

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.08.007

❖ 临床研究 ❖

麝香保心丸联合阿托伐他汀对老年冠心病患者心功能、氧化应激及 miR-133、miR-499 表达的影响

吴立华¹, 吴钟江²

(海口市第三人民医院, 1. 心内科; 2. 神经内科, 海南 海口 571100)

【摘要】目的: 探究麝香保心丸联合阿托伐他汀对老年冠心病(CHD)患者心功能、氧化应激及微小 RNA-133(miR-133)、miR-499 表达的影响。**方法:** 90 例老年 CDH 患者, 根据治疗方法不同分为对照组和观察组, 每组各 45 例。对照组予以阿托伐他汀治疗; 观察组予以麝香保心丸 + 阿托伐他汀治疗, 疗程均为 12 周。比较两组患者临床疗效、治疗前后心功能[左心室射血分数(LVEF)、左心室收缩期末内径(LVESD)、左心室舒张期末内径(LVEDD)]、血清氧化应激指标[超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)]水平、miRNA-133 和 miRNA-499 表达及不良反应发生情况。**结果:** 观察组患者临床总有效率高于对照组($P < 0.05$)。治疗后, 观察组患者 LVEF 及血清 SOD、GSH-Px 水平高于对照组($P < 0.05$); LVESD、LVEDD 及血清 MDA 水平低于对照组($P < 0.05$); miR-133、miR-499 表达水平低于对照组($P < 0.05$)。两组患者不良反应发生率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论:** 麝香保心丸联合阿托伐他汀可提高对老年 CDH 患者的临床疗效, 且安全性好, 可有效改善患者心功能, 减轻氧化应激、下调 miR-133 和 miR-499 的表达可能是其发挥疗效的作用机制。

【关键词】 麝香保心丸; 阿托伐他汀; 冠心病; 心功能; 氧化应激; 微小 RNA

【中图分类号】 R541.4 **【文献标志码】** A

Effect of Shexiang Baoxin Pill combined with atorvastatin on cardiac function, oxidative stress and expression of miR-133 and miR-499 in elderly patients with coronary heart disease

WU Li-hua¹, WU Zhong-jiang²

(1. Department of Cardiology; 2. Department of Neurology, the Third People's Hospital of Haikou City, Haikou 571100, Hainan, China)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of Shexiang Baoxin Pill combined with atorvastatin on cardiac function, oxidative stress and expression of microRNA-133 (miR-133) and miR-499 in elderly patients with coronary heart disease (CHD). **Methods:** 90 elderly patients with CDH were divided into the control group and the observation group according to different treatment methods, with 45 cases in each group. The control group was treated with atorvastatin, the observation group was treated with Shexiang Baoxin Pill + atorvastatin for 12 weeks. The clinical efficacy, cardiac function [left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular end systolic diameter (LVESD), left ventricular end diastolic diameter (LVEDD)], serum oxidative stress indexes [superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px)] levels, miRNA-133 and miRNA-499 expressions, and adverse reactions were compared between the two groups before and after treatment. **Results:** The total clinical effective rate of the observation group was higher than that of the control group ($P < 0.05$). After treatment, LVEF and serum SOD and GSH-Px levels in the observation group were higher than those in the control group ($P < 0.05$). LVESD, LVEDD and serum MDA levels were lower than those in the control group ($P < 0.05$), the expression levels of miR-133 and miR-499 were lower than those in the control group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion:** Shexiang Baoxin Pill combined with atorvastatin can improve the clinical efficacy of elderly patients with CDH, and has good safety. It can effectively improve the cardiac function of patients, reduce oxidative stress, and down-regulate the expression of miR-133 and miR-499, which may be the mechanism for its efficacy.

【Key words】 Shexiang Baoxin Pill; Atorvastatin; Coronary heart disease; Cardiac function; Oxidative stress; MicroRNAs

冠心病 (coronary heart disease, CHD) 是因冠状动脉壁被胆固醇及其他物质沉积形成的斑块导致管腔变窄, 部分或完全阻断血流而引起的缺血性心脏病, 严重时可诱发急性心肌梗死或猝死, 威胁患者生

项目基金: 海南省卫生计生行业科研项目 (19A200126)

作者简介: 吴立华 (1978 -), 女, 副主任医师。E-mail: 13876685508@163.com

命安全^[1]。CHD 不可治愈,易反复发作,进行性加重病情,但可通过改变生活方式、药物、手术等干预阻止或延缓病情进展^[2]。高血脂是引起 CHD 的独立危险因素,临床常使用阿托伐他汀等血脂调节药物防治 CHD^[3],但因西药作用机制单一,疗效受限。中医药的多靶点效应则在 CHD 治疗中独具优势^[4]。麝香保心丸是由舌象、人参、牛黄等 7 余味中药精制而成的中成药,主治芳香温通、益气强心,研究^[5]证实,可有效改善 CHD 患者的血脂、炎症和血管内皮功能。近年来,研究^[6-7]发现,氧化应激在 CHD 的发生发展中作用重要;而微小 RNA(miRNA)也被发现与 CHD 病变关系密切。本研究旨在探究麝香保心丸联合阿托伐他汀对老年 CDH 患者心功能、氧化应激及 miR-133、miR-499 表达的影响。

表 1 两组患者一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	男/女(例)	年龄(岁)	体质指数(kg/m ²)	病程(年)	冠脉病变支数(支)	高血压(例)	糖尿病(例)
观察组(n=45)	30/15	70.15 ± 6.64	24.31 ± 3.26	3.56 ± 1.04	1.62 ± 0.54	24	12
对照组(n=45)	27/18	69.88 ± 7.21	24.40 ± 3.15	3.49 ± 1.11	1.58 ± 0.49	23	10
t/χ ² 值	0.431	0.184	0.133	0.308	0.367	0.045	0.241
P值	0.512	0.853	0.894	0.758	0.714	0.833	0.624

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 对照组予以阿托伐他汀钙片(辉瑞制药)治疗,20 mg/次,1 次/晚;观察组在对照组基础上增加麝香保心丸(22.5 mg,上海和黄药业有限公司)治疗,50 mg/次,3 次/d,疗程均为 12 周。

1.2.2 观察指标 (1)临床疗效:参考《临床冠心病诊断与治疗指南》^[8]进行 3 级评价。显效:临床症状完全或显著改善,3 个月内未发生心绞痛或心绞痛发作次数降低 >90%;有效:临床症状明显改善,3 个月内心绞痛发作次数降低 50%~90%;无效:未达到以上标准。总有效率=(显效+有效)例数/总例数×100%。(2)心功能指标:治疗前后采用心脏彩色多普勒超声诊断仪(iE33 型,PHILIPS)检测患者左心室射血分数(LVEF)、左心室收缩期末内径(LVESD)、左心室舒张期末内径(LVEDD)。(3)氧化应激指标:治疗前后采集患者空腹外周静脉血,离心分离出血清于 -20℃ 下保存,采用黄嘌呤氧化酶法检测血清超氧化物歧化酶(SOD)水平;硫代巴托酸显色法检测丙二醛(MDA)水平;比色法检测谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)水平。(4)血浆 miR-133、miR-499 表达水平:治疗前后取分离血浆 150 μL,加 TRIzol 试剂 300 μL、氯仿 60 μL,室温静置,离心 15 min(12 000 × g,4℃),留取分层水相,加异丙醇 150 μL 均匀混合,再次离心 10 min(12 000 × g,4℃),沉淀 RNA,弃上清液,加乙醇(750 mL/L)300 μL 洗涤,振荡均匀,离心 5 min(7 500 × g,4℃),弃上清液,干燥 RNA 后用

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 3 月至 2021 年 3 月海口市第三人民医院收治的 90 例 CHD 老年患者为研究对象,根据治疗方法不同分为对照组和观察组,每组各 45 例。本研究经院伦理委员会审核批准,患者及家属知情同意。两组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。纳入标准:(1)确诊为冠心病;(2)高血脂;(3)年龄 60~85 岁;(4)生命体征平稳;(5)配合度高。排除标准:(1)合并心肌梗死、心力衰竭者;(2)合并严重脑、肺、肾、肝功能障碍者;(3)合并免疫系统疾病、血液系统疾病、精神疾病、恶性肿瘤者;(4)过敏体质者。

DEPC 20 μL 溶解,使用紫外分光光度计检测总 RNA 吸光度,使用 RT-qPCR,以两步法检测 miR-133、miR-499 表达水平,按逆转录试剂盒说明进行反转录反应。反应总体积 25 μL;反应条件:95℃ 15 min 预变性,95℃ 15 s,60℃ 60 s,总共 35 个循环。以 2^{-ΔCt}表示 miR-133、miR-499 的相对表达量。 $\Delta Ct = Ct_{miRNA} - (Ct_{cel-miR-133} + Ct_{cel-miR-499})/2$ 。(5)不良反应发生情况:包括胃肠道不适、皮疹、味觉障碍、头晕、头痛等。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件对数据进行分析与处理。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料以[n(%)]表示,采用 χ² 检验或 Fisher 精确概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较

观察组患者总有效率高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者临床疗效比较[n(%)]

组别	显效	有效	无效	总有效率
观察组(n=45)	29(64.44)	12(26.67)	4(8.89)	41(91.11)
对照组(n=45)	20(44.44)	14(31.11)	11(24.44)	34(75.56)
χ ² 值				3.920
P值				0.048

2.2 两组患者心功能指标比较

治疗前,两组患者心功能指标比较,差异无统计

学意义 ($P > 0.05$)。治疗后,两组患者 LVEF 均提高 ($P < 0.05$),且观察组高于对照组 ($P < 0.05$);

LVESD、LVEDD 均降低 ($P < 0.05$),且观察组低于对照组 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者心功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	LVEF (%)		LVESD (mm)		LVEDD (mm)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组 ($n = 45$)	41.53 ± 2.45	47.42 ± 2.33 *	44.36 ± 4.21	37.38 ± 2.41 *	62.89 ± 5.83	53.74 ± 4.96 *
对照组 ($n = 45$)	41.62 ± 2.59	44.72 ± 2.27 *	44.24 ± 4.35	39.88 ± 2.66 *	62.63 ± 5.58	57.64 ± 6.31 *
t 值	0.169	5.567	0.133	4.672	0.216	3.259
P 值	0.865	< 0.001	0.894	< 0.001	0.829	0.002

* $P < 0.05$,与组内治疗前相比。

2.3 两组患者氧化应激指标比较

治疗前,两组患者氧化应激指标比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗后,两组患者血清 MDA

均降低 ($P < 0.05$),且观察组低于对照组 ($P < 0.05$);SOD、GSH-Px 水平均提高 ($P < 0.05$),且观察组高于对照组 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 两组患者氧化应激指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	SOD (kU/L)		MDA (mmol/L)		GSH-Px (pg/mL)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组 ($n = 45$)	56.84 ± 8.33	91.25 ± 12.34 *	13.59 ± 2.69	6.93 ± 1.34 *	70.54 ± 8.57	89.04 ± 9.48 *
对照组 ($n = 45$)	57.28 ± 9.71	76.94 ± 11.36 *	13.71 ± 2.83	9.65 ± 2.03 *	71.16 ± 8.66	84.29 ± 9.53 *
t 值	0.231	5.723	0.206	7.501	0.341	2.370
P 值	0.818	< 0.001	0.837	< 0.001	0.734	0.020

* $P < 0.05$,与组内治疗前相比。

2.4 两组患者 miR-133、miR-499 表达水平比较

治疗前,两组患者 miR-133、miR-499 表达水平比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗后,两组患者 miR-133、miR-499 水平均降低 ($P < 0.05$);且观察组低于对照组 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 两组患者 miR-133、miR-499 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	miR-133		miR-499	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组 ($n = 45$)	0.68 ± 0.18	0.49 ± 0.09 *	5.11 ± 1.24	3.84 ± 1.12 *
对照组 ($n = 45$)	0.69 ± 0.16	0.54 ± 0.13 *	5.07 ± 1.30	4.43 ± 1.16 *
t 值	0.278	2.121	0.149	2.454
P 值	0.781	0.036	0.881	0.016

* $P < 0.05$,与组内治疗前相比。

2.5 两组患者不良反应发生情况比较

治疗期间,两组患者均未发生严重不良反应导致患者退出研究。观察组患者发生胃肠道不适 1 例,皮疹 1 例,味觉障碍 2 例,不良反应总发生率为 8.89% (4/45);对照组发生胃肠道不适 1 例,头晕头痛 1 例,味觉障碍 1 例,不良反应总发生率为 6.67% (3/45)。两组患者不良反应总发生率比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

CHD 是临床常见心血管疾病,阿托伐他汀钙片是其治疗常用药物,可通过阻断羟甲戊酸转化过程

从而减少包括胆固醇在内的固醇前体合成,降低血清总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇含量而发挥降脂作用,降低 CHD 患者发生心肌梗死、心力衰竭、心绞痛等风险^[9]。考虑到阿托伐他汀作用机制单一,中西医结合治疗 CHD 在近年逐渐受到重视且被证实具较好的临床疗效和安全性^[10]。

中医认为,CHD 属“心痛”“胸痹”等范畴,以气虚、血瘀等最为常见,为本虚标实之症^[11]。麝香保心丸是以宋代名方苏合香丸为基础,以麝香、苏合香、人参、肉桂、蟾酥、牛黄、冰片 7 味中药用现代技术精制而成,具温阳逐寒、化浊开窍、益气强心之效。现代药理学研究^[12-14]显示,麝香保心丸具有强心、调脂、改善心肌氧耗、抑制血管炎性反应、增加冠脉血流、修复血管内皮损伤等作用,有益于 CHD 患者。本研究结果显示,相比对照组,观察组总有效率提高 ($P < 0.05$),且治疗后 LVEF、LVESD、LVEDD 更优 ($P < 0.05$),与既往报道类似^[15],表明在阿托伐他汀基础上,应用麝香保心丸可提高疗效,改善心功能。氧化应激与 CHD 的发生发展关系密切。氧化应激反应产生的活性氧 (ROS) 将刺激血管平滑肌细胞、内皮细胞产生一系列细胞因子诱发平滑肌细胞迁移、内皮细胞凋亡等,导致冠脉粥样斑块的形成、破裂,并进一步加重心肌损伤^[16]。本研究发现,与对照组相比,观察组患者治疗后血清 MDA 更低 ($P < 0.05$);SOD、GSH-Px 水平更高 ($P < 0.05$),表明增加麝香保心丸治疗 CHD 可有效减轻氧化应激

反应,可能与麝香保心丸的多成分、多靶点作用有关:(1)麝香可通过改善细胞内相关抗氧化酶如 SOD、GSH-Px 等的活性来抵抗氧化应激损伤^[17]; (2)苏合香挥发油则可通过抑制 TLR9 的过表达来提高 SOD 活性,减轻氧化应激^[18]; (3)人参皂苷可通过参与 NF- κ B、Wnt/ β -Catenin、PI3K/AKT、Keap1-Nrf2-ARE 等多个信号通路来调节机体的氧化与抗氧化系统的平衡^[19]; (4)肉桂总黄酮也被证实有抑制氧化应激反应的作用^[20]。

miRNA 是一种单链、非编码 RNA,近年来被证实 CHD、心律失常、心力衰竭等进展中具有重要作用,将其作为心血管疾病潜在标志物的研究越来越多。miR-133 和 miR-499 均具有心肌特异性,二者在心肌发生急性损伤后进入外周血液循环^[21]。miR-133 的相对表达量与冠状动脉病变的狭窄程度呈正相关^[22],miR-499 也被证实与 CHD 伴慢性心衰患者的心功能、心室重构程度呈负相关^[23]。因此,检测 miR-133 和 miR-499 的相对表达量也有助于评估 CHD 患者病情。本研究显示,观察组患者治疗后 miR-133、miR-499 表达水平均低于对照组 ($P < 0.05$),表明麝香保心丸联合阿托伐他汀可降低 CHD 患者 miR-133、miR-499 的相对表达量,但其作用机制尚不明晰。另外,本研究还发现,两组患者不良反应总发生率差异无统计学意义 ($P > 0.05$),表明二者联用安全性好。

综上,在使用阿托伐他汀的基础上,对老年 CHD 患者增加麝香保心丸治疗,可提高疗效,且具有良好的安全性,减轻氧化应激反应、减少 miR-133 和 miR-499 的相对表达量可能是其发挥疗效的作用机制。

参考文献

[1] Cakmak S. Coronary heart disease[J]. Heart, 2017, 11(5):147-149.
 [2] 郭丽花,钟节鸣,方乐,等. 心血管疾病高危人群临床预防性服务和生活方式调整综合干预效果评价[J]. 中华预防医学杂志, 2020, 54(4):411-415.
 [3] Mega JL, Stützel NO, Smith JG, et al. Genetic risk, coronary heart disease events, and the clinical benefit of statin therapy: an analysis of primary and secondary prevention trials[J]. Lancet, 2018, 385(9984):2264-2271.
 [4] 史海龙,王玉成,樊莹莹,等. 麝香保心丸治疗冠心病的网络药理学研究[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(2):320-323.
 [5] 李俊,俞章平,张云姣. 麝香保心丸对老年冠心病介入术后患者血管内皮功能、细胞炎症因子和血脂水平的影响[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(23):5658-5660.

[6] 叶胜,汤圣兴. 氧化应激对不同类型冠心病的影响及其因素分析[J]. 实用医学杂志, 2015, 31(24):4151-4152.
 [7] Xie X, Shi X, Xun X, et al. Association between microRNA polymorphisms and coronary heart disease: A meta-analysis[J]. Herz, 2016, 42(6):593-603.
 [8] 颜红兵. 临床冠心病诊断与治疗指南[M]. 北京:人民卫生出版社, 2010.
 [9] Tikkanen MJ, Fayyad R, Faergeman O, et al. Effect of intensive lipid lowering with atorvastatin on cardiovascular outcomes in coronary heart disease patients with baseline elevations in alanine aminotransferase levels[J]. European Heart Journal, 2013, 168(4):337-343.
 [10] 高杉,杨澍,朱彦. 中药联合西药治疗痰瘀互结型冠心病疗效及安全性 Meta 分析[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(3):623-629.
 [11] 梅琼,曾祥法. 976 例冠心病中医复杂证候分布规律研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25(10):1370-1372.
 [12] 郭玉梅,王海岭,贺萧楠. 麝香保心丸治疗冠心病心绞痛的临床疗效观察[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(2):196-199.
 [13] 李亥辰,李若阳,陈柏君,等. 长期服用麝香保心丸辅助改善冠心病心绞痛患者血管内皮功能的 Meta 分析[J]. 中药药理与临床, 2020, 36(4):7-13.
 [14] 张庆红,张克民,谷洪燕. 麝香保心丸联合瑞舒伐他汀治疗冠心病心绞痛临床疗效及对血流流变学、血脂的影响[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(7):1777-1779.
 [15] 王巧云. 麝香保心丸与阿托伐他汀钙片联用治疗冠心病心绞痛[J]. 重庆医学, 2018, 47(1):342-344.
 [16] Giovanna G, Giorgia P, Maurizio F, et al. Role of oxidative stress in the process of vascular remodeling following coronary revascularization[J]. International Journal of Cardiology, 2018, 35:307-313.
 [17] 权赫秀,金鹏,李露,等. 麝香及其代用品人工麝香对 H2O2 诱导人脐静脉内皮细胞损伤保护作用比较研究[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(17):1783-1787.
 [18] 陈雨,林高城,白亮. 苏合香挥发油对脑缺血再灌注诱导神经细胞损伤的影响[J]. 中成药, 2020, 42(12):188-192.
 [19] 陈德云,李发靖,陈鹏,等. 人参皂苷抗氧化应激损伤作用及其作用机制的研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(10):80-81.
 [20] 曾华君,何广俊,黄海潮,等. 肉桂总黄酮对 6-羟基多巴胺致 PC12 细胞损伤的保护作用[J]. 中药材, 2017, 40(12):2936-2940.
 [21] Suk KJ, Kyoungjune P, Sik GT, et al. Prognostic Value of MicroRNAs in Coronary Artery Diseases: A Meta-Analysis[J]. Yons Medical Journal, 2018, 59(4):495-500.
 [22] 张小坤,王玉霞,刘亚宁,等. 老年急性心肌梗死患者血清微小核糖核酸-133a,微小核糖核酸-208a 表达水平与冠状动脉病变程度相关性研究[J]. 创伤与急危重病医学, 2020, 8(6):9-14.
 [23] 徐宝华,李楠,朱家庭. 冠状动脉粥样硬化性心脏病慢性心力衰竭患者血清 microRNA-499 水平及与心功能和心肌重构的相关性[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(2):104-108.

(收稿日期:2022-03-05

修回日期:2022-04-09)