

心痛方对急性心肌梗死大鼠血浆 ICAM-1、VCAM-1 的影响※

● 熊 杜¹ 范金茹^{2▲} 陈 彤² 廖建萍² 周斐然² 王美香² 肖正文² 周 波² 陈学娟²

摘 要 目的:观察心痛方对急性心肌梗死大鼠心梗面积和血浆中细胞间粘附分子-1(ICAM-1)、血管细胞粘附分子-1(VCAM-1)水平的影响,探讨炎症反应与急性冠状动脉综合征(ACS)的关系及心痛方干预急性心肌梗死的疗效机制。方法:选用 40 只 SPF 级 SD 雄性大鼠,随机分为假手术组、模型组、心痛方组、欣康组,冠脉结扎法造模;处死动物后取心肌组织,测定心梗面积;酶联免疫法检测 ICAM-1、VCAM-1 的表达。结果:术后血浆中 ICAM-1、VCAM-1 的表达明显升高($P < 0.01$),心痛方及欣康给药后均能抑制血浆 ICAM-1、VCAM-1 的表达($P < 0.01$),心痛方及欣康给药后均能缩小心梗面积($P < 0.01$),且心痛方较欣康组更具优势;ICAM-1、VCAM-1 与心肌梗死面积存在线性关系,ICAM-1 水平与梗死面积相关性更高。结论:黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 参与 ACS 的炎症反应过程,心痛方能抑制黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 的表达,缩小急性心梗大鼠心梗面积。

关键词 心痛方 急性心肌梗死 ICAM-1 VCAM-1 多重回归分析

ACS 是一组冠状动脉粥样硬化、斑块破裂或糜烂、血栓形成或血管痉挛导致的急性或亚急性心肌缺血的综合征^[1]。ICAM-1、VCAM-1 起着转运白细胞粘附转运的功能,在 ACS 的开始阶段中起重要作用^[2]。本研究以疏肝豁痰化瘀之心痛方对急性心肌梗死大鼠进行干预,观察其对给药前后大鼠血浆 ICAM-1、VCAM-1 水平以及心肌梗死面积的影响,以探讨炎症反应在 ACS 发病中的意义以及心痛方的疗效机制。

1 材料与方

1.1 实验动物 SPF 级 SD 雄性大鼠 40 只,体重 180~250g,鼠龄 8~10W,购自湖南斯莱克实验动物有限公司[许可证号 SCXK(湘)2013-0003]。

1.2 主要仪器及试剂 酶标仪:芬兰(Labsystems

Multiskan MS),离心机:微量高速离心机(德国 heraeus 公司),呼吸机:DH-140 动物人工呼吸机(浙江医科大学仪器实验厂),深低温冰箱:中科美菱,培养箱:隔水式恒温培养箱(德国 heraeus 公司),ICAM-1、VCAM-1 抗体:由上海基尔顿生物科技有限公司提供,批号:201402。

1.3 药物 心痛方(组成:柴胡 10g、栝蒌 10g、川芎 10g、桃仁 10g、蒲黄 10g、白芥子 10g、郁金 10g、九香虫 5g、甘草 5g;由湖南中医药大学第一附属医院中药房提供)中药超微颗粒按成人剂量换算成大鼠用量;单硝酸异山梨酯片(鲁南贝特制药有限公司生产,批号:08131012);水合氯醛(上海国药集团,批号:20130516)。

1.4 分组 将 40 只大鼠按体重分层,再随机分为假手术组、模型组、心痛方组、欣康组。

1.5 造模 采用冠脉结扎法^[3]:大鼠称重后,采用腹腔注射水合氯醛麻醉;麻醉满意后备皮,术区碘酒消毒,行气管插管(深度 0.5~1cm),连接呼吸机,调节呼吸频率 75 次/min,呼吸时比 1:1,稳定后,在左侧胸部从右下至左上做一斜行切口开胸,在肺动脉圆锥与左心耳交界处下方 2mm 迅速以 6-0 线缝扎

※基金项目 湖南省自然科学基金(No. 13JJ5031)

▲通讯作者 范金茹,女,医学博士,主任医师、教授。主要从事中医内科心血管疾病的临床与科研工作。E-mail: fanjr218@sina.com。

●作者单位 1. 湖南中医药大学 2013 级硕士研究生(410007);2. 湖南中医药大学第一附属医院(410007)

左前降支近端(进针深度 0.5mm,缝扎宽度为 2mm 左右),以左心室前壁颜色变白和运动减弱且心电图显示 II 导联 ST 段弓背向上抬高 $\geq 0.1\text{mv}$ 或出现病理性 Q 波为结扎成功的标志,假手术组开胸但不结扎冠脉。

1.6 给药 手术后均采用灌胃法给药,心痛方组采用中药超微颗粒冲调成汤剂按 1.08g/kg 剂量给药;欣康组按 0.87mg/kg 分别用配好的药液灌胃;模型组和假手术组分别给予灌服等量生理盐水。连续 7d,每天 1 次,于第 7 天灌胃 30 分钟后处死大鼠。

1.7 指标检测 分别于术前、术后 30 分钟、用药 1 周以颈动脉取血法采血,留血样至 -70°C 低温冰箱保存待测,各抗体检测参照 Elisa 试剂盒说明书进行。

1.8 大鼠梗死面积测定 将摘取的心脏洗净,放入冰箱中冰冻 15 分钟后切成 $0.1\sim 0.2\text{cm}$ 厚的心肌片,放入 NBT 染色液, 37°C 温孵 15min,数码相机拍摄心肌切片图像,计算心梗部分占心肌横断面面积的百分比。

1.9 统计学方法 统计分析采用 SPSS17.0 统计软件进行处理,各组实验数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模 40 只大鼠,实验中共有 4 只大鼠死亡,分别为假手术组 1 只,模型组 2 只,心痛方组 1 只。

2.2 心痛方对急性心肌梗死大鼠血浆 ICAM-1 表达的影响 术前各组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);术后模型组、心痛方组、欣康组 ICAM-1 表达明显高于假手术组($P < 0.01$),表明黏附分子 ICAM-1 参与到 ACS 的炎症反应过程;心痛方组和欣康组给药后与模型组相比均能显著降低 ICAM-1($P < 0.01$),心痛方较欣康组更加明显($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 心痛方对急性心肌梗死大鼠血浆中 ICAM-1 表达的影响($\bar{x} \pm s, \text{ng/l}$)

组别	n	术前	术后	给药后
假手术组	9	25.61 ± 3.02	25.70 ± 3.00	25.62 ± 3.04
模型组	8	25.66 ± 2.23	$36.90 \pm 2.96^*$	36.87 ± 2.93
心痛方组	9	25.16 ± 2.04	$35.93 \pm 3.15^*$	$28.62 \pm 2.82^{\# \Delta}$
欣康组	10	25.60 ± 2.32	$36.05 \pm 3.76^*$	$32.56 \pm 3.67^{\#}$

注:与假手术比较, $^*P < 0.01$;与模型组比较, $^{\#}P < 0.01$;与欣康组比较, $^{\Delta}P < 0.01$ 。

2.2 心痛方对急性心肌梗死大鼠血浆 VCAM-1 表达的影响 术前各组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);术后模型组、心痛方组、欣康组 ICAM-1 表达明显高于假手术组($P < 0.01$),表明黏附分子 VCAM-1 参与到 ACS 的炎症反应过程;心痛方组和欣康组与模型组给药后相比均能显著降低 VCAM-1($P < 0.01$),二者 VCAM-1 的疗效差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 心痛方对急性心肌梗死大鼠血浆中 VCAM-1 表达的影响($\bar{x} \pm s, \text{ng/l}$)

组别	n	术前	术后	给药后
假手术组	9	266.81 ± 25.19	267.07 ± 24.87	266.96 ± 25.02
模型组	8	269.92 ± 27.50	$343.52 \pm 28.89^*$	342.89 ± 28.38
心痛方组	9	269.10 ± 18.37	$340.24 \pm 22.79^*$	$292.19 \pm 20.22^{\#}$
欣康组	10	262.48 ± 28.33	$321.66 \pm 28.35^*$	$309.87 \pm 33.27^{\#}$

注:与假手术比较, $^*P < 0.01$;与模型组比较, $^{\#}P < 0.01$ 。

2.3 大鼠心肌梗死面积 心痛方组及欣康组心梗面积均见缩小($P < 0.01$),心痛方组在缩小心肌梗死面积上较欣康组更加明显($P < 0.01$)。说明心痛方与欣康均对心肌缺血有治疗作用,且心痛方较欣康更有优势。见表 3。

表 3 各组间心梗面积的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	药物剂量 g/kg	心梗面积
模型组	8	—	34.60 ± 0.72
心痛方组	9	1.08	$22.51 \pm 0.90^{**}$
欣康组	10	8.7×10^{-4}	$26.86 \pm 0.78^{\#}$

注:与模型组比较, $^{\#}P < 0.01$;与欣康组比较, $^*P < 0.01$ 。

2.4 急性心肌梗死大鼠血浆中 ICAM-1、VCAM-1 表达与心肌梗死面积行多重线性回归并建立二重线性回归方程 心肌梗死大鼠血浆中 ICAM-1、VCAM-1 与心肌梗死面积回归分析有统计学意义($P < 0.01$),表明血浆 ICAM-1、VCAM-1 浓度与心肌梗死面积有直接关系。ICAM-1、VCAM-1 标准回归系数为 0.614、0.419,表明 ICAM-1 对心肌梗死面积的重要性相对 VCAM-1 更高。共线性诊断:ICAM-1、VCAM-1 的容忍度均为 0.918;方差膨胀因子都为 1.064 可认为不存在共线性问题。建立二重线性回归方程:心肌梗死面积 = $0.679 \times (\text{ICAM}-1) + 0.062 \times (\text{VCAM}-1) - 13.901$ 。见表 4。

表 4 急性心肌梗死大鼠血浆中 ICAM-1、VCAM-1 表达与心肌梗死面积多重线性回归

	标准回归系数	非标准化回归系数	P 值	容忍度	VIF
ICAM-1	0.614	0.679	<0.01	0.918	1.064
VCAM-1	0.419	0.062	<0.01	0.918	1.064

3 讨论

ICAM-1、VCAM-1 主要表达于细胞表面。正常情况下,ICAM-1 及 VCAM-1 在血管内皮细胞和其它非造血细胞表达水平很低。血浆中 ICAM-1 与 VCAM-1 的浓度升高被认为是内皮细胞活化和炎症的标志^[4]。在 ACS 的反应过程中,内皮细胞、白细胞等细胞 ICAM-1 和 VCAM-1 表达明显增加,然后使单核细胞向内膜移行致内皮损伤,并促使单核细胞进入内皮下成为巨噬细胞,进而转变为泡沫细胞^[5],在这一过程中粘附分子可能还介导了内皮细胞与白细胞、血小板间的起始黏附^[6-7],从多方面引起血管功能障碍。研究表明^[8]:黏附分子在 AS 患者脂纹和斑块中大量表达,与 ACS 的发生发展有密切关系。黏附分子介导白细胞黏附增加,可促进斑块的不稳定性,削弱斑块处的纤维帽,加速其破裂,血栓形成,导致不稳定型心绞痛和心肌梗死的发生。当内皮细胞粘附分子的表达受到抑制时,能阻止巨噬细胞向粥样硬化斑块处的聚集,并减少炎症细胞释放各类炎症因子,达到抑制炎症反应及延缓 ACS 进展的目的^[9]。

张仲景以“阳微阴弦”对胸痹心痛病因病机进行了高度概括,阳微正虚是发病的根本,阴邪(痰饮、淤血等阴寒之邪)干犯是发病的重要条件。心痛方由柴胡、川芎、桃仁、蒲黄、栝蒌、白芥子、郁金、九香虫、甘草等组成。柴胡为君,主入肝经,长于疏肝解郁;栝蒌、白芥子、川芎、桃仁为臣,豁痰化瘀、通络止痛;蒲黄、郁金为佐,

辅助君药及臣药疏肝豁痰祛瘀;《本草纲目》言九香虫“治脾肾亏损,壮元阳”故其能扶“阳微”;甘草调和诸药。本方是取“急则治其标”之意,重以疏肝解郁、豁痰化瘀,选药重在标实,而又兼顾正虚。

本研究结果推测心痛方可能是通过抑制 ICAM-1、VCAM-1 的表达从而抑制白细胞向内皮的粘附、血小板活化及聚集,起到保护血管、心脏的作用。从这一方面印证中医疏肝解郁、豁痰化瘀法治疗胸痹心痛确有疗效,为中医治疗 ACS 提供新的方向。

参考文献

[1]陆婷婷,刘莎,王培培,等.急性冠脉综合征早期诊断标志物研究进展[J].医学理论与实践,2013,26(13):1705-1706.
[2]Jia YuYan,Gao Peng,Chen HaoZao,et al. SIRT1 suppresses PMA and ionomycin-induced ICAM-1 expression in endothelial cells[J]. Science China,2013,57(6):147-150.
[3]徐铭.大鼠心肌梗死模型制作的影响因素[J].上海畜牧兽医通讯,2012,2:48-49.
[4]Sun C,Alkhoury K,Wang YI,et al. IRF-1 and miRNA126 modulate VCAM-1 expression in response to a high-fat meal[J]. Circulation research. 2012,111(8):1054-1064.
[5]宗春晓,蒋树中.不稳定型心绞痛患者细胞黏附分子水平及颈动脉斑块性质的研究[J].临床心血管病杂志,2012,28(7):499-501.
[6]Brake DK,Smith EO,Mersmann H,et al. ICAM-1 expression in adipose tissue effects of diet-induced obesity in mice[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2006,291(6):1232-1239.
[7]Burns MP,DePaola N. Flow-conditioned HUVECs support clustered leukocyte adhesion by coexpressing ICAM-1 and E-selectin[J]. Am J Physiol Heart CircPhysiol,2005,288(1):194-204
[8]Fotis L,Agrogiannis G,Vlachos IS,et al. Intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 and vascular cell adhesion molecule (VCAM)-1 at the early stages of atherosclerosis in a rat model[J]. In Vivo,2012,26(2):243-250.
[9]Gareus R,Kotsaki E,Xanthouleas S,et al. Endothelial cell-specific NF- κ B inhibition protects mice from atherosclerosis[J]. Cell Metab,2008,8(5):372-383.

中药故事

茯苓传说两则

一、苏东坡与茯苓饼

历代医家及养生学家都很重视茯苓延年益寿的功效,唐宋时服食茯苓已是很普遍的事情。宋代文学家苏东坡就很爱吃茯苓饼。他曾指出,“以九蒸胡麻,用去皮茯苓少入白蜜为并食之,日久气力不衰,百病自去,此乃长生要诀”。苏东坡年届六旬还有惊人的记忆力和强健的身体,这可能和他常吃自制的茯苓饼有很大关系。

二、成吉思汗与茯苓

相传成吉思汗在中原作战时,小雨连绵不断地下了好几个月,大部分蒙古将士都出现了水土不服的情况,染上了水湿证。眼看兵败垂成,成吉思汗十分着急。后来,有几个士兵因偶尔服食了茯苓得以痊愈。听说此事后,成吉思汗大喜,他急忙派人到盛产茯苓的地区运来大批茯苓给将士们吃,兵将们吃后病情马上好转起来,成吉思汗最后打了胜仗,茯苓治水湿病的神奇功效也被广为传诵。
(摘自中华中医网)