

稳心丹对 MIRI 大鼠相关炎症因子的影响

沈晓璞^{1,2} 李秀典² 李 冀¹

(1 黑龙江中医药大学, 哈尔滨, 150040; 2 黑龙江中医药大学附属第二医院, 哈尔滨, 150001)

摘要 目的:观察稳心丹对 MIRI 大鼠心肌酶指标 CK-MB、cTnI 以及肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平、白介素-6 (IL-6) 的影响,探讨稳心丹对 MIRI 大鼠相关炎症因子的影响。方法:将 70 只 SD 大鼠随机分成随机分 7 组,每组 10 只,分别为假手术组、模型组、预处理组、稳心丹 1:1:1 组、稳心丹 1:2:1 组、稳心丹 1:1:2 组、稳心丹 2:1:1 组。灌胃 14 d 后,以结扎大鼠冠状动脉左前降支 (LAD) 后再复灌建立心肌缺血再灌注模型。全自动生化仪测定 CK-MB 含量,ELISA 法检测 cTnI、TNF- α 、IL-6 含量。结果:模型组大鼠血清中 CK-MB、cTnI 含量明显升高,与假手术组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$);与模型组比较,各观察组的心肌酶指标都有改变,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),其中 1:2:1 组 CK-MB 下降最明显;模型组大鼠血清中 TNF- α 、IL-6 含量明显升高,与假手术组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$);与模型组比较,各观察组的 TNF- α 、IL-6 含量都有改变,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),其中 1:2:1 组 TNF- α 、IL-6 下降最明显。结论:稳心丹可降低 MIRI 大鼠血清 CK-MB、cTnI 以及 TNF- α 、IL-6 含量而产生抗炎作用。

关键词 稳心丹;心肌缺血再灌注;TNF- α 、IL-6

Effect of Wen Xin Dan on Inflammatory Factors of MIRI Rats

Shen Xiaopu^{1,2}, Li Xiudian², Li Ji¹

(1 Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2 The Second Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150001, China)

Abstract Objective: To observe the effect of Wen Xin Dan on myocardial enzyme indicators, including CK-MB, cTnI and tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) levels, and interleukin 6 (IL-6) of MIRI rats. Besides, to explore its effect on inflammatory factor of MIRI rats. **Methods:** A total of 70 SD rats were randomly divided into 7 groups with 10 in each. Groups include control group, model group, pretreatment group, Wen Xin Dan 1:1:1 group, Wen Xin Dan 1:2:1 group, Wen Xin Dan 1:1:2 group, Wen Xin Dan 2:1:1 group. After 14 days lavage, ligate rat's left anterior descending coronary artery (LAD). Again, lavage the rats to make myocardial ischemia models. Use automatic biochemical instrument to measure CK-MB content and cTnI ELISA method to measure TNF alpha, IL-6 levels. **Results:** Serum CK-MB, cTnI levels increased significantly in model group with significant difference comparing to those of the control group ($P < 0.01$). Compared to the model group, myocardial enzyme index in each Wen Xin Dan group has changed, and the difference is significant ($P < 0.01$), among which, CK-MB in the 1:2:1 group reduced most significantly. Serum TNF alpha, IL-6 levels increased significantly in the model group with significant difference especially compared to those of the control group ($P < 0.01$). Compared with model group, TNF alpha and IL-6 content has changed significantly in all Wen Xin Dan group ($P < 0.01$), among which the 1:2:1 group has the largest decrease. **Conclusion:** Wen Xin Dan can reduce serum CK-MB, cTnI and the content of TNF alpha, IL-6, therefore, it has anti-inflammatory effects.

Key Words Wen Xin Dan; Myocardial ischemia reperfusion; TNF alpha; IL-6

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.05.043

冠状动脉缺血性心脏病是一种十分常见的心血管疾病,其中以急性心肌梗死 (AMI) 为原因的死亡率高达 50%。因此,对冠心病的有效防治,特别是对 AMI 的治疗,俨然成为心血管界的研究热点。医疗界目前公认的治疗 AMI 最有效的原则是尽早恢复血液复灌。但大量研究表明,在发生心肌急性缺血再灌注时,不仅不能恢复心肌组织正常的生理功能,反而会加重心肌损伤的程度,产生不可逆转的损

伤,这种现象被称为心肌缺血再灌注损伤 (Myocardial Ischemia-reperfusion Injury, MIRI),严重影响患者的预后^[1]。因此,如何有效预防及减轻缺血后再灌注损伤,对临床工作有非常重要的意义。临床上治疗心肌缺血的中药、西药种类繁多,尤其是中药在心肌缺血再灌注损伤的纠正及治疗方面有着独特的优势。

中医学中并没有心肌缺血再灌注这一病名,但其临床症状与“胸痹”“心痛”等一类病证表现相似。

基金项目:黑龙江省中医药科研项目 (编号:ZHY16-024);黑龙江中医药大学校基金 (编号:201405)

作者简介:沈晓璞 (1984. 11—),女,硕士研究生,主治医师,研究方向:中医内科临床, E-mail:xs_lnzi@163.com

通信作者:李冀 (1960. 11—),男,博士研究生,教授,博士研究生导师,研究方向:方剂配伍规律及药物物质基础研究, E-mail:214555842@qq.com

稳心丹以尖叶假龙胆、丹参、当归配伍而成,为火邪热结,心血瘀阻病机所致胸痹心痛而设。尖叶假龙胆味苦,性凉。有清热利湿,利胆退黄之功效,鄂仑春族常用尖叶假龙胆代茶饮防治心血管疾病,确有疗效^[2]。丹参苦,微寒。入心、心包、肝经,有祛瘀止痛,活血调经,凉血消痈,养血安神,清心除烦之功效,临床应用较多,效果显著。当归味甘,性温,入心、肝、脾经,有补血和血,调经止痛,润燥滑肠之功效。章春艳等^[3]发现丹参多酚酸盐对心肌缺血再灌注损伤模型大鼠有心肌保护作用,丹参酮ⅡA对缺血再灌注损伤的心肌具有保护作用。韩乃巍等^[4]研究发现丹参可以通过增加血清中磷酸肌酸激酶、乳酸脱氢酶的活性,对受损心肌起保护作用。诸药配伍,共奏清心除烦、活血化瘀之功效。已有的研究表明稳心丹对 MIRI 大鼠有明显的心肌保护作用,其机制可能与抗细胞凋亡有关^[5]。李冀等^[6]实验结果表明,尖叶假龙胆可使血清中 TXB2 的含量减低,升高 6-酮-PGF1 α 的含量,从而对 MIRI 大鼠的心肌细胞起保护作用。吕丽娟等^[7]研究显示尖叶假龙胆有效成分能够对缺血心肌细胞起保护作用。武海军等^[8]实验研究表明,尖叶假龙胆中的有效成分维菊叶龙胆酮(Bellidifolin)可以减慢大鼠心率,延长 P 波时间,延长 Q-T 间期和 QRS 时限,缩短 P-R 间期。提示尖叶假龙胆可以抵抗心律失常的发生。翟亚东^[9]通过研究尖叶假龙胆对离体心肌缺血再灌注损伤模型大鼠干预作用发现,尖叶假龙胆对缺血再灌注损伤心肌细胞具有保护作用。其证明尖叶假龙胆能够明显减低血清中肌酸激酶同工酶、乳酸脱氢酶的含量以及心肌中丙二醛的含量;提高 $\pm dp/dt_{max}$ 、RPP;提高谷胱甘肽过氧化物酶、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、MDH、ATP 的浓度,缓解水肿。本实验通过稳心丹对 MIRI 模型大鼠心肌酶指标 CK-MB、cTnI 以及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平、白介素-6(IL-6)的影响,从现代医学的角度初步探讨其治疗心肌缺血再灌注的作用机制及最佳配伍比例。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 清洁级 SD 大鼠 70 只(由黑龙江中医药大学动物实验中心提供),雌雄各半,体重 180 ~ 220 g、动物许可证号为:SCXK(黑)2015004。

1.1.2 药物 稳心丹药物由尖叶假龙胆、丹参、当归按一定比例配伍而成。本实验用尖叶假龙胆选购于内蒙古根河市,经鉴定为龙胆科假龙胆属尖叶假龙胆干燥全草;丹参,当归由黑龙江中医药大学附属

第一医院中药局提供。将尖叶假龙胆、丹参、当归按照各组配伍比例(1:1:1、1:2:1、1:1:2、2:1:1)用 75% 乙醇(乙醇体积为生药材 20 倍量的体积)浸泡 10 h,加热回流提取 2 次,旋转蒸发、减压干燥,回收乙醇,浓缩,至含生药量 1 g/mL 的浓缩液,进行配制,各组灌胃给予稳心丹总生药量为 6 g/kg(大鼠模型的给药量根据临床成人剂量按体表面积折算而成)。

1.1.3 试剂与仪器 肌酸激酶同工酶 MB 测定试剂盒:中生北控生物科技股份有限公司;大鼠心肌肌钙蛋白 I(cTnI)酶联免疫检测试剂盒:南京建成生物工程研究所;TTC(氯化三苯基四氮唑):美国 Sigma 公司;氨基甲酸乙酯(乌拉坦):上海化学试剂公司;鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫检测试剂盒:南京建成生物工程研究所;大鼠白细胞介素-1 β (IL-1 β)酶联免疫检测试剂盒:南京建成生物工程研究所;大鼠白细胞介素-6(IL-6)酶联免疫检测试剂盒:南京建成生物工程研究所;大鼠白细胞介素-10(IL-10)酶联免疫检测试剂盒:南京建成生物工程研究所;HX-200 动物呼吸机:成都泰盟科技有限公司;AL204 型电子分析天平:梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;RE-2000 旋转蒸发仪:上海亚荣生化仪器厂;KDL40 型低速离心机:科大创新股份有限公司中佳分公司;Glamour 2000 型全自动生化仪:美国 M. D. 仪器公司;MedLab 型多道生物信号分析系统:成都泰盟科技有限公司;电子恒温水浴锅:DK98-1;精密天平:瑞士赛多利斯;HH-501 型恒温水浴锅:华普达公司;BL-420S 生物功能实验系统:成都泰盟科技有限公司;TECAN Infinite M200 PRO 多功能酶标仪:瑞士 TECAN 公司。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 将 70 只 SD 大鼠随机分 7 组,每组 10 只,分别为假手术组、模型组、预处理组、稳心丹 1:1:1 组、稳心丹 1:2:1 组、稳心丹 1:1:2 组、稳心丹 2:1:1 组。大鼠术前 12 h 禁食,自由饮水。末次灌胃给药 2 h 后给予腹腔注射 25% 乌拉坦麻醉,于手术台上仰卧固定,连接 BL420S 生物功能实验系统,开始记录心电图。消毒颈部及胸部皮肤,快速在颈部分离皮肤肌肉,将气管暴露,剪一 T 型切口,实行气管插管术,连接小动物呼吸机以进行辅助呼吸(参数设置:潮气量 15 mL/kg、呼吸比 2:1,呼吸频率 50 次/min)。于胸骨左侧心脏搏动处稍偏左剪开 2 cm 左右纵切口,分离肌肉组织,剪断第 3 ~ 5 根肋骨,打开心包膜,使心脏暴露,于左心耳下缘及肺

动脉圆锥间进针,用 3/0 号无创缝合针穿过冠状动脉左前降支心肌表层约 0.2 cm 后穿出,打一手术方结,迅速将心脏置回原位,闭合胸腔,用生理盐水沾湿的无菌纱布将手术区覆盖,止血钳闭合术区皮肤,以防气胸。观察心电图,若出现 ST 段弓背上抬或压低证明心肌缺血成功,30 min 后松开结扎线,再灌注复流 60 min,观测心电图,出现上抬的 ST 段下降 50% 以上或高耸的 T 波下降表示造模成功。预处理组采用左冠状动脉结扎 4 次,缺血 5 min/次,复流 5 min/次的方法,之后操作与模型组相同;假手术组只打开胸腔,在相同位置处穿线,不结扎。剔除造模未成功、死亡的大鼠。实验各组选取 8 只进行指标测定。

1.2.2 给药方法 稳心丹配伍比例组按总生药量 6 g/kg 提前连续灌胃给药 14 d;模型组给予等体积的生理盐水,提前连续灌胃 14 d;假手术组给予等体积的生理盐水,提前连续灌胃 14 d;预处理组给予等体积的生理盐水,提前连续灌胃 14 d。

1.2.3 检测指标与方法

1.2.3.1 MIRI 模型大鼠 CK-MB 的测定 造模成功后,腹主动脉采血,静置 1 h,用低速离心机离心,设定转速 3 500 r/min,进行离心 10 min,取上层血清,待测。检测步骤:空白管与样品管分别混合均匀,在 37 ℃ 环境下温育 10 min。空白管用于进行校准调零,上 Gimour 2000 型全自动生化仪,测定肌酸激酶同工酶 CK-MB 的含量。见表 1。

表 1 CK-MB 待测样品配比剂量 (mL)		
样品	空白管	样品管
工作液	2.5	2.5
生理盐水	0.1	—
样本	—	0.2

注:波长:340 nm,温度:37 ℃,比色杯光径:1 cm。

1.2.3.2 MIRI 模型大鼠 cTnI 的测定 造模成功后,腹主动脉采血,静置 1 h,用低速离心机离心,设定转速 3 500 r/min,进行离心 10 min,取上层血清,待测。cTnI 含量检测步骤:1) 按比例稀释原倍标准品。见表 2。2) 加入准备好的样品和标准品,每个标准品与空白孔均做复孔。空白孔只加入显色剂 A&B 与终止液,其余操作与各孔均相同;标准品孔滴入 50 μL 标准品、50 μL 链霉素-HRP;样品孔滴入 40 μL 样品、10 μL 抗 cTnI 抗体与 50 μL 链霉亲和素-HRP,表面覆盖封板膜,轻混震荡摇匀,静置于 37 ℃ 水浴中 1 h;洗板 5 次;先后滴入显色剂 A、B 各 50 μL,混匀,37 ℃ 环境下闭光放置 10 min;滴入终止液

50 μL;空白孔调零操作,设定波长为 450 nm,10 min 内读 OD 值;计算出 cTnI 浓度。

表 2 cTnI 待测样品配比剂量		
浓度	标号	配比剂量
1 200 pg/mL	5 号标准品	120 μL 的原倍标准品 + 120 μL 的标准品稀释液
600 pg/mL	4 号标准品	120 μL 的 5 号标准品 + 120 μL 的标准品稀释液
300 pg/mL	3 号标准品	120 μL 的 4 号标准品 + 120 μL 的标准品稀释液
150 pg/mL	2 号标准品	120 μL 的 3 号标准品 + 120 μL 的标准品稀释液
75 pg/mL	1 号标准品	120 μL 的 2 号标准品 + 120 μL 的标准品稀释液

1.2.3.3 MIRI 模型大鼠 TNF-α 的测定 造模成功后,腹主动脉采血,置于试管架中静置 1 h,用 KDL-40 型低速离心机离心,转数设定为 3 500 r/min,离心 10 min,取上层血清,待测。操作程序:1) 将原倍标准品按比例进行稀释。见表 3。2) 加入准备好的样品和标准品,每个标准品与空白孔均做复孔。空白孔只加入显色剂 A&B 与终止液,其余操作与各孔均相同;标准品孔滴入 50 μL 标准品、50 μL 链霉素-HRP;样品孔滴入 40 μL 样品、10 μL 抗 TNF-α 抗体与 50 μL 链霉亲和素-HRP,表面覆盖封板膜,轻混震荡摇匀,静置于 37 ℃ 水浴中 1 h;洗板 5 次;先后滴入显色剂 A、B 各 50 μL,混匀,37 ℃ 环境下闭光放置 10 min;滴入终止液 50 μL;空白孔调零操作,设定波长为 450 nm,10 min 内读 OD 值;计算出 TNF-α 浓度。

表 3 TNF-α 待测样品配比剂量		
浓度	标号	配比剂量
640 ng/mL	5 号标准品	120 μL 的原倍标准品 + 120 μL 的标准品稀释液
320 ng/mL	4 号标准品	120 μL 的 5 号标准品 + 120 μL 的标准品稀释液
160 ng/mL	3 号标准品	120 μL 的 4 号标准品 + 120 μL 的标准品稀释液
80 ng/mL	2 号标准品	120 μL 的 3 号标准品 + 120 μL 的标准品稀释液
40 ng/mL	1 号标准品	120 μL 的 2 号标准品 + 120 μL 的标准品稀释液

1.2.3.4 MIRI 模型大鼠 IL-6 的测定 造模成功后,腹主动脉采血,置于试管架中静置 1 h,用 KDL-40 型低速离心机离心,转数设定为 3 500 r/min,离心 10 min,取上层血清,待测。操作程序:1) 将原倍标准品按比例进行稀释。见表 4。2) 加入准备好的样品和标准品,每个标准品与空白孔均做复孔。空白孔只加入显色剂 A&B 与终止液,其余操作与各孔均相同;标准品孔滴入 50 μL 标准品、50 μL 链霉素-HRP;样品孔滴入 40 μL 样品、10 μL 抗 IL-6 抗体与 50 μL 链霉亲和素-HRP,表面覆盖封板膜,轻混震荡摇匀,静置于 37 ℃ 水浴中 1 h;洗板 5 次;先后滴入显色剂 A、B 各 50 μL,混匀,37 ℃ 环境下闭光放置 10 min;滴入终止液 50 μL;空白孔调零操作,设定波长为 450 nm,10 min 内读 OD 值;计算出 IL-6 浓度。

表 4 IL-6 待测样品配比剂量

浓度	标号	配比剂量
80 ng/mL	5 号标准品	120 μL 的原倍标准品 + 120 μL 的标准品稀释液
40 ng/mL	4 号标准品	120 μL 的 5 号标准品 + 120 μL 的标准品稀释液
20 ng/mL	3 号标准品	120 μL 的 4 号标准品 + 120 μL 的标准品稀释液
10 ng/mL	2 号标准品	120 μL 的 3 号标准品 + 120 μL 的标准品稀释液
5 g/mL	1 号标准品	120 μL 的 2 号标准品 + 120 μL 的标准品稀释液

1.3 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件对实验数据进行分析,用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)的形式表示,用单因素方差分析(ANOVA)进行数据统计,以 $P < 0.05$, $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 稳心丹对 MIRI 模型大鼠 CK-MB 的影响 由表 5、图 1 可见,模型组大鼠血清中 CK-MB 含量明显升高,与假手术组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$);与模型组比较,各观察组的心肌酶指标都有改变,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),其中 1:2:1 组 CK-MB 下降最明显;在各配伍比例组中,其余各组与 1:2:1 组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.01$);综上所述,说明 1:2:1 组对心肌酶 CK-MB 的作用效果最好,能够显著降低 MIRI 大鼠血清中 CK-MB 含量,而且优于预处理组及其他稳心丹配伍比例组。

表 5 稳心丹对 MIRI 大鼠血清中 CK-MB 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	CK-MB(U/L)
假手术组	33.56 ± 4.90
模型组	95.49 ± 10.34**
预处理组	56.23 ± 6.24△△
1:1:1 组	61.87 ± 6.48△△▲▲
1:2:1 组	45.07 ± 5.39△△
1:1:2 组	63.31 ± 5.96△△▲▲
2:1:1 组	71.26 ± 6.71△△▲▲

注:与假手术组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,△△ $P < 0.01$;与 1:2:1 组比较,▲▲ $P < 0.01$ 。

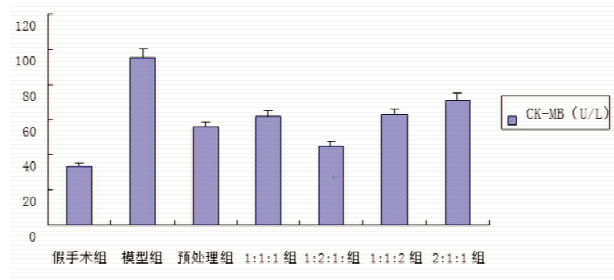


图 1 稳心丹对 MIRI 大鼠血清中 CK-MB 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

2.2 稳心丹对 MIRI 模型大鼠 cTnI 的影响 由表 6、图 2 可见,模型组大鼠血清中 cTnI 含量明显升高,与假手术组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$);与模型组比较,各观察组的心肌酶指标都有改变,差

异有统计学意义 ($P < 0.01$),其中 1:2:1 组 cTnI 下降最明显;在各配伍比例组中,其余各组与 1:2:1 组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.01$);综上所述,说明 1:2:1 组对 cTnI 的作用效果最好,能够显著降低 MIRI 大鼠血清中 cTnI 含量,而且优于预处理组及其他稳心丹配伍比例组。

表 6 稳心丹对 MIRI 大鼠血清中 cTnI 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	cTnI(pg/mL)
假手术组	362.77 ± 30.93
模型组	702.49 ± 63.89**
预处理组	434.12 ± 49.27△△
1:1:1 组	532.95 ± 48.09△△▲▲
1:2:1 组	400.26 ± 45.73△△
1:1:2 组	554.83 ± 59.30△△▲▲
2:1:1 组	578.91 ± 53.60△△▲▲

注:与假手术组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,△△ $P < 0.01$;与 1:2:1 组比较,▲▲ $P < 0.01$ 。

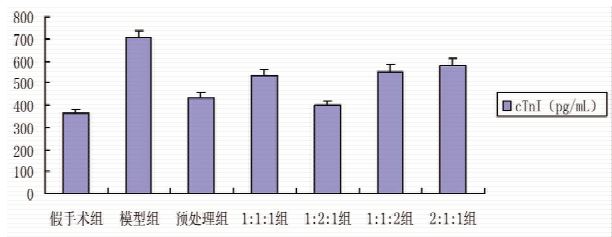


图 2 稳心丹对 MIRI 大鼠血清中 cTnI 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

2.3 稳心丹对 MIRI 模型大鼠 TNF-α 的影响 由表 7、图 3 可见,模型组大鼠血清中 TNF-α 含量明显升高,与假手术组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$);与模型组比较,各观察组的 TNF-α 含量都有改变,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),其中 1:2:1 组 TNF-α 下降最明显;在各配伍比例组中,其余各组与 1:2:1 组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.01$);综上所述,说明 1:2:1 组对 TNF-α 的作用效果最好,能够显著降低 MIRI 大鼠血清中 TNF-α 含量,而且优于预处理组及其他稳心丹配伍比例组。

表 7 稳心丹对 MIRI 大鼠血清中 TNF-α 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	TNF-α(ng/L)
假手术组	301.79 ± 30.44
模型组	423.85 ± 25.69**
预处理组	344.12 ± 37.24△△
1:1:1 组	361.95 ± 38.67△△▲▲
1:2:1 组	326.93 ± 28.51△△
1:1:2 组	368.80 ± 30.33△△▲▲
2:1:1 组	379.71 ± 33.10△△▲▲

注:与假手术组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,△△ $P < 0.01$;与 1:2:1 组比较,▲▲ $P < 0.01$ 。

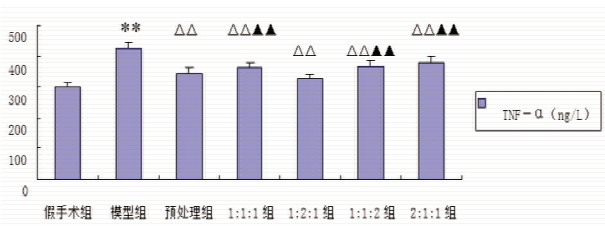


图3 稳心丹对 MIRI 大鼠血清中 TNF-α 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

2.4 稳心丹对 MIRI 模型大鼠 IL-6 的影响 由表4、图4可见,模型组大鼠血清中 IL-6 含量明显升高,与假手术组比较差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,各观察组的 IL-6 含量都有改变,差异有统计学意义($P < 0.01$),其中 1:2:1 组 IL-6 下降最明显;在各配伍比例组中,其余各组与 1:2:1 组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$);综上可见,说明 1:2:1 组对 IL-6 的作用效果最好,能够显著降低 MIRI 大鼠血清中 IL-6 含量,而且优于预处理组及其他稳心丹配伍比例组。

表8 稳心丹对 MIRI 大鼠血清中 IL-6 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	IL-6 (ng/L)
假手术组	134.58 ± 20.37
模型组	363.91 ± 50.55 **
预处理组	246.94 ± 27.07 ΔΔ
1:1:1 组	262.39 ± 31.28 ΔΔΔΔ
1:2:1 组	210.72 ± 20.09 ΔΔ
1:1:2 组	274.83 ± 29.30 ΔΔΔΔ
2:1:1 组	280.95 ± 34.09 ΔΔΔΔ

注:与假手术组比较, ** $P < 0.01$;与模型组比较, ΔΔ $P < 0.01$;与 1:2:1 组比较, ΔΔΔ $P < 0.01$ 。

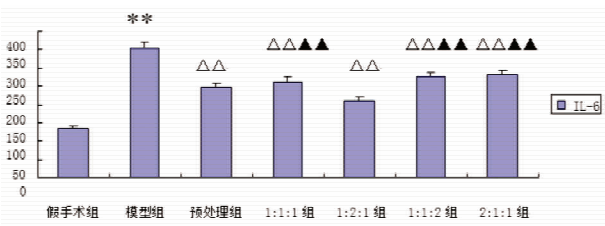


图4 稳心丹对 MIRI 大鼠血清中 IL-6 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

3 讨论

近年来,缺血心肌再灌注治疗技术得到广泛应用,挽救了大量的冠心病患者的生命,但其引起的心肌损伤是影响其疗效的一大弊端。伴随对 MIRI 机制的深入研究,人们不断寻找防治心肌缺血再灌注损伤的方法,中医药在这方面也逐渐开展了一些临床和实验研究,并取得一定进展。

心脏内存在大量酶类物质以维持其正常生理功

能,心肌缺氧缺血时,心肌内含有的酶大量释放,血清中心肌酶浓度升高。在不同的病程阶段,心肌酶含量与病程长短及严重程度相关,因此,检测血液中心肌酶的浓度,并观察其变化对诊断具有较大意义。CK-MB 是肌酸激酶 CK 的同工酶中的一种,其特异性和敏感性均较高,检测其活性可用于诊断急性心肌梗死,是确定有无心肌坏死的一项重要指标。通过与心肌肌钙蛋白 I (cTnI) 同时检测,可帮助诊断疾病的发生。

心肌肌钙蛋白 I (cTnI) 是由结构和功能不同的 3 种亚单位 (Tn C、Tn T、TnI) 组成的蛋白复合物,主要参与心肌细胞收缩中 Ca^{2+} 的激活调节过程。心肌细胞缺氧缺血过程中,肌钙蛋白大量分泌,是一种特异性极强、灵敏度极高、发病后出现较早的用于心肌损伤诊断的血清标志物。在临床中与血清 CK-MB 联合应用诊断,具有较高的临床参考价值。本实验中,稳心丹各配伍比例组 CK-MB、cTnI 的含量较模型组明显下降,其中稳心丹 1:2:1 组效果最为显著。说明用稳心丹各配伍比例组进行干预心肌缺血再灌注损伤可降低 CK-MB、cTnI 的释放,对心肌具有保护作用。

TNF-α 是一类与炎症反应具有紧密联系的具有多种生物学效应的活性细胞因子,有 2 种存在形式:TNF-α 和 TNF-β,均具有着炎症反应活性。在发生炎症反应的过程中,TNF-α 的表达量明显提高,炎症因子的大量释放是导致机体组织受损的主要原因之一,作为主要的炎症因子,TNF-α 具有极其广泛的生物学效应,可以诱导其他多种炎症因子表达上调^[10],且主要在心血管疾病中起作用。其主要生物学功能包含抗肿瘤、抗病毒、抗纤维化、抗氧化,影响细胞凋亡,调控细胞生长与分化,诱发炎症反应和调节免疫反应等。应激状态下,TNF-α 在心肌细胞中持续大量表达,通过多种途径影响心肌功能,激活信号转导系统,造成对心肌细胞的炎症损伤^[11-12]。

白介素家族 (Interleukin, IL): 白细胞介素是指由各种白细胞产生的能够介导细胞之间相互作用的细胞因子。目前医学界公认的白介素有 18 个,分别以 IL-1 ~ 18 命名。主要与炎症反应相关的包括 1、4、6、8、10、13。IL-6 作用广泛,被称为是白细胞介素家族中的“核心成员”,具有多种生物活性,参于应激反应和免疫调节,其在炎症反应过程中起主要调节作用。IL-6 不仅可以调节免疫系统本身,并且广泛作用于心血管、内分泌和神经等系统。有研究显示,IL-6 在心肌细胞中的分泌直接由缺血及再灌注

诱导^[13]。另有研究证实,IL-6 基因表达的多样性可以对机体炎症反应、免疫反应程度产生影响,是冠状动脉斑块炎症反应的主要局部和循环标记物,是公认的冠心病发病的重要候选基因之一^[14]。本实验研究结果显示,模型组大鼠血清中 TNF- α 、IL-6 含量明显升高,与假手术组比较差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,各观察组的 TNF- α 、IL-6 含量都有改变,差异有统计学意义($P < 0.01$),其中 1:2:1 组 TNF- α 、IL-6 下降最明显;在各配伍比例组中,其余各组与 1:2:1 组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$);综上所述,说明 1:2:1 组对 TNF- α 、IL-6 的作用效果最好,能够显著降低 MIRI 大鼠血清中 TNF- α 、IL-6 含量,而且优于预处理组及其他稳心丹配伍比例组,减轻心肌缺血再灌注的炎症反应,从而起到保护心肌的作用。

本实验研究证明,稳心丹 1:2:1 组能明显抑制心肌缺血再灌注损伤模型大鼠 CK-MB、cTnI 的释放,降低炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6 的含量,从而减轻炎症反应,对心肌缺血再灌注损伤起到保护作用。其具体作用机制有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] JENNINGS RB, SOMMERS HM, SMYTH GA, et al. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog [J]. Arch Pathol, 1960, 70: 68-78.
- [2] 魏茜. 尖叶假龙胆化学成分及含量测定研究[D]. 北京: 北京中医

药大学, 2014.

- [3] 章春艳, 曹政, 凡孝琴, 等. 丹参多酚酸盐保护家兔心肌缺血再灌注损伤的机制研究[J]. 中国中医急症, 2016, 25(5): 804-807.
- [4] 韩乃巍. 丹参对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用的实验研究[J]. 中国基层医药, 2014, (24): 3732-3733, 3734.
- [5] 王秀珍. 稳心丹对 MIRI 大鼠心肌保护作用及机制研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2016.
- [6] 李冀, 丁莹. 尖叶假龙胆对 MIRI 大鼠血清中 TXB2 和 6-酮-PGF1 α 的影响[J]. 中医药信息, 2016, 33(2): 9-11.
- [7] 吕丽娟, 王艳芳, 闫墩, 等. 尖叶假龙胆中当药醇苷的制备及其抗乌头碱致小鼠心律失常作用[J]. 中国新药与临床杂志, 2015, 34(8): 630-635.
- [8] 武海军, 李旻辉, 张海涛, 等. Bellidifolin 对麻醉大鼠心电图的影响[J]. 包头医学院学报, 2011, 27(1): 22.
- [9] 翟亚东. 尖叶假龙胆化学成分及抗心肌缺血作用研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2015.
- [10] 韦钰晴, 朱继金. 内毒素损伤心肌的机制[J]. 中国医学文摘: 内科学, 2006, 27(1): 527.
- [11] 吴付轩, 丁文惠, 李大元, 等. 炎症递质在兔心肌缺血再灌注损伤中的作用[J]. 临床心血管病杂志, 2000, 16(2): 85-87.
- [12] 吕志敢, 郭政. 肿瘤坏死因子的研究进展[J]. 山西医科大学学报, 2006, 37(3): 311-314.
- [13] 乐海浪, 罗国强. 创伤后早期炎症因子 TNF- α 、IL-1、IL-6 的研究进展[J]. 现代诊断与治疗, 2014, 25(4): 763-765.
- [14] Shouda T, Hiraoka K, Komiya S, et al. Suppression of IL-6 production and proliferation by blocking STAT3 activation in malignant soft tissue tumor cells[J]. Cancer Lett, 2006, 231(2): 176-184.

(2017-03-17 收稿 责任编辑: 王明)

《世界中医药》杂志中药研究栏目征稿通知

《世界中医药》杂志为世界中医药学会联合会的会刊, 目前该会已经成立了 26 个中药相关专业(如中药、中药新剂型、中药药剂、中药分析、中药化学、中药药理、药材资源、中药鉴定、方剂、中药饮片等)委员会, 这些专业委员会在各自的学科建设、学术交流、人才培养等方面都发挥着重要的作用, 本杂志与各专业委员会联手, 产、学、研、用、政结合, 优化学科建设, 解决中药领域面临的实际困难, 实现“学术、创新、转化、共赢”为目的, 共同推动学科的发展, 在中药领域的推广应用等方面做出了突出贡献。本杂志近几年稳步发展, 办刊质量逐步提升, 影响不断扩大, 据中国科学技术信息研究所 2015 年期刊评价最新数据显示, 本杂志核心影响因子为 0.773, 在中医学类期刊中排名第 3, 在中药学类期刊中排名第 4, 连续 7 年被评为中国科技核心期刊。杂志设置“中药研究”栏目, 陆续宣传展示国内外中药学研究进展和最新动态, 是中药研究高学术水平的交流平台。如果您致力于中药领域的研究, 请将您在新药研发、中药资源与鉴定、中药分析、药剂学、中药化学、药理、不良反应等方向的新成果、新技

术、新方法与新思路撰写成有创新性的文章或综述, 在本杂志出版发表。内容以 7 000 字符以上为宜, 稿件一经录用, 优先安排发表。《世界中医药》杂志(CN 11-5529/R; ISSN 1673-7202)由国家中医药管理局主管, 世界中医药学会联合会主办, 创刊于 2006 年, 是中国第一本面向国内外公开发行的中医药类综合性学术期刊, 月刊。2009 年被国家科技部收录为“中国科技核心期刊”。杂志全文收录在《中国期刊全文数据库》《中文科技期刊数据库》《中国核心期刊数据库》《中文科技期刊综合评价数据库》《美国乌利希期刊指南收录期刊数据库》《美国化学文摘 CA 收录期刊数据库》等一系列检索系统。

欢迎您踊跃投稿!

投稿请通过《世界中医药》杂志社官方网站: www.sjzyyzz.com, “在线投稿”入口注册投稿, 并注明“中药征稿”字样。

联系电话: 0086-10-58650023, 58239055; 传真: 0086-10-58650236; E-mail: sjzyyzz@vip.126.com