

当归补血汤对骨髓干细胞移植急性心肌梗死模型大鼠 NF- κ B 介导的炎症反应影响 *

彭 丹, 江 倩, 张 丹, 覃松柏[△]

(荆州市中医医院心血管病科, 湖北 荆州 434000)

摘要: **目的** 探讨当归补血汤对骨髓干细胞移植急性心肌梗死模型大鼠 NF- κ B 介导的炎症反应影响。**方法** 选择 72 例健康雄性 SD 大鼠为研究对象, 均经实验成功建立 AMI 模型, 随机选择 24 例为对照组, 另选择 24 例为观察组, 剩余 24 例为模型组。模型组应用常规生理盐水灌胃, 对照组应用骨髓干细胞移植治疗, 观察组则在对照组基础上应用当归补血汤灌胃。2 w 后观察各组大鼠心功能、心肌 NF- κ B 蛋白表达和心肌凋亡情况, 以及 NF- κ B 介导的炎症反应情况。**结果** 观察组和对照组 LVIDs、LVIDd 水平均分别低于模型组, LVEF 水平分别高于模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组 LVIDs、LVIDd 水平均低于对照组, LVEF 水平高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。观察组和对照组 NF- κ B 表达水平及心肌凋亡指数均分别低于模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组 NF- κ B 表达水平及心肌凋亡指数低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。观察组和对照组 IL-6、TNF- α 水平均分别低于模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组 IL-6、TNF- α 水平低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 在骨髓干细胞移植急性心肌梗死模型大鼠中应用当归补血汤效果明显, 可通过减轻 NF- κ B 介导的炎症反应, 有效减少心肌细胞凋亡, 改善大鼠心肌损伤, 促使心肌功能恢复。

关键词: 急性心肌梗死; 骨髓干细胞移植; 当归补血汤; NF- κ B; 炎症反应

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2018)04-0021-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2018.04.005

Effect of Danggui Buxue Decoction on NF- κ B Mediated Inflammatory Reaction in Acute Myocardial Infarction Model of Bone Marrow Stem Cell Transplantation

PENG Dan, JIANG Qian, ZHANG Dan, QIN Songbai

(Department of Cardiovascular Diseases, Jingzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jingzhou 434000, China)

ABSTRACT: **Objective** To investigate the effect of Danggui Buxue Decoction on NF- κ B mediated inflammatory reaction in acute myocardial infarction model in rats with bone marrow stem cell transplantation. **Methods** Seventy-two healthy male Sprague-Dawley (SD) rats were selected for the study. Successful AMI models were established. All the subjects randomly selected 24 cases as the control group, the other 24 cases as the observation group, and the remaining 24 cases as the model group. The control group was treated with conventional saline gavage. The control group was treated with bone marrow stem cell transplantation. The observation group was treated with Danggui Buxue Decoction by gavage on the basis of the control group. After 2 weeks, the cardiac function, myocardial NF- κ B protein expression, myocardial apoptosis, and NF- κ B mediated inflammatory reaction were observed in each group. **Results** The LVIDs and LVIDd levels in the observation group and the control group were lower than those in the model group respectively, and the LVEF levels were higher than those in the model group. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). The LVIDs and LVIDd levels were lower in the observation group than in the control group, and the LVEF levels were higher in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). The expression of NF- κ B and myocardial apoptosis index were lower in the observation group and the control

收稿日期: 2018-07-08

* 基金项目: 湖北卫生人才科研专项计划项目(2015KKE78)

第一作者简介: 彭丹(1981-), 女, 主治医师, 研究方向: 心血管病的中西医结合治疗。

[△]通信作者: 覃松柏, E-mail: 565248558@qq.com

group than in the model group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The expression level of NF- κ B and myocardial apoptosis index were lower in the observation group than in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of IL-6 and TNF- α in the observation and control groups were lower than those in the model group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of IL-6 and TNF- α in the observation group were lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Danggui Buxue Decoction is effective in the treatment of bone marrow stem cell transplantation in rats with acute myocardial infarction. It can reduce NF- κ B mediated inflammatory response, effectively reduce myocardial cell apoptosis, improve myocardial injury in rats, and promote myocardial function recovery.

KEY WORDS: acute myocardial infarction; bone marrow stem cell transplantation; Danggui Buxue Decoction; NF- κ B; inflammation

急性心肌梗死(AMI)是在冠状动脉粥样硬化的基础上,因冠状动脉管腔突然阻塞,而引起冠状动脉急性、持续的缺氧和缺血所导致的心肌坏死,是一类具有高死亡风险的心血管疾病^[1]。临床发病后多表现为不同程度的持续性胸骨后疼痛,同时有数据显示,超过 75% 的患者在起病 1~2 w 内会发生心律失常,且多于 24 h 内发生,并在起病初几小时内极易发生急性心力衰竭及休克,增加急性心肌梗死死亡风险^[2]。据急性心肌梗死病原学研究资料发现发现,我国急性心肌梗死发病率呈逐渐升高趋势,每年新发病例约达 50 万,严重影响患者生命安全^[3-4]。骨髓干细胞(BMSCs)移植是进行急性心肌梗死治疗的心途径,效果明显,可行度高,为进一步提高此法治疗效果,本研究在骨髓干细胞(BMSCs)移植急性心肌梗死模型大鼠中联合应用当归补血汤,以探讨其在急性心肌梗死治疗中的应用价值。现将结果示下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 72 例健康雄性 SD 大鼠为研究对象,均经实验成功建立 AMI 模型,随机选择 24 例为模型组,另选择 24 例为对照组,剩余 24 例为观察组,所有大鼠均符合本研究纳入标准。模型组体质量 200~240 g,平均体质量(220.79 ± 4.37) g;对照组体质量 200~240 g,平均体质量(221.02 ± 4.45) g;观察组体质量 200~240 g,平均体质量(220.88 ± 4.27) g。纳入标准:①每组大鼠均符合健康清洁标准;②均经 12 h 阴暗环境交替喂养^[5];③研究经医院委员会审核后批准。排除标准:①大鼠不符合健康清洁标准;②存在其他功能异常;③造模不合格^[6];④对实验耐受性差。各组大鼠基本资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。

1.2.1 骨髓干细胞制备 选择 4~6 w 左右 SD 幼鼠,拉颈法处死,浸泡于浓度 75% 酒精中 10~55 min,于股骨髓腔收集细胞,并经常规离心进行分离培养,经

换液和消化后得到第三代骨髓干细胞。当制备的骨髓干细胞中 CD34 阳性表达率小于 5%,同时 CD44 和 CD90 的阳性表达率大于 95% 表示合格。

1.2.2 实验方法 模型组则在造模成功后常规应用生理盐水灌胃;对照组于造模成功后 30 min,在大鼠心肌组织梗死边缘取 3 个位点,将 BMSCs 细胞悬液 100 mL 直接注入;在此基础上,观察组应用当归补血汤灌胃,每次剂量 5 mg/kg,1 次/d,持续用药 2 w。当归补血汤:选用当归 60 g,黄芪 300 g,粉碎成粉,用 8 倍水浸泡,1h 后水提 30 min,连续 2 次,将两次水提液体收集,混合后过滤,并浓缩成 0.3 g/mL 生药备用。

1.3 评价标准 2 w 后观察各组大鼠心功能、心肌 NF- κ B 蛋白表达和心肌凋亡情况,以及 NF- κ B 介导的炎症反应情况。①心功能:将大鼠进行仰卧位固定,将浓度 0.035 g/kg 10% 的水合氯醛腹腔注射进行麻醉,胸部常规备皮,应用线阵探头,设置探讨为 13.0 MHz,置于实验大鼠左胸,测定左心室收缩末期内径(LVIDs)、左心室舒张末期内径(LVIDd)及左心射血分数(LVEF),连续检测 3 次,取平均值^[7]。②心肌 NF- κ B 蛋白及凋亡指数测定:将研究大鼠处死,剖取出心脏组织,常规进行清洗、标本制备,并进行组织病理学检查,观察 3 组大鼠心肌 NF- κ B 蛋白表达及心肌凋亡情况^[8]。③炎症反应:采大鼠腹动脉血,常规离心 10 min,应用酶联免疫吸附法检测白介素(IL-6)及肿瘤坏死因子 TNF- α ^[9]。

1.4 统计学分析 采用 SPSS20.0 统计学软件进行数据分析,计数资料以百分数和例数表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 心功能 观察组和对照组 LVIDs、LVIDd 水平

均分别低于模型组,LVEF 水平分别高于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组 LVIDs、LVIDd 水平均低于对照组,LVEF 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠心功能指标水平对比($\bar{x}\pm s,n=24$)

组别	LVIDs/mm	LVIDd/mm	LVEF/%
模型组	6.12±1.09	8.11±1.02	44.36±3.82
对照组	4.79±0.82	6.43±0.97	58.87±5.14
观察组	4.11±0.65	5.78±0.81	65.29±4.83

注:与对模型组相比, $P<0.05$ ($t=4.777,7.759,5.847,8.764,11.100,16.651,P=0.000,0.000,0.000,0.000,0.000,0.000$);对照组与观察组相比, $P<0.05$ ($t=3.184,2.520,4.459,P=0.000,0.000,0.000$)

2.2 NF-κB 表达水平及心肌凋亡指数 观察组和对照组 NF-κB 表达水平及心肌凋亡指数均分别低于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组 NF-κB 表达水平及心肌凋亡指数低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠心肌 NF-κB 蛋白表达水平和心肌凋亡指数对比($\bar{x}\pm s,n=24$)

组别	NF-κB	心肌凋亡指数
模型组	145.63±10.06	23.96±4.21
对照组	131.24±8.95	17.69±2.24
观察组	120.45±12.78	14.53±2.17

注:与对模型组相比, $P<0.05$ ($t=5.236,7.584,6.441,9.754,P=0.000,0.000,0.000,0.000$);对照组与观察组相比, $P<0.05$ ($t=3.388,4.964,P=0.000,0.000$)

2.3 炎症反应 观察组和对照组 IL-6、TNF-α 水平均分别低于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组 IL-6、TNF-α 水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠 IL-6、TNF-α 水平对比($\bar{x}\pm s,ng/L,n=24$)

组别	IL-6	TNF-α
模型组	182.13±12.74	688.45±71.02
对照组	155.34±6.87	597.11±38.75
观察组	123.45±6.12	520.13±30.26

注:与对模型组相比, $P<0.05$ ($t=9.067,20.340,5.531,10.682,P=0.000,0.000,0.000,0.000$),对照组与观察组相比, $P<0.05$ ($t=16.980,7.671,P=0.000,0.000$)

3 讨论

研究发现,急性心肌梗死后,心肌组织局部缺血、缺氧,致使自身免疫调节系统激活,从而诱导心肌细胞凋亡,而凋亡细胞的清除又会激活机体炎症反应,致使心肌细胞组织再次损伤^[10]。因此,减轻炎症反应在改善急性心肌梗死心肌损伤,促进心肌功能恢复中具有重要意义。NF-κB 是介导炎症因子释放重要转录因子,在正常情况下,NF-κB 与细胞质中 IκBa、IκBβ、IκBε 这 3 个抑制因子中的其中一个结合,从而以无活性的状态存在;当遭受刺激时,NF-κB 激活,从而进行靶基因转录调控,大量释放 IL-6、TNF-α 等炎症因子,此类炎症因子的释放不仅进一步损伤心肌细胞,还会促使 NF-κB 活化状态持续存在,对心肌细胞造成持续性损害^[11-12]。因此,临床需治疗需对 NF-κB 活性及 NF-κB 介导的炎症反应进行调控,以增强治疗效果,改善疾病预后^[13]。

骨髓干细胞(BMSCs)是一种具有自我增殖、分化功能的多能干细胞,可分化为血管内皮系细胞、心肌细胞等,用于急性心肌梗死治疗,可刺激心肌梗死区域毛细血管、心肌组织细胞再生、修复,调节心肌组织细胞凋亡速度,改善心肌缺血,增强心脏功能^[14];同时,骨髓干细胞移植后还可对机体病理性免疫起到调控作用,减轻心肌炎症反应^[15]。但经实验发现,心肌缺血缺氧性环境及炎症反应会对骨髓干细胞存活情况造成不良影响,致使存活率过低,导致治疗效果减弱或治疗无效。因此,在进行骨髓干细胞移植治疗的同时,还需提供一个较为良好的存活环境,从而增强治疗效果^[16]。当归补血汤是中医学的常用补益剂,补血功效显著。此方主要成分为当归和黄芪,以“有形之血不能速生,无形之气应当急固,有形之血生于无形之气,补气生血”这一配伍特点,将当归和黄芪进行 1:5 配比^[17]。其中当归入心、肝、脾经,有活血补血、养血和营之效,经现代药物实验证明,当归还具有增强免疫、抗炎、抗菌之效,同时还可改善心血管及血液功能;黄芪入脾、肺经,有益卫固表、补气升阳之效,可大补肺脾之气,以滋生化之源,现代药物实验证明,黄芪可促进机体代谢、改善心功能、增强机体免疫^[18]。本研究结果显示,观察组 LVIDs、LVIDd 水平均低于对照组,LVEF 水平高于对照组,NF-κB 表达水平、心肌凋亡指数、IL-6、TNF-α 水平低于对照组。说明在骨髓干

细胞移植治疗急性心肌梗死基础上,当归补血汤的应用不仅有效改善心肌缺血,为骨髓干细胞提供良好的存活环境,还有效起到调节机体免疫、改善心血管及心肌功能等作用,与骨髓干细胞移植治疗起到相辅相成效果,从而促使 NF- κ B 活性降低,减轻 NF- κ B 介导的炎症反应,减缓梗死区域心肌细胞凋亡速度,避免心肌细胞持续损害,增强心肌修复效果,改善心肌功能^[19]。

综上所述,在骨髓干细胞移植急性心肌梗死模型大鼠中应用当归补血汤效果明显,可通过减轻 NF- κ B 介导的炎症反应,有效减少心肌细胞凋亡,改善大鼠心肌损伤,促使心肌功能恢复。

参考文献:

- [1] 李丽,龙子江,黄静,等. 黄精多糖对急性心肌梗死模型大鼠 NF- κ B 介导的炎症反应及心肌组织形态的影响[J]. 中草药,2015,46(18):2750-2754.
- [2] 路甲鹏,郭青青,赵玉凤,等. 中西医结合治疗急性心肌梗死临床疗效的 meta 分析 [J]. 临床误诊误治,2014(6):91-95.
- [3] 徐伟,石萌,刘剑刚,等. 急性心肌梗死后大鼠缺血心肌胶原蛋白的表达及益气养阴活血和解毒活血中药的干预作用[J]. 中西医结合学报,2010,8(11):1041-1047.
- [4] 王伟. 益气养阴活血解毒中药对大鼠急性心肌梗死后梗死心肌与心室重构的影响 [J]. 中国心血管杂志,2012,17(4):298-300.
- [5] 谢亚芹,赵娟,李秀华,等. 福辛普利对慢性心力衰竭大鼠心肌细胞凋亡及相关基因表达的影响[J]. 中国循环杂志,2016,31(3):285-288.
- [6] 李鑫辉,李雅婧,黄森鑫,等. 丹参通络解毒汤对骨髓干细胞移植急性心肌梗死模型大鼠炎症反应的影响 [J]. 中国中医药信息杂志,2016,23(11):57-61.
- [7] 富萍. 中西医联合用药对急性心肌梗死患者经皮冠状动脉介入术后氨基末端脑钠肽前体的影响 [J]. 中国医科大学学报,2012,41(8):748-749.
- [8] 王嫔,李丹,田昕. 当归补血汤对衰老心肌梗死大鼠冠状动脉侧枝血管生成的影响及其机制 [J]. 中药材,2016,39(7):1651-1653.
- [9] 王喜栋,赵捷,张晋霞,等. 心肌酶谱与心肌损伤标志物在急性心肌梗死诊断中的价值 [J]. 河北医科大学学报,2011,32(8):913-915.
- [10] KHADEMI F, MOHAMMADI M, KIANI A, et al. Efficient conjugation of aflatoxin M1 with bovine serum albumin through aflatoxin M1-(O-carboxymethyl) oxime and production of anti-aflatoxin M1 antibodies [J]. Jundishapur J Microbiol,2015,8(4):e16850.
- [11] 漆丹平. 探讨血清缺血修饰白蛋白和肌红蛋白联合检测对急性心肌梗死早期诊断的临床价值[J]. 中国实验诊断学,2017,21(4):595-597.
- [12] 杨忠路,王辉山,刘涛,等. 心肌坏死标志物联合检测对急性心肌梗死早期诊断及鉴别的价值[J]. 现代生物医学进展,2015,15(11):2086-2088.
- [13] 刘艳,陈爱芳,李秀昌. 高血压病患者颈动脉粥样硬化程度与血清脂蛋白(a)和胆红素水平的关系[J]. 中国动脉硬化杂志,2008(7):553-555.
- [14] VOLPI A, CAVALLI A, TURATO R, et al. Incidence and short-term prognosis of late sustained ventricular tachycardia after myocardial infarction:results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico(GISSI-3)Data Base [J]. AM Heart J, 2001,142(1):87-92.
- [15] 沈振芳,沈昊,沈国荣. 脑钠肽、肌红蛋白及肌钙蛋白 I 联合测定对早期诊断急性心肌梗死的临床意义[J]. 临床军医杂志,2012,40(1):94-96.
- [16] 刘丽楠,裴晓冬. 血浆氨基末端脑钠肽前体、心肌肌钙蛋白 I 与急性心肌梗死相关性研究 [J]. 航空航天医学杂志,2016,27(1):36-37.
- [17] 成泽东,俞耸在,陈以国. 循经针刺对心肌缺血大鼠心肌组织 Toll 样受体 4 蛋白的调控作用[J]. 北京中医药大学学报,2016,39(2):173-176.
- [18] 王维浩,邢之华,刘卫平,等. 益气活血保心汤对急性心肌梗死大鼠的保护作用[J]. 中国中医急症,2016,25(6):997-1000.
- [19] 王鹏,吕敬雷,隋雪琴,等. 缺血后处理对大鼠脑缺血再灌注时 TLR4 和 NF- κ B 表达的影响 [J]. 青岛大学医学院学报,2012,48(3):200-203.