

本文引用: 覃浩昌, 杨 漾, 张慧卿, 郑淋淋, 李 扬, 余嗣澳, 陈 聪, 廖 菁. 芎芪方调控氧化三甲胺对心肌缺血再灌注损伤的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(5): 803-809.

芎芪方调控氧化三甲胺对心肌缺血再灌注损伤的影响

覃浩昌¹, 杨 漾¹, 张慧卿², 郑淋淋¹, 李 扬¹, 余嗣澳¹, 陈 聪^{1*}, 廖 菁^{1*}

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007

[摘要] **目的** 基于“心与小肠相表里”芎芪方调控氧化三甲胺(TMAO)保护心肌缺血再灌注损伤(MIRI)的作用机制。**方法** 将50只雄性SD大鼠随机分为假手术组、模型组、芎芪方组、3,3-二甲基-1-丁醇(DMB)组、芎芪方+DMB组, 每组10只。各给药组给予相应药物干预, 假手术组、模型组给予等体积生理盐水, 每天1次连续灌胃14 d。通过结扎大鼠冠状动脉左前降支的方法建立MIRI大鼠模型。造模结束后, 腹主动脉取血, HE染色观察心肌及空肠组织病理改变; ELISA法检测大鼠血清肌酸激酶同工酶MB(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6; 三重四级液相色谱-质谱联用技术检测大鼠血清TMAO水平。**结果** 与假手术组比较, 模型组大鼠心肌及空肠组织形态出现心肌纤维断裂、炎性浸润及空肠绒毛肿胀、断裂等病理损伤, 血清CK-MB、LDH、MDA、IL-1 β 、IL-6及TMAO水平均升高($P<0.05$), 而SOD活性降低($P<0.05$)。与模型组比较, 芎芪方组、DMB组、芎芪方+DMB组心肌及空肠组织损伤程度均有改善, 血清CK-MB、LDH、MDA、IL-1 β 、IL-6、TMAO水平降低($P<0.05$), SOD活性升高($P<0.05$)。与芎芪方组相比, DMB组大鼠心肌纤维断裂、心肌细胞变形、组织空泡增多的情况较严重, 血清CK-MB、LDH、MDA、IL-1 β 、TMAO水平明显升高($P<0.05$), SOD活性明显降低($P<0.05$)。芎芪方+DMB组大鼠心肌组织细胞轻微溶解, 有少量炎症细胞浸润, 细胞间隙变大, 血清CK-MB、LDH、MDA、IL-1 β 水平明显升高($P<0.05$)。与DMB组相比, 芎芪方+DMB组心肌纤维溶解、炎性浸润减轻, 但空肠绒毛肿胀加剧, 血清CK-MB、LDH、MDA、IL-1 β 、IL-6、TMAO水平降低($P<0.05$), SOD活性显著升高($P<0.05$)。**结论** “心与小肠相表里”是现代医学从肠论治MIRI患者的重要科学依据, 芎芪方可能通过调控TMAO介导的炎症信号通路, 减轻氧化应激及炎症级联反应, 从而在MIRI应激事件中对缺血再灌注心肌发挥预防性保护作用。

[关键词] 心肌缺血再灌注损伤; 心与小肠相表里; 氧化三甲胺; 川芎; 黄芪

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.05.004

Effects of Xiongqi Formula on myocardial ischemia-reperfusion injury by regulating trimethylamine N-oxide

QIN Haochang¹, YANG Yang¹, ZHANG Huiqing², ZHENG Linlin¹, LI Yang¹, YU Si'ao¹,

CHEN Cong^{1*}, LIAO Jing^{1*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

[Abstract] **Objective** To explore the mechanism of action of Xiongqi Formula (XQF) in regulating trimethylamine N-oxide (TMAO) to protect against myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) based on "the heart and small intestine being exteriorly and interiorly related to each other". **Methods** Fifty male Sprague-Dawley rats were randomly divided into five groups (10 rats per group): sham-operated, model, XQF 3,3-dimethyl-1-butanol (DMB), and XQF+DMB. The sham-operated and model groups received an

[收稿日期] 2025-03-10

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81704065); 湖南省自然科学基金项目(2023JJ30455, 2025JJ60804); 湖南省教育厅科学研究项目(22A0274, 23C0172); 湖南省中医药科研计划项目(A2023030, B2023022); 湖南中医药大学研究生创新项目(2023CX172); 湖南中医药大学平台开放基金项目(2022FPKFJJ04)。

[通信作者] *廖 菁, 男, 博士, 教授, 硕士研究生导师, E-mail: 304906848@qq.com; 陈 聪, 女, 硕士, 教授, 硕士研究生导师, E-mail: 003613@hnu.cm.edu.cn。

equivalent volume of saline. All groups underwent intragastric administration for 14 consecutive days. The MIRI model was established by ligating the rat left anterior descending coronary artery. After modeling, blood was collected from the rat abdominal aorta. HE staining was used to observe histopathological changes in the rat myocardial and jejunal tissues. ELISA was used to determine serum creatine kinase isoenzyme MB (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), interleukin (IL)-1 β , and IL-6 in rats. Triple quadrupole liquid chromatography-mass spectrometry was used to measure serum TMAO levels in rats. **Results** Compared with the sham-operated group, the rat myocardial and jejunal tissues in the model group showed pathological damage such as myocardial fiber rupture, inflammatory infiltration, and jejunal villus swelling and rupture. The serum levels of CK-MB, LDH, MDA, IL-1 β , IL-6, and TMAO significantly increased ($P<0.05$), while the SOD activity decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, the XQF, DMB, and XQF+DMB groups showed attenuated myocardial and jejunal damage, with reduced serum CK-MB, LDH, MDA, IL-1 β , IL-6, and TMAO levels ($P<0.05$) and increased SOD activity ($P<0.05$). Compared with the XQF group, the DMB group displayed more severe myocardial fiber rupture, cardiomyocyte deformation, vacuolization, elevated serum CK-MB, LDH, MDA, IL-1 β , and TMAO levels ($P<0.05$), and reduced SOD activity ($P<0.05$). The XQF + DMB group showed mild myocardial cell dissolution, slight inflammatory infiltration, widened intercellular spaces, and increased CK-MB, LDH, MDA, and IL-1 β levels ($P<0.05$). Compared with the DMB group, myocardial fiber dissolution and inflammatory infiltration in the XQF+DMB group were alleviated but jejunal villus swelling was aggravated; the serum CK-MB, LDH, MDA, IL-1 β , IL-6, and TMAO levels decreased ($P<0.05$), while the SOD activity increased ($P<0.05$). **Conclusion** "The heart and small intestine being exteriorly and interiorly related to each other" is an important scientific basis for modern medicine to treat MIRI from the perspective of the intestine. XQF may exert a preventive protective effect against myocardial ischemia-reperfusion in MIRI stress events by regulating the TMAO-mediated inflammatory signaling pathway and thereby alleviating oxidative stress and inflammatory cascade.

[**Keywords**] myocardial ischemia-reperfusion injury; the heart and small intestine being exteriorly and interiorly related to each other; trimethylamine N-oxide; Chuanxiong (Chuanxiong Rhizoma); Huangqi (Astragali Radix)

缺血性心脏病是指因冠状动脉狭窄或闭塞,导致心肌组织因供血不足而发生缺氧、缺血,甚至坏死而引起的心脏病,是心血管疾病患者死亡的重要原因,严重危害人类健康^[1]。随着现代医学的发展,及时采用药物溶栓或经皮冠状动脉介入治疗快速恢复阻塞血管,进行再灌注治疗仍是治疗心肌缺血的最佳策略。当缺血心肌恢复血液再灌注后,原缺血部位可能会出现心肌损伤加剧,这种心肌组织二次受损事件称为心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI),其严重影响缺血性心脏病患者的预后效果^[2-4]。因此,探索新的策略来减轻 MIRI 成为心血管疾病治疗亟待解决的重要问题。

目前, MIRI 的发病机制尚不明晰,除了氧化应激、炎症反应和线粒体损伤外, MIRI 的发生发展也可能与人体的肠道菌群失衡有关^[5]。肠道微生物代谢物存在的某些成分可以通过肠道黏膜屏障,并从肠道转移到全身血液循环中,随着代谢能力减弱,有害代谢物逐渐累积进一步对人体造成病理性伤害。氧化三甲胺(trimethylamine N-oxide, TMAO)系肠道菌群代谢含氮化合物生成三甲胺(trimethylamine, TMA)后,经肝脏黄素单加氧酶 3(flavin-containing monooxygenase 3, FMO3)催化氧化形成的代谢终产物。研究表明, TMAO 可通过介导血小板过度活化、促炎性细胞因子释放、线粒体自噬调控异常及细胞

焦亡通路激活等分子机制,直接参与 MIRI^[6-8]。根据肠道微生态与心脏之间的双向信号传递提出的“心-肠轴”学说与中医学“心与小肠相表里”理论相契合。研究发现,肠道菌群代谢产物可以通过多种途径参与心血管疾病的发生发展,而中药及其复方具有广泛的药理活性,可以通过多靶点、多途径预防和治疗 MIRI^[9]。课题组前期研究发现,芎芪方在临床防治缺血性心脏病过程中疗效确切,动物实验显示,该方对 MIRI 模型动物有心肌保护作用^[10],但目前对于该方是否通过改善肠道菌群代谢紊乱从而发生保护心肌的作用尚不明确,其作用机制有待进一步阐明。

因此,本研究以中医学“心与小肠相表里”为理论基础,以 TMAO 肠道菌群代谢途径为切入点,研究芎芪方对雄性 SD 大鼠 MIRI 模型心肌和空肠组织形态以及各项血清学指标的影响,进而探讨芎芪方对 MIRI 的保护效应及分子机制,为临床防治 MIRI 提供新的思路和实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验大鼠均由湖南中医药大学实验动物中心统一从湖南斯莱克景达实验动物有限公司订购,购进 50 只雄性 SD 大鼠, SPF 级,体质量(220 \pm 20) g,动

物合格证号:430727241103644364,许可证号:SCXK(湘)2021-0002。饲养于湖南中医药大学实验动物中心清洁级动物房(相对湿度50%~70%,温度23~25℃,昼夜交替),普通饲料,自由摄食饮水。本实验由湖南中医药大学伦理委员会批准,动物实验伦理编号:HNUCM21-2409-04。

1.2 实验药物

芎芪方[黄芪20g(批号:SN24080506)、川芎20g(批号:SN24080509)]中饮片由湖南中医药大学第一附属医院提供,经湖南中医药大学中药鉴定教研室龚力民教授鉴定,均为正品。将川芎和黄芪一起放入水中,浸泡约30min,清水煎煮。第一次煎煮用药物总剂量的6倍水,煎煮约1.5h;第二次用总剂量的3倍水,煎煮约1.5h,用纱布过滤药液,将两次煎煮的药液混合,并浓缩为 $3.6\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (含生药),于4℃冰箱保存备用。

氧化三甲胺前体TMA抑制剂:3,3-二甲基-1-丁醇(3,3-dimethyl-1-butanol, DMB)^[11]购自湖南科航生物科技有限公司(批号:HY-W012977,规格:500mg)。

1.3 主要试剂

大鼠肌酸激酶同工酶MB(creatine kinase isoenzyme-MB, CK-MB)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6 ELISA 科研试剂盒(江苏晶美生物科技有限公司,批号:J3500-A、J3480-A、J3262-A、J8503-A、J2923-A、J3066-A);HE 染液套装(北京兰杰柯科技有限公司,批号:BL700A);4%多聚甲醛通用型组织固定液(武汉博士德生物工程有限公司,批号:BL539A);甲醇、乙腈、异丙醇(赛默飞世尔科技中国有限公司,批号:A452-4、A955-4、A452-4);甲酸铵(美国Sigma公司,批号:516961);甲酸(美国Honeywell公司,批号:94318)。

1.4 主要仪器

TG16W型微型离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司);JXFSTPRT-CL型研磨仪(上海净信实业有限公司);352型酶标仪、AC8型洗板机(赛默飞世尔科技中国有限公司);JP-100型超声仪(深圳市洁盟清洗设备有限公司);6500/5500QTRAP型质谱仪(上海爱博才思分析仪器贸易有限公司);1290 Infinity UPLC型超高效液相色谱仪(安捷伦科技中国有限公司);XBridge BEH HILIC XP色谱柱(2.5 μm , 2.1 mm \times 100 mm)(沃特世科技上海有限公司)。

1.5 动物分组及给药

将50只雄性SD大鼠按照随机数字表法分为5组:假手术组、模型组、芎芪方组、DMB组、芎芪方+DMB组,每组10只。适应性喂养7d后,芎芪方组开始予以芎芪方口服灌胃给药14d,大鼠给药剂量参考课题组前期实验^[12]最佳给药剂量 $7.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,末次给药12h后,进行手术造模。DMB组予以TMA抑制剂DMB($0.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)口服灌胃给药14d^[13-14],每天1次,末次给药12h后,进行手术造模。芎芪方+DMB组予以等剂量芎芪方($7.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)与DMB($0.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)口服灌胃给药14d,末次给药12h后,进行手术造模。模型组予以等体积生理盐水口服灌胃给药14d,末次灌胃12h后,进行手术造模。假手术组动物造模前14d同模型组,造模时行气管插管、手术穿线,但不予结扎。

1.6 模型制备与取材

手术造模制备心肌缺血再灌注动物模型^[15],采用3%戊巴比妥钠按照 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体质量进行腹腔注射麻醉,麻醉成功后,切开气管,于切口处进行气管插管并接小动物呼吸机,沿左胸第4或第5肋间切开,于心尖搏动最强点处暴露心脏。以冠状动脉主干为标志,于左心耳根部下方2mm处进针,用6-0手术缝合线结扎左前冠状动脉降支30min。观察左侧心肌壁发白,连接心电图机检测,以ST段出现弓背抬高,QRS波群改变,J点偏移超过0.1mV为结扎标志,结扎30min后放松扎线,观察梗死区心肌充血,心电图显示ST段回落1/2为再灌注成功标志,再灌注120min,形成再灌注模型。假手术组仅穿线不结扎。腹主动脉取血,4℃、3000r/min(离心半径5.5cm)离心10min后取上层血清用于指标检测。完成取血后,用生理盐水冲洗心脏,取下完整心脏和2cm空肠段组织,病理染色观察所用样本,用4%多聚甲醛液进行固定。

1.7 HE染色观察大鼠心肌及空肠组织损伤情况

将取出的大鼠心脏组织、空肠组织,放入装有4%多聚甲醛溶液中固定后,依次置于不同浓度乙醇内梯度脱水,二甲苯透明后,浸蜡包埋成组织块,将组织块连续切片,摊平后用载玻片捞片,烘干后脱蜡复水,HE染色,封片,光镜下观察。

1.8 ELISA法检测大鼠血清CK-MB、LDH、MDA、SOD、IL-6、IL-1 β 水平

在-80℃冰箱中取出保存的大鼠血清,严格按照相应的ELISA试剂盒操作方法测定大鼠血清中CK-MB、LDH、MDA、SOD、IL-6、IL-1 β 水平,不同指

标加入试剂及反应时间不同。

1.9 三重四级杆液相色谱-质谱联用技术检测大鼠血清 TMAO 水平

1.9.1 色谱条件 色谱柱: XBridge BEH HILIC XP 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 2.5 μm); 流动相 A: 10 mmol/L 甲酸铵+0.4% 甲酸水溶液; 流动相 B: 0.4% 甲酸乙腈溶液。梯度梯度: 0~1.5 min, 95% B; 1.5~7.0 min, 95%~85% B; 7.0~7.1 min, 85%~50% B; 7.1~10.0 min, 50% B; 10.0~10.5 min, 50%~90% B; 10.5~14.5 min, 90% B。流速为 0.4 mL/min, 进样量为 2 μL, 柱温 25 ℃。

1.9.2 质谱分析 采用质谱仪在 ESI 正离子模式下进行质谱分析。质谱参数: 雾化气温度 550 ℃, 离子源气体 1 参数设置为 55, 离子源气体 2 参数设置为 55, 气帘气参数设置为 40, 喷雾电压 4.5 kV, 采用 MRM 模式测试待测离子对。TMAO 标准曲线为 $y = 0.057\ 62x + 0.018\ 82$, $r = 0.999\ 59$ 。

1.10 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计软件进行分析, 计量资料结果用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示, 资料满足正态分布及方差齐性, 组间比较采用单因素方差分析, 资料不满足正态分布及方差齐性, 用 *Kruskal-Wallis* 秩和检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠心肌组织病理形态比较

假手术组大鼠心肌细胞形态规则, 大小较为一致, 细胞核染色质均匀, 无核仁增大或核分裂现象, 心肌纤维排列整齐, 无断裂、溶解等现象; 模型组大鼠心肌细胞形态不规则, 细胞间出现大小不等的空泡, 心肌纤维断裂以及炎性细胞浸润; 与模型组相

比, 芎芪方组、DMB 组、芎芪方+DMB 组大鼠心肌纤维损伤、炎症细胞浸润、心肌细胞变形和血管充血的情况有所减轻, 其中芎芪方组大鼠心肌损伤病变程度最低; 与芎芪方组相比, DMB 组大鼠心肌纤维断裂、心肌细胞变形、组织空泡增多的情况较严重, 芎芪方+DMB 组大鼠心肌组织细胞轻微溶解, 有少量炎症细胞浸润, 细胞间隙变大等情况; 与 DMB 组相比, 芎芪方+DMB 组大鼠心肌组织损伤程度明显改善。详见图 1。

2.2 各组大鼠空肠组织形态比较

假手术组空肠组织结构完整清晰, 层次分明, 黏膜界限清晰, 杯状细胞完整; 模型组空肠绒毛出现断裂、肿胀, 黏膜界限模糊, 杯状细胞变形, 见大量炎症细胞浸润; 与模型组相比, 芎芪方组空肠绒毛断裂、肿胀情况减轻, 黏膜界限较清晰, 杯状细胞少量形变并伴有少量炎症细胞浸润; 与芎芪方组相比, DMB 组空肠绒毛断裂、肿胀, 黏膜界限较模糊, 杯状细胞变形, 见较多炎症细胞, 芎芪方+DMB 组空肠绒毛无断裂, 但存在肿胀情况, 伴有炎症细胞浸润; 与 DMB 组相比, 芎芪方+DMB 组空肠绒毛断裂情况减轻, 但绒毛肿胀情况较严重, 炎症细胞较少。详见图 2。

2.3 各组大鼠血清 CK-MB、LDH、MDA、SOD 含量比较

与假手术组相比, 模型组血清 CK-MB、LDH、MDA 含量均升高 ($P < 0.05$), 而 SOD 含量降低 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 芎芪方组、DMB 组、芎芪方+DMB 组血清 CK-MB、LDH、MDA 含量均降低 ($P < 0.05$), 而 SOD 含量均升高 ($P < 0.05$); 与芎芪方组相比, DMB 组、芎芪方+DMB 组血清 CK-MB、LDH、MDA 含量均明显降低 ($P < 0.05$), 而 SOD 含量均明显升高 ($P < 0.05$); 与 DMB 组相比, 芎芪方+DMB 组血清 CK-MB、LDH、

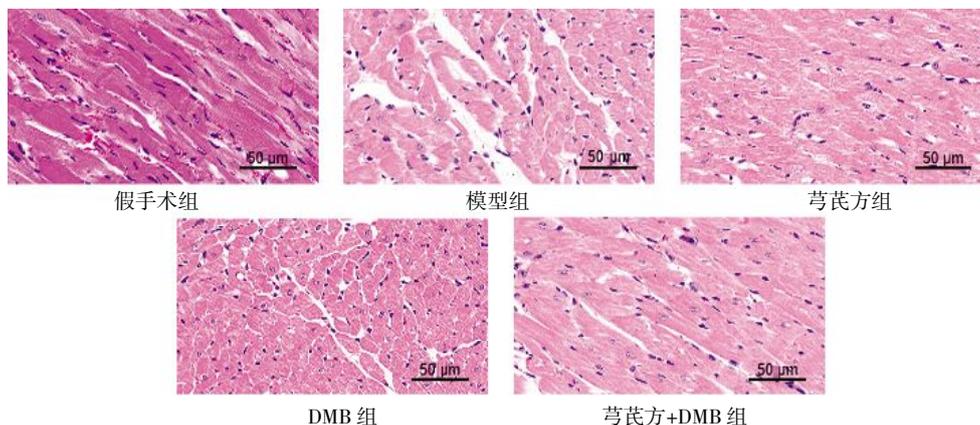


图 1 各组大鼠心肌组织 HE 染色结果(HE, ×400)

Fig.1 HE staining of the heart tissues in each group of rats (HE, ×400)

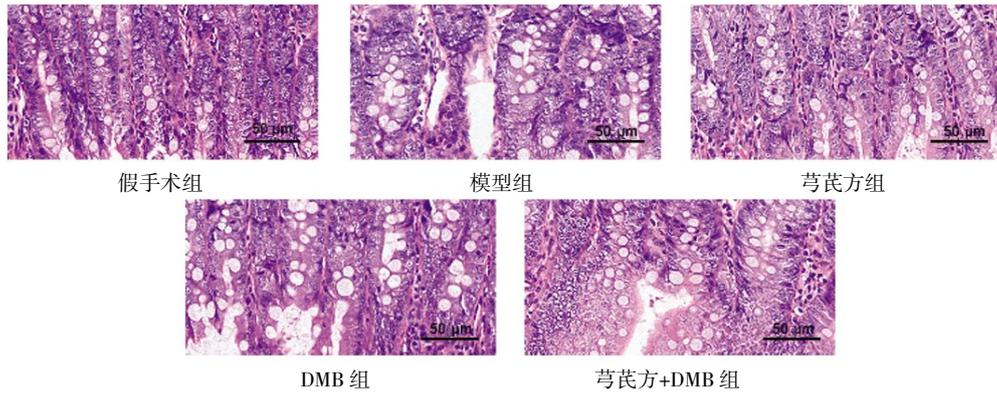


图 2 各组大鼠空肠组织 HE 染色结果(HE, ×400)

Fig.2 HE staining of the jejunal tissues in each group of rats (HE, ×400)

表 1 各组大鼠血清 CK-MB、LDH、MDA、SOD 水平比较($\bar{x}\pm s, n=10$)Table 1 Comparison of the serum levels of CK-MB, LDH, MDA, and SOD among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	LDH/(ng·mL ⁻¹)	CK-MB/(ng·mL ⁻¹)	SOD/(pg·mL ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)
假手术组	42.53±3.29	25.03±0.92	62.84±4.34	9.08±0.57
模型组	56.38±2.05*	30.50±1.43*	37.09±2.05*	12.15±0.31*
芎芪方组	47.20±2.16 [#]	26.65±1.16 [#]	53.65±2.13 [#]	10.18±0.35 [#]
DMB 组	50.77±1.70 ^{#*}	28.37±1.25 ^{#*}	45.86±2.28 ^{#*}	10.92±0.36 ^{#*}
芎芪方+DMB 组	49.31±2.35 ^{#*Δ}	27.24±1.49 ^{#*Δ}	49.96±2.51 ^{#*Δ}	10.73±0.45 ^{#*Δ}

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与芎芪方组比较,^{*} $P<0.05$;与 DMB 组比较,^Δ $P<0.05$ 。

MDA 含量均明显降低($P<0.05$),SOD 含量升高($P<0.05$)。详见表1。

2.4 各组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 含量比较

与假手术组相比,模型组血清 IL-1 β 、IL-6 含量升高($P<0.05$);与模型组相比,芎芪方组、DMB 组、芎芪方+DMB 组血清 IL-1 β 、IL-6 含量下降($P<0.05$);与芎芪方组比较,DMB 组、芎芪方+DMB 组血清 IL-1 β 含量明显下降($P<0.05$);与 DMB 组相比,芎芪方+DMB 组血清 IL-1 β 、IL-6 含量下降($P<0.05$)。详见表 2。

表 2 各组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 水平比较($\bar{x}\pm s, n=10$)Table 2 Comparison of the serum levels of IL-1 β and IL-6 among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

分组	IL-1 β /(ng·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)
假手术组	42.44±1.09	115.97±5.52
模型组	53.86±1.31*	144.09±4.83*
芎芪方组	47.62±2.28 [#]	124.16±5.53 [#]
DMB 组	50.23±2.05 ^{#*}	135.77±5.78 [#]
芎芪方+DMB 组	48.25±2.24 ^{#*Δ}	131.14±5.76 ^{#Δ}

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与芎芪方组比较,^{*} $P<0.05$;与 DMB 组比较,^Δ $P<0.05$ 。

2.5 各组大鼠血清 TMAO 含量比较

与假手术组相比,模型组血清 TMAO 含量升高($P<0.05$);与模型组相比,芎芪方组、DMB 组、芎芪方+DMB 组均能降低血清 TMAO 水平($P<0.05$);与芎芪方组比较,DMB 组血清 TMAO 水平明显升高($P<0.05$);与 DMB 组相比,芎芪方+DMB 组血清 TMAO 水平显著降低($P<0.05$)。详见表 3。

表 3 各组大鼠血清 TMAO 水平比较($\bar{x}\pm s, n=5$)Table 3 Comparison of the serum levels of TMAO among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	TMAO/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
假手术组	174.31±37.34
模型组	417.41±43.18*
芎芪方组	253.03±27.51 [#]
DMB 组	350.17±7.20 ^{#*}
芎芪方+DMB 组	312.34±22.75 ^{#Δ}

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与芎芪方组比较,^{*} $P<0.05$;与 DMB 组比较,^Δ $P<0.05$ 。

3 讨论

MIRI 在中医学中归属于“胸痹”“心痛”范畴。中医学认为胸痹属于本虚标实之证,本虚以气血阴阳亏虚为本,标实则常表现为痰浊、寒凝、气滞、血瘀等

病理产物积聚^[16]。气是血生成和运行的动力,气虚则血瘀。临床调查发现缺血性心脏病中,“本虚”中气虚占 74.4%，“标实”中血瘀占 84.8%，治疗多以益气活血法为主^[17]。芎芪方以川芎-黄芪为核心药对,具有补气活血的功效^[18]。黄芪益气升阳、养血通络,川芎活血行气、祛瘀通络,两药相伍通过补气促血行、活血助气运,协同发挥益气养血、通脉止痛之效。黄芪甲苷可抗氧化应激、抑制炎症反应、抑制心肌细胞凋亡^[19];川芎嗪可抑制细胞凋亡、抗氧化应激、调控自噬,改善 MIRI^[20]。现代药理学研究表明,黄芪甲苷可通过促进特定益生菌增殖、调节肠道菌群结构以恢复代谢稳态,同时通过调控心肌炎症信号通路发挥抗炎及自噬调节作用,从而改善心功能^[21]。川芎嗪则能通过提升厚壁菌门/拟杆菌门比值优化肠道菌群结构,改善肠道微环境并促进血管微循环^[22-23]。胸痹的核心病机为心气不足、心血失于推运所致的脉络痹阻症候^[24]。基于“心与小肠相表里”理论,在疾病发作期,心气亏虚导致小肠“受盛化物”与“泌别清浊”功能失常,引发气血生化之源、浊邪内蕴的病理状态。临床多表现为胸痛窒闷、劳则加剧,伴气短自汗、心悸怔忡、面色㿗白或晦暗、舌胖淡紫、脉细涩等症,治则当以“补肠益气养心,活血通络”立法,通过恢复小肠运化之职可资气血生化之源。若因水液代谢失常,痰湿壅滞、气机痹阻引发胸痹,临床多表现为胸痛如锥刺、痛位固定或彻背而痛,伴面色紫暗、肢端麻木、舌质紫暗瘀斑、舌下络脉迂曲、脉涩等症,治当以“活血化痰”为法,通利肠腑血气以消散心络痰瘀互结。现代研究证实,慢性气血亏虚可致肠道微循环障碍,导致肠屏障功能破坏、菌群移位及全身炎症反应,形成恶性循环^[25-28]。中医治疗以活血化痰法贯穿心肠同治全程,通过促进气血循行、修复脉道功能,实现心脉瘀阻与肠腑壅滞的双向调节。从功能上看,小肠泌别清浊之功与现代医学肠道菌群的生理作用具有内在一致性^[29]。川芎与黄芪的临床应用充分体现了“肠腑强健以养心脉”的治疗理念,其调控肠道微生态与改善心血管功能的双重机制为中医理论提供了现代科学阐释。

TMAO 是由肠道菌群代谢胆碱、肉碱等前体物质生成 TMA,经肝脏 FMO3 氧化后形成的肠道菌群代谢物,其水平升高可激活全身炎症信号、促进血小板聚集,加剧心肌炎症浸润与微血管损伤,增加心血管疾病风险^[30]。在缺血性心脏病中,TMAO 可以影响

在心肌细胞中丙酮酸和脂肪酸氧化,从而降低能量代谢和线粒体功能,并对心肌收缩功能产生负面影响;在内皮细胞中 TMAO 可以抑制活性氧诱导炎症因子释放^[31]。研究表明,高胆碱膳食联合 TMAO 干预的可显著促进心肌梗死小鼠模型心肌梗死区域巨噬细胞浸润,加剧心肌纤维化及心功能恶化^[32]。IL-1 β 能够激活内皮细胞和免疫细胞,促进包括 IL-6 在内的其他炎症介质释放并加重 MIRI^[33]。IL-6 能够激活巨噬细胞和中性粒细胞,诱导中性粒细胞胞外诱捕网的形成,并加重微血管阻塞^[34]。另外,高水平 TMAO 通过破坏肠道通透性进入血液循环,可能会激活炎症信号,促进 IL-1 β 、IL-6 表达,加剧心肌炎症浸润^[35]。本研究结果显示,芎芪方可显著缓解 MIRI 大鼠的心肌纤维断裂、炎症浸润及空肠绒毛损伤,其保护作用可能通过抑制氧化应激与细胞膜损伤,同时抑制肠道源性 TMAO 生成、阻断炎症级联反应,从而减轻心肌微血管阻塞和炎症浸润。另外,DMB 单用对心肠损伤改善有限,与芎芪方联用虽进一步降低 TMAO 及炎症因子水平,但诱发空肠绒毛肿胀,提示联合干预可能因菌群失衡导致肠腑功能障碍。

综上所述,本研究基于“心与小肠相表里”理论探讨芎芪方调控 TMAO 发挥保护 MIRI 的科学性,并通过动物实验进行验证,结果表明,芎芪方可能通过增强肠道屏障功能,抑制 TMAO 生成,减少 IL-1 β 、IL-6 等炎症因子表达,下调血管炎症,从而发挥其对缺血再灌注心肌的保护作用。课题组后续将进行芎芪方干预肠道菌群变化的具体研究,并完善相关机制验证。本研究为现代医学从肠治心提供了理论支撑,并为临床运用芎芪方防治缺血性心脏病提供了新的治疗思路和实验依据。

参考文献

- [1] 刘明波,王增武,樊静,等.《中国心血管健康与疾病报告 2023》要点解读[J]. 中国心血管病研究, 2024, 22(7): 577-593.
- [2] ZHANG S, YAN F, LUAN F, et al. The pathological mechanisms and potential therapeutic drugs for myocardial ischemia reperfusion injury[J]. *Phytomedicine*, 2024, 129: 155649.
- [3] ZHANG H H, HU H L, ZHAI C L, et al. Cardioprotective strategies after ischemia-reperfusion injury[J]. *American Journal of Cardiovascular Drugs*, 2024, 24(1): 5-18.
- [4] WANG Q, ZUURBIER C J, HUH N R, et al. Pharmacological cardioprotection against ischemia reperfusion injury—the search for a clinical effective therapy[J]. *Cells*, 2023, 12(10): 1432.

- [5] VIDEJA M, VILSKERSTS R, SEVOSTJANOVŠ E, et al. Data on cardiac and vascular functionality in ex vivo and in vivo models following acute administration of trimethylamine N-oxide[J]. *Data in Brief*, 2023, 46: 108890.
- [6] EMONDS J J, RINGEL C, REINICKE M, et al. Influence of trimethylamine N-oxide on platelet activation[J]. *Nutrients*, 2022, 14(16): 3261.
- [7] SELDIN M M, MENG Y H, QI H X, et al. Trimethylamine N-oxide promotes vascular inflammation through signaling of mitogen-activated protein kinase and nuclear factor- κ B[J]. *Journal of the American Heart Association*, 2016, 5(2): e002767.
- [8] YI Z Y, PENG Y J, HUI B P, et al. Zuogui-Jiangtang-Yishen decoction prevents diabetic kidney disease: Intervene pyroptosis induced by trimethylamine n-oxide through the mROS-NLRP3 axis[J]. *Phytomedicine*, 2023, 114: 154775.
- [9] 乐琬琪, 廖景瑜, 张榆浩, 等. 肠道菌群作为中药治疗心血管疾病的靶标: 潜在的机制和治疗策略[J]. *药科学报*, 2023, 58(8): 1988-1999.
- [10] 陈 铭, 陈 聪, 廖 菁, 等. 基于网络药理学及实验验证探讨芎芪方治疗心肌缺血再灌注损伤的作用机制[J]. *湖南中医药大学学报*, 2024, 44(2): 266-277.
- [11] CRACIUN S, MARKS J A, BALSUKUS E P. Characterization of choline trimethylamine-lyase expands the chemistry of glyceryl radical enzymes[J]. *ACS Chemical Biology*, 2014, 9(7): 1408-1413.
- [12] 陈 铭. 基于“血荣气卫论”探究芎芪方介导 NETs 防治 MIRI 作用机制[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2024.
- [13] WANG Z N, ROBERTS A B, BUFFA J A, et al. Non-lethal inhibition of gut microbial trimethylamine production for the treatment of atherosclerosis[J]. *Cell*, 2015, 163(7): 1585-1595.
- [14] 王鑫楠, 刘丽芳. 3,3-二甲基-1-丁醇抑制肠道三甲胺生成可缓解溃疡性结肠炎及继发性肝损伤[J]. *中国药科大学学报*, 2024, 55(2): 246-256.
- [15] 陈 聪, 成细华, 任 婷, 等. 加味丹参饮作用内源性 H2S 合成途径保护心肌缺血/再灌注损伤的实验研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2019, 39(10): 1183-1188.
- [16] 张婉勤, 吕仕超, 朱亚萍, 等. 冠心病气虚血瘀证的证候学研究现状[J]. *中医杂志*, 2021, 62(12): 1092-1096.
- [17] 陈 颖, 薛崇祥, 杨德爽, 等. 基于 Meta 分析探讨益气活血类中药防治冠心病 PCI 术后狭窄的优势[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2022, 20(14): 2497-2507.
- [18] 蔡双洁, 方居正. 川芎及其药对研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2024, 42(8): 244-248.
- [19] 辛二旦, 张育贵, 边甜甜, 等. 黄芪甲苷对心血管疾病的作用机制研究状况[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(17): 2580-2585.
- [20] 陈乘波, 陈天宝, 许友榜. 川芎嗪通过 JAK2/STAT3 信号通路调节线粒体自噬减轻心肌缺血再灌注损伤的机制研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(7): 819-823.
- [21] 王 进, 左莉莉, 高琛琛. 芪苈强心胶囊对慢性心力衰竭患者肠道菌群、血浆 TNF- α 、IL-1 β 、H-FABP 和 TMAO 水平及心功能的影响[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2024, 16(12): 2329-2332, 2337.
- [22] 隋国媛, 赵 娜, 宋 囡, 等. 化痰祛痰方对 ApoE^{-/-}动脉粥样硬化模型小鼠肠道菌群驱动 TMA/FMO3/TMAO 通路的影响[J]. *中医杂志*, 2021, 62(8): 700-706.
- [23] 余海龙, 黄淑芬, 江 玉. “治血先治风”应用及研究进展[J]. *实用中医内科杂志*, 2022, 36(7): 24-26.
- [24] 秦明慧, 钱海兵. 中药防治急性心肌梗死的研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2022, 20(4): 658-662.
- [25] 王 一. 苓桂术甘汤加味治疗慢性心功能不全的临床效果及对心功能分级的影响[J]. *中国现代药物应用*, 2021, 15(1): 224-226.
- [26] PIAO X H, LIU B H, SUI X D, et al. Picoside II improves severe acute pancreatitis-induced intestinal barrier injury by inactivating oxidative and inflammatory TLR4-dependent PI3K/AKT/NF- κ B signaling and improving gut microbiota[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 2020: 3589497.
- [27] 巩 雪, 陈守强, 高 蕾. 从小肠论治胸痹 1 例[J]. *内蒙古中医药*, 2013, 32(22): 180-181.
- [28] 李馨雅, 姜钧文, 张 妮. 基于“心-脾-肠”轴的肠道菌群与冠心病理论探讨[J]. *实用中医内科杂志*, 2024, 38(9): 50-53.
- [29] 冯骁腾, 杜 敏, 张一凡, 等. 从小肠“泌别清浊”功能失调探讨中医防治冠状动脉粥样硬化性心脏病思路[J]. *时珍国医国药*, 2022, 33(12): 2982-2985.
- [30] AHMADMEHRABI S, WILSON TANG W H. Gut microbiome and its role in cardiovascular diseases[J]. *Current Opinion in Cardiology*, 2017, 32(6): 761-766.
- [31] DAY-WALSH P, SHEHATA E, SAHA S, et al. The use of an in-vitro batch fermentation (human colon) model for investigating mechanisms of TMA production from choline, L-carnitine and related precursors by the human gut microbiota[J]. *European Journal of Nutrition*, 2021, 60(7): 3987-3999.
- [32] YANG W L, ZHANG S N, ZHU J B, et al. Gut microbe-derived metabolite trimethylamine N-oxide accelerates fibroblast-myofibroblast differentiation and induces cardiac fibrosis[J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2019, 134: 119-130.
- [33] 谢海伦, 石汉平. 炎症研究现状与进展[J]. *肿瘤代谢与营养电子杂志*, 2024, 11(1): 9-19.
- [34] 李 玄, 林祉均, 陈梓欣, 等. 基于中性粒细胞胞外诱捕网探讨暖心康改善缺血性心力衰竭小鼠心功能的机制[J]. *中华中医药学刊*, 2024, 42(2): 175-178, 285-287.
- [35] YANG Y Z, KARAMPOOR S, MIRZAEI R, et al. The interplay between microbial metabolites and macrophages in cardiovascular diseases: A comprehensive review[J]. *International Immunopharmacology*, 2023, 121: 110546.