

# 针刺对丹参酮 II A 治疗心肌缺血可能 增效作用机制的研究进展

陈 霞<sup>1</sup> 卢圣锋<sup>1,2</sup> 傅淑平<sup>1,2</sup> 景欣悦<sup>1,2</sup> 倪光夏<sup>1,2</sup> 朱冰梅<sup>1,2</sup>

冠心病心肌缺血由于发病率高,病死率高,严重危害着人民的健康和生活。据统计,2011 年仅心脏病死亡人数占总死亡原因的 21.3%,位居第 2 位,仅次于恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。目前针对该病的治疗主要是药物和手术,但在获得疗效的同时也存在一定局限性,例如药物的耐药性、手术治疗风险性及并发症等<sup>[2,3]</sup>。因此,探寻安全、有效的治疗冠心病心肌缺血的方法一直是医学界研究的热点和难点。基于中医从体表和体内整体调节人体功能、防治疾病模式提出的“针药结合”,或可为有效治疗心肌缺血提供新的思路。中医学史上,一直有针药并用、杂合以治的观点。已有研究证实<sup>[4-6]</sup>,以方药和针灸为代表的中医药疗法对心肌缺血具有良好的保护效应,越来越多的临床研究也表明<sup>[7,8]</sup>,针灸联合以丹参主要成分(丹参酮 II A 为主)为代表的药物治疗心肌缺血效应优于单纯针灸或药物,且显示出良好的“协同增效”效应,但该机制未深入研究,影响其临床更广泛应用和推广。本文拟根据丹参酮 II A 和针灸的研究现状及各自作用特点,结合心肌缺血生理病理特征,从调节血管内皮功能、抑制细胞内钙离子超载、抗心肌细胞凋亡、减轻炎症反应、改善能量代谢、调节心交感神经的兴奋性和促进心肌细胞再生等角度,试述该两者联合协同增效的可能机制,为进一步深入研究提供参考。

## 1 针刺协同加强丹参酮 II A 对缺血心肌的保护和修复效应

### 1.1 协同激活内源性保护物质,强化心肌抗缺血效应

内皮对血管功能的调节是通过调控 NO 与内皮素(endothelin, ET)的释放平衡来实现的,NO 是研究最多的内源性扩血管因子,既能拮抗  $\alpha$ -肾上腺素

能神经的缩血管反应,又参与  $\beta_2$ -肾上腺素能神经的扩血管作用,起到维持血管张力,抗血小板聚集、黏附的作用;ET 是内皮源性收缩因子中研究最多的血管收缩因子之一。心肌缺血缺氧时,血管内皮分泌生物活性物质 NO 与 ET 平衡失调,缩血管物质(ET)分泌增多,舒血管物质(NO)分泌减少,因而导致持续的血管收缩而加重心肌缺血和损伤。研究表明,丹参酮 II A 可通过调节 NO 生成相关途径来介导血管调控,如促进内皮型一氧化氮合酶磷酸化,L-精氨酸的吸收和氨基酸转运体的表达,同时抑制 ET-1 的表达<sup>[9]</sup>。同样,电针可上调心肌内源性保护物质 NO、一氧化氮合酶的水平,降低钙离子超载<sup>[10]</sup>,并抑制急性心肌缺血大鼠血清 ET 的释放<sup>[11]</sup>。可见,丹参酮 II A 和针刺都可以作为血管内皮源性保护物质,调节内皮细胞功能,保护缺血心肌,因此,从调节内皮源性保护物质角度入手,是研究其协同增效机制的重要方向。

### 1.2 协同保护血管内皮细胞,促进血管新生,恢复缺血心肌血流

磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶(protein-serine-threonine kinases, Akt)通路是细胞内重要的信号转导途径,其能直接磷酸化多种转录因子,在细胞增殖中发挥着重要作用。研究表明,丹参酮 II A 可激活 PI3K-Akt 通路,抑制 Jun 氨基末端激酶(Jun N-terminal kinase, JNK)介导的核因子- $\kappa$ B(nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)活化,从而减轻微血管内皮细胞损伤,保护心肌细胞<sup>[12]</sup>;同样,电针也可激活 PI3K/Akt 通路,上调 Akt(Ser-473)的磷酸化水平,减少 NF- $\kappa$ B 活化,产生缺血耐受作用<sup>[13]</sup>。另外,丹参酮 II A 还可直接上调血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达,增加毛细血管密度,促进侧支循环建立,增加缺血心肌血流,促使缺血心肌损伤修复;而电针不但能上调 VEGF 表达<sup>[14]</sup>,还能上调缺血心肌血管生成相关基因的 mRNA 和蛋白表达,刺激内皮细胞增殖,增加毛细血管密度,促进侧支循环建立,实现对心肌组织的保护<sup>[15,16]</sup>。因此,针刺和丹参酮 II A 在促血管新生作用靶点和通路上具有很大的相似性,为其联合使用产生

基金项目:江苏省普通高校研究生科研创新计划(No.CXZZ13\_0618);国家自然科学基金项目(No.81403478);中医学优势学科开放课题(No.YS2012ZYX405);国家重点基础研究发展计划(No.2012CB518501)

作者单位:1.南京中医药大学第二临床医学院(南京 210023);2.南京中医药大学针药结合省部共建教育部重点实验室(南京 210023)

通讯作者:朱冰梅, Tel: 025-85811235, E-mail: zhubm64@hotmail.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.11.1405

协同增效效应提供强有力支撑。

**1.3 协同抑制细胞内钙离子超载,减轻心肌细胞损伤** 心肌缺血缺氧时,由于三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)大量消耗, $\text{Na}^+/\text{H}^+$ 、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换机制及钙泵摄取钙离子功能降低,胞外的钙离子向胞内转移,而内质网回收钙降低,导致细胞内钙离子急剧升高,激活多种酶(如蛋白酶、磷脂酶、脂肪氧合酶等),使黄嘌呤脱氢酶向黄嘌呤氧化酶转化,促进自由基形成,膜磷脂降解,细胞膜完整性受破坏,线粒体功能结构受损,致心肌细胞损伤。研究表明丹参酮 II A 在缺血性损伤早期阶段即起作用,抑制细胞外的钙离子内流和细胞黏附<sup>[17]</sup>。细胞内钙离子水平降低进一步维持线粒体结构,促进 ATP 生成,增加 SOD 活性,从而减轻心肌细胞的缺氧损伤<sup>[18]</sup>。电针内关也可抑制心肌细胞内钙离子的升高而起到保护缺血心肌的作用<sup>[10,19]</sup>。可见抑制细胞内钙离子超载是针灸和丹参酮 II A 治疗心肌细胞损伤不可逆发展的共同途径。

**1.4 协同抗心肌细胞凋亡,介导心肌细胞存活**在急性心肌缺血过程中心肌细胞不仅发生坏死,也可发生凋亡。细胞凋亡是在生理和病理条件下的一种主动死亡方式,是可逆的、受细胞内和细胞外因子调控的生物学过程。目前研究较多的促凋亡物质有半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (Caspase-3)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)等,它们可通过降解细胞内相应的底物导致细胞凋亡;而 B 细胞淋巴瘤基因-2(B cell lymphoma-2, Bcl-2)是研究较多的抗凋亡基因。实验研究表明,丹参酮 II A 可调节线粒体凋亡信号通路,显著降低心肌细胞促凋亡因子 Bax 和 Caspase-3 的水平,减少细胞色素 C 的释放,提高抑凋亡因子 miR-133 和 Bcl-2 的水平,从而改善心肌缺氧状态<sup>[20,21]</sup>;同时,其也可通过调节抑制素 PHB 的表达而拮抗氧化应激损伤,减少心肌细胞凋亡<sup>[22]</sup>。而针刺可以明显降低 Caspase-3、TNF- $\alpha$ 、Bax 等促凋亡基因的表达,促进 Bcl-2 等抗凋亡基因的表达,从而抑制心肌细胞的凋亡,保护心肌细胞<sup>[23-27]</sup>。很显然,该两者者在抗心肌细胞凋亡方面具有强大的协同空间。

**1.5 协同减轻炎症反应,保护心肌组织** 心肌急性缺血后可出现心肌细胞的坏死,而炎症反应参与了发病的全过程,单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B 等是炎症、免疫反应的重要介质。研究表明,丹参酮 II A 可降低 MCP-1、TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B 等炎

性介质的表达水平并减少巨噬细胞浸润,从而减轻炎症反应,保护心肌组织<sup>[28]</sup>。针刺抗炎早有报道,其可通过调控 Haemorphin-7、TNF- $\alpha$  等炎症因子的释放,激活阿片受体,从而抑制炎症反应<sup>[29]</sup>。针刺还可通过增加谷胱甘肽和丙二醛的浓度,同时下调髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)的活性降低全身和局部的氧化应激反应和炎症反应<sup>[30]</sup>。抗炎是治疗缺血坏死性疾病的必经之路,是由多靶点多通路调节的,也是治疗心肌缺血的一个重要方向。

**1.6 协同保护线粒体,改善能量代谢,维护心肌细胞功能** 心肌缺血时,心肌处于乏氧状态,心肌糖原、琥珀酸脱氢酶和 ATP 酶有耗竭、脱失现象,能量代谢降低,而线粒体是能量代谢和自由基产生的主要场所。研究显示,丹参酮 II A 可增强 Akt 和糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (Glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ )的磷酸化水平,抑制 NF- $\kappa$ B 磷酸化水平,通过激肽 B2 受体-Akt-GSK-3 $\beta$  介导的信号通路调节线粒体超微结构的改变,从而维持线粒体功能,减轻心肌细胞的凋亡<sup>[31]</sup>。而针刺内关穴能直接上调缺血心肌组织糖原、琥珀酸脱氢酶和三磷酸腺苷酶的活性,增强能量代谢,另外还对其他缺血心肌差异表达基因有良性调节趋势<sup>[32]</sup>。有学者进一步深入研究针刺对急性心肌缺血大鼠缺血心肌基因表达谱的影响,结果发现针刺调节的功能模块主要涉及氧化磷酸化、线粒体电子传递、电子传递偶联三磷酸腺苷合成、能量代谢等方面,可见针刺能有效影响能量代谢过程<sup>[33]</sup>。因此值得从该角度进行深入研究。

**2 针灸增强并扩大丹参酮 II A 对缺血心肌保护和修复效应**

**2.1 调节心交感神经的兴奋性,增强并扩大对缺血心肌保护作用** 交感神经参与调节脏腑器官的活动,维持机体内、外环境的动态平衡,心交感神经的活动在一定程度上反映了机体对心血管反应的神经调节作用。环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)和环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)是交感神经递质的第二信使,两者相互作用维持着心脏信号转导和功能活动的完整性,研究发现,针刺可降低经穴皮肤内 cGMP 含量,调节第二信使功能,提高交感神经的放电频率,保护心肌缺血损伤<sup>[34]</sup>。针刺还可直接调节交感神经的兴奋性,不同频率电针“内关”穴均可能通过调整交感神经与迷走神经的失衡,促进自主神经功能的恢复,从而调节心交感神经的兴奋性,改善缺血心肌的功能<sup>[35,36]</sup>。单独使用丹参酮 II A 保护缺血心肌的机制

研究中还没有对植物神经系统的作用报道。而针刺可以从神经系统调节方面来改善缺血心肌的功能,是对药物治疗效应的一个有利补充。

**2.2 促进心肌细胞再生,加快心肌修复** 丹参酮 II A 可增加骨髓间充质干细胞在心肌梗死缺血区的迁移能力,促进心肌细胞的再生,有助于心脏功能的恢复<sup>[37]</sup>。研究表明,电针能有效加强 PI3K/AKT 信号转导通路的激活,促进内皮祖细胞归巢至缺血组织区,促进内皮细胞的再生,从而改善脑缺血功能<sup>[38]</sup>。同样,在以老化小鼠为对象的研究也显示,针灸能有效促进脑内神经干细胞的增殖、分化,改善脑功能<sup>[39]</sup>。可见,针刺不仅能增加干细胞的靶向分布,而且可以直接促进干细胞的分化而起治疗作用,这也为针刺促进心肌干细胞增殖、分化提供有力的佐证。因此,从该角度探索针灸扩大丹参酮 II A 治疗缺血心肌效应机制具有可行性。

### 3 总结与展望

心肌缺血的发生发展是一个由多靶点多基因调控的复杂过程,涉及到血管的损伤、能量代谢异常、细胞凋亡、炎症反应等多方面。针灸治疗作用的整体性已基本形成共识,其能有效地调节机体状态,从而利于机体对药物的吸收或者提高机体对药物应答。基于该认识,本研究提出了“针药结合协同增效”理论。

基于“针药结合协同增效”理论的针药结合疗法有机的体现了中医从体表和体内整体调节人体功能、防治疾病的特有模式。已有的研究也证实,针灸可能通过影响药物在体内的吸收、分布和代谢过程等,从而改变血药浓度、靶器官的药物浓度或药物的生物利用度,也可通过影响靶器官细胞上的特异性受体及其信号转导通路而改变细胞对药物的反应性或敏感性,最终起到增加疗效、或减少药量、或降低药物不良反应的作用<sup>[40]</sup>。这无疑为针灸增强丹参酮 II A 抗心肌缺血效应可行性提供有力的支撑。本文根据丹参酮 II A 与针灸的各自作用特点,从调节血管功能、抑制细胞内钙离子超载、保护线粒体、改善能量代谢、抗心肌细胞凋亡、减轻炎症反应、促进心肌细胞新生等多角度探讨了其协同增效的可能机制。相信随着这些机制的不断阐释和明确,必将为针灸联合丹参酮 II A 治疗心肌缺血临床应用提供更为科学的证据,从而推动其在临床上的广泛应用。

### 参 考 文 献

[1] 中华人民共和国卫生部. 2012 中国卫生统计年鉴 [DB/OL], <http://www.nhpc.gov.cn/htmlfiles/zwgkzt/ptnj/year2012/index2012.html>, 2012:10-1-6.

- [2] Patel MR, Dehmer GJ, Hirshfeld JW, et al. ACCF/SCAI/STS/AATS/AHA/ASNC 2009 appropriateness criteria for coronary revascularization [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 53(6): 530-553.
- [3] 崔晓红. 硝酸酯在冠心病治疗中的应用 [J]. *中国医药指南*, 2013, 11(18): 391-392.
- [4] Shang QH, Xu H, Huang L. Tanshinone II A: A promising natural cardioprotective agent [J]. *Evid-Based Complement Alternat Med*, Volume 2012 (ID: 716459).
- [5] Wei B, You MG, Ling JJ, et al. Regulation of antioxidant system, lipids and fatty acid  $\beta$ -oxidation contributes to the cardioprotective effect of sodium tanshinone II A sulphonate in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 230(1): 148-156.
- [6] 高宙, 胡疏, 王志坚, 等. 可视化发射 CT 评价针刺内关、心俞治疗冠心病心肌缺血的临床效应 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2013, 33(9): 1196-1198.
- [7] 赵捷, 石向东, 郑敏, 等. 针药并用治疗心血瘀阻型冠心病心绞痛 30 例 [J]. *上海中医药杂志*, 2013, 47(5): 50-51.
- [8] 詹艳, 邱春, 任金梅, 等. 丹参注射液结合针刺治疗冠心病心绞痛 48 例 [J]. *中国中医急症*, 2011, 20(11): 1854.
- [9] Pan C, Lou L, Huo Y, et al. Salvianolic acid B and Tanshinone II A attenuate myocardial ischemia injury in mice by NO production through multiple pathways [J]. *Ther Adv Cardiovasc Dis*, 2011, 5(2): 99-111.
- [10] 王超, 田岳凤, 周丹, 等. 电针“内关”穴对心肌缺血再灌注大鼠心肌组织一氧化氮、一氧化氮合酶和细胞内钙的影响 [J]. *针刺研究*, 2010, 35(4): 113-117.
- [11] 孔素平, 谭奇纹, 于慧娟, 等. 电针夹脊穴对急性心肌缺血大鼠血清 NO、ET 及 IL-1 $\beta$  的影响 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2011, 6(4): 333-335.
- [12] Wu WY, Wang WY, Ma YL, et al. Sodium tanshinone II A sulphonate inhibits oxygen-glucose deprivation/recovery-induced cardiomyocyte apoptosis via suppression of the NF- $\kappa$ B/TNF- $\alpha$  pathway [J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 169(5): 1058-1071.
- [13] 何二涛, 张霞婧, 马磊, 等. PI3K/Akt 通路在电针预处理诱导脑缺血耐受中的机制研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(7): 1215-1218.
- [14] Xu W, Yang J, Wu LM. Cardioprotective effects of Tanshinone II A on myocardial ischemia injury in rats [J]. *Pharmazie*, 2009, 64(5): 332-336.
- [15] 杨孝芳, 崔瑾, 刘小雨, 等. “内关”穴埋针对心肌缺血小

- 型猪心肌组织转化生长因子- $\beta$ 3 mRNA 和蛋白表达的影响[J]. 针刺研究, 2010, 35(4): 267-271.
- [16] 杨孝芳, 崔瑾, 刘小雨, 等. 内关穴位埋针心肌缺血损伤小型猪血管生长功能性基因的表达谱[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(37): 6857-6862.
- [17] Wang X, Wang Y, Jiang M, et al. Differential cardioprotective effects of salvianolic acid and tanshinone on acute myocardial infarction are mediated by unique signaling pathways[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 135(3): 662-671.
- [18] Jin HJ, Li CG. Tanshinone II A and cryptotanshinone prevent mitochondrial dysfunction in hypoxia-induced H9c2 cells: association to mitochondrial ROS, intracellular nitric oxide, and calcium levels[J]. Evid Based Complement Alternat Med, Mar 4, 2013, doi: 10.1155/2013/610694.
- [19] 杨孝芳, 王超, 易受乡, 等. 电针内关对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞内钙离子浓度的调节[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(34): 6759-6761.
- [20] Jin HJ, Xie XL, Ye JM, et al. Tanshinone II A and cryptotanshinone protect against hypoxia-induced mitochondrial apoptosis in H9c2 cells[J]. PLoS One, 2013, 8(1): e51720.
- [21] Feng J, Li SS, Liang QS. Effects of Tanshinone II A on the myocardial apoptosis and the miR-133 levels in rats with heart failure[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2012, 32(7): 930-933.
- [22] Yang P, Jia YH, Li J, et al. Study of anti-myocardial cell oxidative stress action and effect of tanshinone II A on prohibitin expression[J]. J Tradit Chin Med, 2010, 30(4): 259-264.
- [23] 蒋莉娅, 黄继人, 诸静芬, 等. 针刺邻门穴对心肌缺血大鼠作用及相关机制的实验研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2013, 19(4): 439-442.
- [24] 张臻年, 李继英, 赵杨, 等. 通络活络针刺疗法对大鼠急性脑梗死 Bcl-2 及 Caspase-3 的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(5): 646-650.
- [25] 王占奎, 倪光夏, 刘坤, 等. 脑缺血再灌注大鼠白细胞介素-1 受体与肿瘤坏死因子- $\alpha$  受体变化及针刺干预的时效性研究[J]. 中国针灸, 2012, 32(11): 1012-1018.
- [26] 阮甦, 张益伟. 针刺对急性脑梗死患者血清 IL-10、IL-6 水平的影响[J]. 新中医, 2012, 44(10): 102-105.
- [27] 孔素平, 张昕, 谭奇纹. 电针“夹脊”穴对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞凋亡及凋亡调控基因表达的影响[J]. 中国针灸, 2013, 33(6): 529-532.
- [28] Ren ZH, Tong YH, Xu W, et al. Tanshinone II A attenuates inflammatory responses of rats with myocardial infarction by reducing MCP-1 expression[J]. Phytomedicine, 2010, 17(3-4): 212-218.
- [29] Song CZ, Wang QW, Song CC. Does acupuncture modulate anti-inflammation via haemorphin in obesity[J]. Acupunct Med, Epub 2014 Mar 5.
- [30] Santos EL, Dias BH, de Andrade AC, et al. Effects of acupuncture and electroacupuncture on estradiol-induced inflammation and oxidative stress in health rodents[J]. Acta Cir Bras, 2013, 28(8): 582-588.
- [31] Sun D, Shen M, Li J, et al. Cardioprotective effects of Tanshinone II A pretreatment via kinin B2 receptor-Akt-GSK-3 $\beta$  dependent pathway in experimental diabetic cardiomyopathy[J]. Cardiovasc Diabetol, 2011, 10(4): 1-8.
- [32] 黄日龙, 张伟, 东贵荣. 电针内关穴对急性心肌缺血家兔心肌组织能量代谢的实验研究[J]. 针灸临床杂志, 2010, 26(12): 44-48.
- [33] 梁宪如, 席强, 李晓梅, 等. 针刺内关穴对急性心肌缺血大鼠缺血心肌基因表达谱的影响[J]. 天津中医药, 2012, 29(4): 349-355.
- [34] 丁娜, 李小泓, 嵇波, 等. 电针内关对心肌缺血大鼠经穴皮肤组织中环磷酸鸟苷的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(7): 46-48.
- [35] 吴子建, 龙迪和, 何璐, 等. 不同频率电针“内关”穴对急性心肌缺血模型家兔心交感神经电活动的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(6): 1551-1554.
- [36] 吴子建, 蔡荣林, 龙迪和, 等. 电针“神门”“太溪”穴对急性心肌缺血家兔心交感神经电活动的影响[J]. 针刺研究, 2010, 35(1): 32-36.
- [37] Tong Y, Xu W, Han H, et al. Tanshinone II A increases recruitment of bone marrow mesenchymal stem cells to infarct region via up-regulating stromal cell-derived factor-1/CXC chemokine receptor 4 axis in a myocardial ischemia model[J]. Phytomedicine, 2011, 18(6): 443-450.
- [38] 张珊珊, 罗勇, 武磊. PI3K/AKT 通路在电针促进局灶缺血再灌注大鼠脑内血管再生中的作用[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(23): 2488-2491.
- [39] 乔秀兰, 卢圣锋, 尹海燕, 等. 针灸对 SAMP8 小鼠皮层神经干细胞增殖分化的影响[J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(1): 38-41.
- [40] 崔晶晶, 高俊虹, 王玉敏, 等. 针药结合增效机制研究的新思路探讨[J]. 针刺研究, 2010, 35(2): 146-150.

(收稿:2014-04-04 修回:2014-08-19)