

参麦注射液对心衰犬肿瘤坏死因子、 白介素 1、白介素 6 的影响

王恒和¹, 毛静远^{1*}, 张振鹏², 魏广力³, 王贤良¹, 毕颖斐⁴, 郭永铁¹

(1. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193; 2. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053;
3. 天津药物研究院, 天津 300193; 4. 天津中医药大学, 天津 300193)

[摘要] 目的: 考察不同剂量参麦注射液(SMI)对心衰犬血清肿瘤坏死因子(TNF-), 白介素 1(IL-1), 白介素 6(IL-6)的影响。方法: 将造模成功 4 周后的心衰犬 20 只随机分为模型对照组和 SMI 低、中、高剂量组, 每组 5 只。模型对照组予生理盐水 20 mL, 低、中、高剂量组分别予参麦注射液 0.517, 1.034, 1.551 mL·kg⁻¹ (生理盐水稀释至 20 mL) iv qd ×7。分别于给药前及给药后 72 h, 144 h 时点取静脉血 2 mL 冰冻保存, 用放射免疫分析法测定血清 TNF-, IL-1, IL-6 浓度。结果: SMI 低、中、高剂量组心衰犬血清 TNF-, IL-1, IL-6 水平较模型对照组下调。结论: SMI 能使心衰犬血中 TNF-, IL-1, IL-6 水平下调, 并呈现一定的量效、时效关系。

[关键词] 参麦注射液; 心力衰竭; 肿瘤坏死因子; 白介素 1; 白介素 6

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)07-0105-03

Effects of *Shenmai* Injection on TNF-, IL-1, IL-6 in the Model Dogs with Heart Failure

WANG Heng-he¹, MAO Jing-yuan^{1*}, ZHANG Zhen-peng², WEI Guang-li³,
WANG Xian-liang¹, BI Ying-fei⁴, GUO Yong-tie¹

(1. *The First Hospital Affiliated to Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin, 300193, China;*
2. *Guanganmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China;*
3. *Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin, 300193, China;*
4. *Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin, 300193, China*)

[Abstract] **Objective:** To investigate effect of different dose *Shenmai* Injection (SMI) on blood concentration of TNF-, IL-1, IL-6. **Method:** Twenty model dogs with heart failure (HF) were randomly divided into 4 groups: the control one (0.9% NaCl injection 20 mL iv qd ×7, n=5) and the low, middle and high dose ones of SMI (administrated by 0.517, 1.034 and 1.551 mL·kg⁻¹, diluted to 20 mL with 0.9% NaCl injection, iv qd ×7, n=5). Blood samples (2 mL) were collected before administration and at 72 h and 144 h after that, refrigerated (at -80 °C) to be determined for the blood concentration of TNF-, IL-1, IL-6 by radio-immunity assay. **Results:** Blood concentration of TNF-, IL-1, IL-6 in the different dose SMI groups was higher than that in the control one, and it showed some dose-effect relationship. **Conclusions:** SMI could effectively reduce blood concentration of TNF-, IL-1, IL-6 in the model dogs with heart failure and showed some dose-effect and time-effect relationships.

[Key words] *Shenmai* Injection; heart failure; TNF-; IL-1; IL-6

[收稿日期] 2009-11-30

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30371752)

[通讯作者] * 毛静远, Tel: (022) 27432325; E-mail: jymao@126.com

参麦注射液(*Shenmai* Injection, SMI)是治疗心衰(HF)确有疗效的中药制剂, 研究报道^[1-4]在干预

HF 的过程中 SMI 可影响肿瘤坏死因子 (TNF- α)、白介素 1 (IL-1)、白介素 6 (IL-6) 等炎性细胞因子的表达, 揭示了其治疗心衰的某些内源机制, 但不同剂量 SMI 对上述炎性细胞因子的影响呈何动态变化仍未明确。为进一步探究 SMI 治疗 HF 的内源机制及其量效关系, 作者进行了以下实验研究。

1 材料与方 法

1.1 动物 健康成年 (12 个月龄以上) 杂种犬 20 只, 体重 (11.8 \pm 0.82) kg, 雌雄不拘, 饲养于天津中医药大学实验动物中心, 适应性饲养 1 周以上备用。

1.2 仪器 MP-150 型 16 道生理记录仪 (美国 BIOPAC); SC-3 型电动呼吸机 (上海医疗设备厂); LOGIQ-400 数字彩色多普勒超声心动仪 (美国 GE 公司); MH-01 型自动放射免疫伽玛计数器 (北京核仪器厂)。

1.3 药物与试剂 参麦注射液 (杭州正大青春宝药业生产, 批号 0508293), TNF- α , IL-1, IL-6 放射免疫药盒 (解放军总医院科技开发中心放免所, 批号 20051223)。

1.4 心衰犬模型复制 采用结扎犬冠状动脉前降支法复制心衰动物模型^[5]。结扎冠脉后可见梗死区域颜色变暗, 心肌呈现暗红色, 心室前壁运动减弱, 心外膜心电图 ST 段明显抬高。结扎冠状动脉术后 1~4 周, 实验犬逐渐出现倦怠、活动减少、反应迟缓、呼吸增快、食欲下降、稀便等征象。参考文献报道方法^[6], 造模术后 4 周, 超声结果显示心衰犬心功能较术前明显下降, 提示实验性犬心衰模型复制成功。

1.5 动物分组 将 20 只心衰犬随机分为对照组和 SMI 低、中、高剂量组, 每组 5 只。

1.6 给药方法 参照 SMI 临床低、中、高剂量 (20, 40, 60 mL)^[7], 按体表面积法换算犬给药量。对照组予生理盐水 20 mL, 低、中、高剂量组分别予 SMI 0.517, 1.034, 1.551 mL \cdot kg⁻¹, 均 iv qd \times 7。SMI 均用生理盐水稀释至 20 mL, 经犬前臂头静脉 10 min 内缓慢 iv。给药后各时点均从药物推注完毕后开始计算。

1.7 标本留取 分别于给药前及给药后 72 h (疗程的中点)、给药后 144 h (疗程终点), 经心衰犬前臂头静脉取血 2 mL, 注入试管中, 37 $^{\circ}$ C 水浴 30 min, 3 500 r \cdot min⁻¹ 离心 15 min, 取血清, 冰冻 (-80 $^{\circ}$ C) 保存, 备测血清 TNF- α , IL-1, IL-6。

1.8 标本测定 血清 TNF- α 、IL-1、IL-6 测定采用放射免疫分析法^[8]。

1.9 统计学处理 采用 SPSS11.0 统计软件, 计量资料采用单因素方差分析, 数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

2.1 SMI 对模型犬血清 TNF- α 含量的影响 见表 1。组内比较, 中、高剂量组给药后 72 h, 144 h 时点血清 TNF- α 含量均极显著低于给药前 ($P < 0.01$), 低、中、高剂量组 72 h 时点与 144 h 时点血清 TNF- α 含量间比较均未见显著性差异; 组间比较, 中、高剂量组给药后 72 h 时点血清 TNF- α 含量显著低于对照组同时点 ($P < 0.05$); 高剂量组给药后 144 h 时点极显著低于对照组同时点 ($P < 0.01$)。提示 SMI 对 TNF- α 含量的影响存在一定的时效、量效关系。

表 1 SMI 对模型犬血清 TNF- α 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	剂量 / mL \cdot kg ⁻¹	TNF- α / ng \cdot mL ⁻¹		
		给药前	药后 72 h	药后 144 h
对照	—	2.68 \pm 1.39	2.31 \pm 1.01	2.53 \pm 1.43
SMI	0.517	2.69 \pm 1.13	1.50 \pm 0.73	1.34 \pm 0.52
	1.034	2.48 \pm 0.83	1.23 \pm 0.65 ^{2,3)}	1.01 \pm 0.20 ²⁾
	1.551	2.57 \pm 0.74	0.88 \pm 0.48 ^{2,3)}	0.74 \pm 0.29 ^{2,4)}

注: 与给药前比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与同时点对照组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (下同)。

2.2 SMI 对模型犬血清 IL-1 含量的影响 见表 2。组内比较, 对照组、低、中、高剂量组自身给药前后各时点血清 IL-1 含量比较均未见显著性差异 ($P > 0.05$), 但有随给药次数增加而降低的趋势; 组间比较, 4 组心衰犬给药后 72 h, 144 h 时点血清 IL-1 含量间均未见显著性差异, 但 SMI 低、中、高剂量组 72 h, 144 h 时点血清 IL-1 含量有随剂量增加而降低的趋势。

表 2 SMI 对模型犬血清 IL-1 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	剂量 / mL \cdot kg ⁻¹	IL-1 / ng \cdot mL ⁻¹		
		给药前	药后 72 h	药后 144 h
对照	—	0.46 \pm 0.27	0.41 \pm 0.03	0.41 \pm 0.09
SMI	0.517	0.37 \pm 0.13	0.40 \pm 0.12	0.37 \pm 0.10
	1.034	0.46 \pm 0.25	0.38 \pm 0.10	0.34 \pm 0.05
	1.551	0.47 \pm 0.10	0.36 \pm 0.10	0.33 \pm 0.11

2.3 SMI 对模型犬血清 IL-6 含量的影响 见表 3。组内比较, 高剂量组给药后 72 h, 144 h 时点血清 IL-6 含量显著低于给药前 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 144 h 时点与 72 h 时点比较未见显著性差异; 组间比较,

高剂量组给药后 72 h, 144 h 时点血清 IL-6 含量显著低于同时点对照组 ($P < 0.05$)。

表 3 SMI 对模型犬血清 IL-6 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量 /mL·kg ⁻¹	IL-6 /pg·mL ⁻¹		
		给药前	药后 72 h	药后 144 h
对照	—	514.18 ±93.33	486.06 ±53.60	511.22 ±101.15
SMI	0.517	511.25 ±83.93	460.66 ±53.90	459.04 ±83.52
	1.034	505.94 ±67.36	422.30 ±54.43	413.06 ±123.38
	1.551	500.40 ±61.32	403.98 ±56.56 ^{1,3)}	379.96 ±40.53 ^{2,3)}

3 讨论

HF 的发生发展是一个长期复杂的过程, 受自主神经系统、神经体液及细胞因子多种因素的影响。炎性细胞因子可介导多种免疫反应, 炎性细胞因子在体内高度表达可加重心肌损伤, 使心功能恶化^[9], 参与心衰的发生发展。TNF- α 可影响心肌细胞的生长和分化、具有负性肌力、可促进左室重构^[10-12]。HF 病人血中 TNF- α 水平与美国纽约心脏病协会心功能级别呈正相关^[13]。IL-1 能独立调节心血管功能, 在体外可引起心肌细胞肥大、促进纤维母细胞增殖^[14]、降低心肌收缩力^[15]、增强 TNF- α 对靶器官的损伤, 从而在 HF 病理过程中发挥重要作用。IL-6 能介导心室重构, 与左、右心室充盈压呈正相关, 与左心室功能及心排量呈负相关, 可以间接反映 HF 病人的血流动力学改变。

低、中、高剂量 SMI 均可不同程度地降低心衰犬血清 TNF- α , IL-6 的水平, 有降低血清 IL-1 水平的趋势。且有一定的量效、时效趋势。SMI 使这些炎性细胞因子水平下调, 可直接减少高浓度的炎性细胞因子对心脏的毒性作用, 减轻其促使心室重构的不良影响, 从而在改善心功能的同时延缓 HF 的进展与恶化, 这可能是 SMI 治疗 HF 的内源机制之一。SMI 使炎性细胞因子下调, 具有一定的心脏保护作用, 也可能是参麦注射液“养心”作用的内在基础之一。此外, SMI 降低心衰犬血清 TNF- α , IL-6 水平, 对 IL-1 仅有降低趋势, 提示 SMI 对不同炎性细胞因子影响并非一致, 由于细胞因子的作用是多方面的, 不同细胞因子与不同效应细胞以及细胞因子网络之间的确切关系尚未完全明了, SMI 影响炎性细胞因子的机制也有待进一步的深入研究与探讨。

[参考文献]

[1] 吴红金, 鲁燕鸣, 张琦, 等. 参麦注射液对心力衰竭患

者血浆神经肽 Y、内皮素和心钠素的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 1999, 19(11): 653.

[2] 王敬民, 金炜, 孙秀笈. 参麦注射液对心力衰竭患者血 ET 及 TNF- α 的影响[J]. 浙江中西医结合杂志, 2004, 14(1): 4.

[3] 钮炜西, 华宁, 齐帆, 等. 心力衰竭患者心功能的改善与参麦注射液及血清炎症因子水平的关系[J]. 中国临床康复, 2005, 19(9): 134.

[4] 毛静远, 王恒和, 王强, 等. 生脉注射液对心力衰竭患者血清 TNF- α 水平影响的临床研究[J]. 新中医, 2003, 35(6): 32.

[5] 施新猷. 现代医学实验动物学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2000: 464.

[6] 王泓, 曹铁生, 丁康, 等. 超声心动图研究正压通气对犬心功能的影响及其机制[J]. 中华超声影像学杂志, 2005, 14(1): 63.

[7] 张孝忠, 彭整军, 肖莎, 等. 参麦注射液不同剂量对充血性心力衰竭疗效影响的研究[J]. 解放军保健医学杂志, 2003, 5(2): 86.

[8] 李振甲, 韩春生, 王建勋. 实用放射免疫学[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1989: 405.

[9] Nian M, Lee P, Khaer N, et al. Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling[J]. Circ Res, 2004, 94(12): 1543.

[10] 张善堂, 王钦茂, 陈礼明, 等. 参麦注射液对实验性心力衰竭大鼠左室舒缩性能及血浆 Ang α 、ET 和 ANP 的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8(1): 21.

[11] 傅琛, 曹春梅, 张晶, 等. TNF- α 的心肌负性肌力作用机制研究[J]. 浙江大学学报: 医学版, 2003, 32(03): 181.

[12] Bradham W S, Bozkurt B, Gunasinghe H, et al. Tumor necrosis factor-alpha and myocardial remodeling in progression of heart failure: a current perspective[J]. Cardiovasc Res, 2002, 53(4): 822.

[13] 袁国会, 王丕荣, 李琮辉, 等. 充血性心力衰竭炎性细胞因子的改变[J]. 临床心血管病杂志, 2004, 20(5): 263.

[14] 苏国海, 颜淑红, 丁福生, 等. 肿瘤坏死因子、白细胞介素-1 在充血性心力衰竭发生发展中的作用[J]. 山东医药, 1999, 39(6): 10.

[15] Liu S, Schreur K D. G Protein-mediated suppression of L-type Ca current by interleukin-1 in cultured rat ventricular myocytes[J]. Am J Physiol, 1995, 268(2Pt1): c339.

[责任编辑 何伟]