

参附注射液对重症急性胰腺炎大鼠心肌的保护作用

杨伟钦¹, 李培武^{2*}, 米红², 赵迪克¹, 向长勤¹, 陈昫², 刘凤斌^{2*}

(1. 广州中医药大学, 广州 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405)

[摘要] **目的:**探讨参附注射液治疗重症急性胰腺炎模型大鼠心肌的保护作用。**方法:**选取雄性SD大鼠60只,随机分为6组,分别为假手术组、模型组、乌司他丁组($2 \times 10^4 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$)和参附注射液高、中、低剂量组($3, 1.5, 0.75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。实验采用逆行胆胰管灌注5%牛磺胆酸钠溶液复制重症急性胰腺炎大鼠模型,造模后3 h,分别给予尾静脉注射生理盐水、乌司他丁、不同剂量参附注射液。6 h后苏木素-伊红(HE)染色法观察各组大鼠胰腺及心肌的病理变化,并检测大鼠心肌细胞 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性,实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)法检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-1 β (IL-1 β)和白细胞介素-6(IL-6)mRNA表达量。**结果:**与假手术组比较,模型组的大鼠胰腺、心肌损伤严重,病理评分明显升高($P < 0.05$),心肌 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性明显降低($P < 0.05$),TNF- α ,IL-1 β mRNA表达量明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,乌司他丁组、参附注射液组的胰腺和心脏病理评分明显降低($P < 0.05$),参附注射液组大鼠心肌 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性明显增加($P < 0.05$),TNF- α ,IL-1 β mRNA表达量明显降低($P < 0.05$)。**结论:**参附注射液可能通过改善心肌细胞 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性,减少心肌组织中TNF- α ,IL-1 β 的表达,对心肌起保护作用。

[关键词] 参附注射液;重症急性胰腺炎; $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶;肿瘤坏死因子- α (TNF- α);白细胞介素-1 β (IL-1 β);白细胞介素-6(IL-6)

[中图分类号] R22;R24;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)07-0159-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180727

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180116.1440.003.html>

[网络出版时间] 2018-01-17 8:44

Protective Effect of Shenfu Injection on Myocardium of Rats with Severe Acute Pancreatitis

YANG Wei-qin¹, LI Pei-wu^{2*}, MI Hong², ZHAO Di-ke¹, XIANG Chang-qin¹, CHEN Xu², LIU Feng-bin^{2*}

(1. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Guangzhou 510405, China;

2. First Affiliated Hospital of Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effect and mechanism of Shenfu injection on myocardium in rats with severe acute pancreatitis. **Method:** Totally 60 male SD rats were randomly divided into 6 groups: Sham operation group, model group, ulinastatin ($2 \times 10^4 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$) group and Shenfu injection groups ($3, 1.5, 0.75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$). The models of severe acute pancreatitis were established by retrograde cholangiopancreatic injection of 5% sodium taurocholate solution. Three hours after modeling, the normal saline, ulinastatin and Shenfu injection were respectively given by tail vein injection. After 6 hours, the pathological changes of pancreas and myocardium were observed; the expression of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity was detected; and the mRNA expression levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6) in rat cardiomyocytes were detected by Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qPCR). **Result:** As compared with

[收稿日期] 20171108(001)

[基金项目] 广东省省级科技计划项目(粤科规财字[2015]72号2014A020209071);广州中医药大学第一附属医院创新强院工程项目(岭南中医邓氏内科流派,2015LP01);广东省中医药局建设中医药强省专项资金中医优势病种突破项目(粤中医函[2015]19号)

[第一作者] 杨伟钦,硕士,从事中西医治疗消化系统疾病研究,Tel:18923935975,E-mail:1650354424@qq.com

[通信作者] *刘凤斌,教授,博士生导师,从事中西医治疗消化系统疾病研究,Tel:18902296111,E-mail:liufb163@163.com;

*李培武,副主任医师,从事脾胃肝胆病的中西医结合诊治和临床疗效评价,Tel:18926154883,E-mail:doctorli01@126.com

the sham operation group, the pancreatic and myocardial injuries were severe and pathological score was significantly increased in model group ($P < 0.05$); the activity of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ was significantly decreased ($P < 0.05$), and the mRNA expression levels of $\text{TNF-}\alpha$ and $\text{IL-1}\beta$ were significantly increased ($P < 0.05$). As compared with the model group, the pancreatic and cardiac pathological scores were significantly decreased in Ulinastatin group and Shenfu injection groups ($P < 0.05$); the activity of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in the myocardium was significantly increased and the mRNA expression levels of $\text{TNF-}\alpha$ and $\text{IL-1}\beta$ were significantly decreased in Shenfu injection group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Shenfu injection may improve the activity of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in myocardial cells and decrease the mRNA expression of $\text{TNF-}\alpha$ and $\text{IL-1}\beta$ in myocardium to protect the myocardium.

[**Key words**] Shenfu injection; severe acute pancreatitis; $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$; tumor necrosis factor- α ; interleukin- 1β ; interleukin-6

重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 是伴有免疫功能紊乱的全身性疾病, 是一种发病急骤、病情进展快、愈后差、以胰腺弥漫性出血和组织坏死为主要特征的外科常见急腹症。临床及实验研究发现, 在 SAP 病程早期即可出现心肌损伤, 引起心肌结构改变、心律失常、心源性休克等^[1-2], 并随着时间的推移心脏损伤进行性加重, 有研究证实 SAP 的心血管失代偿是导致死亡率最高的并发症之一^[3], 故临床上在治疗 SAP 的同时, 对于心肌的保护也越发重视。目前对于 SAP 引起的心肌损伤机制尚不明确, 有学者认为 SAP 的发生、发展以及心肌损伤, 与 Fas/FasL, 死亡受体通路, Bcl 家族等细胞凋亡密切相关^[4], 亦有学者认为过度活化的炎症细胞及其表达的炎症因子, 影响 SAP 的进程, 而这些炎症细胞则受核转录因子- κB (nuclear factor-kappa B, NF- κB) 的调控^[5-6]。目前对于 SAP 的心肌损伤及保护研究大多为 NF- κB 信号通路相关的常见炎症因子, 如肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 白细胞介素- 1β (IL- 1β) 等, 心肌细胞 ATP 敏感性钾通道 (ATP-sensitive K^+ channel, KATP) 作为 SAP 心肌保护靶点的相关报道尚少见, 而结合炎症因子 mRNA 表达与 KATP 通道的研究则更为罕见。

参附汤出自《重订严氏济生方》, 由人参、附子 2 味中药组成, 具有回阳救逆、益气固脱之功效。近几年来, 对于参附注射液的药理研究发现, 其含有的人参皂苷、乌头类生物碱, 对多种器官的缺血-再灌注损伤具有保护作用^[7-8]。除此之外, 参附注射液还具有抑制炎症反应的作用, 大量的研究已证实, 其可以减少 TNF- α , IL-6, 一氧化氮 (NO), 血管内皮素 (ET-1) 的分泌, 抑制 NF- κB 的激活, 从而达到减轻急性炎症的症状, 保护心肌细胞的作用^[9-10]。基于以上文献报道, 笔者拟开展参附注射液对 SAP 模型大鼠的干预作用, 初步探索其对 SAP 模型大鼠心肌

的保护作用及相关机制, 现报道如下。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只, 体质量 180 ~ 220 g, 由广东省医学实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(粤)2013-0002, 研究实验方案由广州中医药大学第一附属医院动物实验伦理委员会批准 (伦理编号 TCM F1-2015029)。

1.2 药物及试剂 参附注射液 [华润三九 (雅安) 药业有限公司, 生药质量浓度为 $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 批号 16070801001]; 注射用乌司他丁 (广东天普生化医药有限公司, 批号 031509143); 牛胆酸钠 (上海源叶生物科技有限公司, 批号 y29j8k38987); 水合氯醛 (天津市大茂化学试剂厂, 批号 20160606); BCA 法蛋白定量测试盒, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶检测试剂盒, 逆转录试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号分别为 20170101, 20170101, 20170310); trizol 试剂, SYBR-Green (日本 TakaRa 公司, 批号分别为 #D9108A, #RR820A); TNF- α , IL- 1β 和 IL-6 定量 PCR 引物由日本 TakaRa (北京) 公司合成。

1.3 仪器 IX71 型倒置显微镜 (日本 Olympus 公司), ND2000 型超微量核酸蛋白测定仪 (美国 NanDrop 公司), Master 型 cycler nexus 梯度 PCR 仪 (德国 Eppendorf 公司), CFX96 型实时定量 PCR 仪系统 (美国 Bio-Rad 公司), A-5082 型多功能酶标仪 (澳大利亚 Tecan 公司), UVmini-1240 型紫外可见分光光度计 (日本岛津公司)。

2 方法

2.1 动物造模、分组及给药 选 60 只雄性 SD 大鼠, 随机分为假手术组、模型组、乌司他丁组、参附注射液高、中、低剂量组 ($3, 1.5, 0.75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[11], 每组各 10 只。其中模型组、乌司他丁组、参附注射液组通过逆行胆胰管注射 5% 牛磺胆酸钠 ($1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) 诱导 SAP, 即使用 10% 水合氯醛 ($3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) 进行

麻醉后,在腹中线剑突下约 1 cm 处切口,开腹后先找到胃,幽门下沿十二指肠 4 cm 处为胰管开口处,轻拉出十二指肠和结肠,找到胆胰管和十二指肠乳头开口处,将注射器针头刺入胆胰管内。用无损伤小动脉钳夹闭肝门部胆管,将 5% 牛磺胆酸钠缓慢注入胆胰管(0.1 mL·min⁻¹)。注射后取出注射器和动脉夹,缝合切口、关腹。在假手术组中,在腹部进行切口,不注射牛磺胆酸钠,在闭合腹部前稍微翻动胰腺组织数次。造模后 3 h,假手术组和模型组给予尾静脉注射生理盐水 5 mL,乌司他丁组予等体积注射乌司他丁 2 × 10⁴ U·kg⁻¹[12],参附注射液组分别予等体积注射参附注射液 3, 1.5, 0.75 g·kg⁻¹。观察建模后大鼠的一般状况。造模 6 h 后,用 10% 水合氯醛麻醉后,手术打开腹部,取出胰腺和心脏。上述方法都在无菌条件下进行。迅速分离左心室心肌,置 4 ℃ 生理盐水中洗尽血污,冰台培养皿上分离左心室切两半,外侧壁一半用于检测 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性。内侧壁心肌组织分两半,用于病理检查和测定 TNF-α, IL-1β 和 IL-6 mRNA 表达量。胰腺组织和部分心肌组织固定在 4% 多聚甲醛。

2.2 观察指标及检测

2.2.1 病理组织学检查及病理评分 将胰腺和心肌组织在石蜡中包埋、切片,并用苏木素-伊红(HE)染色。胰腺和心脏的病理切片随机双盲分组后,由两名专业病理科医师(来自广州中医药大学第一附属医院和深圳市第三人民医院病理科)评估。胰腺组织病理评分参考 Schmidt^[13] 的评分方法;并按 Ron^[14] 方法对心肌组织病理损伤程度进行评分。

2.2.2 心肌细胞 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性检测 取心脏组织根据 Na⁺-K⁺-ATP 酶检测试剂盒中提供的说明进行实验。使用 BCA 蛋白测定试剂盒测定心脏组织匀浆中的蛋白质水平。在分光光度计 562 nm 的波长下测量显色的吸光度 A。Na⁺-K⁺-ATP 酶活性以 U·mg⁻¹ 表示,并按下列公式计算:Na⁺-K⁺-ATP 酶活性 = [(测定 A - 对照 A)/(标准 A - 空白 A)] × 标准管浓度(0.02 mmol·L⁻¹) × 6 × 7.8/待测样本蛋白质量浓度(g·L⁻¹),检测各组心脏组织 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性。

2.2.3 心肌组织测定 IL-6, TNF-α, IL-1β mRNA 表达量 按照 TRIzol 试剂说明书提取心肌组织总 RNA,按照逆转录试剂盒说明书逆转录 RNA 成 cDNA,将 cDNA 按照以下条件进行 PCR 反应:第一步退火 95 ℃, 30 s;第二步扩增 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 30 s, 39 循环;第三步延伸 60 ℃ 30 s。使用 2^{-ΔΔCt} 计

算各组 TNF-α, IL-1β 和 IL-6 mRNA 水平。目标基因及内参引物序列见表 1。

表 1 TNF-α, IL-1β, IL-6 引物序列

Table 1 Nucleotide sequences of TNF-α, IL-1β and IL-6 primers

基因名称	引物序列(5'-3')	长度/bp
GAPDH	上游 GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG	138
	下游 ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA	
TNF-α	上游 GCCACCACGCTCTTCTGTCT	186
	下游 TCTCCCTCCCAACTCTCCT	
IL-1β	上游 CCCTGAACTCAACTGTGAAATAGCA	111
	下游 CCCAAGTCAAGGGCTTGAA	
IL-6	上游 ATTGTATGAACAGCGATGATGCAC	150
	下游 CCAGGTAGAAACGGAACTCCAGA	

2.3 统计学分析 采用 SPSS 17.0 版本进行数据的处理和统计。先进行正态性检验,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。正态分布数据进行 ANOVA 检验,非正态分布数据进行非参数的 t 检验, P < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对重症急性胰腺炎大鼠胰腺和心肌组织病理学的影响 假手术组胰腺轻度水肿,腺泡结构正常,排列紧密,无坏死,无出血及脂肪坏死,无白细胞渗出。相比之下,模型组弥漫性小叶间隔、腺泡间隔增宽,广泛坏死融合(细胞核裂解破碎),脂肪坏死,大量炎性细胞浸润。乌司他丁组和参附注射液组胰腺病理明显改善,局灶性腺泡间隔增宽、少量腺泡液外溢,弥漫坏死细胞,少量脂肪坏死,散在炎症细胞。参附注射液组胰腺改善程度随剂量的升高而提升,呈量效依赖关系。见图 1。假手术组心肌组织心肌纤维无肿胀,排列整齐,横纹清晰,心肌细胞形态完整,染色均匀,无炎性渗出。模型组大鼠心肌纤维明显肿胀变形呈波浪状,排列紊乱,部分萎缩断裂成颗粒状,少量心肌细胞空泡变性,染色疏松,局灶少量炎性细胞浸润。乌司他丁组和参附注射液组心肌病理特征得到改善,可观察到部分心肌纤维的水肿、轻度变性和心肌纤维横纹模糊。见图 2。

与假手术组比较,模型组胰腺和心肌病理评分明显升高(P < 0.05)。与模型组比较,乌司他丁组、参附注射液高、中、低剂量组胰腺和心肌病理评分明显降低(P < 0.05),参附注射液高、中、低剂量组胰腺和心肌病理评分依次升高,且有剂量依赖性。见表 2, 3。

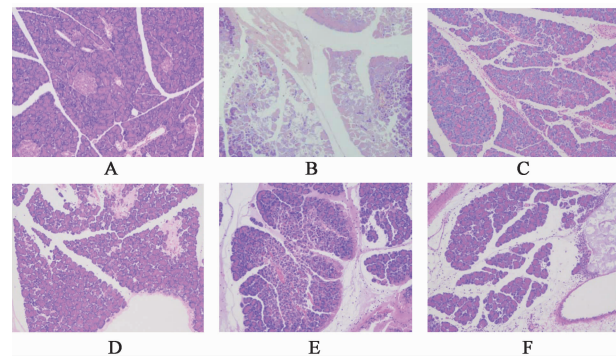


图 1 参附注射液对重症急性胰腺炎大鼠胰腺组织病理学的影响 (HE, $\times 100$)
A. 假手术组; B. 模型组; C. 乌司他丁组; D. 参附注射液 $3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组; E. 参附注射液 $1.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组; F. 参附注射液 $0.75 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组 (图 2 同)

Fig. 1 Effect of Shenfu injection on histopathology of pancreatic tissue in rats with severe acute pancreatitis (HE, $\times 100$)

表 2 大鼠胰腺组织病理评分 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Pathological score of rats pancreas ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	水肿	坏死	脂肪坏死	炎症和血管周围浸润
假手术	-	1.13 ± 0.35	0	0	1.25 ± 0.80
模型	-	$2.71 \pm 0.39^{2)}$	$4.00 \pm 0^{2)}$	$0.93 \pm 0.53^{2)}$	$4.00 \pm 0^{2)}$
参附注射液	3	2.00 ± 0.35	$2.83 \pm 0.90^{1)}$	$0.50 \pm 0.33^{1)}$	$3.61 \pm 0.49^{1)}$
	1.5	$2.05 \pm 0.16^{1)}$	$3.35 \pm 0.53^{1)}$	0.80 ± 0.68	$3.45 \pm 0.37^{1)}$
	0.75	$2.50 \pm 0.35^{1)}$	$3.50 \pm 0.61^{1)}$	0.88 ± 0.60	$3.72 \pm 0.36^{1)}$
乌司他丁 ³⁾	2.0×10^4	$1.94 \pm 0.42^{1)}$	$1.38 \pm 1.30^{1)}$	$0.44 \pm 0.18^{1)}$	$3.19 \pm 0.75^{1)}$

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$;与假手术组比较²⁾ $P < 0.05$;³⁾表示乌司他丁单位为 $\text{U}\cdot\text{kg}^{-1}$ (表 3 ~ 5 同)。

表 3 大鼠心肌组织病理评分 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Pathological score of rats myocardium ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	评分/分
假手术	-	1.25 ± 1.03
模型	-	$4.57 \pm 0.98^{2)}$
参附注射液	3	$1.50 \pm 0.93^{1)}$
	1.5	$3.11 \pm 1.05^{1)}$
	0.75	$3.40 \pm 0.97^{1)}$
乌司他丁 ³⁾	2.0×10^4	$1.75 \pm 0.71^{1)}$

活性明显降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较,乌司他丁组酶活性升高 ($P < 0.05$);参附注射液高、中剂量组酶活性明显提高 ($P < 0.05$),参附注射液低剂量组酶活性升高,但无统计学意义;参附注射液高、中、低剂量组酶活性升高有剂量依赖性。见表 4。

3.3 对重症急性胰腺炎大鼠心肌组织 TNF- α , IL-1 β 和 IL-6 mRNA 表达的影响 与假手术组比较,模型组 TNF- α , IL-1 β 基因表达明显升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,乌司他丁组 IL-1 β 明显降低 ($P <$

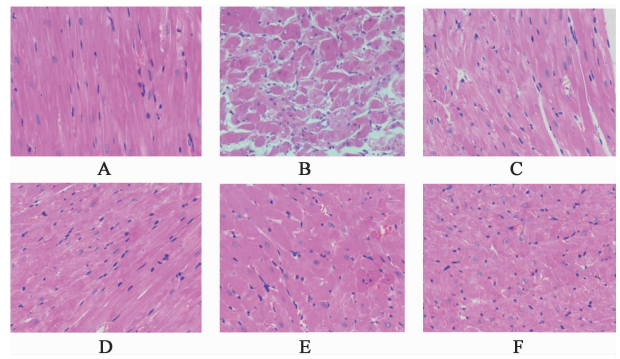


图 2 参附注射液对重症急性胰腺炎大鼠心肌组织病理学的影响 (HE, $\times 400$)

Fig. 2 Effect of Shenfu injection on myocardial histopathology of rats with severe acute pancreatitis (HE, $\times 400$)

3.2 对重症急性胰腺炎大鼠心肌细胞 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性的影响 与假手术组比较,模型组酶

表 4 参附注射液对重症急性胰腺炎大鼠心肌细胞 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of Shenfu injection on activity of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ enzyme in myocardial cells of rats with severe acute pancreatitis ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$
假手术	-	0.039 ± 0.014
模型	-	$0.019 \pm 0.005^{2)}$
参附注射液	3	$0.040 \pm 0.012^{1)}$
	1.5	$0.057 \pm 0.016^{1)}$
	0.75	0.025 ± 0.006
乌司他丁 ³⁾	2.0×10^4	$0.037 \pm 0.012^{1)}$

0.05);参附注射液高、中剂量组 TNF- α , IL-1 β 的表达明显降低,参附注射液低剂量组 IL-1 β 明显降低 ($P < 0.05$)。IL-6 的基因表达在各组之间比较,无统计学差异。见表 5。

4 讨论

在临床上对 SAP 的常规治疗包括持续胃肠

表 5 参附注射液对重症急性胰腺炎大鼠心肌组织 TNF- α , IL-1 β 和 IL-6 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effect of Shenfu injection on expressions of TNF- α , IL-1 β and IL-6 mRNA in myocardial tissue of rats with severe acute pancreatitis ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	TNF- α	IL-1 β	IL-6
假手术	-	1.00 ± 0.16	1.18 ± 0.27	0.96 ± 0.37
模型	-	1.56 ± 0.28 ²⁾	13.23 ± 2.18 ²⁾	0.56 ± 0.57
参附注射液	3	0.46 ± 0.23 ¹⁾	0.65 ± 0.30 ¹⁾	0.83 ± 0.25
	1.5	0.77 ± 0.42 ¹⁾	1.68 ± 0.73 ¹⁾	0.67 ± 0.22
	0.75	1.14 ± 0.67	1.58 ± 1.30 ¹⁾	1.25 ± 1.07
乌司他丁 ³⁾	2 × 10 ⁴	1.27 ± 0.49	1.45 ± 0.51 ¹⁾	0.55 ± 0.37

减压、补液、镇痛、抑制胰腺外分泌、抑制胰酶活性、抑酸、应用血管活性药物、预防性抗生素使用等措施^[15]，而对 SAP 相关性心肌损伤缺乏具有特异性保护作用的药物。常规心肌保护药物(肾上腺素能受体兴奋剂、磷酸二酯酶抑制剂、钙离子拮抗剂、醛固酮受体拮抗剂等)，药理作用单一，治疗效果局限；而中药治疗 SAP 因其多靶点、副作用少、效益良好而越来越受到人们的关注。研究发现参附注射液有抑制炎症、改善微循环、促进胃肠蠕动及抗休克等多种药理作用，临床上已广泛运用于心脑血管疾病以及 SAP 相关性心肌损伤。

重症急性胰腺炎无特定的中医病名，其所致全身炎症反应和多脏器功能衰竭，与《疡科心得集》：“毒入于心则昏迷，入于肝则痉厥，入于脾则腹胀，入于肺则喘嗽，入于肾则目暗、手足冷，入于六腑亦皆各有变象，兼证多端。”所述颇有相似，SAP 合并心肌损伤时，属“心衰”、“心悸”等病证范畴，治以回阳救逆、益气固脱^[16]，临床可以参附注射液等治疗。参附注射液具有潜在的抗炎能力^[17]，中医讲“至虚之处，便是留邪之地”，益气扶正中药可抑制炎症反应，纠正免疫失衡，使“阴平阳秘”，疾病向愈，体现了中医扶正祛邪的思想。

本实验采用 5% 牛磺胆酸钠胆胰管内逆行注入的方法诱导 SAP 大鼠模型，造模方法可重复性高，不但可以引起严重的坏死性胰腺炎，造模 3 h 后还可以引起肺、肝、肾和心脏等多器官的功能衰竭^[9,18-19]，因此是一种较好的研究 AP 合并 MODS 的动物模型^[20-21]。研究报道参附注射液可能通过抑制 NF- κ B 的活性，降低炎症因子 TNF- α , IL-6 和 IL-1 β 等的表达，减轻全身炎症反应综合征(SIRS)^[11,22]。而促炎细胞因子(例如 IL-6, TNF- α , IL-1 β)的释放是 SIRS 的标志^[23-24]。本实验从抑制

促炎因子(IL-1 β , TNF- α 和 IL-6)角度剖析参附注射液的心肌保护作用，结果表明 SAP 大鼠心肌组织中 IL-1 β , TNF- α 显著表达，参附注射液可抑制促炎因子 IL-1 β , TNF- α 的表达。TNF- α 主要由单核巨噬细胞系统产生，血液中 TNF- α 直接产生心肌抑制效应，发生心脏缺血再灌注损伤，当心肌细胞损伤时，其自身产生 TNF- α 加重损伤。IL-1 β 是第一个分泌的白细胞介素类细胞炎症因子，发生 SAP 时，IL-1 β mRNA 无论在胰腺内，还是在远处器官中都可表达^[25]，其上调黏附分子的表达，诱导中性粒细胞迁移，放大局部炎症反应，最终引起心肌损伤。本实验中参附注射液可以抑制心肌组织中 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 的表达，减少促炎因子的产生，减轻胰腺和心肌组织的病理损伤，对 SAP 相关性心肌损伤有保护作用。

SAP 诱发心肌细胞的缺血缺氧，细胞内 H⁺ 升高，ATP 含量减少，钠泵活动减弱，使 H⁺-Na⁺, Na⁺-Ca²⁺ 交换加强，细胞内 Ca²⁺ 升高，钠离子的进入使心肌细胞水肿，钙离子超载，一方面高负荷钙与肌钙蛋白频发结合、解离，致使心肌挛缩，光镜下见线状肌丝挤压成团块，成致密“收缩带”，甚至断裂成颗粒状^[26]，另一方面钙超载引起线粒体功能障碍、激活多种生物酶等直接损伤心肌细胞，引起心肌收缩功能障碍及心律失常^[27]。KATP 通道首先在心肌细胞中发现，当胞浆中 ATP 水平下降时，钾离子通道打开，对心肌细胞缺血损伤起到保护作用^[28]。LI 等^[29]比较 NO，钙离子激活钾离子通道，KATP 对冠脉血流的影响，发现参附注射液主要通过促进 NO 释放产生扩张冠状动脉作用。亦有报道^[30-31]参附注射液可以提高心肌细胞的 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性，减少心肌缺血再灌注损伤。本实验中检测到参附注射液可以提高心肌组织的 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性，开放 KATP 通道，从而维持心肌细胞膜电位的稳定性，减少细胞内的钙超载，保护心肌细胞，而其通过促进 NO 释放所产生的扩张冠脉作用又可以改善心肌细胞的供血和供氧。

综上所述，参附注射液通过抑制 SAP 大鼠心肌组织中 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 的表达，减少心肌的炎症损伤，同时提高心肌细胞 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性，保护心肌细胞，为中医扶正祛邪，多药理作用靶点提供佐证。本研究是一项初步研究，未来需要进一步加大样本量和使用前瞻性实验以进一步研究参附注射液在 SAP 中的心肌保护作用。

[参考文献]

- [1] Bank S, Singh P, Pooran N, et al. Evaluation of factors that have reduced mortality from acute pancreatitis over the past 20 years[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2002, 35(1):50-60.
- [2] 马红英,陈晓文,任雅瑾,等. 重症急性胰腺炎大鼠心肌核因子- κ B 激活和复方丹参注射液的干预作用[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2013, 21(9):484-487.
- [3] ZHU A J, SHI J S, SUN X J. Organ failure associated with severe acute pancreatitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(11):2570-2573.
- [4] 戴建忠,范辉. 丹红对大鼠重症急性胰腺炎相关性心肌损害的防治作用[J]. *世界华人消化杂志*, 2009, 17(10):969-975.
- [5] WANG Y, CHEN M. Fentanyl ameliorates severe acute pancreatitis-induced myocardial injury in rats by regulating NF- κ B signaling pathway [J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23:3276-3283.
- [6] Jakkampudi A, Jangala R, Reddy B R, et al. NF- κ B in acute pancreatitis: mechanisms and therapeutic potential [J]. *Pancreatolgy*, 2016, 16(4):477-488.
- [7] 易凡,尚玉强,李炳,等. 参附注射液对心肌缺血再灌注损伤模型大鼠的保护作用[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(14):3417-3419.
- [8] ZHANG H, WAN Z, YAN X, et al. Protective effect of Shenfu injection preconditioning on lung ischemia-reperfusion injury[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(3):1663-1670.
- [9] 邹忠东,张再重,唐力军,等. 参附注射液对大鼠重症急性胰腺炎及其肝损伤的保护作用[J]. *中国普通外科杂志*, 2009, 18(3):228-232.
- [10] 金旭鹏,郭莲怡. 参附注射液对重症急性胰腺炎时血浆内皮素、一氧化氮浓度影响的实验研究[J]. *中国中医急症*, 2007, 16(5):583-584.
- [11] HUANG L, CAO J. The protective effects of Shen-Fu injection on experimental acute pancreatitis in a rat model [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014(2):248786.
- [12] WANG C L, LI N, MA T, et al. Ulinastatin promotes T lymphocyte apoptosis in rats with severe acute pancreatitis via mitochondrial pathways[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(2):5511-5518.
- [13] 范辉. 丹红注射液对大鼠重症急性胰腺炎并发心肌损害的防治作用及机制[D]. 苏州:苏州大学, 2010.
- [14] 周超雄. 核因子- κ B 活化对重症急性胰腺炎大鼠心肌损害的实验研究[D]. 青海:青海大学, 2011.
- [15] 崔云峰,屈振亮,齐清会,等. 重症急性胰腺炎中西医结合诊治指南(2014年,天津)[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2014, 20(4):460-464.
- [16] 张伯礼,薛博瑜. 中医内科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2012:73-94.
- [17] ZHENG S D, WU H J, YU S P, et al. Shenfu Injection, suppresses inflammation by targeting haptoglobin and pentraxin 3 in rats with chronic ischemic heart failure[J]. *Chin J Integr Med*, 2015, 21(1):22-28.
- [18] ZHANG X, JIE Z, YE S, et al. Influence of salvia miltiorrhizae on the mesenteric lymph node of rats with severe acute pancreatitis or obstructive jaundice [J]. *Mediators Inflamm*, 2009, doi:10.1155/2009/675195.
- [19] 范辉,王小红,沈云志. P-selectin, IVAM-1 和 ICAM-1 在大鼠重症急性胰腺炎并发急性心肌损害中的作用机制[J]. *世界华人消化杂志*, 2011, 30:3122-3129.
- [20] ZHANG X P, ZHANG J, MA M L, et al. Pathological changes at early stage of multiple organ injury in a rat model of severe acute pancreatitis [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2010, 9(1):83-87.
- [21] 许永春,李兆申,屠振兴,等. 改良逆行胆胰管注射法制备轻重不同两种大鼠急性胰腺炎模型[J]. *第二军医大学学报*, 2004, 25(11):1251-1252.
- [22] 王进,刘德宏,杨光田. 参附注射液对内毒素所致大鼠全身炎症反应综合征的作用[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2006, 13(1):23-26.
- [23] Bhatia M. Acute pancreatitis as a model of SIRS [J]. *Front Biosci*, 2009, 14(6):2042-2050.
- [24] Waage A, Brandtzaeg P, Halstensen A, et al. The complex pattern of cytokines in serum from patients with meningococcal septic shock. Association between interleukin 6, interleukin 1, and fatal outcome [J]. *J Exp Med*, 1989, 169(1):333-338.
- [25] Norman J G, Fink G W, Sexton C, et al. Transgenic animals demonstrate a role for the IL-1 receptor in regulating IL-1beta gene expression at steady-state and during the systemic stress induced by acute pancreatitis [J]. *J Surg Res*, 1996, 63(1):231-236.
- [26] 孔令恒,刘哲,张建英,等. 心肌缺血-再灌注-钙超载损伤的基础与临床研究[J]. *中国体外循环杂志*, 2015, 13(4):253-256.
- [27] 徐盟. 心肌缺血再灌注损伤的主要机制与相关药物治疗的研究进展[J]. *实用药物与临床*, 2014, 17(8):1052-1056.
- [28] Noma A. Noma AATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle[J]. *Nature*, 1983, 305(5930):147-148.
- [29] LI Y H, YU B, DUAN Z Z, et al. The coronary dilation effect of shenfu injection was mediated through NO[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3):e92415.
- [30] 徐菲飞,彭成,王苗伉,等. 参附注射液对戊巴比妥钠致心衰模型心肌细胞膜 ATP 酶和相关离子的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(7):196-199.
- [31] 王振富. 参附注射液对心肌缺血/再灌注损伤血流动力学和心肌酶的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2011, 27(2):155-157.

[责任编辑 周冰冰]