

[药 理]

养心氏片对心肌梗死后抑郁大鼠的影响

姜 兵¹, 吴若铭², 张 聪³, 钟孝正³, 洪 毅³, 沈晓燕^{1*}
(1. 复旦大学药学院 药理系, 上海 201203; 2. 上海医药集团股份有限公司中央研究院, 上海 201203;
3. 上海医药集团青岛国风药业股份有限公司, 山东 青岛 266510)

摘要: **目的** 研究养心氏片对心肌梗死后大鼠抑郁的预防作用, 并探讨潜在机制。 **方法** 将 50 只大鼠随机分为假手术组、模型组、氟西汀组 (10 mg/kg)、养心氏片低剂量和高剂量组 (500、1 000 mg/kg), 每组 10 只, 灌胃给药 4 周后。模型组、氟西汀组、养心氏组的大鼠进行左冠状动脉前降支结扎制造心肌梗死。造模成功后进行强迫游泳诱发抑郁症。心脏彩超评价心脏功能。行为学实验评估抑郁症状。检测炎症因子和单胺类神经递质探索养心氏片的潜在机制。 **结果** 与模型组比较, 养心氏组的心功能 (LVIDd、LVIDs、LVEDV 和 LVESV 增大, FS 和 EF 减小) 改善 ($P<0.05$), 抑郁症状 (糖水偏爱、不动时间和运动得分) 缓解 ($P<0.05$, $P<0.01$), 炎症因子 (TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平以及 IDO1、KMO、KYNU 表达) 降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 单胺神经递质 (5-HT、ACTH、CORT、NE) 上升 ($P<0.05$, $P<0.01$)。 **结论** 养心氏片能有效改善心肌梗死后抑郁症大鼠的心功能和抑郁症状。其机制可能与抵抗炎症和增加单胺神经递质利用有关。

关键词: 养心氏片; 心肌梗死; 抑郁; 炎症因子; 吲哚胺 2, 3-双加氧酶; 单胺神经递质

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)11-2868-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.11.009

Effects of Yangxinshi Tablets on rats with myocardial infarction complicated with depression

JIANG Bing¹, WU Ruo-ming², ZHANG Cong³, ZHONG Xiao-zheng³, HONG Yi³, SHEN Xiao-yan^{1*}
(1. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China; 2. Central Research Institute, Shanghai Pharmaceuticals Holding Co., Ltd., Shanghai 201203, China; 3. SPH Qingdao Groupful Pharmaceutical Co., Ltd., Qingdao 266510, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the preventive effect of Yangxinshi Tablets on rats with myocardial infarction complicated with depression and to explore the underlying mechanism. **METHODS** Fifty rats were randomly divided into sham-operated group, control group, fluoxetine group (10 mg/kg), low dose and high dose Yangxinshi Tablets groups (500, 1 000 mg/kg). Ten rats in each group were intragastrically administered for 4 weeks. Rats in the model group, fluoxetine group, Yangxinshi Tablets groups developed myocardial infarction after left anterior descending coronary artery ligation, and thereafter forced depression by swimming. The rats were subjected to cardiac function evaluation by cardiac color Doppler ultrasound, depressive symptoms assessment by behavioral experiments, and detection of inflammatory factors and monoamine neurotransmitters to reveal the underlying mechanisms of Yangxinshi Tablets. **RESULTS** Compared with the model group, Yangxinshi Tablets groups had improved heart function (as revealed by the increased LVIDd, LVIDs, LVEDV and LVESV; decreased FS and EF) ($P<0.05$), relieved depressive symptoms (in terms of sucrose preference, immobility time and exercise score) ($P<0.05$, $P<0.01$), lower inflammatory factors levels (in terms of the levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6 and the expression of IDO1, KMO, KYNU) ($P<0.05$, $P<0.01$), and significantly increased monoamine

收稿日期: 2019-12-31
基金项目: 上海市科学技术委员会基金项目 (15DZ1900102)
作者简介: 姜 兵 (1988—), 男, 硕士生, 研究方向为中药药理。Tel: (021) 51980181, E-mail: zyxjiangb@yeah.net
* 通信作者: 沈晓燕 (1968—), 女, 博士, 教授, 研究方向为药物药理与毒理。Tel: (021) 51980182, E-mail: shxiaoy@fudan.edu.cn

neurotransmitters (in terms of 5-HT, ACTH, CORT, NE) ($P<0.05$, $P<0.01$). **CONCLUSION** Yangxinshi Tablets can effectively improve the heart function and depressive symptoms in myocardial infarction rats complicated with depression. The mechanism may be related to the improved resistance to inflammation and increased utilization of monoamine neurotransmitters.

KEY WORDS: Yangxinshi Tablets; myocardial infarction; depression; inflammatory factors; indoleamine 2, 3-dioxygenase; monoamine neurotransmitter

抑郁症是一种异质性疾病，导致这种疾病的确切神经机制尚未被发现。抑郁症是一个日益严重的全球性问题，并一直与冠心病（coronary heart disease, CHD）的风险增加有关^[1-2]。抑郁症与增加 CHD 风险的确切机制是复杂的、多因素的，目前还不完全清楚。CHD 患者的抑郁症发病率是普通人群的 2~3 倍，约为 15%~30%，女性约为男性的 2 倍，急性心肌梗死（myocardial infarction, MI）后的年轻女性尤其受影响^[3-4]。抑郁症是冠心病的一个危险因素，其特征是从轻微的抑郁症状到临床诊断的严重抑郁症，抑郁症和冠心病发病率的流行病学研究显示较高水平的抑郁症状与较高的风险相关^[2]。

养心氏片由 13 种中草药（黄芪、党参、丹参、葛根、淫羊藿、山楂、地黄、当归、黄连、醋延胡索、灵芝、人参、炙甘草）组成，功效为益气活血、化瘀止痛。适于气虚血瘀所致的胸痹，症见心悸气短、胸闷、心前区刺痛，广泛用于临床治疗冠心病。临床研究表明，养心氏片可以促进经皮冠状动脉介入治疗后的康复，并降低心血管事件的发生率^[5]。根据临床观察，养心氏片能够改善冠心病合并抑郁状态^[6]。多项 Meta 分析结果表明，养心氏片在治疗冠心病心绞痛、心律失常以及慢性心力衰竭上具有较高安全性^[7]，并且能提高常规西药治疗的疗效^[8]。本研究对养心氏片治疗心肌梗死后合并抑郁症大鼠的药效进行观察，并探讨相关机制。

1 材料

1.1 药物与试剂 养心氏片（0.6 g/片，批号 150505）购自上海医药集团青岛国风药业股份有限公司；盐酸氟西汀片购自常州四药制药有限公司；0.9%氯化钠注射液购自江西科伦药业有限公司；水合氯醛、羧甲基纤维素钠购自国药集团；TRIzol、RT Reagents、SYBR mix 购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司；DEPC 购自碧云天生物技术有限公司；TNF- α 试剂盒、IL-1 β 试剂盒、IL-6 试剂盒购自上海达科为生物技术有限公司；5-HT 试

剂盒、CORT 试剂盒、ACTH 试剂盒、NE 试剂盒购自南京建成科技有限公司。

1.2 仪器 基因扩增仪购自美国 BIO-RAD 公司；超微量分光光度计购自中国上海宝予德有限公司；酶标仪购自瑞士 Tecan Systems Inc 公司；心电监护仪 SMUP-PC 购自中国上海嘉龙教仪厂；小动物呼吸机购自中国北京中西化玻仪器有限公司；小动物超声机 Vevo 2100 Imaging System 购自加拿大 Visual Sonics 公司。

1.3 动物 50 只 SD 雄性大鼠（180~220 g）购自上海斯莱克实验动物有限公司，动物生产许可证号 SCXK（沪）2012-0002。大鼠饲养于复旦大学 SPF 级别动物房中，可以自由食用无菌食物和水。所有动物操作程序均符合中国动物福利法和复旦大学实验动物伦理委员会的有关规定。动物伦理批准号 2018-10-YL-SXY-01。

2 方法

2.1 分组 50 只大鼠随机分为假手术组、模型组（等体积 0.5% CMC-Na）、氟西汀组（10 mg/kg）、养心氏片低剂量和高剂量组（500、1 000 mg/kg），每组 10 只，灌胃给药 4 周，1 次/d。将大鼠饲养于 SPF 级动物房中，正常提供食物和水，保证 12 h 光照周期。

2.2 造模及给药 使用 10% 水合氯醛溶液（0.3 mL/100 g）腹腔注射麻醉。将大鼠置于手术台上固定，连接心电图监护系统，并记录术前心电图，大鼠胸前左侧至腋窝处手术备皮，仰卧位固定于手术台上，75%酒精消毒手术视野。经气管切开插管，以专用小动物呼吸机行正压人工呼吸，打开胸腔暴露心脏，轻轻将心脏包膜分离用医用棉棒挑起左心耳，暴露左心耳与肺动脉圆锥之间的结扎区域。用 6~0 的医用缝合针线在离左心耳与肺动脉圆锥交接处 2 mm 左右永久性结扎左冠状动脉前降支。观察心电图变化，显示 ST 段抬高 ≥ 0.15 mV，并且心脏出现因缺血而致的颜色改变，结扎成功，用医用棉球和棉棒清除胸腔内积血。观察呼吸情况良好，对好肋间肌肉和肋骨，缝合胸腔，假手术组

仅穿过左冠状动脉前降支而不结扎，其余操作与梗死组动物相同，手术后将大鼠单笼饲养。造模成功后进行强迫游泳诱发抑郁症^[9]。大鼠心外膜颜色的改变证实了心脏缺血。完成手术造模的第 2 天，评估心梗以确认心肌梗死造模成功。通过行为学实验来评价大鼠抑郁程度，包括糖水消耗、游泳不动时间以及旷场运动评估抑郁症状造模成功。大鼠在胸部和皮肤闭合及拔管后返回笼中恢复 7 d 后，进行强迫游泳诱发抑郁症，游泳结束后的第 2 天进行行为学评价。大鼠在确认心梗模型造模成功后，开始给药，大鼠心肌梗死后抑郁模型的造模周期为 10 d。在进行造模前，假手术组、模型组、氟西汀组、养心氏片低剂量和高剂量组，每组分别为 12 只大鼠，心梗造模过程中，假手术组、模型组分和氟西汀组别各死亡 1 只大鼠，养心氏高剂量组死亡 2 只大鼠；在抑郁造模过程中，模型组和养心氏低剂量组各死亡 1 只大鼠。最终每组选择 10 只大鼠进行后续的实验以及数据分析。

2.3 心脏彩超检测 造模成功后，每组中的 10 只大鼠进行超声心动图检测，利用小动物超声机记录左室收缩末期容积（LVESV）、左室舒张末期容积（LVEDV）、左室舒张期内径（LVIDd）、左室收缩期内径（LVIDs）等，并计算左室射血分数（EF%）和左室短轴缩短率（FS%）。

2.4 蔗糖水偏好测试 实验前在安静的房间内，训练动物适应含糖饮水，每笼同时放置 2 个水瓶，第一个 24 h 内，2 瓶均盛 1% 蔗糖水，随后的 24 h，一个瓶盛 1% 蔗糖水，另一个瓶盛纯水。禁食禁水 24 h 后，每只大鼠给予事先定量好的 2 瓶水：一瓶 1% 蔗糖水，一瓶纯水，1 h 后，取 2 瓶水称量。计算大鼠的总液体消耗、糖水消耗、纯水消耗。糖水偏爱 = （糖水消耗/总液体消耗）×100%。

2.5 强迫游泳实验 将大鼠单个放入水深为 25 cm 的塑料圆筒中（高 45 cm，直径 30 cm），水温 25 ℃，时间共 6 min，前 2 min 作为大鼠适应阶段，后 4 min 纳入不动状态的时间统计。

2.6 旷场实验 根据大鼠穿越底面方格块数作为水平活动得分，以直立次数作为垂直活动得分，水平和垂直活动得分总和为总评分。敞箱装置为长宽各 100 cm（底面被等分为 25 个等边方格）、高 50 cm 各面漆黑的箱子。将大鼠放入中心格内，观察大鼠在 3 min 内穿越格数（四爪均进入的方格才记数，为水平运动得分）、后肢直立次数（两前爪腾空或攀附墙壁，为垂直运动得分）。

2.7 血清中生物标志物的测定 按照相应的 ELISA 试剂盒说明书检测大鼠血清中 TNF-α（肿瘤坏死因子-α）、IL-1β（白细胞介素-1β）、IL-6（白细胞介素-6）、5-HT（5-羟色胺）、CORT（血清皮质酮）、ACTH（释放促肾上腺皮质激素）、NE（去甲肾上腺素）水平。

2.8 RT-PCR 检测 称取海马适量置于 1.5 mL 离心管中，加入 TRIzol 1 mL 室温静置 5 min 后，加入 200 μL 氯仿，剧烈震荡 15 s 后静置 2 min，4 ℃、12 000 g 离心 15 min，吸取上清置于新的 1.5 mL 离心管中，加入异丙醇 500 μL，室温放置 10 min，4 ℃、12 000 g 离心 10 min，加入 1 mL 75% 乙醇，4 ℃、7 500 g 离心 5 min，弃上清，晾干后加入 20 μL DEPC 水溶解。将提取的 RNA 逆转录为 cDNA，加入正反向引物进行扩增。引物由上海生工工程有限公司合成，序列见表 1。

表 1 引物序列
Tab. 1 Primer sequences

基因名称	序列（5'-3'）
TNF-α	正向 GCATGATCCGAGATGTGGAAGCTGG
	反向 CGCCACGAGCAGGAATGAGAAG
IL-6	正向 AGGAGTGCGTAAGGACCAAGACC
	反向 TGCCGAGTAGACCTCATAGTGACC
IDO1	正向 GCACTGGAGAAGGCACTCTGTAG
	反向 GATCCACGAAGTCACGCATCCTC
KMO	正向 CGCATGTCAACTCTAGTGGTTCC
	反向 GCAGCACTGCCTCGTGTATC
KYNU	正向 AATTGCTGTGCTCCTGTTCACTGG
	反向 TGCATGTCCGGCTTGTAATGG
β-actin	正向 CTTCACGCCTTCCTTCCTGG
	反向 AATGCCTGGGTACATCGTGG

2.9 统计学分析 实验数据以（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，采用 SPSS17.0 软件进行统计处理，多组间比较采用 one way ANOVA 分析，两组比较用 student's *t* 检验。后进行 Bonferroni 事后检验，进行两次或多次比较。以 *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

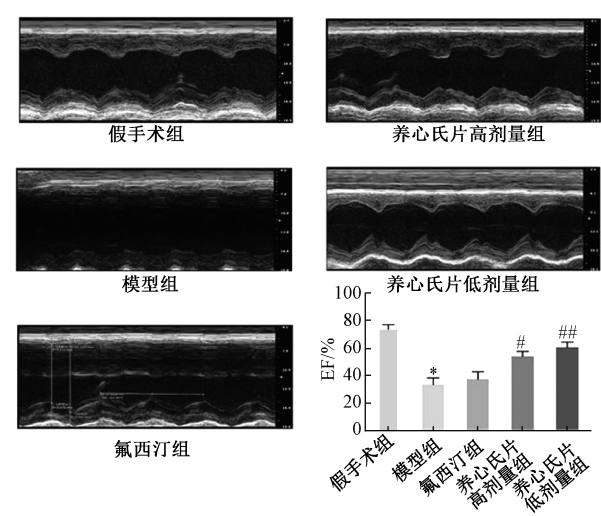
3.1 养心氏片改善心肌梗死后抑郁大鼠的心脏功能 表 2、图 1 显示，与假手术组比较，模型组中的大鼠心功能严重受损，主要表现为 LVIDd、LVIDs 和 LVEDV、LVESV 增大（*P* < 0.01），FS 和 EF 减小（*P* < 0.01）；与模型组比较，养心氏片能够改善心脏功能（*P* < 0.05，*P* < 0.01）。

3.2 养心氏片缓解心肌梗死后大鼠的抑郁症 表 3~5 显示，与假手术组比较，模型组中的大鼠不论是对于糖水的偏好（*P* < 0.01），强迫游泳中运动

表 2 超声心动图的血流动力学参数比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	LVIDd/mm	LVIDs/mm	LVEDV/ μ L	LVESV/ μ L	FS/%
假手术组	6.803 $\pm$ 0.623	4.175 $\pm$ 0.486	286.500 $\pm$ 33.531	90.051 $\pm$ 20.944	44.251 $\pm$ 4.992
模型组	10.433 $\pm$ 0.814 **	8.525 $\pm$ 0.750 **	562.003 $\pm$ 23.108 **	452.101 $\pm$ 32.218 **	24.757 $\pm$ 5.679 **
氟西汀组	10.167 $\pm$ 0.404	8.650 $\pm$ 0.881	570.750 $\pm$ 25.838	426.500 $\pm$ 27.095	23.753 $\pm$ 6.076
养心氏片高剂量组	8.633 $\pm$ 0.603 #	7.150 $\pm$ 0.580 #	487.501 $\pm$ 34.857 #	401.250 $\pm$ 25.277 #	32.753 $\pm$ 4.856 #
养心氏片低剂量组	8.373 $\pm$ 0.332 ##	6.375 $\pm$ 0.741 ##	431.003 $\pm$ 32.404 ##	367.751 $\pm$ 26.107 #	36.981 $\pm$ 5.164 ##

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。



注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

图 1 各组大鼠心脏彩超图

Fig. 1 Cardiac color Doppler ultrasonography of rats in each group

时间 ($P<0.01$), 旷场实验中运动得分 ($P<0.05$) 都下降。与模型组比较, 氟西汀组大鼠的以上指标均有改善 ($P<0.05$, $P<0.01$), 显示建模成功。与模型组比较, 养心氏片组中大鼠的糖水偏好 ($P<0.05$), 旷场实验中运动得分 ($P<0.05$) 上升; 强迫游泳中的不动时间下降 ($P<0.01$), 显示养心氏片能够有效缓解大鼠心肌梗死后的抑郁症状。

表 3 各组大鼠糖水消耗比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	糖水偏爱/%
假手术组	—	75.75 $\pm$ 10.04
模型组	—	52.20 $\pm$ 9.20 **
氟西汀组	10	68.40 $\pm$ 8.71 #
养心氏片高剂量组	1 000	69.60 $\pm$ 7.02 #
养心氏片低剂量组	500	63.20 $\pm$ 7.15 #

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

表 4 各组大鼠游泳不动时间比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Tab. 4 Comparison of immobility time of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	不动时间/s
假手术组	—	69.5 $\pm$ 14.48
模型组	—	182.75 $\pm$ 20.21 **
氟西汀组	10	119.75 $\pm$ 22.82 ##
养心氏片高剂量组	1 000	113.5 $\pm$ 13.82 ##
养心氏片低剂量组	500	129.25 $\pm$ 15.63 ##

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

表 5 各组大鼠旷场实验运动得分比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Tab. 5 Comparison of open-field exercise scores of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

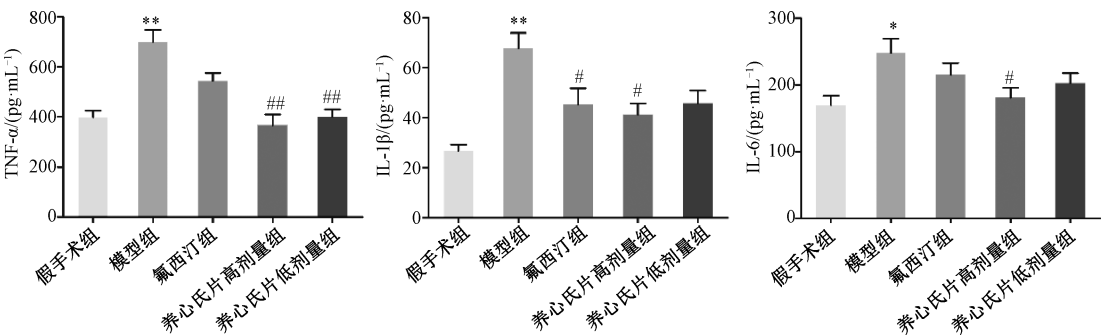
组别	剂量/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	水平运动得分	垂直运动得分
假手术组	—	69.75 $\pm$ 9.57	18.75 $\pm$ 4.35
模型组	—	37.25 $\pm$ 6.24 **	7.53 $\pm$ 3.31 *
氟西汀组	10	59.01 $\pm$ 9.93 #	13.25 $\pm$ 2.45 ##
养心氏片高剂量组	1 000	58.67 $\pm$ 9.29 ##	14.51 $\pm$ 4.43 #
养心氏片低剂量组	500	56.19 $\pm$ 10.30 #	9.13 $\pm$ 3.16

注:与假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.05$,### $P<0.01$ 。

3.3 养心氏片降低心肌梗死后抑郁大鼠的炎症水平 图 2 显示,与假手术组比较,模型组大鼠血清中的炎症因子 $\text{TNF-}\alpha$ ($P<0.01$)、 $\text{IL-1}\beta$ ($P<0.01$)、 IL-6 ($P<0.05$) 水平上升。与模型组比较,养心氏片高剂量组大鼠血清的 $\text{TNF-}\alpha$ ($P<0.01$)、 $\text{IL-1}\beta$ ($P<0.05$)、 IL-6 ($P<0.05$) 下降,表明养心氏片能够有效降低心肌梗死后抑郁大鼠的炎症水平。

3.4 养心氏片上调心肌梗死后抑郁大鼠的单胺神经递质水平 图 3 显示,与假手术组比较,模型组中大鼠血清中 5-HT ($P<0.01$)、ACTH ($P<0.01$)、CORT ($P<0.01$)、NE ($P<0.01$) 下降,与模型组比较,氟西汀组 ($P<0.05$) 与养心氏片高剂量组 ($P<0.05$, $P<0.01$) 大鼠的上述血清标志物升高。

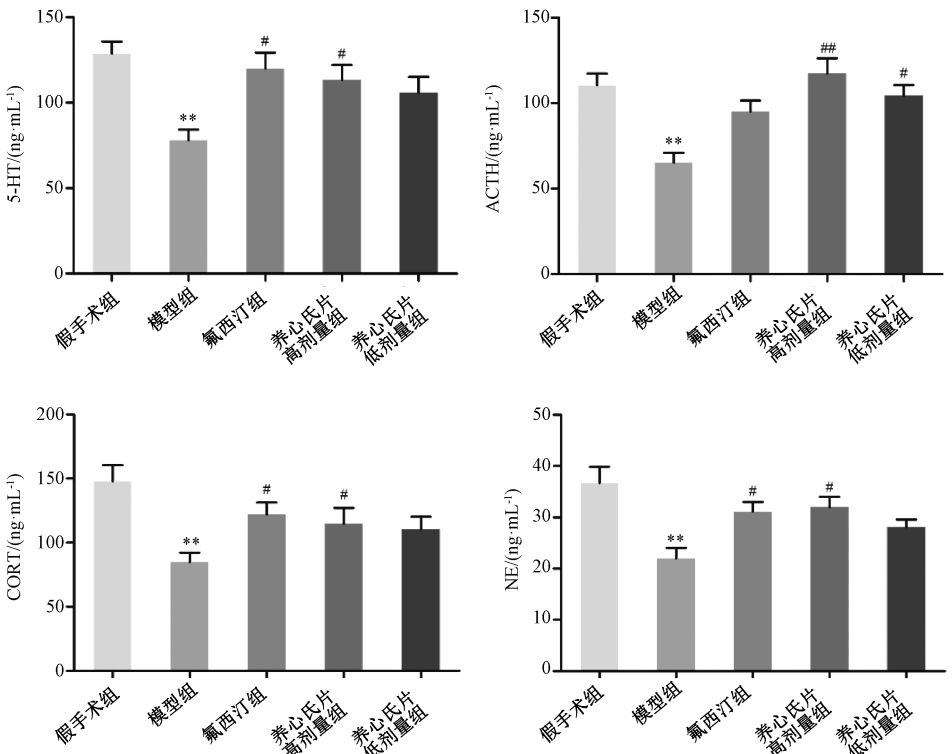
3.5 养心氏片降低模型大鼠海马区的炎症水平及抑制犬尿酸通路限速酶的表达 图 4~5 显示,与假手术组比较,模型组中大鼠 $\text{TNF-}\alpha$ ($P<0.01$)



注：与假手术组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 2 养心氏片对大鼠血清炎症因子水平的影响

Fig. 2 Effects of Yangxinshi Tablets on serum inflammatory factors levels in rats



注：与假手术组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 3 养心氏片对大鼠血清单胺神经递质水平的影响

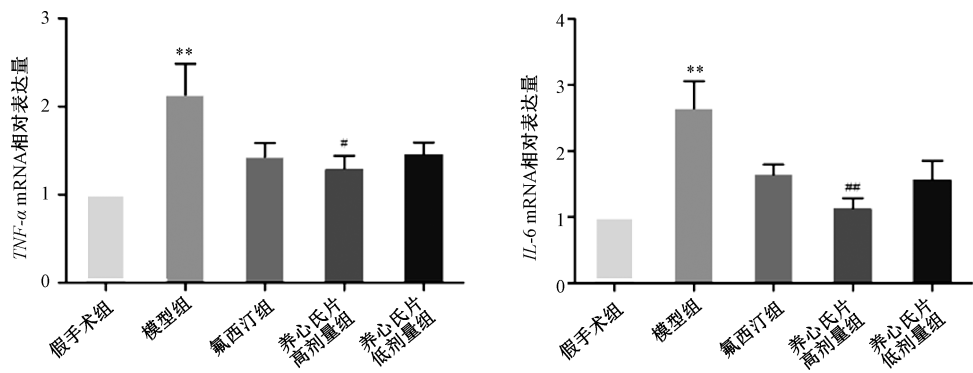
Fig. 3 Effects of Yangxinshi Tablets on serum monoamine neurotransmitters levels in rats

及 $IL-6$ ($P<0.01$) mRNA 表达上升。与模型组比较，养心氏片高剂量组大鼠 $TNF-\alpha$ ($P<0.05$) 及 $IL-6$ ($P<0.01$) mRNA 表达下降。对于犬尿酸通路中限速酶，养心氏片对 $IDO1$ 、 KMO 、 $KYNU$ mRNA 表达与 $TNF-\alpha$ 、 $IL-6$ 呈现出相同的趋势 ($P<0.05$)。表明养心氏片能够有效降低心肌梗死后抑郁大鼠海马区的炎症水平并抑制犬尿酸通路中限速酶的表达。

4 讨论

在冠心病患者中，抑郁与功能损害的严重程

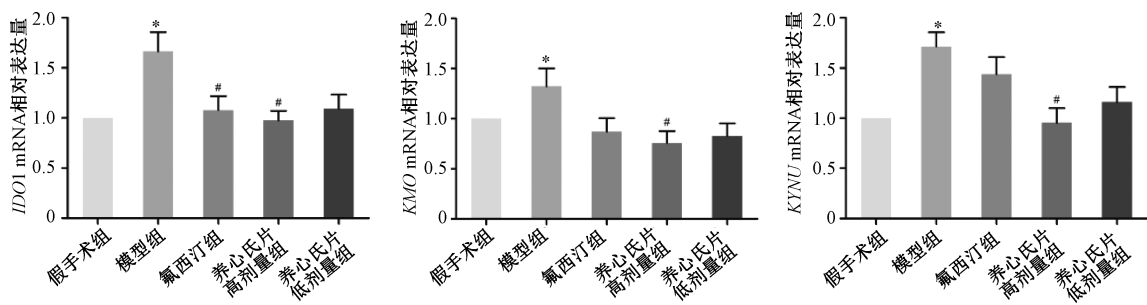
度、治疗的依从性和心脏康复的参与度降低有关。多项荟萃分析为临床抑郁症（状）与冠心病之间的关联提供了证据^[10-11]。尽管研究结果存在一些异质性，但大部分证据支持这样一种观点，即急性冠脉综合征（acute coronary syndromes, ACS）后抑郁是全因和心脏死亡率的危险因素，以及包括死亡率或非致命性心脏事件在内的复合终点^[3]。中国的一项前瞻性队列研究，对 633 例非阻塞性冠状动脉（MINOCA）患者进行 3 年随访，显示抑郁与全因死亡率和心血管事件的显著相关性^[12]。在冠心



注：与假手术组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 4 养心氏片对大鼠海马区炎症因子的影响

Fig. 4 Effects of Yangxinshi Tablets on inflammatory factor in hippocampus of rats



注：与假手术组比较，* $P<0.05$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ 。

图 5 养心氏片对大鼠海马区犬尿酸通路限速酶表达的影响

Fig. 5 Effects of Yangxinshi Tablets on the expression of rate-limiting enzyme in kynurenine pathway in rat hippocampus

病患者中，抑郁症状是生活质量（QoL）的最强预测因子^[13]。抑郁症不仅独立于 CHD 的严重程度与日常生活心绞痛相关，而且相较于冠状动脉疾病或其他传统风险指标更能预测心绞痛的严重程度^[14]。本研究的实验结果显示，养心氏片能够有效地改善心肌梗死后抑郁大鼠的心脏功能，同时明显缓解抑郁症状。

抑郁症和较差的冠心病预后之间的潜在机制是复杂的，多因素的。抗抑郁药作用于大脑中的 5-羟色胺，多巴胺和去甲肾上腺素系统以及其他神经递质回路，包括选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂，三环抗抑郁药，5-羟色胺去甲肾上腺素再摄取抑制剂以及其他作用机制的抗抑郁药。但是，这些药物同样引起心血管不良反应，如 QT 间期的延长、低血压、心律失常和出血风险增加等^[15]。

一个与抑郁症相关的冠心病风险增加的假设机制是慢性炎症，这是动脉粥样硬化和冠心病发展的已知风险因素^[16]。作为心血管疾病（cardiovascular diseases, CVD）结果的预测因子，IDO1 的过度表达伴随着色氨酸（tryptophan, TRP）分解代谢的增加被证明可由慢性系统性低度炎症

（chronic systemic low-grade inflammation, CSLGI）引起^[17]。作为控制 Trp 分解代谢速率的限速酶，IDO1 可被干扰素和白细胞介素等促炎细胞因子激活^[18]。抑郁症与持续的炎症状态和增加的炎症因子浓度有关，如 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6，对心脏和循环有已知的不良影响^[19]。在临床上，炎症被认为是抑郁患者的潜在病因和治疗目标^[19]。本实验证实养心氏片能够有效地改善心肌梗死后抑郁大鼠的心功能和抑郁症状，同时显著降低大鼠血清中炎症因子（TNF- α 、IL-1 β 、IL-6）和海马区的炎症（TNF- α 、IL-6）水平。

由于犬尿氨酸（kynurenine, KYN）途径的代谢分流导致可用于血清素（5-HT）合成的 TRP 的减少被认为是抑郁症可能的病理生理机制^[20]。研究证实抑郁症中存在促炎状态，IDO1 参与 KYN 介导的代谢分流，加速 TRP 的消耗并且促进 TRP 代谢为 KYN^[21]。一项广泛的队列研究显示 IDO1 活性与动脉粥样硬化初始阶段和颈动脉中膜厚度增加呈正相关^[22]。人体内的 KYN 及其代谢产物 3-羟基犬尿氨酸（3-hydroxykynurenine, 3HK）、喹啉酸（quinolinic acid, QUIN）和犬尿喹啉酸（kynurenic

acid, KYNA) 的水平与抑郁症密切相关^[23]。这些化合物具有导致抑郁的作用, 包括调节神经细胞死亡, 谷氨酸转移和神经炎症^[24]。在促炎条件下, KYN 与神经炎症有关, 并被认为有助于抑郁症的发病机制^[24]。与健康对照受试者比较, 抑郁症患者的血浆 KYNA 和 KYNA/KYN 比率显著降低, 且接受 6 周选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂 (SSRI) 治疗可显著增加首发抑郁症的初治患者的 KYNA/KYN 比率^[25]。临床实验结果显示, SSRI 抗抑郁药艾司西酞普 (escitalopram) 可通过抑制具有神经毒性的犬尿氨酸代谢物的合成而发挥其抗抑郁作用, 并且通过减少炎症反应来发挥其抗抑郁作用^[26]。本实验发现, 养心氏片能够有效地改善心肌梗死后抑郁大鼠的心功能和抑郁症状, 并且显著上调单胺神经递质水平。同时, 养心氏片能够有效降低大鼠海马区中炎症水平和抑制犬尿酸途径中限速酶 (IDO1、KMO 和 KYNU) 的表达。

以上证据表明, 炎症增强以及相关的 KYN 代谢失衡可能是 CVD 和抑郁症共有的病理生理机制。因此, 抗炎治疗、抑制 KYN 的代谢途径同时增加单胺神经递质的利用, 为冠心病合并抑郁症患者治疗提供了可能的策略。目前的抗抑郁西药均能够透过血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB), 直接作用于脑部。但是中药成分复杂, 多数活性成分溶解性较差。本实验结果表明, 养心氏片可以通过减轻炎症反应、抑制犬尿氨酸途径、增加单胺神经递质, 同时改善心肌梗死后抑郁大鼠的心功能以及抑郁症状, 以期养心氏片治疗心血管疾病合并抑郁症的临床应用提供实验依据, 也为中药“脑病外治”“心脑同治”提供参考。

参考文献:

[1] Whiteford H A, Degenhardt L, Rehm J, *et al.* Global burden of disease attributable to mental and substance use disorders; findings from the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. *Lancet*, 2013, 382(9904): 1575-1586.

[2] Carney R M, Freedland K E. Depression and coronary heart disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14(3): 145-155.

[3] Lichtman J H, Froelicher E S, Blumenthal J A, *et al.* 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 [J]. *Circulation*, 2014, 129 (12): 1350-1369.

[4] Vaccarino V, Bremner J D. Behavioral, emotional and neurobiological determinants of coronary heart disease risk in

women [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2017, 74 (Pt B): 297-309.

[5] 张 强, 刘 珂, 牛红梅, 等. 养心氏片对冠心病心肌 PCI 术后缺血再灌注损伤的治疗效果 [J]. *云南中医学院学报*, 2018, 41(2): 19-22.

[6] 邵中兴. 养心氏治疗冠心病心绞痛伴抑郁症的疗效观察 [J]. *世界中医药*, 2016, 11(11): 2329-2332.

[7] 许笑雯, 李益萍, 阮小芬, 等. 养心氏片治疗心律失常临床疗效及安全性的 Meta 分析 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2018, 16(12): 1633-1638.

[8] 朱修乐, 李益萍, 王肖龙, 等. 养心氏片治疗冠心病心绞痛患者临床效果及安全性的 Meta 分析 [J]. *中国医药导报*, 2018, 15(28): 126-130; 135.

[9] Porsolt R D, Le P M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments [J]. *Nature*, 1977, 266(5604): 730-732.

[10] Nicholson A, Kuper H, Hemingway H. Depression as an aetiological and prognostic factor in coronary heart disease: a meta-analysis of 6 362 events among 146 538 participants in 54 observational studies [J]. *Eur Heart J*, 2006, 27 (23): 2763-2774.

[11] Gan Y, Gong Y, Tong X, *et al.* Depression and the risk of coronary heart disease: a meta-analysis of prospective cohort studies [J]. *BMC Psychiatry*, 2014, 14: 371.

[12] Gu X H, He C J, Shen L, *et al.* Association between depression and outcomes in Chinese patients with myocardial infarction and nonobstructive coronary arteries [J]. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8(5): e011180.

[13] Lane D, Carroll D, Ring C, *et al.* Effects of depression and anxiety on mortality and quality-of-life 4 months after myocardial infarction [J]. *J Psychosom Res*, 2000, 49(4): 229-238.

[14] Hayek S S, Ko Y A, Awad M, *et al.* Depression and chest pain in patients with coronary artery disease [J]. *Int J Cardiol*, 2017, 230: 420-426.

[15] Qaseem A, Barry M J, Kansagara D. Nonpharmacologic versus pharmacologic treatment of adult patients with major depressive disorder: a clinical practice guideline from the American college of physicians [J]. *Ann Intern Med*, 2016, 164(5): 350-359.

[16] Mason J C, Libby P. Cardiovascular disease in patients with chronic inflammation: mechanisms underlying premature cardiovascular events in rheumatologic conditions [J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(8): 482-489.

[17] Taylor M W, Feng G S. Relationship between interferon-gamma, indoleamine 2, 3-dioxygenase, and tryptophan catabolism [J]. *FASEB J*, 1991, 5(11): 2516-2522.

[18] Hu B, Hissong B D, Carlin J M. Interleukin-1 enhances indoleamine 2, 3-dioxygenase activity by increasing specific mRNA expression in human mononuclear phagocytes [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 1995, 15(7): 617-624.

[19] Miller A H, Raison C L. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target [J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(1): 22-34.

[20]

Lapin I P, Oxenkrug G F. Intensification of the central serotonergic processes as a possible determinant of the thymoleptic effect[J]. *Lancet*, 1969, 1(7586): 132-136.

[21]

Zwilling D, Huang S Y, Sathyaikumar K V, et al. Kynurenine 3-monooxygenase inhibition in blood ameliorates neurodegeneration[J]. *Cell*, 2011, 145(6): 863-874.

[22]

Niinisalo P, Raitala A, Pertovaara M, et al. Indoleamine 2, 3-dioxygenase activity associates with cardiovascular risk factors: the Health 2000 study[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2008, 68(8): 767-770.

[23]

Claes S, Myint A M, Domschke K, et al. The kynurenine pathway in major depression: haplotype analysis of three related functional candidate genes [J]. *Psychiatry Res*, 2011, 188(3): 355-360.

[24]

Schwarcz R, Bruno J P, Muchowski P J, et al. Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2012, 13(7): 465-477.

[25]

Myint A M, Kim Y K, Verkerk R, et al. Kynurenine pathway in major depression: evidence of impaired neuroprotection [J]. *J Affect Disord*, 2007, 98(1-2): 143-151.

[26]

Halaris A, Myint AM, Savant V, et al. Does escitalopram reduce neurotoxicity in major depression? [J]. *J Psychiatr Res*, 2015, 66-67: 118-126.

当归芍药散含药血清对 Aβ₁₋₄₂ 诱导的 SH-SY5Y 细胞周期和凋亡的影响

贺春香，余婧萍，李富周，贺旭，李平，成绍武，宋祯彦*
(湖南中医药大学，中西医结合心脑血管疾病防治湖南省重点实验室，湖南长沙 410208)

摘要：目的 研究当归芍药散含药血清对 Aβ₁₋₄₂ 诱导的人神经母细胞瘤细胞 (SH-SY5Y) 细胞周期和细胞凋亡的调控作用。方法 利用 Aβ₁₋₄₂ (10 μmol/L) 处理 SH-SY5Y 细胞 24 h 构建 AD 细胞模型，给予不同浓度当归芍药散含药血清 (2.5%、5%、10%) 干预 24 h。分别采用 MTT、流式细胞术和免疫荧光分别检测细胞存活率、细胞周期和细胞凋亡；采用 Western blot 检测凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 和细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1) 表达。**结果** 与空白对照组比较，Aβ₁₋₄₂ 处理后 SH-SY5Y 细胞存活率下降，凋亡率增高，细胞周期 S 期细胞数增加，G₂/M 期细胞数量减少 (*P*<0.01)；与模型组比较，给予 5%、10% 当归芍药散含药血清干预后，细胞存活率上升 (*P*<0.01)，凋亡率降低 (*P*<0.01)，且促凋亡蛋白 Bax 表达下降，抑凋亡蛋白 Bcl-2 表达上升 (*P*<0.01)，S 期细胞数量减少，G₂/M 期细胞数量增加，Cyclin D1 蛋白表达降低 (*P*<0.01)。**结论** 当归芍药散可以有效改善 Aβ₁₋₄₂ 诱导的 SH-SY5Y 细胞存活率，抑制 Aβ 诱导的细胞周期再进入和细胞凋亡。

关键词：当归芍药散；阿尔兹海默病；β-淀粉样蛋白；细胞凋亡；细胞周期

中图分类号：R285.5 文献标志码：A 文章编号：1001-1528(2020)11-2875-08
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.11.010

Effects of Danggui Shaoyao Powder medicated serum on the cycle and apoptosis of Aβ₁₋₄₂-induced SH-SY5Y cells

HE Chun-xiang, YU Jing-ping, LI Fu-zhou, HE Xu, LI Ping, CHENG Shao-wu, SONG Zhen-yan*

(Hunan Provincial Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Treatment of Cardio-Cerebral Diseases, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

收稿日期：2020-05-16
基金项目：国家自然科学基金面上项目 (81774129)；湖南省自然科学基金面上项目 (2018JJ2296, 2019JJ50441)；湖南省中医药管理局科研项目 (2018025)；湖南省教育厅科研项目 (19K065, 18B246)
作者简介：贺春香 (1995—)，女，硕士生，从事中西医结合神经退行性疾病防治研究。Tel: (0731) 88458257, E-mail: 1450887043@qq.com
*** 通信作者：**宋祯彦 (1988—)，男，硕士，实验师，从事中西医结合神经退行性疾病防治研究。Tel: (0731) 88458257, E-mail: songzhenyan2013@hnu cm.edu.cn