

益气逐瘀法对 AMI/抑郁大鼠神经体液的影响及其机制研究

朱雨玫 胡 馨 刘红旭

(首都医科大学附属北京中医医院心血管科,北京,100010)

摘要 目的:探讨参元益气活血胶囊(参元丹)对急性心肌梗死(AMI)/抑郁大鼠血清 5-羟色胺(5-HT)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平的影响,以研究益气逐瘀法对心梗合并抑郁神经体液的影响机制。方法:将 30 只 Sprague-Dawley (SD) 大鼠随机分为正常组、模型组、参元丹高剂量组、参元丹低剂量组、对照组,每组各 6 只,以冠脉结扎法及慢性轻度不可预知性刺激合并孤养法制作 AMI/抑郁模型,分别予参元丹高剂量、参元丹低剂量、氟西汀或蒸馏水灌胃 18 d。造模成功 3 d 后处死,测量各组大鼠血清 5-HT、TNF- α 水平。结果:血清 5-HT 浓度比较:与正常组比较,模型组大鼠血清 5-HT 浓度显著降低($P < 0.05$),与模型组比较,参元丹干预组大鼠血清 5-HT 浓度均显著升高($P < 0.05$)。参元丹干预组与对照组比较,血清 5-HT 浓度均无显著性统计学意义($P > 0.05$)。血清 TNF- α 浓度比较:与正常组比较,模型组大鼠 TNF- α 浓度无显著性统计学意义($P > 0.05$)。同模型组比较,对照组、参元丹干预组大鼠血清 TNF- α 浓度差异亦未呈现出统计学意义($P > 0.05$),但 L-SYD 血清 TNF- α 较各组明显升高。结论:参元丹能改善 AMI/抑郁的血清 5-HT 水平下降的情况,但对血清 TNF- α 水平无显著影响。

关键词 急性心肌梗死;抑郁;参元丹;5-羟色胺;肿瘤坏死因子- α

The Effect and Mechanisms of Enhancing-qi and Removing-stasis Method on Neurohumor of Rats in Acute Myocardial Infarction /Depression

Zhu Yumei, Hu Xin, Liu Hongxu

(Department of Cardiology, Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine affiliated to Capital Medical University, Beijing 100010, China)

Abstract Objective: To observe the effect of Shen Yuan Dan (SYD) on 5-HT in the serum of Sprague-Dawley (SD) rats with acute myocardial infarction (AMI)/depression, and study the mechanisms of the theory Enhancing-qi in Removing-stasis in treating AMI/depression. **Methods:** Thirty SD rats were allocated into normal group, model group, H-SYD (high dose SYD) group, L-SYD (Low dose SYD) group and control group randomly. The model was established by coronary artery ligation with chronic mild unpredictable stimulation and fed alone. Models were given high dose of SYD, low dose of SYD, fluoxetine and distilled water. All the models were put into death 3 days later. The levels of 5-HT and TNF- α in rats serum of different groups were measured. **Results:** 1) Serum 5-HT concentration. Compared with the normal group, 5-HT concentration in the model group significantly decreased ($P < 0.05$); The serum concentration of 5-HT between the SYD group was significantly higher than that of the model group ($P < 0.05$). The concentration of 5-HT in serum of SYD group and control group had no statistical difference ($P > 0.05$). 2) Serum TNF- α concentration. Compared with the normal group, the serum TNF- α concentration in the model group has no statistical difference ($P > 0.05$), besides, TNF- α in serum of L-SYD group was higher than those of the normal group, control group and H-SYD group but without any significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion:** SYD can reduce the level of 5-HT in serum but failed to affect TNF- α level.

Key Words AMI; Depression; SYD; 5-HT; TNF- α

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.02.004

自 1977 年生理-心理-社会医学模式的提出,心理、社会因素在人体疾病发生中的作用逐渐被重视。抑郁障碍是心肌梗死(Myocardial infarction, MI)患者常见的情绪障碍,2014 年 2 月 24 日美国心脏协会

(AHA) 专家组在《Circulation》上发表的科学声明^[1],正式将抑郁列为与肥胖、糖尿病、高血压和吸烟有同等地位的急性冠脉综合征(ACS)危险因素。两者共病的机制仍不甚清楚,其发病机制可能与血

管系统、自主神经系统、下丘脑-垂体-肾上腺轴、免疫系统等人的情绪与心血管系统之间的深层联系及神经内分泌调节有关^[2]。有动物实验表明心肌梗死后 TNF- α 在炎症反应级联反应中起决定性作用。其发病机制包括心肌梗死后免疫系统的激活和 TNF- α 对 BBB 的通透性的增加,其中 TNF- α 破坏 BBB 的机制有环加氧酶通路的激活、NO 的释放、细胞间粘附分子表达增加 3 方面^[3]。5-HT 升高介导的血小板聚集是抑郁合并心梗的另一潜在机制。血小板的聚集与冠心病发病有关,血小板活性增高会增加心肌梗伴抑郁症患者心脏病事件发生的几率。本研究据上述研究成果,对参元丹干预下 AMI/抑郁大鼠的 5-HT 及 TNF- α 水平进行研究,从而探索益气逐瘀法对 AMI/抑郁大鼠神经体液的影响及机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SD 雄性大鼠,SPF 级,体质量(200 ± 23)g。北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证编号:SCXK(京)2007-0001。饲养及实验均在清洁动物房内进行,人工控光(12 h 明暗交替,6:00 am—18:00 pm 光照)、控温($20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$)。

1.1.2 药物 参元丹(SYD,制剂名称:参元益气活血胶囊,北京市药监局批准文号 99 京卫字[056]第 F203 号)

1.2 方法

1.2.1 模型制备 急性心肌梗死大鼠模型的建立:腹腔注射 3% 戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉后,背位固定,气管插管,连接小型动物呼吸机行人工呼吸,(呼吸频率 90 次/min,潮气量 10~12 mL,呼吸比设为 1:1)。胸骨左旁第 3~4 肋间切开皮肤,长约 1~1.5 cm,逐层钝性分离皮下组织、肌肉,于 2~3 肋骨间进胸,向右上方推开胸腺,暴露心脏及大血管根部,剪开心包,用 6-0 Prolene 线在左心耳与肺动脉圆锥交界稍下 2 mm 处,结扎前降支血管。正常组不进行手术。慢性轻不可预见性应激抑郁模型的建立:在手术成功第 2 天开始,对动物进行 18 d 的随机轻度应激刺激,包括禁水(24 h)、禁食(24 h)、夹尾(1 min)、热应激($40\text{ }^{\circ}\text{C}$,3 min)、冰水游泳($4\text{ }^{\circ}\text{C}$,5 min)、摇晃(每次 160 Hz,5 min)、电击足底(30 V,5 s)、昼夜颠倒 24 h、行为限制 2 h 共 9 种刺激,随机安排到 18 d 内,每日采用 1 种刺激,平均每种刺激被采用 2 次,同种刺激不能连续出现,使动物不能预料刺激的发生。正常组不予任何刺激。

1.2.2 分组与给药方法 30 只大鼠随机分为:1)

正常对照组(正常组),2)心肌梗死并抑郁模型对照组[模型组,蒸馏水 $4.5\text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{d})$],3)参元丹低剂量试验组[L-SYD 组,生药 1 g/mL 的清膏, $1.5\text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$],4)参元丹高剂量试验组[H-SYD 组, $4.5\text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$],5)氟西汀对照组[对照组, 0.04% 盐酸氟西汀液, $4.5\text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{d})$]。每组 6 只术后连续给药 18 d。

1.2.3 检测指标与方法 各组动物统一于实验结束后的次日下午 3:00,在心尖搏动最强处经皮穿刺取血 2 mL,放于 5 mL 无菌 EP 管中静置 30 min, $2\text{ }000\text{ r/min}$ 离心 15 min(离心半径为 15 cm)。分离血清,保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,用酶联免疫吸附法测定血清 1)TNF- α ;2)5-HT 的含量。

1.3 统计学方法 所有的数据均以均数士标准差表示,多组间总体比较方差齐者采用方差分析(ANOVA),两两比较采用 q 检验,方差不齐时采用 Tamhane 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。统计分析用 SPSS 15.0 软件完成。

2 结果

2.1 5 组血清 5-HT 比较 与正常组比较,模型组大鼠血清 5-HT 浓度显著降低($P < 0.05$),与模型组比较,参元丹干预组大鼠血清 5-HT 浓度均显著升高($P < 0.05$)。参元丹干预组与对照组比较,血清 5-HT 浓度均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 5 组血清 TNF- α 比较 与正常组比较,模型组大鼠 TNF- α 浓度无显著性统计学意义($P > 0.05$)。同模型组比较,对照组、参元丹干预组大鼠血清 TNF- α 浓度差异亦未呈现出统计学意义($P > 0.05$),但 L-SYD 血清 TNF- α 较各组明显升高。

表 1 不同处理后血清 5-HT、TNF- α 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	5-HT(U/L)	TNF- α (U/L)
正常组	6	708.03 $\pm$ 162.87	46.22 $\pm$ 21.50
模型组	6	450.39 $\pm$ 153.26	84.08 $\pm$ 45.14
对照组	6	414.70 $\pm$ 103.18	85.29 $\pm$ 34.28
H-SYD 组	6	820.64 $\pm$ 364.51	35.33 $\pm$ 18.79
L-SYD 组	6	828.89 $\pm$ 160.26	105.91 $\pm$ 109.16

3 讨论

5-HT,是重要的血管调节物质,也是中枢神经系统重要的神经递质。5-HT 对血管的作用主要取决于 5-HT 受体及内皮功能^[4]。生理状态下,5-HT 能够舒张小血管,能使血管平滑肌和成纤维细胞增殖,血小板聚集,并能放大生长因子的作用。机体应激时,5-HT 反应性增高,对外周血管及组织起到保护作用。然而,持续应激作用时,机体处于病理状态,

5-HT 过度增高,则会损伤内皮功能,导致机体损伤^[5]。Frishman WH^[6]等人研究认为,心脏分布有多种 5-HT 受体,5-HT 对心脏有直接的作用,参与了多种心血管疾病的发病。机体处于应激状态时,5-HT 水平增高,进而引起多种心理和行为异常^[7]。本研究中模型组的血清 5-HT 较正常组明显下降,这表明应激损伤会消耗血清中的 5-HT,合并海马神经递质生成不足,5-HT 递质系统的功能明显减退,故 5-HT 水平下降。对于应用参元丹干预的实验组与模型组比较,参元丹干预后可显著提高抑郁大鼠海马神经递质的生成并增强 5-HT 递质系统功能,而同种药物干预的高低剂量组间并无明显统计学意义。

抑郁症与一定程度的炎症反应激活相伴发生,促炎性细胞因子升高已成为抑郁症的标志性现象。抗抑郁药能够阻断临床上应用细胞因子免疫治疗的患者出现的抑郁样症状^[8]。TNF- α 属于前炎症细胞因子,是一系列炎症反应中最早产生的细胞因子。研究表明,心理性应激反应能使脑内情感调节区的 TNF- α 等促炎症性细胞因子浓度增加^[9]。本研究结果未观察到参元丹干预大鼠血清 TNF- α 浓度与模型组的统计学意义,但参元丹高剂量组血清 TNF- α 较各组明显下降,提示高剂量参元丹干预可能对 AML/抑郁大鼠的炎症反应有所调控。

参考文献

- [1] Lichtman JH, Froelicher ES, Blumenthal JA, Carney RM, Doering LV, Frasure-Smith N, Freedland KE, Jaffe AS, Leifheit-Limson EC, Sheps DS, Vaccarino V, Wulsin L; on behalf of the American Heart Associa-

tion Statistics Committee of the Council on Epidemiology and Prevention and the Council on Cardiovascular and Stroke Nursing. Depression as a Risk Factor for Poor Prognosis Among Patients With Acute Coronary Syndrome: Systematic Review and Recommendations; A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2014 Feb 24.

- [2] Kuehl LK, Penninx BW, Otte C. Depression; risk factor for cardiovascular disease [J]. *Der Nervenarzt*, 2012, 83 (11): 1379-84.
- [3] 张文洁,徐雅. TNF- α 诱导的血脑屏障的改变在急性心肌梗死后抑郁中的作用及机制探讨 [J]. *世界中医药*, 2015, 10 (1): 138-142.
- [4] Saxena PR, Villalón CM. 5-Hydroxytryptamine: a chameleon in the heart [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 1991, 12 (6): 223-227.
- [5] Ek VDB, Schmitz JM, Benedict CR, et al. Transcardiac serotonin concentration is increased in selected patients with limiting angina and complex coronary lesion morphology [J]. *Circulation*, 1989, 79 (1): 116-124.
- [6] Frishman WH, Huberfeld S, Okin S, et al. Serotonin and Serotonin Antagonism in Cardiovascular and Non-Cardiovascular Disease [J]. *J Clin Pharmacol*, 1995, 35 (6): 541-572.
- [7] 刘梅颜,张丽军. 药物预处理对心肌梗死合并抑郁大鼠血清、血小板及脑组织 5-羟色胺水平的影响 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2016, 8 (12): 1458-1462.
- [8] Pollak Y, Yirmiya R. Cytokine-induced changes in mood and behaviour: implications for depression due to a general medical condition, immunotherapy and antidepressive treatment [J]. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2002 (5): 389-399.
- [9] O'Connor KA, Johnson JD, Hansen MK, et al. Peripheral and central proinflammatory cytokine response to a severe acute stressor [J]. *Brain Res*, 2003, 991 (1/2): 123-132.

(2017-02-10 收稿 责任编辑:徐颖)

(上接第 250 页)

- 进展 [J]. *心脏杂志*, 2013, 25 (6): 722-725.
- [2] 谭剑凯,谭小进,王佐. DNA 甲基化与动脉粥样硬化 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2014, 11 (2): 132-136.
- [3] Jie Y, Qiu Y, Jie Y, et al. DNMT1-PPAR γ pathway in macrophages regulates chronic inflammation and atherosclerosis development in mice [J]. *Scientific Reports*, 2016: 6.
- [4] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学 [M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2002: 202-204.
- [5] Yang X R, Wat E, Wang Y P, et al. Effect of Dietary Cocoa Tea (Camellia ptilophylla) Supplementation on High-Fat Diet-Induced Obesity, Hepatic Steatosis, and Hyperlipidemia in Mice [J]. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2013, 2013 (3): 243-243.
- [6] Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, et al. A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection [J]. *Nature*, 1997, 386 (6622): 292-296.
- [7] 陈婕,王肖龙. DNA 甲基化对动脉粥样硬化影响的研究进展 [J].

中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 15 (10): 1177-1179.

- [8] Chen Y, Liu M, Zhao T, et al. Danhong injection inhibits the development of atherosclerosis in both Apoe -/- and Ldlr -/- mice [J]. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 2014, 63 (5): 441-452.
- [9] Granger A, Abdullah I, Huebner F, et al. Histone deacetylase inhibition reduces myocardial ischemia-reperfusion injury in mice [J]. *Faseb Journal Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2008, 22 (10): 3549-3560.
- [10] Zaina S, Heyn H, Carmona F J, et al. DNA methylation map of human atherosclerosis [J]. *Circulation Cardiovascular Genetics*, 2014, 7 (5): 692-700.
- [11] Svedružić Ž M. Dnmt1 structure and function [J]. *Progress in Molecular Biology & Translational Science*, 2011, 101 (101): 221-254.
- [12] Chédin F. The DNMT3 family of mammalian de novo DNA methyltransferases [J]. *Progress in Molecular Biology & Translational Science*, 2011, 101: 255-285.

(2017-02-10 收稿 责任编辑:徐颖)