

大补心汤对阿霉素致大鼠心肌炎症损伤的保护作用

杨秀娟^{1,3,4}, 田一虹^{1,3}, 李 硕^{1,2,4}, 杨志军^{1,3,4*}, 杨晓轶^{1,3}, 海云翔¹, 李应存^{1,2,3*}
(1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省中医药研究中心, 甘肃 兰州 730000; 3. 敦煌医学与转化教育部重点实验室, 甘肃 兰州 730000; 4. 西北中藏药省部共建协同创新中心, 甘肃 兰州 730000)

摘要: **目的** 研究敦煌大补心汤对大鼠心肌炎症损伤的保护作用。**方法** 大鼠随机分为空白组、模型组、大补心汤组 (14.4 g/kg), 采用阿霉素建立心肌损伤模型, 各组给予相应药物干预, 观察大鼠生理状况, 采用全自动生化仪检测血清谷草转氨酶 (AST)、肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性, ELISA 法检测各组大鼠血清 IL-6、TNF- α 、IL-10 水平。**结果** 与模型组比较, 大补心汤组大鼠体质量、心率升高 ($P<0.05$); 血清心肌酶 (AST、CK、LDH) 活性和炎症因子 (IL-6、TNF- α) 水平降低 ($P<0.05$), IL-10 水平升高 ($P<0.05$)。**结论** 敦煌大补心汤通过调控炎症因子水平改善大鼠心肌炎症损伤。

关键词: 敦煌大补心汤; 阿霉素; 心肌损伤; 炎症; 保护作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)01-0268-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.01.051

阿霉素是临床上用于乳腺癌、肺癌等各种实体瘤和血液系统肿瘤治疗的一种高效抗肿瘤药物^[1-2]。由于阿霉素与心肌组织的亲和力明显高于其他组织, 使得心肌组织易受阿霉素的损害, 产生急性心肌损伤, 严重者可引起致命性的心力衰竭^[3-4], 因其广泛的毒副作用限制了其临床应用, 目前尚缺乏理想的防治方法。敦煌大补心汤出自《辅行决五脏用药法要·辨心脏病证并方篇》^[5-6], 由人参、山萸肉、旋覆花、炙甘草等药材组成, 可治气血亏虚、心神失养、化源不足、升降失常所致心系疾病。敦煌医家李应存教授在临床上常应用此方治疗心系疾病, 因此本课题以临床实际案例为切入点, 选取敦煌医学代表方大补心汤, 深入研究其对阿霉素致大鼠心肌损伤的保护作用, 以期为心肌损伤的治疗提供参考依据, 为敦煌医学经方的研究和临床应用奠定基础。

1 材料

1.1 试剂与药物 大补心汤由人参 30 g、山萸肉 25 g、旋覆花 25 g、竹叶 20 g、牡丹皮 15 g、干姜 15 g、炙甘草 30 g 组成, 每方 160 g, 煎煮 2 次后浓缩至 160 mL (即生药量为 1 g/mL)。阿霉素 (美国 Sigma 公司); 谷草转氨酶 (AST)、肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH) (批号

239028、290629、289005, 南京建成生物工程研究所); IL-6、IL-10 试剂盒 (批号 m1064292、m1037371, 上海酶联生物科技有限公司); TNF- α ELISA 试剂盒 (批号 K1052-100, 美国 BioVision 公司)。生理盐水 (石家庄四药有限公司); 水合氯醛 (天津市大茂化学试剂厂)。

1.2 动物 30 只 SPF 级 SD 大鼠, 由中国农业科学院兰州兽医研究所提供, 实验动物生产许可证号 SCXK (甘) 2015-0001。

1.3 仪器 AL104 型电子天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司); ML112 型生物机能实验系统 (测心电图) [埃德仪器国际贸易 (上海) 有限公司]; 3K15 型离心机 (北京五洲东方科技发展有限公司); 生化仪 (日本日立公司); 酶标仪 (美国赛默飞公司)。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 大鼠随机分为空白组、模型组、大补心汤组, 每组 10 只, 大补心汤组大鼠灌胃 14.4 g/kg 大补心汤, 模型组和空白组大鼠灌胃 20 mL/kg 生理盐水, 连续 7 d, 第 8 天模型组和大补心汤组大鼠腹腔注射阿霉素 18 mg/kg 进行造模, 空白组大鼠则腹腔注射 18 mL/kg 生理盐水。第 14 天, 处死大鼠。

收稿日期: 2021-05-30
基金项目: 甘肃省教育厅高等学校科研基金资助项目 (2021B-157); 甘肃省青年科技基金项目 (20JR10RA331); 甘肃省中医药研究中心项目 (zyzx-2020-22); 敦煌医学与转化教育部重点实验室开放基金资助项目 (DHYX18-11); 敦煌医学文献研究及数字化信息提取与整理项目 (DHYX1415-001); 敦煌医学诊疗技术与临床应用建设项目 (DHYX1415-004)
作者简介: 杨秀娟 (1988—), 女, 博士, 副教授, 从事中药及复方临床应用基础研究。Tel: (0931) 5161162, E-mail: yangxiujuan@163.com
* 通信作者: 杨志军 (1971—), 女, 副教授, 从事中药及复方临床应用基础研究。Tel: (0931) 5161162, E-mail: yangzhijun1971@yeah.net
李应存 (1966—), 男, 教授, 从事敦煌医学文献与临床应用研究。Tel: (0931) 5161239, E-mail: 1418831670@qq.com

2.2 心电图检测 末次给药后,大鼠用 10% 水合氯醛进行麻醉,固定于操作台上,分别用电极针插入大鼠肢体皮下(左下肢绿色,右上肢红色,右下肢黑色),连接导联线,记录大鼠心电图,测定大鼠心率、R 波电压、ST 段。

2.3 大鼠血清心肌酶 AST、CK、LDH 活性检测 末次给药后,水合氯醛麻醉大鼠,腹主动脉取血,3 500 r/min 离心 10 min,取上清,采用全自动生化仪检测血清心肌酶 AST、CK、LDH 活性。

2.4 大鼠血清炎症因子水平检测 取部分全血室温放置 30 min,1 000 r/min 离心 20 min,取上清,按试剂盒说明书检测血清 IL-6、TNF- α 、IL-10 水平。

2.5 组织病理学检查 腹主动脉采血后处死大鼠,剥离心脏,称定心脏质量,使用冰生理盐水清洗组织表面及腔内积血后,立即用 4% 多聚甲醛固定,制作病理切片,在显微镜下观察心肌组织变性、肥大程度及充血肿胀程度。

2.6 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理,数据以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 Student-*t* 检验。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

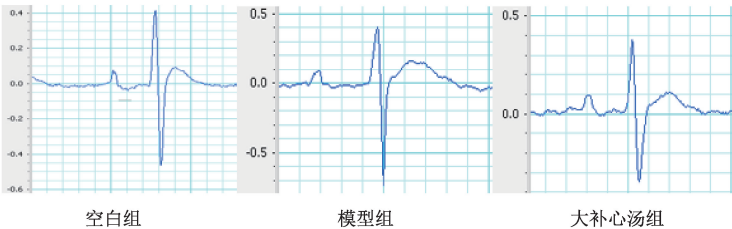


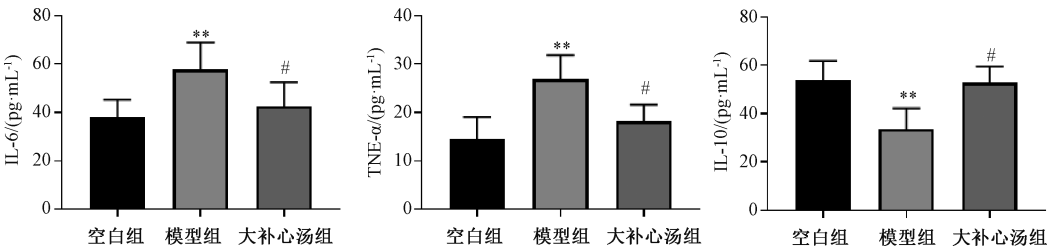
图 1 各组大鼠心电图

3.3 大补心汤对心肌损伤大鼠心肌酶 AST、LDH、CK 活性的影响 与空白组比较,模型组大鼠血清心肌酶 AST、CK、LDH 活性升高(*P*<0.05);与模型组比较,大补心汤组大鼠血清 AST、CK、LDH 活性降低(*P*<0.05,*P*<0.01),见表 2。

表 2 大补心汤对大鼠血清 AST、CK、LDH 活性的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n*=10)

组别	AST/(U·L ⁻¹)	LDH/(U·L ⁻¹)	CK/(U·L ⁻¹)
空白组	190.6±59.9	1 471.1±396.6	1 601.8±281.5
模型组	274.0±87.9*	1 868.2±395.6*	2 204.9±605.5*
大补心汤组	204.1±32.7 [#]	1 509.9±158.0 [#]	1 579.9±281.6 ^{##}

注:与空白组比较,**P*<0.05;与模型组比较,[#]*P*<0.05,^{##}*P*<0.01。



注:与空白组比较,***P*<0.01;与模型组比较,[#]*P*<0.05。

图 2 大补心汤对大鼠血清 IL-6、TNF- α 、IL-10 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n*=10)

3 结果

3.1 大补心汤对心肌损伤大鼠一般状态的影响 与空白组比较,模型组大鼠毛发干枯、无光泽,掉毛,饮食减少,大便稀溏,体质量下降,行动迟缓,部分蜷卧,心脏指数增加;与模型组比较,大补心汤组大鼠的症状均有所改善,体质量增加,心脏指数降低。

3.2 大补心汤对心肌损伤大鼠心电图变化的影响 与空白组比较,模型组大鼠心率升高(*P*<0.05),R 波电压下降,ST 段抬高(*P*<0.05),表明大鼠出现心肌损伤;与模型组比较,大补心汤组大鼠 R 波电压升高,心率降低,ST 段抬高有减轻,但差异均无统计学意义(*P*>0.05),见表 1、图 1。

表 1 大补心汤对大鼠心电图变化的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n*=10)

组别	心率/BPM	R 波/mV	ST 段/mV
空白组	310.89±127.15	0.42±0.05	0.09±0.04
模型组	414.14±74.36*	0.39±0.07	0.17±0.10*
大补心汤组	381.11±51.02	0.40±0.07	0.11±0.06

注:与空白组比较,**P*<0.05。

3.4 大补心汤对心肌损伤大鼠血清 IL-6、TNF- α 、IL-10 水平的影响 与空白组比较,模型组大鼠血清 IL-6、TNF- α 水平升高(*P*<0.01),IL-10 水平降低(*P*<0.01);与模型组比较,大补心汤组大鼠血清 IL-6、TNF- α 水平降低(*P*<0.05),IL-10 水平升高(*P*<0.05),见图 2。

3.5 大补心汤对心肌损伤大鼠病理学变化的影响 空白组大鼠心肌结构完好,心肌纤维排列规整;与空白组比较,模型组大鼠心肌细胞肥厚、肿胀变形,部分细胞轮廓不清,细胞间隙变宽;与模型组比较,大补心汤组大鼠损伤的心肌组织细胞间隙增宽程度减轻,肿胀变形减轻,见图 3。

4 讨论

阿霉素是临床上用于治疗多种恶性肿瘤的蒽醌类药物,用药中易出现心肌损伤,甚至引发心力衰竭。心肌损伤在

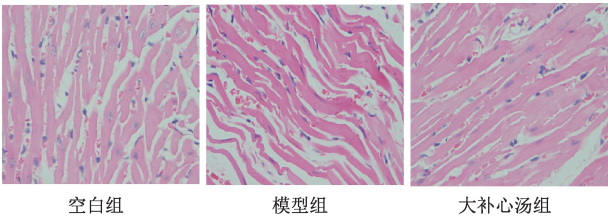


图 3 各组大鼠心肌组织病理染色（×400）

中医属“心悸、怔忡、水肿、痰饮、心痹”等范畴。中医认为邪毒侵入，损伤心脾，气血生化不足，心气心血亏虚日久致心阳虚损，失于温通，血行无力而致血瘀，故心肌损伤病位在心，心神失养、脾胃不足为本，瘀血阻滞为标。敦煌方大补心汤出自《辅行决五脏用药法要·辨心脏病证并方篇》，“大补心汤，治心中虚烦，懊恼不安，怔忡如车马惊，饮食无味……其人脉结而微者方。”原方由人参、山萸肉、旋覆花、牡丹皮等药组成，方中人参、甘草补心气，养心血；干姜温阳通脉；山萸肉敛心气之浮散，通利血脉之壅滞；《名医别录》记载旋覆花消胸上痰结，除皮间死肉，通利血脉，又具镇惊降逆之功；竹叶为水中金药，可清心除烦，安神止惊；牡丹皮清热凉血，活血通脉，诸药合用益心气，复血脉，祛邪毒。现代药理研究亦证实方中人参、甘草对阿霉素引起的心肌损伤均有保护作用^[7-9]。

基于前期李应存教授在临床上应用敦煌方大补心汤治疗心血管病的经验，实验中采用阿霉素诱导心肌损伤大鼠模型，深入研究大补心汤对阿霉素致大鼠心肌损伤的保护作用，结果表明大补心汤可抑制心肌损伤大鼠血清AST、CK、LDH活性的升高。大鼠经阿霉素诱导造模后，细胞活性降低，LDH和CK大量释放，LDH和CK属于胞浆酶，LDH偏高表明细胞膜的渗透性增加，活性越高细胞膜损伤程度越大。心肌细胞受损时，细胞上清液中LDH和CK活性增加，因此通过观察LDH、CK释放量可判断细胞的损伤情况^[10]。心肌细胞受损时，胞膜通透性增加，胞浆内AST释放入血，使血清中AST水平升高，给予大补心汤后可明显改善心肌酶各项指标。

NF-κB信号通路是调控炎症的主要通路，其在心肌缺血再灌注过程中被激活^[11]，从而诱导细胞因子、趋化因子和黏附因子等各种基因产物的表达。促炎因子TNF-α和白介素等胞外信号均能引起NF-κB通路的激活^[12]，在心肌缺血再灌注损伤等过程中，TNF-α能诱导白细胞聚集，促进IL-6等炎性介质释放^[13-14]。本实验结果表明，模型组大鼠血清IL-6、TNF-α促炎因子水平升高，IL-10抗炎因子水平降低；大补心汤干预后可降低模型组大鼠血清IL-6、TNF-α水平，升高IL-10水平，可使损伤的心肌组织细胞间隙增宽程度减轻，肿胀变形减轻。

综上所述，大补心汤可通过改善心肌酶指标，减少炎症反应，保护心肌细胞来拮抗阿霉素诱导的心肌损伤，其作用可能与调控NF-κB信号通路抑制细胞内炎症通路的激活有关。

参考文献:

[1] 施 洋, 樊登峰, 候宝林, 等. 阿霉素致心脏毒性的作用机制及其中药防治的研究进展[J]. 新疆中医药, 2019, 37(1): 113-116.

[2] Burridge P W, Li Y F, Matsa E, et al. Human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes recapitulate the predilection of breast cancer patients to doxorubicin-induced cardiotoxicity[J]. Nat Med, 2016, 22(5): 547-556.

[3] 徐一斌, 李若谷, 方唯一. 抗肿瘤药物的心血管毒副反应[J]. 心血管病学进展, 2010, 31(3): 392-398.

[4] Vejpongsa P, Yeh E T. Prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity: challenges and opportunities [J]. J Am Coll Cardiol, 2014, 64(9): 938-945.

[5] 李应存. 实用敦煌医学[M]. 兰州: 甘肃科学出版社, 2008.

[6] 杨贵豹. 基于心气虚立论大补心汤治疗慢性紧张型头痛的临床研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2016.

[7] 洪建跃, 赵不非, 赵福弟. 人参水提物对阿霉素所致大鼠心肌损伤的影响[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2008, 9(2): 135-137.

[8] 陆逸超, 凌嘉悦, 万小敏, 等. 人参、黄芪和甘草抗阿霉素致心肌损伤的实验研究[J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(3): 78-82.

[9] 王秀丹, 万梅绪, 左 娜, 等. 注射用益气复脉(冻干)及其组分对阿霉素所致大鼠急性心肌损伤的保护作用研究[J]. 药物评价研究, 2020, 43(8): 1522-1527.

[10] 韩 雪. 基于TLR4/MAPKs/NF-κB信号通路和钙通道的6-姜酚心肌保护作用及机制研究[D]. 石家庄: 河北中医学院, 2019.

[11] Jia Y Y, Zhao J Y, Liu M Y, et al. Brazilin exerts protective effects against renal ischemia-reperfusion injury by inhibiting the NF-κB signaling pathway[J]. Int J Mol Med, 2016, 38(1): 210-216.

[12] 潘星宇, 杨 林, 张 升. 参麦注射液对阿霉素所致心肌炎症损伤的保护作用[J]. 中成药, 2019, 41(11): 2632-2636.

[13] 尚立芝, 王 峰, 王建国. 川芎嗪预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠p38MAPK和TNF-α表达的影响[J]. 河南中医学院学报, 2008, 23(5): 24-25.

[14] 杨国庆, 刘德军, 程保育, 等. 七氟醚预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠血清NF-κB、TNF-α、IL-6表达的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(17): 1801-1805.