

· 基础研究 ·

西维来司钠通过调控 β -catenin 通路产生复苏后心肌保护的作用及机制研究

张俊¹ 朱伟东^{1,2} 陈卫挺³ 兰频⁴ 徐杰丰⁵

¹浙江中医药大学第三临床医学院, 杭州 310053; ²诸暨市中医医院急诊科, 诸暨 311800; ³临海市第一人民医院急诊科, 台州 317000; ⁴丽水市中心医院急诊医学科, 丽水 323000; ⁵浙江大学医学院附属第二医院急诊科, 杭州 310009

张俊和朱伟东为共同第一作者

通信作者: 朱伟东, Email: zwd007@163.com

【摘要】目的 利用猪心脏骤停复苏模型, 探讨西维来司钠 (sivelestat, SV) 产生复苏后心肌保护效应的作用及与 β -catenin 通路的关系。**方法** 购买健康雄性大白猪 25 头, 随机分成假手术 (Sham) 组 ($n=6$)、心肺复苏 (CPR) 组 ($n=10$) 和 CPR+SV 组 ($n=9$)。CPR 组和 CPR+SV 组应用室颤法诱导心脏骤停 9 min, 然后心肺复苏 6 min, 建立实验动物模型。于复苏成功后 5 min, CPR+SV 组应用微量输液泵经股静脉泵入 SV 10 mg/kg、持续 1 h。于基线与复苏后 0.5 h、1 h、2 h、4 h 时, 应用 PiCCO 检测每搏输出量 (SV) 和全心射血分数 (GEF) 等心功能指标的数值。于基线与复苏后 1 h、2 h、4 h、24 h 时, 经股静脉采集血标本, 应用 ELISA 法检测心肌肌钙蛋白 (cTnI) 和肌酸激酶同工酶 (CKMB) 等心肌损伤标志物的血清浓度。于复苏后 24 h 时, 动物实施安乐死, 获取心肌组织标本, 应用 Western blot 法检测 β -catenin、Cyclin D1、c-Myc、cleaved caspase-9 与 cleaved caspase-3 的蛋白表达水平, 以及应用 TUNEL 法检测细胞凋亡程度。**结果** 造模前, 各组心功能状态与心肌损伤标志物浓度处于一致水平, 组间比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。复苏后, 与 Sham 组相比, CPR 组与 CPR+SV 组出现复苏后心功能障碍与心肌损伤, 表现为 SV 和 GEF 值显著下降、同时 cTnI 和 CKMB 血清浓度显著上升 (均 $P<0.05$)。然而, 与 CPR 组相比, CPR+SV 组复苏后心功能障碍与心肌损伤明显较轻, 其中 SV 值在复苏后 4 h 时和 GEF 值在复苏 1 h 后均显著上升、cTnI 和 CKMB 血清浓度在复苏后 4 h 和 24 h 时均显著下降 (均 $P<0.05$)。组织检测显示, 与 Sham 组相比, CPR 组与 CPR+SV 组复苏后 24 h 时心肌组织中 β -catenin 通路改变、细胞凋亡发生, 表现为 β -catenin、Cyclin D1、c-Myc、cleaved caspase-9 和 cleaved caspase-3 蛋白表达水平明显增加、同时细胞凋亡指数显著上升 (均 $P<0.05$)。然而, 与 CPR 组相比, CPR+SV 组复苏后 24 h 时心肌组织中上述蛋白表达水平明显减少、同时细胞凋亡指数显著下降 (均 $P<0.05$)。**结论** SV 具有减轻复苏后心功能障碍及心肌损伤的保护作用, 其保护机制可能与抑制 β -catenin 通路激活后减轻细胞凋亡程度有关。

【关键词】 心脏骤停; 心肺复苏; 心功能障碍; 心肌损伤; 西维来司钠; β -catenin 通路; 凋亡; 猪

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目 (2021KY379, 2023KY410); 浙江省县级中医药优势学科建设项目 (2023-XK-D025); 丽水市科技计划项目 (2022GYX36)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2024.03.013

The protective effect and mechanism of sivelestat on the heart after resuscitation through regulating β -catenin signaling pathway

Zhang Jun¹, Zhu Weidong^{1,2}, Chen Weiting³, Lan Pin⁴, Xu Jiefeng⁴

¹Zhejiang Chinese medical university the third clinical medical school, Hangzhou 310053, China;

²Department of Emergency Medicine, Traditional Chinese Medical Hospital of Zhuji, Zhuji 311800, China;

³Department of Emergency Medicine, The First People's Hospital of Linhai, Taizhou 317000, China;

⁴Lishui Municipal Central Hospital, Lishui 323000, China; ⁵Department of Emergency Medicine, Second Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310009, China. Zhangjun and Zhu

Weidong are co-first authors

Corresponding author: Zhu Weidong, Email: zwd007@163.com

【 Abstract 】 Objective To establish the pig model of cardiac arrest and resuscitation, and then investigate the protective role of sivelestat (SV) on the heart after resuscitation and its relation with β -catenin signaling pathway. **Methods** Twenty-five healthy male white pigs were purchased. The animals were randomly divided into the Sham group ($n=6$), cardiopulmonary resuscitation group (CPR, $n=10$), and CPR+SV group ($n=9$). The experimental animal model was established by 9 min of cardiac arrest induced by the method of ventricular fibrillation and then 6 min of CPR in the CPR and CPR+SV groups. At 5 min after successful resuscitation, a dose of 10 mg/kg of SV was infused in a duration of 1h via the femoral vein with a micro-infusion pump in the CPR+SV group. Myocardial function evaluated by the values of stroke volume (SV) and global ejection fraction (GEF) was measured by PiCCO at baseline, and at 0.5, 1, 2, 4 h after resuscitation. The serum concentrations of cardiac injury biomarkers including cardiac troponin I (cTnI) and creatine kinase isoenzymes (CK-MB) were measured by ELISA using blood samples drawn from the femoral vein at baseline, and at 1, 2, 4, and 24 h after resuscitation. The animals were euthanized at 24 h after resuscitation, and then cardiac tissue samples were harvested to measure the protein expression levels of β -catenin, Cyclin D1, c-Myc, cleaved caspase-9, and cleaved caspase-3 by Western blot and the degree of cell apoptosis by TUNEL. **Results** Prior to cardiac arrest, myocardial function and cardiac injury biomarkers were maintained at the same levels, and no differences were observed among the three groups (all $P > 0.05$). After resuscitation, myocardial dysfunction and cardiac injury were observed in the CPR and CPR+SV groups, in which the values of SV and GEF were significantly decreased and meanwhile the serum concentrations of cTnI and CKMB were significantly increased when compared with the Sham group (all $P < 0.05$). However, myocardial dysfunction and cardiac injury were significantly milder in the CPR+SV group, in which the value of SV at 4h post-resuscitation and the values of GEF starting 1h post-resuscitation were significantly increased, and the serum concentrations of cTnI and CKMB were significantly decreased at 4 and 24 h post-resuscitation when compared to the CPR group (all $P < 0.05$). Tissue measurements indicated that the change of β -catenin signaling pathway and the occurrence of cell apoptosis were observed in the heart at 24 h post-resuscitation in the CPR and CPR+SV groups, which were indicated by significant increases in the protein expression levels of β -catenin, Cyclin D1, c-Myc, cleaved caspase-9, and cleaved caspase-3, and marked elevation in the index of cell apoptosis when compared with the Sham groups (all $P < 0.05$). However, the expression levels of proteins mentioned above were significantly decreased in the heart at 24 h post-resuscitation and the index of cell apoptosis was significantly reduced in the CPR+SV group when compared to the CPR group (all $P < 0.05$). **Conclusion** SV has the protective role in alleviating post-resuscitation myocardial dysfunction and cardiac injury, in which the protective mechanism is possibly related to the alleviation of cell apoptosis through the inhibition of β -catenin signaling pathway activation.

【 Keywords 】 Cardiac arrest; Cardiopulmonary resuscitation; Myocardial dysfunction; Cardiac injury; Sivelestat; β -catenin signaling pathway; Apoptosis; Pig

Fund programs: Zhejiang Provincial Medical Science Foundation (2021KY379, 2023KY410); Zhejiang Province county superior discipline of traditional Chinese medicine construction project (2023-XK-D025) ; Lishui Municipal Science and Technology Project (2022GYX36)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2024.03.013

心脏骤停事件是我国发生率与病死率均高的重大卫生问题,其每年发生高达 105 万人,出院存活率却低至 1.15%^[1]。研究表明,在心脏骤停复苏成功后,将有 44% 患者继发心功能障碍,后者可致机体循环衰竭,进而加剧其他脏器损伤、甚至再发心

脏骤停,已被认定为患者早期死亡及预后结局恶化的关键诱因^[2]。然而,在复苏后救治阶段,目前尚无特别有效的心肌保护方法。近年研究显示,西维来司钠(sivelestat, SV)作为一种中性粒细胞弹性蛋白酶抑制剂,能通过抗炎而减轻心脏在内的多个重

要器官的局部缺血再灌注损伤程度^[3-6]，但对心脏骤停复苏所致全身性缺血再灌注后心肌保护的作用少有报道。另外，研究证实 β -catenin 通路是心血管系统疾病进程中细胞功能调控的重要通路^[7]，然尚不清楚其在复苏后心肌病理损伤中的作用。本研究拟利用猪心脏骤停复苏模型，观察 SV 对复苏后心功能障碍及心肌损伤的潜在保护效应，以及探讨该作用与 β -catenin 通路间的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物来源与分组干预

国产健康雄性大白猪 25 头，体重 33~40 kg，由上海甲干生物科技有限公司提供，动物合格证号为 SCXK（沪）2020-0006。实验动物抵达后，按动物中心管理要求进行饲养。实验时，采用随机数字表法将动物分为三组，即假手术（Sham）组（ $n=6$ ）、心肺复苏（cardiopulmonary resuscitation, CPR）组（ $n=10$ ）、CPR+SV 组（ $n=9$ ）。Sham 组仅完成动物准备，CPR 组和 CPR+SV 组应用室颤法诱导心脏骤停后心肺复苏的方法建立模型。在模型复苏成功后 5 min 时，CPR+SV 组应用微量输液泵经股静脉泵入 SV（上海汇伦医药科技有限公司）10 mg/kg，持续 1 h，Sham 组和 CPR 组应用相同方法泵入等量溶剂的生理盐水。

1.2 实验动物准备与模型建立

动物经过 12 h 禁食后，联合应用替来他明/唑拉西泮（法国 Virbac 公司）5 mg/kg 和噻拉嗪 1 mg/kg（吉林华牧公司）臀部肌注诱导麻醉，待观察 5 min 左右后放置于三角手术板上，连接心电监护与脉氧饱和度监测，留置耳缘静脉针注射丙泊酚（西安力邦公司）2 mg/kg 静脉麻醉、后以 4 mg/(kg·h) 持续泵入维持麻醉。应用兽用喉镜辅助气管插管，接呼吸机（法国 Air Liquide 公司）进行机械通气，参数设置为容控模式、潮气量 10 mL/kg、呼吸频率 12 次/min、氧浓度 21%。手术切开右侧股动、静脉，分别置入压力监测导管，用于监测血压、房压、采血和用药。手术切开左侧股动脉与右侧颈内静脉，分别置入 PiCCO 监护仪动静脉端导管，用于评估心功能指标。所有动静脉导管，间断使用浓度为 5 IU/mL 的肝素生理盐水冲管。手术切开右侧颈外静脉，置入一根室颤诱导电极，用于诱颤。

待动物准备完成并稳定 10 min 后，经电极释放 1 mA 交流电诱导室颤，经确认心电节律呈室颤

波、血压下降为直线后判定心脏骤停成功，立即断开呼吸机，无干预观察 9 min。然后，根据国际指南标准开始心肺复苏救治，即 2 名专业人员交替实施胸外按压，并应用质量反馈装置监测保障按压深度 5~6 cm、按压频率 100~120 次/min，此外人工胸外按压与球囊辅助通气比例为 30 : 2。心肺复苏 2 min 后，首次静推肾上腺素 20 μ g/kg，此后每 3 min 重复用药。心肺复苏 6 min 后，选择 150 J 能量、双向波，进行电除颤，随即判断是否恢复室上性自主心电节律、以及平均动脉压能否维持在 50 mmHg 以上（1 mmHg=0.133 kPa）。若心电节律与血压不能维持，即刻启动心肺复苏 2 min 后再次电除颤，直至动物恢复自主心律和血压、或重复该流程 5 次后宣告心肺复苏救治失败。复苏成功的动物，重新开始机械通气，持续麻醉监护观察 4 h。然后停止通气，拔除气管插管和种血管内导管，消毒缝合切口，送回猪圈继续观察 20 h。

1.3 实验观察指标

造模前，测量各组动物的体重、体温、心率、血压、脉氧饱和度等生理指标的基线情况。造模期间与复苏后观察期间，记录各组动物的复苏成功率和 24 h 存活情况。

于基线与复苏后 0.5 h、1 h、2 h、4 h 时，应用 PiCCO 监测仪，定期检测每搏输出量（stroke volume, SV）和全心射血分数（global ejection fraction, GEF）等心功能指标的数值。于基线与复苏后 1 h、2 h、4 h、24 h 时，经股静脉采集 2 mL 血标本，离心后深低温冻存血清，择期集中应用 ELISA 法检测心肌肌钙蛋白（cardiac troponin I, cTnI）和肌酸激酶同工酶（creatine kinase isoenzymes, CKMB）等心肌损伤标志物的血清浓度。

于复苏后 24 h 时，各组随机选择 6 头猪实施安乐死，迅速获取左室心尖部的心肌组织标本，将新鲜标本剪成小块后，冻存于深低温冰箱中，择期集中应用 Western blot 法检测 β -catenin 通路相关蛋白如 β -catenin、Cyclin D1、c-Myc 的蛋白表达水平，以及凋亡标志蛋白如活化型半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-9（cleaved caspase-9）、cleaved caspase-3 的蛋白表达水平，应用目的蛋白与内参 GAPDH 灰度比值表示目的蛋白的相对表达量。另外，取少量心肌组织标本，进行固定、包埋、切片等步骤后制成病理切片，择期集中应用 TUNEL 法检测棕黄色

阳性细胞比例,以 5 个视野的平均值作为细胞凋亡指数。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 22.0 统计软件(美国 IBM 公司)进行数据统计学分析。首先进行计量资料分布的正态性检验,待确认为正态分布后以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,三组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 Bonferroni 事后检验。计数资料以百分率表示,两组间比较采用 Fisher 精确检验法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组基线状态与复苏结局

造模前,各组动物的体重、体温、心率、血压、脉氧饱和度等生理指标均为正常范围。另外,各组动物的心功能状态与心肌损伤标志物浓度处于一致的水平,组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。CPR 期间,CPR 组与 CPR+SV 组分别复苏成功 9 头、7 头,组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。复苏后 24 h 时,CPR 组与 CPR+SV 组均存活 7 头,两组存活情况组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 各组复苏后心功能状态的变化

与 Sham 组相比,CPR 组与 CPR+SV 组可见复苏后心功能障碍发生,表现为 SV 和 GEF 值显著下降,组间比较差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。然而,与 CPR 组相比,CPR+SV 组复苏后心功能状态明显好转,其中 SV 值在复苏后 4 h 时、GEF 值在复苏 1 h 后均显著上升,组间比较差异有

统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 1。

2.3 各组复苏后心肌损伤标志物的变化

与 Sham 组相比,CPR 组与 CPR+SV 组可见复苏后心肌损伤发生,表现为 cTnI 和 CKMB 的血清浓度显著上升,组间比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。然而,与 CPR 组相比,CPR+SV 组复苏后心肌损伤明显较轻,其中 cTnI 和 CKMB 血清浓度在复苏后 4 h 和 24 h 时均显著下降,组间比较差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 2。

2.4 各组复苏后心肌组织 β -catenin 通路的表达变化

与 Sham 组相比,CPR 组与 CPR+SV 组复苏后 24 h 时心肌组织中 β -catenin 通路发生改变,表现为 β -catenin、Cyclin D1 和 c-Myc 蛋白表达水平明显增加,组间比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。然而,与 CPR 组相比,CPR+SV 组复苏后 24 h 时心肌组织中 β -catenin、Cyclin D1 和 c-Myc 蛋白表达水平明显减少,组间比较差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见图 1。

2.5 各组复苏后心肌组织细胞凋亡的情况

与 Sham 组相比,CPR 组与 CPR+SV 组复苏后 24 h 时心肌组织细胞凋亡发生,表现为凋亡标志蛋白 cleaved caspase-9 和 cleaved caspase-3 蛋白表达水平明显增加、同时细胞凋亡指数显著上升,组间比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。然而,与 CPR 组相比,CPR+SV 组复苏后 24 h 时心肌组织中 cleaved caspase-9 和 cleaved caspase-3 蛋白表达水平明显减少、同时细胞凋亡指数显著下降,组间比较差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见图 2、3。

表 1 各组心功能状态的变化($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The changes of myocardial function in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	SV (mL)					GEF (%)				
	BL	PR 0.5 h	PR 1 h	PR 2 h	PR 4 h	BL	PR 0.5 h	PR 1 h	PR 2 h	PR 4 h
Sham 组	41.5 \pm 1.6	42.3 \pm 1.5	43.3 \pm 3.0	40.7 \pm 1.2	43.0 \pm 1.7	37.2 \pm 2.5	36.5 \pm 3.3	38.2 \pm 4.0	37.0 \pm 3.0	36.0 \pm 1.1
CPR 组	41.4 \pm 2.5	14.9 \pm 3.3 ^a	16.0 \pm 3.4 ^a	18.2 \pm 4.0 ^a	19.8 \pm 3.0 ^a	37.1 \pm 2.9	13.4 \pm 2.1 ^a	13.7 \pm 2.6 ^a	16.2 \pm 3.1 ^a	17.9 \pm 3.4 ^a
CPR+SV 组	40.0 \pm 2.1	16.0 \pm 3.1 ^a	17.1 \pm 2.5 ^a	20.0 \pm 1.6 ^a	23.6 \pm 1.7 ^{ab}	36.7 \pm 2.1	15.6 \pm 2.6 ^a	18.0 \pm 2.0 ^{ab}	20.6 \pm 2.0 ^{ab}	22.4 \pm 2.7 ^{ab}

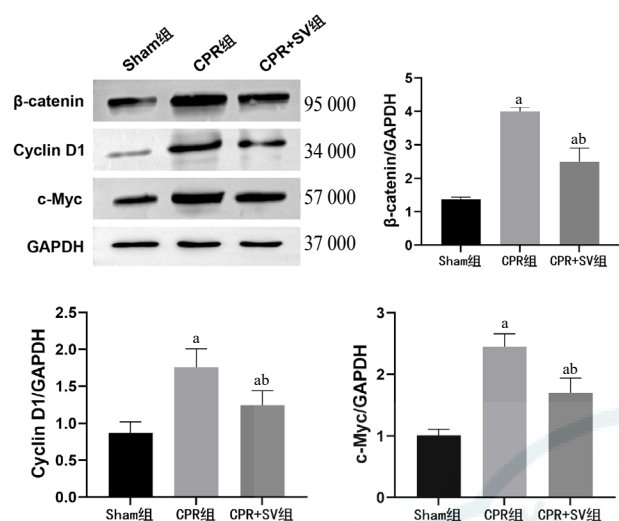
注:SV 为每搏输出量,GEF 为全心射血分数,BL 为基线值,PR 为复苏后,Sham 为假手术,CPR 为心肺复苏,SV 为西维来司钠;与 Sham 组比较,^a $P < 0.05$;与 CPR 组比较,^b $P < 0.05$

表 2 各组心肌损伤标志物浓度的变化($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The changes of myocardial injury biomarkers in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	cTnI (pg/mL)					CKMB (ng/mL)				
	BL	PR 1 h	PR 2 h	PR 4 h	PR 24 h	BL	PR 1 h	PR 2 h	PR 4 h	PR 24 h
Sham 组	130 \pm 13	133 \pm 61	118 \pm 24	124 \pm 55	135 \pm 47	31 \pm 13	29 \pm 9	38 \pm 18	34 \pm 15	35 \pm 15
CPR 组	126 \pm 40	296 \pm 118 ^a	444 \pm 130 ^a	651 \pm 118 ^a	755 \pm 153 ^a	32 \pm 15	79 \pm 41 ^a	104 \pm 45 ^a	132 \pm 36 ^a	143 \pm 37 ^a
CPR+SV 组	127 \pm 16	247 \pm 89 ^a	349 \pm 133 ^a	467 \pm 93 ^{ab}	584 \pm 75 ^{ab}	31 \pm 7	52 \pm 15 ^a	75 \pm 14 ^a	91 \pm 20 ^{ab}	103 \pm 20 ^{ab}

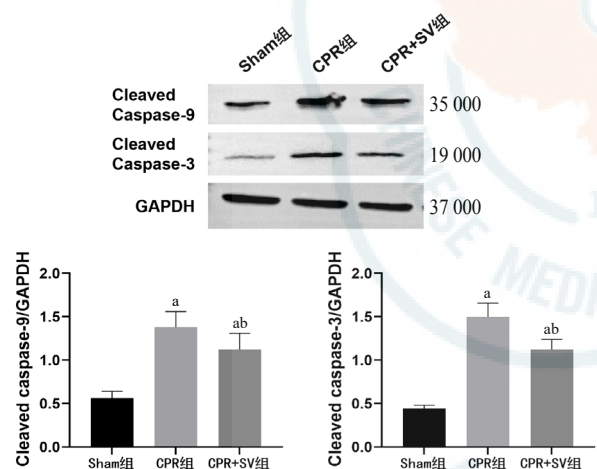
注:cTnI 为心肌肌钙蛋白 I,CKMB 为肌酸激酶同工酶,BL 为基线值,PR 为复苏后,Sham 为假手术,CPR 为心肺复苏,SV 为西维来司钠;与 Sham 组比较,^a $P < 0.05$;与 CPR 组比较,^b $P < 0.05$



注：Sham 为假手术；CPR 为心肺复苏；SV 为西维来司钠；与 Sham 组比较，^a $P < 0.05$ ；与 CPR 组比较，^b $P < 0.05$

图 1 各组复苏后心肌组织 β-catenin 通路的表达变化

Fig 1 The changes of β-catenin pathway in myocardial tissues after resuscitation in each group



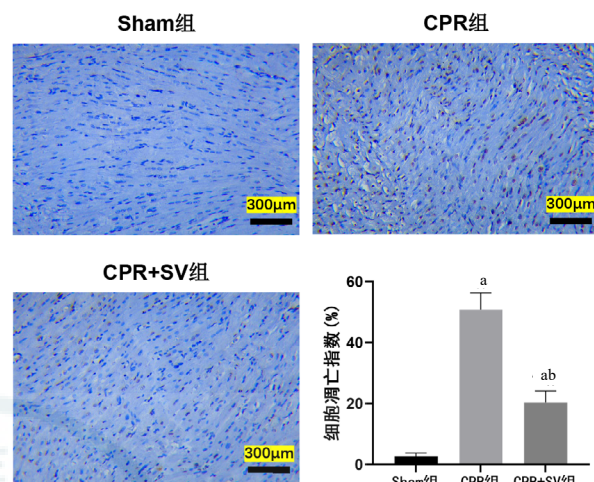
注：Sham 为假手术；CPR 为心肺复苏；SV 为西维来司钠；与 Sham 组比较，^a $P < 0.05$ ；与 CPR 组比较，^b $P < 0.05$

图 2 各组复苏后心肌组织凋亡标志蛋白的表达变化

Fig 2 The changes of apoptosis-related proteins in myocardial tissues after resuscitation in each group

3 讨论

SV 是一种特异度的中性粒细胞弹性蛋白酶抑制剂，主要通过抑制中性粒细胞弹性蛋白酶介导的炎症反应而减轻靶器官损伤，已被发现能通过抗炎、抗氧化、抗凋亡等多种途径发挥器官保护作用^[8]。临床上，SV 主要用于改善全身性炎症反应综合征的急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合征，尚无明确的使用禁忌，重点为成分过敏者禁用。研究方面，在缺血再灌注损伤领域，SV 同样展示出减轻局部缺血再灌注后多种器官损伤的积极治疗作用。



注：Sham 为假手术；CPR 为心肺复苏；SV 为西维来司钠；与 Sham 组比较，^a $P < 0.05$ ；与 CPR 组比较，^b $P < 0.05$

图 3 各组复苏后心肌组织细胞凋亡程度的分析

Fig 3 The analysis of cell apoptosis in myocardial tissues after resuscitation in each group

Wang 等^[3]利用大鼠建立肢体缺血再灌注损伤模型，研究发现 15 mg/kg 中等剂量 SV 能够有效地促进受损肢体组织中的中性粒细胞胞外诱捕网清除，从而实现增强局部血管新生、增加肢体血流灌注、抑制骨骼肌纤维化及改善肢体活动能力等保护作用。Hu 等^[4]建立小鼠肝缺血再灌注损伤模型与入选肝切除手术患者，研究发现 SV 能够通过抑制 Ninj1/Dusp1 轴激活而阻断炎症反应途径、进而减轻小鼠肝脏缺血再灌注损伤程度，以及能促进患者肝切除后肝功能的快速恢复。Ikegame 等^[5]在小鼠局灶性脑缺血模型中，研究发现 SV 能够减轻脑水肿和毛细血管渗漏程度，进而改善脑缺血后神经功能状态，其保护机制与促进血管生成素 -1 表达和内皮细胞存活后维护脑血管屏障功能有关。Aune 等^[6]利用离体大鼠心脏建立缺血再灌注损伤模型，研究发现 SV 显著降低心肌梗死面积及改善左室收缩功能状态，其保护机制与减少活性氧物质产生及保留一氧化氮有关。在全身性缺血再灌注事件中，仅有一篇研究报道 SV 能够通过抑制 NF-κB 介导的炎症反应途径而减轻失血性休克所致肺损伤程度^[9]，但尚无 SV 对心脏骤停复苏后各器官功能障碍的治疗研究。

研究表明，心脏骤停复苏导致机体经历全身性缺血再灌注后，同样将启动炎症反应、氧化应激、钙超载等多种经典病理损伤途径，进而导致心肌细胞功能紊乱、甚至死亡，促使心功能障碍及心肌损伤发生^[10-12]。当前，考虑到局部与系统性心肌缺血再灌注损伤具有类通的病理生理机制，本研究

选择探讨 SV 对复苏后受损心肌的潜在保护效应。参照相关文献资料^[3-6, 13], 研究设置在复苏成功后 5 min 时经静脉泵入 SV 10 mg/kg。结果显示, CPR 组和 CPR+SV 组较 Sham 组动物的心功能指标 SV 与 GEF 值显著下降、同时心肌损伤标志物 cTnI 与 CKMB 血清浓度显著上升, 提示复苏后心功能障碍及心肌损伤发生; 然而, 在应用 SV 治疗干预后, CPR+SV 组较 CPR 组动物的心功能指标数值整体上升、同时心肌损伤标志物的整体浓度下降, 且在部分时间点的组间比较差异有统计学意义, 因而提示 SV 具有减轻复苏后心功能障碍及心肌损伤程度的保护作用。

研究显示, β -catenin 通路在细胞生长、分化、凋亡等多方面均有重要作用, 其活化后将通过激活下游效应分子 Cyclin D1 与 c-Myc 表达而调控细胞功能^[14]。研究发现, 在炎症、高糖、缺血再灌注等多种损伤因素的刺激下, 心肌组织中 β -catenin 通路能过度激活并促进心肌细胞凋亡发生, 应用药物抑制 β -catenin 通路后将减轻细胞凋亡而发挥心肌保护作用^[15-18]。其中, 在心肌缺血再灌注损伤事件中, Li 等^[18]利用小鼠模型研究发现非编码 RNA circARAP1 能激活 β -catenin 通路后促进心肌组织纤维化与细胞凋亡的病理进程。另外, He 等^[19]利用小鼠模型研究还发现 β -catenin 敲除或传统中药活心丸在抑制 β -catenin 通路后将削弱 NF- κ B 炎症反应途径, 从而通过抗炎而改善缺血再灌注所致心功能障碍。基于上述文献资料, 本研究选择 β -catenin 通路探讨 SV 产生复苏后心肌保护的潜在作用机制。研究设置在复苏成功后 24 h 时, 将动物实施安乐死并获取心肌组织标本进行 β -catenin 通路及凋亡途径的检测评估。结果显示, 与 Sham 相比, CPR 组和 CPR+SV 组动物心肌组织中 β -catenin 通路相关蛋白 β -catenin、Cyclin D1 和 c-Myc 的表达明显增加, 同时凋亡标志蛋白 cleaved caspase-9 和 cleaved caspase-3 的表达明显增加、伴有细胞凋亡指数显著上升, 提示复苏后受损心肌组织中 β -catenin 通路激活与细胞凋亡发生。然而, 在应用 SV 治疗干预后, CPR+SV 组较 CPR 组动物的 β -catenin 通路相关蛋白表达明显减少, 同时凋亡标志蛋白表达明显减少及细胞凋亡指数显著下降, 因而提示 SV 能够抑制 β -catenin 通路激活与细胞凋亡过程, 其可能成为 SV 产生复苏后心肌保护的作用途径之一。

综上所述, SV 能减轻猪心脏骤停复苏后的心功能障碍及心肌损伤程度, 相关保护机制可能与其抑制 β -catenin 通路激活而减轻心肌细胞的凋亡程度有关。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 朱伟东: 研究设计、实验操作、论文撰写与修改; 张俊、陈卫挺、徐杰丰: 实验操作; 张俊: 数据收集及整理、统计学分析

参 考 文 献

- [1] Xie X, Zheng JQ, Zheng W, et al. Efforts to improve survival outcomes of out-of-hospital cardiac arrest in China: basic-OHCA[J]. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2023, 16(2): e008856. DOI: 10.1161/CIRCOUTCOMES.121.008856.
- [2] Yao Y, Johnson NJ, Perman SM, et al. Myocardial dysfunction after out-of-hospital cardiac arrest: predictors and prognostic implications[J]. *Intern Emerg Med*, 2018, 13(5): 765-772. DOI: 10.1007/s11739-017-1756-z.
- [3] Wang CL, Wang Y, Jiang QL, et al. DNase I and sivelestat ameliorate experimental hindlimb ischemia-reperfusion injury by eliminating neutrophil extracellular traps[J]. *J Inflamm Res*, 2023, 16: 707-721. DOI: 10.2147/JIR.S396049.
- [4] Hu YC, Zhan F, Wang Y, et al. The Njnl/Dusp1 axis contributes to liver ischemia reperfusion injury by regulating macrophage activation and neutrophil infiltration[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2023, 15(5): 1071-1084. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2023.01.008.
- [5] Ikegame Y, Yamashita K, Hayashi S, et al. Neutrophil elastase inhibitor prevents ischemic brain damage via reduction of vasogenic edema[J]. *Hypertens Res*, 2010, 33(7): 703-707. DOI: 10.1038/hr.2010.58.
- [6] Aune SE, Yeh ST, Kuppusamy P, et al. Sivelestat attenuates myocardial reperfusion injury during brief low flow postischemic infusion[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, 2013: 279847. DOI: 10.1155/2013/279847.
- [7] Haybar H, Khodadi E, Shahrazi S. Wnt/ β -catenin in ischemic myocardium: interactions and signaling pathways as a therapeutic target[J]. *Heart Fail Rev*, 2019, 24(3): 411-419. DOI: 10.1007/s10741-018-9759-z.
- [8] Zeng WL, Song YQ, Wang RZ, et al. Neutrophil elastase: from mechanisms to therapeutic potential[J]. *J Pharm Anal*, 2023, 13(4): 355-366. DOI: 10.1016/j.jpha.2022.12.003.
- [9] Toda Y, Takahashi T, Maeshima K, et al. A neutrophil elastase inhibitor, sivelestat, ameliorates lung injury after hemorrhagic shock in rats[J].

- Int J Mol Med, 2007, 19(2): 237-243.
- [10] Cunningham CA, Coppler PJ, Skolnik AB. The immunology of the post-cardiac arrest syndrome[J]. Resuscitation, 2022, 179: 116-123. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2022.08.013.
- [11] Xu JF, Jin XH, Chen QJ, et al. Faster hypothermia induced by esophageal cooling improves EarlyMarkers of cardiac and neurological injury after cardiac arrest in swine[J]. J Am Heart Assoc, 2018, 7(21): e010283. DOI: 10.1161/JAHA.118.010283.
- [12] Woods C, Shang C, Taghavi F, et al. In vivo post-cardiac arrest myocardial dysfunction is supported by Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II-mediated calcium long-term potentiation and mitigated by Alda-1, an agonist of aldehyde dehydrogenase type 2[J]. Circulation, 2016, 134(13): 961-977. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021618.
- [13] Xu JF, Sun SJ, Lu XY, et al. Remote ischemic pre- and postconditioning improve postresuscitation myocardial and cerebral function in a rat model of cardiac arrest and resuscitation[J]. Crit Care Med, 2015, 43(1): e12-e18. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000684.
- [14] 侯江雷, 刘钰强, 白妙春, 等. 高良姜素通过抑制 Wnt/ β -链蛋白信号通路诱导胶质瘤细胞凋亡[J]. 中华神经医学杂志, 2017, 16(7): 657-664. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2017.07.002.
- [15] 刘熔, 崔彦杰, 宋金萍. Wnt/ β -catenin 信号通路在 TNF- α 诱导的心肌细胞损伤和凋亡中的作用研究[J]. 国际检验医学杂志, 2023, 44(8): 920-926. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.08.005.
- [16] 宋俊华, 张沥, 陈海滨. 基于 Wnt/ β -catenin 探讨山药多糖对高糖诱导心肌细胞损伤的保护作用[J]. 中成药, 2023, 45(2): 626-629. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.02.051.
- [17] 康红钰, 刘喜民, 郑亚萍. 芍药总苷对心肌缺血再灌注模型大鼠心肌细胞凋亡的影响[J]. 解剖学杂志, 2019, 42(1): 6-9. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1633.2019.01.002.
- [18] Li X, Guo L, Wang JJ, et al. Pro-fibrotic and apoptotic activities of circARAP1 in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Eur J Med Res, 2023, 28(1): 84. DOI: 10.1186/s40001-023-01001-0.
- [19] He J, Wo D, Ma E, et al. Huoxin pill prevents excessive inflammation and cardiac dysfunction following myocardial infarction by inhibiting adverse Wnt/ β -catenin signaling activation[J]. Phytomedicine, 2022, 104: 154293. DOI: 10.1016/j.phymed.2022.154293.

(收稿日期: 2023-07-31)

(本文编辑: 张斯龙)

中华医学会