中药治疗病毒性心肌炎的实验研究进展

陈文娟　胡道德　刘　亮

病毒性心肌炎(vital myocarditis, VMC)是临床最常见的感染性心肌病,患病者主要为青少年和成人,8% ~12% 会出现猝死现象。柯萨奇病毒主要包括疱疹病毒、肠道病毒、艾巴氏病毒、腺病毒等[1]。柯萨奇病毒 B 组病毒(Coxsackievirus B, CVB)是 VMC 最常见致病原,约占 30% ~50%。中医学中尚无特定的病名与本病相对应,多属“温毒”、“心悸”、“怔忡”、“胸痹”范畴,此外还与汗证、虚劳、猝死等相关。目前西医主要采用抗病毒、抗氧化、改善心肌代谢、调节免疫等方法治疗,无针对性治疗药物,而中医学对本病标本兼治取得了较好疗效,在临床上应用较为广泛。本文就近年来的一些研究进行了总结,现概述如下。

1　抗病毒作用

病毒使心肌细胞死亡,首先是补体介导的细胞毒作用。在心肌细胞膜上,有柯萨奇病毒、腺病毒共同受体(coxsackie virus and adenovirus receptor, CAR)及补体促衰变因子(decay accelerating factor, DAF),当病毒吸附到细胞表面,CAR 与 DAF 联合作用,形成受体复合物,使 CVB 进入细胞[2,3]。由于补体促衰变因子减少,补体被大量激活,导致补体介导的溶细胞损伤[4]。

1.1　单味药的研究

丁媛媛等[5]研究了桂皮醛对小鼠柯萨奇病毒诱发病毒性心肌炎的作用,实验结果显示:在体外,桂皮醛对正常心肌细胞的半数抑制浓度最大(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})为 15 μmol/L;100 ~1 000 μmol/L 桂皮醛能显著抑制心肌细胞中的病毒滴度,而细胞存活率与 CVB 组差异无统计学意义。而在病毒性心肌炎小鼠体内,与模型组比较,20、40 mg/kg 桂皮醛腹腔注射使第 7 天血清中一氧化氮(nitric oxide, NO)的含量以及心肌中诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS),肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor α, TNF-α),核因子 κB P65 (nuclear factor-κB P65, NF-κB P65)和 Toll 样受体(Toll-like receptors 4, TLR4)蛋白质表达显著降低,降低第 21 天心脏体重比(heat weight/body weight, HW/BW)比值,提高小鼠生存率,减轻病理损伤的作用。结果显示桂皮醛在体内具有降低病毒滴度和抑制 TLR 4-NF-κB 信号传导的作用,对病毒性心肌炎小鼠具有治疗作用,李凤新等[6]通过观察虎杖蒽醌提取物对 CVB3 型病毒性心肌炎小鼠的治疗作用,发现虎杖蒽醌提取物对感染细胞的治疗指数高于对照组,且小鼠感染病毒后,各给药组血清中乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、天冬氨酸转移酶 (aspartate aminotransferase, AST)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)水平显著降低,结果提示虎杖蒽醌提取物对 CVB3 型病毒引起的病毒性心肌炎具有一定的治疗作用。

1.2　复方的研究

刘芳等[7]的研究表明黄芩、柴胡及其配伍提取物在体外具有明显的直接灭活病毒作用,对心肌细胞的保护作用明显。赵滋苗等[8]研究了心可舒汤(由山楂、丹参、葛根等组成)对柯萨奇病毒性心肌炎小鼠 的作用,结果表明心可舒汤能有效的修复细胞病变, 抑制病毒繁殖。马丽等[9]研究益心康(人参、黄芪、双花、连翘、板蓝根、白术、丹参、甘草)对乳鼠心肌细胞的影响,结果显示益心康组肌酸激酶同工酶(creatine kinase-mbmass, CK-MB)、LDH、AST 水平明显低于病毒感染组和利巴韦林组。益心康组、益心康加地塞米松组细胞中的 CK-MB、LDH、AST 水平差异无统计学意义。提示益心康对柯萨奇病毒感染的心肌细胞具有保护作用。

2　抗自由基作用

正常心肌代谢可产生高活性物质,即所谓活性氧,而正常心肌组织含有许多抗氧化物质,如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化酶(glutathion peroxidase system, GSH-Px)等,可以清除或协助清除活性氧,以保持活性氧的生成和清除的动态平衡,使心肌细胞免受活性氧损害和维持正常生理功能,当机体感染病毒或细菌时,中性粒细胞在吞噬微生物时耗氧量增加,产生大量超氧阴离子自由基。心肌缺血、

基金项目:上海中医药科研基金资助项目(No. 2011ZJ021)

作者单位:上海交通大学附属第一人民医院临床药学科(上海 200080)

通讯作者:胡道德,Tel:021 -63240090 转 4801,E-mail:shanghaiyao@sina.com

DOI: 10.7661/CJIM.2013.10.1438

中国中西医结合杂志

缺氧时,能量代谢障碍,腺苷三磷酸降解为次黄嘌呤,并在组织中堆积,同时黄嘌呤脱氢酶 D 型转化为嘌呤氧化酶 O 型,催化次黄嘌呤和黄嘌呤代谢,产生氧自由基[10]。近年来,氧自由基在病毒性心肌炎发病中的作用逐渐被人们所重视。氧自由基化学性质活泼,能够与机体的蛋白质、核酸及不饱和脂肪酸等生物大分子发生化学反应,造成生物大分子失活和生物膜脂质过氧化,导致细胞功能障碍,甚至变性坏死。丙二醛(malondialdehyde, MDA)是脂质过氧化反应的中间产物,是直接反映体内自由基损害的指标。SOD 是体内一种重要的自由基清除酶,自由基的过量产生可使 SOD 损耗增加,从而使其体内活性降低[11]。

2.1 单味药的实验研究

罗永娇等[12]研究了黄芪甲苷对病毒性心肌炎的抗氧化机制,结果显示不同剂量的黄芪甲苷均有抗氧化作用,可使心肌细胞 CAT、SOD 和 GSH-Px 的活性增强,但仅高剂量的黄芪甲苷与对照组比较差异有统计学意义。而且,黄芪甲苷干预治疗后,小鼠肝肺淤血消失,肝肺干/湿重比正常,血浆脑钠肽下降致正常。小鼠心肌功能恢复,生存率升高。所以黄芪甲苷对病毒性心肌炎有明显的抑制作用,且呈剂量依赖性。这种抑制作用与其抗氧化特性密切相关。黄芪甲苷通过其抗氧化能力,保护心肌细胞免受损伤,从而为临床治疗各种类型心肌病开拓了新的治疗方法。宋伟[13]向含病毒的心肌细胞中加入正常或每毫升含 5、2.5、1 mg 生药的漏芦提取物的生长液,正常对照组加等量正生长液,分别检测各组 MDA 水平及 SOD 活性。发现病毒对照组较正常对照组 MDA 增高,而 SOD 活性降低;漏芦治疗组明显降低被感染细胞内 MDA 含量,升高 SOD 活性,且呈剂量依赖性。结果提示漏芦提取物通过其抗氧化作用保护心肌。

2.2 复方的实验研究

范柳芳[14]观察了参芪扶正注射液对病毒性心肌炎小鼠氧化损伤及细胞凋亡的影响,与未治疗的患病小鼠比较,急性期病毒性心肌炎(3 天),大剂量参芪扶正注射液、病毒唑能升高 SOD 活性,降低 MDA 含量,两者之间差异无统计学意义;急性期病毒性心肌炎(10 天),小剂量参芪扶正注射液即能较好的减轻氧化损伤,大剂量参芪扶正注射液疗效更佳,表明存在量效依赖性。慢性期(30 天),大小剂量参芪扶正注射液均能提高 SOD 活性,降低 MDA 含量,但两者差异无统计学意义,研究结果表明参芪扶正注射液治疗可通过升高 SOD 活性,降低 MDA 含量治疗病毒性心肌炎,急性期适当增加剂量,疗效更显著。

周晓春等[15]观察生黄合剂(由生脉饮和总黄酮配制而成)对病毒性心肌炎小鼠血清 SOD 活性和 MDA 含量的影响,发现给药后第 10 天,生黄合剂组小鼠的生存率明显高于病毒对照组和抗病毒口服液组,生黄合剂可明显提高病毒性心肌炎小鼠血清中活性 SOD 和降低 MDA 含量,且效果优于抗病毒口服液。

3 免疫调节作用

在病毒性心肌炎发病过程中有大量的单核炎性细胞浸润心肌细胞组织,在急性病毒性心肌炎阶段,炎性细胞可分为两个时相[16]:第一时相,病毒感染后 3 ~9 天,主要为巨噬细胞和自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)侵入心肌并达到高峰[17]。NK 细胞是病毒性心肌炎早期最主要的炎性浸润细胞,小鼠感染致病病毒 3 ~5 天后即可见 NK 细胞浸润,7 ~9 天可达高峰,继而渐降。巨噬细胞属于单核细胞类,在病毒性心肌炎早期参与浸润心肌,在病毒感染后 5 ~10 天出现并达到高峰[18];第二时相,即病毒感染后 7 ~14 天,T 细胞替代巨噬细胞和 NK 细胞成为主要心肌浸润细胞。细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T-lymphocyte, CTL)是细胞介导免疫反应的主要效应细胞之一。其前体并无杀伤功能,只有在识别特异性抗原并被激活后,才能攻击杀伤靶细胞。在病毒性心肌炎发病过程中,包括病毒抗原、病毒感染后诱导表达于心肌细胞表面的新抗原及心肌细胞损伤后释放的自身抗原等,均可激活 CTL 而杀伤心肌细胞[17]。

3.1 单味药的实验研究

王小稳[19]观察了淫羊藿总黄酮(total flavonoids of Epimedium, TFE)对病毒性心肌炎小鼠免疫功能的影响,与正常组比较,模型组小鼠心肌发生明显病理改变,心肌肥厚指数和血清 LDH、CK、IFN-γ、IL-2 水平上升,而 IL-4、IL-10 水平下降。与模型组比较,高低剂量 TFE 组心肌病理变化减轻,心肌肥厚指数和血清 LDH、CK、IFN-γ、IL-2 水平降低,IL-4、IL-10 水平升高,高剂量组效果较明显。由此得出 TFE 可通过免疫调节保护病毒性心肌炎小鼠心脏。李锋等[20]研究了冬虫夏草提取液对病毒性心肌炎免疫功能的影响,结果显示治疗组小鼠脾脏中 $CD3^+$、$CD8^+$ T 细胞的百分率显著高于感染组,但各 T 细胞亚群及 $CD3^+/CD8^+$ T 细胞的比例与正常对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示冬虫夏草提取液可能是一种免疫调节剂,通过维持免疫应答的平衡诱导 CVB 病毒性心肌炎小鼠 IFN-γ 产生并调节细胞免疫功能,而发挥治疗作用。

3.2 复方的实验研究

中国中西医结合杂志

吕立勋等[21]通过测定小鼠血清溶血素、溶血空斑形成,小鼠血清 IL-2、IFN-γ 和 TNF-α 的含量来观察抗毒补心胶囊对免疫功能低下小鼠免疫调节的影响。结果显示抗毒补心胶囊(由西洋参、五味子、麦冬、丹皮、黄芪等中药组成)可提高免疫抑制小鼠溶血素水平、促进溶血空斑形成,提高小鼠血清 IL-2、IFN-γ 和 TNF-α 的含量。说明抗毒补心胶囊对免疫抑制小鼠的免疫功能有较好的调节作用。刘奉琴等[22]研究芪芍五味子复方制剂对病毒性心肌炎小鼠外周血 T 淋巴细胞亚群的调节作用,与正常小鼠比较,病毒对照组小鼠外周血 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ 淋巴细胞亚群数目下降,$CD4^+/CD8^+$ 下降,血清 IFN-γ 水平升高,IL-4 水平降低,中药治疗组小鼠淋巴细胞亚群数目及 $CD4^+/CD8^+$ 均高于病毒对照组,IFN-γ 水平高于病毒对照组及维生素 C 和病毒唑联用组,同时小鼠心肌炎症性病理变化明显减轻。

综上所述,大量的实验研究表明,中药有很好的抑制病毒复制、抗自由基和免疫抗病毒作用,同时中药具有不良反应小,可作用于全身多个脏器、系统,发挥整体调节作用的特点。但就单种中药而言,其作用较为局限,这就要求在临床工作中根据患者的不同病情,选用几种中药以提高疗效。以往的研究缺乏对传统中药作用物质基础和复方中药的有效成分及有效部位(群)深入探讨,今后的研究方向应该从传统的抗病毒中药中筛选高效安全的抗 CVB3 感染药物,从广度和深度上加强中药抗 CVB3 病毒的实验研究。

参 考 文 献

[1] Blauwet LA, Cooper LT. Myocarditis [J]. Progr Cardiovasc Dis, 2010, 52(4): 274-288.

[2] Bergelson JM, CunninSham JA, Droguetl C, et al. Isolation of a common receptor for Coxsackie B viruses and adenovirases 2 and 5[J]. Science, 1997, 275(5304): 1320-1323.

[3] Clapham PR, Weiss RA. Spoilt for choice of co-receptors[J]. Nature, 1997, 388(6639): 230-231.

[4] Martino TA, Petile M, Brown M, et al. Cardiovirulent Coxsackie viruses and the decay accelerating factor (CD55) receptor[J]. Virology, 1998, 244(2): 302-314.

[5] 丁媛媛, 赵钢涛. 桂皮醛对小鼠柯萨奇病毒诱发病毒性心肌炎的作用[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(5): 769-776.

[6] 李凤新, 孙振国, 苏红, 等. 虎杖蒽醌提取物抗柯萨奇 B3 型病毒作用及机制研究[J]. 中草药, 2008, 39(11): 1699-1701.

[7] 刘芳, 王雪峰. 黄芩、柴胡及其配伍提取物体外抗柯萨奇 B3 病毒及对细胞活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 173-176.

[8] 赵滋苗, 丁月平. 心可舒汤体外抗柯萨奇病毒实验研究[J]. 海峡药学, 2008, 20(12): 26-27.

[9] 马丽, 史业东, 陈苏宁. 益心康对体外心肌细胞感染柯萨奇病毒 B3 影响的实验研究[J]. 实用药物与临床, 2011, 14(4): 279-285.

[10] Si X, MeManus BM, Zhang J, et al. Pyrrolidine dithiocarbamate reduces Coxsackie virus B3 replication through inhibition of the ubiquitin-proteasome pathway[J]. J Virol, 2005, 79(13): 8014-8023.

[11] 王汉森, 马沛然, 孙毅平. 病毒性心肌炎患儿脂质过氧化改变及抗氧化药物作用的研究[J]. 山东医药, 2001, 41(14): 13-15.

[12] 罗永娇, 李双杰, 刘红英. 黄芪甲甙对小鼠柯萨奇 B3 病毒性心肌炎的抗氧化作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2008, 16(3): 205-208.

[13] 宋伟. 漏芦提取物对病毒性心肌炎心肌细胞的抗氧化作用观察[J]. 山东医药, 2008, 48(48): 45-46.

[14] 范柳芳. 参芪扶正注射液对病毒性心肌炎小鼠氧化损伤及细胞凋亡的影响[D]. 福州: 福建医科大学, 2011.

[15] 周晓春, 颜勇, 王宝忠, 等. 生黄合剂对病毒性心肌炎小鼠血清 SOD 活性和 MDA 含量的影响[J]. 承德医学院学报, 2008, 25(1): 10-12.

[16] 熊丁丁. 穿孔素与病毒性心肌炎[J]. 国外医学心血管疾病分册, 1996, 23(3): 134.

[17] 朱萱萱, 彭青. 中药治疗病毒性心肌炎的实验研究摄要[J]. 实用中医内科杂志, 2003, 17(4): 247-249.

[18] 何伟. 益气活血中药复方治疗 CVB3 病毒性心肌炎的实验研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2009.

[19] 王小稳. 淫羊藿总黄酮对病毒性心肌炎小鼠血清免疫调节因子水平的影响[J]. 郑州大学学报, 2012, 47(1): 61-63.

[20] 李锋, 高兴玉, 饶邦复, 等. 冬虫夏草提取液对实验性病毒性心肌炎小鼠免疫功能的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2006, 22(3): 321-323.

[21] 吕立勋, 姚荣妹. 抗毒补心胶囊对免疫功能低下小鼠免疫调节的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(18): 1493-1495.

[22] 刘奉琴, 王玉林. 芪芍五味子复方制剂对病毒性心肌炎小鼠免疫调节机制的研究[J]. 免疫学杂志, 2010, 26(9): 751-754.

(收稿:2012-05-11　修回:2013-06-20)

中国中西医结合杂志