation of secretory clusterin[J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6(6): 1433-1437.
- [9] HUANG X, LIU G, GUO J, et al. The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(11): 1483-1496.
- [10] BLAZER-YOST B L, ESTERMAN M A, VLAHOS C J. Insulin-stimulated trafficking of ENaC in renal cells requires PI 3-kinase activity[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2003, 284(6): C1645-1653.
- [11] MA C, ZHU L, WANG J, et al. Anti-inflammatory effects of water extract of *Taraxacum mongolicum* hand. -Mazz on lipopolysaccharide-induced inflammation in acute lung injury by suppressing PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 168: 349-355.
- [12] 邓旺, 王导新, 邓嘉, 等. PI3K/Akt 信号通路上调急性肺损伤大鼠肺泡上皮钠通道表达[J]. *基础医学与临床*, 2012, 32(9): 1004-1008.

(收稿日期: 2019-03-08 修回日期: 2019-04-23)