

中医干预心肌缺血再灌注大鼠疗效及 PI3K-Akt/Bax/Bcl 信号通路影响的 Meta 分析

葛腾 齐鸿飞 宁博 吴永青 赵明君

【摘要】 **目的** 系统评价中医干预大鼠心肌缺血再灌注模型的疗效及对 PI3K-Akt/Bax/Bcl 信号通路影响。**方法** 计算机检索知网、万方、维普、中国生物医学文献数据库、PubMed、Cochrane Library、Embase 数据库,从建库以来至 2022 年 9 月 20 日的数据库。利用 NoteExpress 软件导入文献,按照纳入标准与排除标准筛选文献,提取并合并数据,使用动物实验风险偏倚 SYRCLE 工具进行质量评估,应用 Stata 16 软件进行 Meta 分析,在疗效方面分析 9 项结局指标,使用固定或随机效应模型合并统计量;在异质性方面分析纳入研究 ≥ 8 篇的结局指标 4 项,使用敏感性或描述性分析;在敏感性与发表偏倚方面分析纳入研究 ≥ 10 篇的结局指标 3 项,使用剪补法分析。**结果** 纳入总研究 30 项,总样本量 684 只大鼠,在不同疗效指标方面:治疗组改善血清肌钙蛋白 I(cardiac troponin I, cTnI) (SMD = -2.45, 95% CI [-3.46, -1.44], $P < 0.001$)、肌酸激酶同工酶(creatinase-MB, CK-MB) (SMD = -2.47, 95% CI [-3.25, -1.68], $P < 0.001$)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH) (SMD = -3.24, 95% CI [-4.28, -2.21], $P < 0.001$)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD) (SMD = 1.75, 95% CI [1.09, 2.41], $P < 0.001$)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α) (SMD = -3.55, 95% CI [-5.17, -1.93], $P < 0.001$)、心肌组织蛋白磷酸化丝苏氨酸蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt) (P-Akt) (SMD = 5.53, 95% CI [3.85, 7.21], $P < 0.001$)、磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K) (SMD = 11.85, 95% CI [7.12, 16.57], $P < 0.001$)、B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2) (SMD = 3.7, 95% CI [1.3, 6.09], $P < 0.001$)、Bcl 相关 X 蛋白(Bax) (SMD = -5.3, 95% CI [-7.62, -2.98], $P < 0.001$)、9 项结局均优于对照组;在 4 项结局指标的异质性方面:2 项结局指标剔除可信区间差距较大的研究后无异质性,2 项结局指标采用描述性分析;在 3 项结局指标的敏感性与发表偏倚方面:结果显示 Meta 分析结论可靠,虽有发表偏倚但数据稳健。**结论** 中医干预大鼠心肌缺血再灌注疗效显著,其机制可能是激活 PI3K-Akt/Bax/Bcl 信号通路,抑制再灌注后心肌细胞损伤凋亡。但此研究纳入研究数量有限,样本量及外文文献较少,还需更多高质量、大样本的基础研究论证。

【关键词】 中医; 心肌缺血再灌注; 磷脂酰肌醇-3-激酶-丝苏氨酸蛋白激酶 B; B 淋巴细胞瘤; Bcl 相关 X 蛋白; Meta 分析

【中图分类号】 R714.252 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2023.09.011

基金项目:国家重点研发计划—中医药现代化研究重点专项(2018YFC1704204);陕西省省级院士工作站建设项目(陕组通字[2019]49号-30);名中医赵明君传承工作室建设项目(2019007);陕西省教育厅重点实验室项目(22JS005);陕西省科协项目(2021PSL99);陕西省教育厅专项科研计划(21JK0606);陕西中医药大学附属医院科研课题计划项目(2020YSGZZ001)

作者单位:712000 咸阳,陕西中医药大学第一临床医学院[葛腾(硕士研究生)、宁博(硕士研究生)、吴永青(硕士研究生)],整合医学研究院(齐鸿飞);陕西中医药大学附属医院心血管一科(赵明君)

作者简介:葛腾(1998-),2021 级在读硕士研究生。研究方向:中西医结合防治心血管病、络病的基础与临床研究。E-mail:583203372@qq.com

通信作者:赵明君(1964-),本科,主任医师,教授,硕士生导师。研究方向:中西医结合防治心血管病、络病的基础与临床研究。E-mail:zmj7125@163.com

Meta analysis of the therapeutic effect of traditional Chinese medicine on myocardial ischemia-reperfusion in rats and the effect of PI3K-Akt/Bax/Bcl signal pathway

GE Teng, QI Hongfei, NING Bo, WU Yongqing, ZHAO Mingjun

Shaanxi University of Chinese Medicine, Xiayang 712000, China

Corresponding author: ZHAO Mingjun, E-mail: zmj7125@163.com

【Abstract】 Objective To systematically evaluate the effect of traditional Chinese medicine on myocardial ischemia-reperfusion model in rats and its effect on PI3K-Akt/Bax/Bcl signal pathway. **Methods**

The large databases of CNKI, Wanfang, VIP, CBM, PubMed, Cochrane Library and Embase were searched from the establishment of the database to September 20, 2022. The literature was imported by NoteExpress software, the literature was screened according to the inclusion criteria and exclusion criteria, the data were extracted and combined, the animal experiment risk bias SYRCLE tool was used for quality assessment, and the Stata16 software was used for Meta analysis. 9 outcome indexes were analyzed in terms of curative effect, combined statistics using fixed or random effects models. 4 outcome indicators from more than 8 articles were included in heterogeneity analysis, sensitivity or descriptive analysis was used, 3 outcome indicators from more than 10 articles were included in sensitivity and publication bias analysis, and publication bias was analyzed by clipping method. **Results** A total of 30 studies were included, with a total sample size of 684 rats. In terms of different curative effect indexes, the treatment group improved serum cTnI (SMD = -2.45, 95% CI [-3.46, -1.44], $P < 0.001$), serum CK-MB (SMD = -2.47, 95% CI [-3.25, -1.68], $P < 0.001$), and serum LDH (SMD = -3.24, 95% CI [-4.28, -2.21], $P < 0.001$). Serum SOD (SMD = 1.75, 95% CI [1.09, 2.41], $P < 0.001$), serum TNF- α (SMD = -3.55, 95% CI [-5.17, -1.93], $P < 0.001$), myocardial tissue protein P-Akt (SMD = 5.53, 95% CI [3.85, 7.21], $P < 0.001$), myocardial tissue protein PI3K (SMD = 11.85, 95% CI [7.12, 16.57], $P < 0.001$), myocardial tissue protein Bcl-2 (SMD = 3.7, 95% CI [1.3, 6.09], $P < 0.001$), myocardial tissue protein Bax (SMD = -5.3, 95% CI [-7.62, -2.98], $P < 0.001$) the 9 outcomes were better than those in the control group. In the aspect of heterogeneity of 4 outcome indicators, there was no heterogeneity after excluding the study with large confidence interval gap in 2 outcome indicators, and descriptive analysis was used in 2 outcome indicators. In the sensitivity and publication bias of the three outcome indicators: the results show that the conclusion of Meta analysis is reliable, although there is publication bias, but the data are Stabilization.

Conclusion Traditional Chinese medicine has significant effects on myocardial ischemia-reperfusion in rats, and its mechanism is to activate PI3K-Akt/Bax/Bcl signal pathway and inhibit cardiomyocyte apoptosis after reperfusion. However, the number of studies included in this study was limited, the sample size and foreign literature were less, and more high-quality, large-sample animal experimental studies will be needed.

【Key words】 Traditional Chinese medicine; myocardial ischemia-reperfusion; PI3K-Akt; Bcl; Bax; Meta analysis

心血管疾病发病率已经成为我国患病率之首, 据统计 2019 年患病人数已经达到 3.3 亿^[1], 其中缺血性心肌病占居民疾病死亡的 40% 以上, 居于首位^[2]。目前治疗该病最有效的措施是及时恢复血流灌注, 但越来越多的证据表明心肌细胞在血液灌注恢复后更容易发生损伤, 而且情况更加严重甚至出现不可逆的损害, 这种现象称为心肌缺血再灌注损伤 (myocardial ischemic reperfusion injury, MIRI), 目前只能抗氧化、减轻钙超载等治疗, 仍无特效治疗药物^[3]。中医认为此病属于“胸痹”“心悸”等范畴, 病机主要为本虚标实。因血管长时间闭塞不通

而致心失濡养, 阳气亏虚则发心中悸动不安, 出现心律失常; 虽复流后血流通畅, 但正气虚弱不能推动血流运行, 故再发胸痛, 正如《金匱要略》所曰: “胸痹而痛, 所以然者, 则其极虚故也”, 甚至气、血、津、液凝聚不通, 出现细胞水肿、凋亡现象。研究表明中医治疗 MIRI 具有一定的优势性^[4], 因此探索中医药治疗 MIRI 各方面指标的疗效和作用机制尤为重要。近年来越来越多的研究已经证明中医干预 MIRI 大鼠模型疗效及调控磷脂酰肌醇-3-激酶/丝苏氨酸蛋白激酶 (phosphate-dylinositol 3 kinase/serine-threonine kinase, PI3K/Akt) 信号通路有效, 但

各个研究样本较少,难以得出明确结论。虽已有 Meta 分析讨论 MIRI 与 PI3K/Akt 关系,但干预措施限制为益气活血养阴类中药,研究时间已超出 5 年。故本研究收集国内外基于大鼠实验对中医干预 MIRI 的疗效和 PI3K/Akt 通路表达进行分析与探讨,对已有评价进行补充分析,并为中医治疗 MIRI 和未来研究提供有价值的循证医学证据。

1 资料和方法

1.1 搜索策略

检索 Cochrane Library、Pubmed、Embase、CNKI、VIP、Wanfang、CBM 主流数据库,检索从建库至 2022 年 9 月 20 日。中文以主题结合自由词检索,包括:“中医”“中药”“心肌缺血再灌注”“大鼠”“PI3K”等词;英文检索词包括:“Traditional Chinese Medicine”“myocardial ischemia reperfusion”“PI3K”“animal”等词,因预检索英文数据库采用主题搜索,文献较少。故本次英文数据库检索采用全文式搜索,降低漏检率,具体检索方式见表 1。

表 1 文献检索方式

数据库名	检索式
中国知网	(主题:中医+中药+针灸+中药制剂+中药复方+中药提取物+有效成份+注射剂) AND (主题:心肌缺血再灌注) AND (主题:PI3K+Akt+mTOR) AND (全文:动物+大鼠) AND (全文:随机)
Pubmed	(Traditional Chinese Medicine [All Fields]) AND (myocardial ischemia reperfusion [All Fields]) AND (PI3K OR AKT [All Fields]) AND (animal [All Fields])

1.2 纳入标准

(1)原始研究为公开发表的研究,包括期刊、学位论文等文献,有独立的随机治疗组与对照组;(2)研究对象为不限种类的 MIRI 大鼠模型;(3)治疗组干预措施为不限种类的中医疗法;(4)研究内容清晰、数据完整可提取;(5)MIRI 大鼠模型必须符合《医学实验动物学》心肌缺血再灌注相关造模标准^[5]。

1.3 排除标准

(1)重复发表的研究;(2)无独立 IR 对照组的研究;(3)无体内研究,单独的离体研究;(4)对照组或治疗组采用多种干预措施无法对比中医疗效。

1.4 结局指标

常规指标:血清肌钙蛋白 I(cardiac troponin I, cTnI)、肌酸激酶同工酶(creatinase-MB,

CK-MB)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α);根据 PI3K/Akt 信号通路选取心肌组织蛋白磷酸化丝苏氨酸蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt) (P-akt)、磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)、B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl 相关 X 蛋白(Bax)的蛋白表达量。

1.5 文献提取与质量评价

1.5.1 文献提取 根据上述检索后导入 NoteExpress, 两名研究者独立筛选、提取数据,若出现分歧由第三方介入解决。纳入文献特征表包括:文献基础信息(第一作者、发表年份);研究对象(模型类型、体质量);研究内容(分组方法、干预措施、周期);结局指标。

1.5.2 文献质量评估 两位研究者采用动物实验风险偏倚 SYRCLE 工具进行评估^[6],如出现分歧由第三方介入解决。SYRCLE 工具表包括选择、实施、测量、失访、报告、其它 6 种偏倚,每个领域分为“是”“否”“不确定”分别代表“低风险”“高风险”“不确定”。

1.5.3 统计学分析 应用 Stata 16 软件进行 Meta 分析,连续性变量选用标准化均数差(SMD)表示效应值,和 95% 置信区间(95%, CI)表示。利用连续性变量亚组合并公式合并亚组数据,合并后总样本 $N=N_1+N_2$,总均数 $M=(N_1M_1+N_2M_2)/(N_1+N_2)$,总标准差 SD,公式如下:

$$SD = \sqrt{\frac{(N_1-1)SD_1^2 + (N_2-1)SD_2^2 + \frac{N_1N_2}{N_1+N_2}(M_1^2 + M_2^2 - 2M_1M_2)}{N_1+N_2-1}}$$

用 I^2 来判定异质性大小,若 $I^2 < 50\%$ 或 $P > 0.05$ 提示各项研究不存在异质性,Meta 分析采用固定效应模型(fixed effects model, FEM),若 $I^2 > 50\%$ 或 $P < 0.05$ 提示各项研究存在异质性,Meta 分析采用随机效应模型(random effects model, REM),对于异质性来源首先检查数据是否错误,必要时可用敏感性分析或描述性分析。最后对于纳入研究文献 ≥ 10 篇的结局指标采取敏感性分析讨论数据是否可靠,利用剪补法绘制漏斗图来分析发表偏倚情况。

2 结果

2.1 纳入文献

根据上述的纳入与排除标准,对检索的文献进

行核查筛选。检索中、英数据库共得 199 篇研究,剔除重复研究后对剩余的 166 篇标题、摘要进行筛选,剔除 98 篇文献,68 篇文献进行全文审阅,最终有 30 篇文献纳入本 Meta 分析,其中中文 28 篇、英文 2 篇,筛选流程见图 1。

2.2 纳入文献基本特征

30 项研究中 28 项^[7-11,13-17,19-36]中文研究、2 项^[12,18]英文研究,共涉及 684 只大鼠,研究地点均在中国。5 项研究使用 Wistar 大鼠^[15,18,26-28],25 项^[7-14,16-17,19-25,29-36]研究使用 SD 大鼠。除 1 项研究^[14]造建 MIRI+OVX 模型外其余均为 MIRI。根据给药浓度划分,5 项^[15,23,26,30,36]研究有 2 个亚组,7

项^[8,11,13,14,28,32,35]研究有 3 个亚组。中医干预包括中药提取物/单体、中药注射剂、中药复方、针刺。大鼠体质量大多在 200 ~ 300 g 之间,11 项研究^[13,18,22-23,25,29-32,34-35]治疗疗程在造模期间完成,19 项研究^[7-12,14-17,19-21,24,26-28,33,36]疗程天数不等,文献基本特征见表 2。

2.3 纳入文献风险偏倚评价

根据 SYRCLE 偏倚风险工具评估纳入的 30 项研究,共 10 项调查,评估结果为低风险得一分,共 10 分。本次纳入研究的得分为 4 ~ 6 分。6 项获得 4 分(20%),22 项获得 5 分(73%),2 项获得 6 分(7%),具体见表 3。

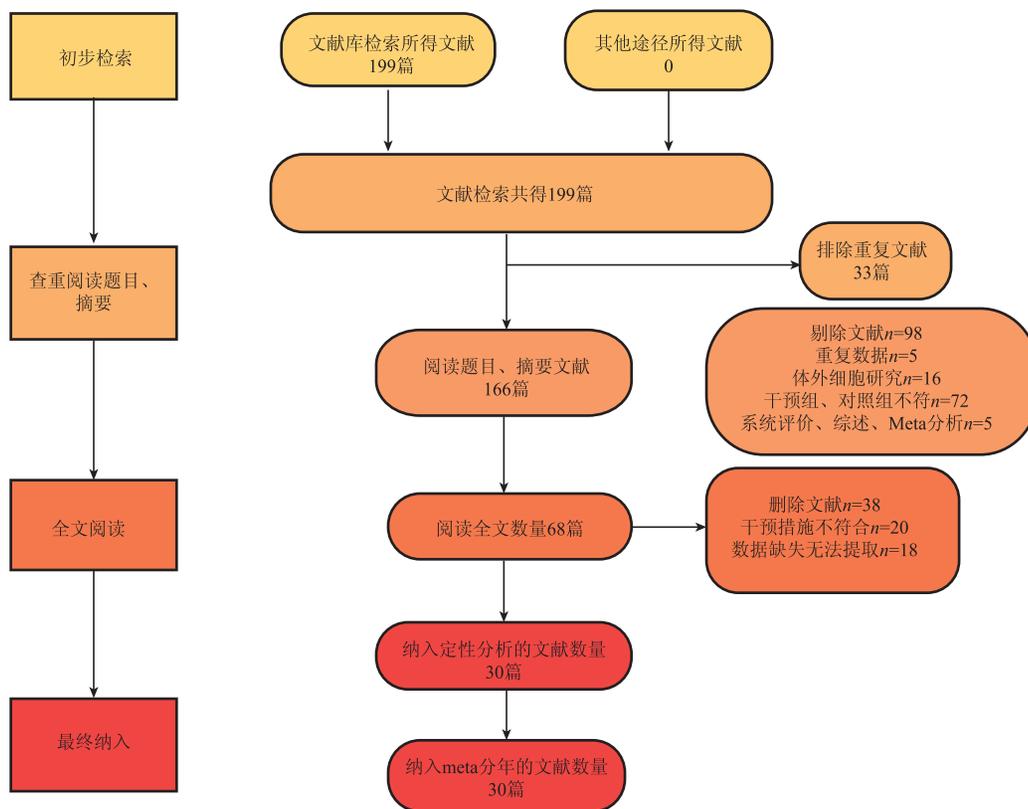


图 1 文献筛选流程及结果

表 2 纳入文献基本特征

纳入研究	动物类型	模型	Ne/Nc	干预措施		体质量(g)	疗程(天)	结局指标
				Ne	Nc			
李少堃 2022 ^[7]	雄性 SD 大鼠	MIRI	15/15	DEX+HPS	DEX	250±30	15	①②
肖钰雪 2022 ^[8]	雄性 SD 大鼠	MIRI	9/3	乌头赤石脂(低、中、高)	NS	240 ~ 280	3	⑦
李彩云 2021 ^[9]	雄性 SD 大鼠	MIRI	10/10	丹参通路解毒汤	NS	180 ~ 220	14	⑥
刘玲 2021 ^[10]	雄性 SD 大鼠	MIRI	10/8	T	NS	200±20	21	①②③⑦⑧⑨
张雯雯 2021 ^[11]	雄性 SD 大鼠	MIRI	24/8	黄芪复方(低、中、高)	NS	240±20	7	⑤⑥⑧⑨
Rui Chen2020 ^[12]	雄性 SD 大鼠	MIRI	8/8	TMYX	CMC-Na	250±10	7	②③
贾合磊 2019 ^[13]	雄性 SD 大鼠	MIRI	24/8	参附注射液(低、中、高)	NS	200 ~ 250	1	①③④⑤

续表

纳入研究	动物类型	模型	Ne/Nc	干预措施		体质量(g)	疗程(天)	结局指标
				Ne	Nc			
谢慧慧 2019 ^[14]	雌性 SD 大鼠	MIRI+OVX	24/8	EXD(低、中、高)	NR	180~220	80	②③④⑧⑨
吴雪记 2019 ^[15]	雌性 Wistar 大鼠	MIRI	20/10	KDZI(低、高)	NS	230~260	3	②③④⑤
姜丹 2019 ^[16]	雌性 SD 大鼠	MIRI	10/10	搜风祛痰中药	NS	240±20	7	⑤⑥⑧⑨
吕童 2019 ^[17]	雌性 SD 大鼠	MIRI	14/16	搜风祛痰中药	NS	240±20	7	⑥
Tian Yuefeng 2017 ^[18]	雌、雄 Wistar 大鼠	MIRI	4/4	Ng 电针	NR	250~280	1	⑥
赵旭勇 2017 ^[19]	雌性 SD 大鼠	MIRI	8/8	五味子乙素	橄榄油	180~200	15	②
石月萍 2016 ^[20]	雄性 SD 大鼠	MIRI	10/10	瓜蒌薤白半夏汤	NS	250~300	14	②③⑥⑧⑨
王秀珍 2016 ^[21]	雌、雄 SD 大鼠	MIRI	8/8	稳心丹	NS	200±40	14	③
关月 2015 ^[22]	雄性 SD 大鼠	MIRI	6/6	DHI	NS	250~300	1	①②④⑤
孙瑶 2015 ^[23]	雄性 SD 大鼠	MIRI	16/8	BCF(低、高)	溶酶	250~280	1	②⑨
李佳 2014 ^[24]	雄性 SD 大鼠	MIRI	6/6	红景天苷	NS	240±10	3	①②
李琳 2014 ^[25]	雄性 SD 大鼠	MIRI	6/6	Rg-1	NS	240~260	1	①
李雪丽 2014 ^[26]	雄性 Wistar 大鼠	MIRI	16/8	SSNX(低、高)	NS	230~280	5	②③
汤喜兰 2013 ^[27]	雄性 Wistar 大鼠	MIRI	10/10	广枣提取物、槲皮素	NS	210~240	3	⑤
王慧晔 2013 ^[28]	雄性 Wistar 大鼠	MIRI	30/10	Ori(低、中、高)	NS	180±20	7	②③
周丹 2013 ^[29]	雄性 SD 大鼠	MIRI	12/12	DHI	NS	250~270	1	①②③⑤
周丹-2 2013 ^[30]	雄性 SD 大鼠	MIRI	20/10	Sal B(低、高)	NS	250~270	1	②③
何东伟 2012 ^[31]	雄性 SD 大鼠	MIRI	10/10	Res	NS	230~250	1	⑥
吕磊 2012 ^[32]	雄性 SD 大鼠	MIRI	30/10	TMP(低、中、高)	NR	250~280	1	②③④⑥
王佩 2012 ^[33]	雄性 SD 大鼠	MIRI	8/8	DH	NS	250±50	3	⑥
纪勇 2011 ^[34]	雄性 SD 大鼠	MIRI	10/10	SFI	NS	220~280	1	⑦
孙琳 2011 ^[35]	雄性 SD 大鼠	MIRI	30/10	P(低、中、高)	NS	220~300	1	③④
李军昌 2007 ^[36]	雄性 SD 大鼠	MIRI	12/6	QDTMT(低、高)	NS	260±20	7	①⑥⑧⑨

注：Ne. 治疗组；Nc. 对照组；NR. 无明确报道；CMC-Na. 钠盐；NS. 生理盐水；MIRI. 心肌缺血再灌注模型；OVX. 去卵巢模型；DEX. 右美托咪定；HPS. 红芪多糖；T. 调脾护心方；TMYX. 通脉养心丸；EXD. 二仙汤；KDZI. 苦碟子注射液；Ng. 内关；DHI. 丹红注射液；BCF. 九龙藤总黄酮；Rg-1. 人参皂苷；SSNX. 双参宁心；Ori. 莛草苷；Res. 白藜芦醇；TMP. 川芎嗪；DH. 丹红注射液；SFI. 参附注射液；P. 木豆提取物；QDTMT. 芪丹通脉片。①血清 cTnI；②血清 CK-MB；③血清 LDH；④血清 SOD；⑤血清 TNF-α；⑥P-Akt 蛋白表达；⑦PI3K 蛋白表达；⑧BAX 蛋白表达；⑨BCL-2 蛋白表达。

表 3 纳入文献偏倚风险评估表

纳入研究	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	得分
李少堃 2022 ^[7]	-	?	?	-	?	?	?	-	-	-	5
肖钰雪 2022 ^[8]	-	-	?	-	?	?	?	-	-	-	6
李彩云 2021 ^[9]	-	-	?	-	?	?	?	-	-	-	6
刘玲 2021 ^[10]	-	?	?	-	?	?	?	-	-	-	5
张雯雯 2021 ^[11]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
Rui Chen 2020 ^[12]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
贾合磊 2019 ^[13]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
谢慧慧 2019 ^[14]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
吴雪记 2019 ^[15]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
姜丹 2019 ^[16]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
吕童 2019 ^[17]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
Tian Yuefeng 2017 ^[18]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5

续表

纳入研究	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	得分
赵旭勇 2017 ^[19]	?	?	?	-	?	?	?	-	-	-	4
石月萍 2016 ^[20]	-	?	?	-	?	?	?	-	-	-	5
王秀珍 2016 ^[21]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
关月 2015 ^[22]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
孙瑶 2015 ^[23]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
李佳 2014 ^[24]	?	?	?	-	?	?	?	-	-	-	4
李琳 2014 ^[25]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
李雪丽 2014 ^[26]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
汤喜兰 2013 ^[27]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
王慧晔 2013 ^[28]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
周丹 2013 ^[29]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
周丹-2 2013 ^[30]	?	?	?	-	?	?	?	-	-	-	4
何东伟 2012 ^[31]	?	?	?	-	?	?	?	-	-	-	4
吕磊 2012 ^[32]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
王佩 2012 ^[33]	?	?	?	-	?	?	?	-	-	-	4
纪勇 2011 ^[34]	?	?	?	-	?	?	?	-	-	-	4
孙琳 2011 ^[35]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5
李军昌 2007 ^[36]	?	-	?	-	?	?	?	-	-	-	5

注：①分配序列的产生或应用是否充分/正确；②各组基线是否相同或是否对混杂因素进行了调整；③分配隐藏是否充分/正确；④实验过程中动物是否被随机安置；⑤是否对动物饲养者和研究者施盲，以避免其知晓动物接受何种干预措施；⑥结果评价中的动物是否经过随机选择；⑦是否对结果评价者采用盲法；⑧不完整的数据是否被充分/正确报告；⑨研究报告是否与选择性结果报告无关；⑩是否不存在明显会产生高风险偏倚的其他问题。-代表低风险；+代表高风险；? 代表不确定。

2.4 Meta 分析

12 项文献根据给药浓度进行亚组研究,为更全面、准确分析中医干预疗效,故合并同一干预措施的不同浓度亚组数据,将合并后的总数据进行 Meta 分析。

2.4.1 血清 cTnI 量 8 项^[7,10,13,22,24-25,29,36] 研究报告治疗后大鼠血清 cTnI 改善情况,各研究间存在异质性($I^2 = 80.3\%$, $P < 0.001$)采用随机效应模型合并统计量,结果显示与对照组相比,治疗组明显降低大鼠血清 cTnI,差异具有统计学意义($SMD = -2.45$, $95\% CI [-3.46, -1.44]$, $P < 0.001$),见图 2a。其中 2 项研究^[10,24]敏感性分析后发现可信区间与其它研究差距较大,剔除后进行 Meta 分析示各研究间异质性无统计学意义($I^2 = 52.6\%$, $P > 0.05$),故采用固定效应模型合并剔除后研究的统计量,结果表明与未剔除之前结果一致,差异具有统计学意义($SMD = -1.5$, $95\% CI [-1.92, -1.08]$, $P < 0.001$),见图 2b。表明剔除的 2 项研究为此项结局指标异质性的主要来源。

2.4.2 血清 CK-MB 量 15 项^[7,10,12,14-15,19-20,22-24,26,28-30,32]

研究报告治疗后大鼠血清 CK-MB 改善情况,各研究间存在异质性($I^2 = 86.4\%$, $P < 0.001$)采用随机效应模型合并统计量,结果显示与对照相组比,治疗组明显降低大鼠血清 CK-MB,差异具有统计学意义($SMD = -2.47$, $95\% CI [-3.25, -1.68]$, $P < 0.001$),见图 3a。其中 3 项研究^[10,23,28]敏感性分析后发现可信区间与其它研究差距较大,剔除后进行 Meta 分析示各研究间异质性无统计学意义($I^2 = 0$, $P > 0.05$),故采用固定效应模型合并剔除后研究的统计量,结果表明与未剔除之前结果一致,差异具有统计学意义($SMD = -1.53$, $95\% CI [-1.81, -1.25]$, $P < 0.001$),见图 3b。表明剔除的 3 项研究为此项结局指标异质性的主要来源。

2.4.3 血清 LDH 量 13 项^[10,12-13,14-15,20-21,26,28-30,32,35]

研究报告治疗后大鼠血清 LDH 改善情况,各研究间存在异质性($I^2 = 90.5\%$, $P < 0.001$)采用随机效应模型合并统计量,结果显示与对照相组比,治疗组明显降低大鼠血清 LDH,差异具有统计学意义($SMD = -3.24$, $95\% CI [-4.28, -2.21]$, $P < 0.001$),见

图4a。其中 2 项研究^[10,28]敏感性分析后发现可信区间与其它研究差距较大,剔除后进行 Meta 分析示各研究间异质性仍存在 ($I^2 = 80.2\%$, $P < 0.05$), 故采用随机效应模型合并剔除后研究的统计量, 结果表明与未剔除之前结果一致, 差异具有统计

学意义 ($SMD = -2.22$, $95\% CI [-2.92, -1.52]$, $P < 0.001$), 见图 4b。表明剔除的 2 项研究为异质性的部分来源, 其还可能与大鼠对药物敏感度、测量仪器灵敏度、大鼠体质量等有关。

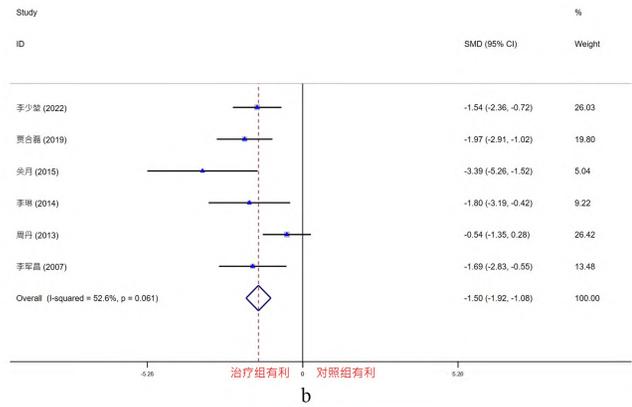
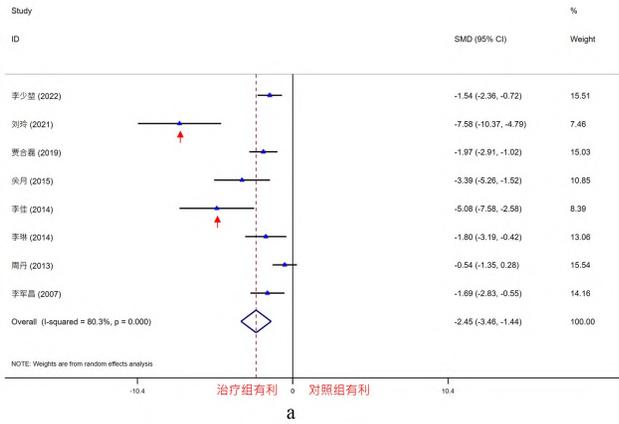


图 2 中医干预 MIRI 模型大鼠血清 cTnI 的 Meta 分析

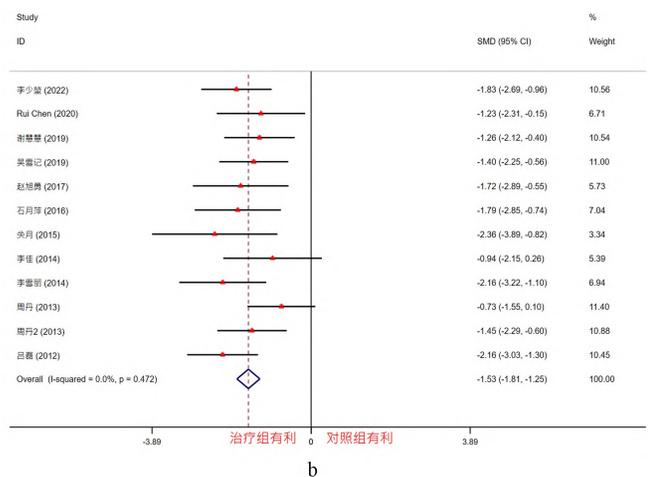
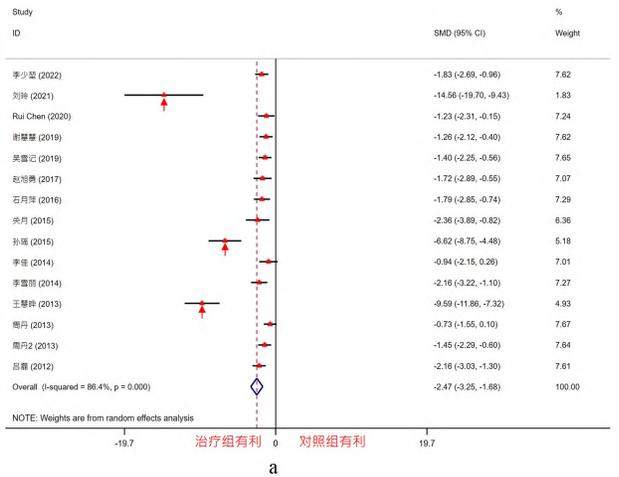


图 3 中医干预 MIRI 模型大鼠血清 CK-MB 的 Meta 分析

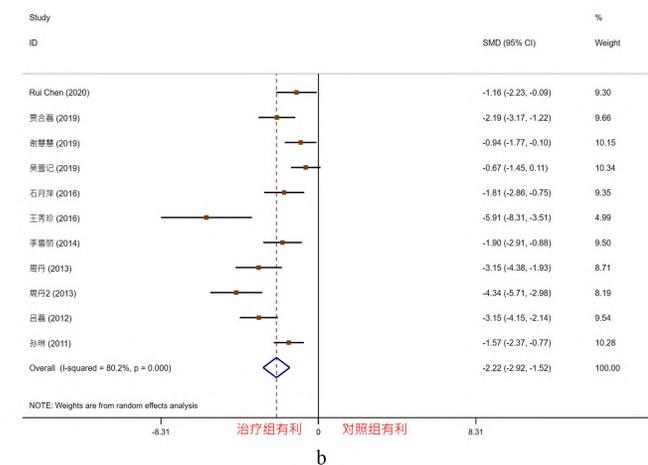
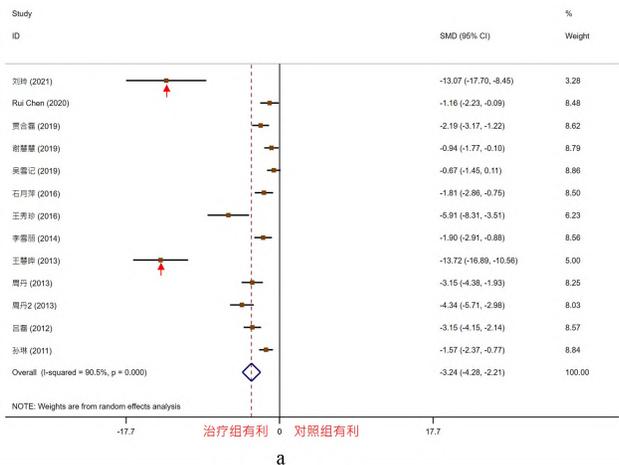


图 4 中医干预 MIRI 模型大鼠血清 LDH 的 Meta 分析

2.4.4 血清 SOD 量 6 项^[13-15,22,32,35] 研究报告治疗后大鼠血清 SOD 改善情况,各研究间存在异质性 ($I^2 = 65.1\%$, $P < 0.05$) 采用随机效应模型合并统计量,结果显示与对照组相比,治疗组明显改善大鼠血清 SOD,差异具有统计学意义 ($SMD = 1.75$, 95% $CI [1.09, 2.41]$, $P < 0.001$), 见图 5。

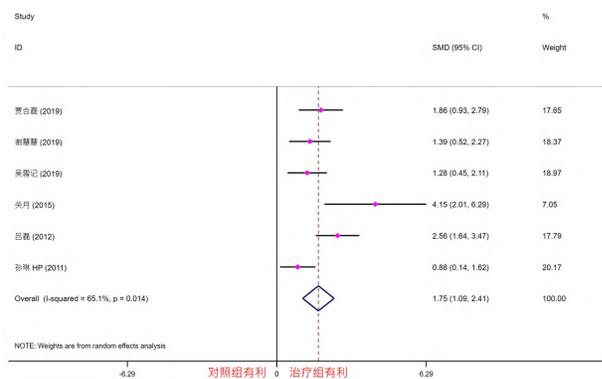


图 5 中医干预 MIRI 模型大鼠血清 SOD 的 Meta 分析

2.4.5 血清 TNF- α 量 7 项^[11,13,15,16,22,27,29] 研究报告治疗后大鼠血清 TNF- α 改善情况,各研究间存在异质性 ($I^2 = 90.3\%$, $P < 0.001$) 采用随机效应模型合并统计量,结果显示与对照组相比,治疗组明显降低大鼠血清 TNF- α ,差异具有统计学意义 ($SMD = -3.55$, 95% $CI [-5.17, -1.93]$, $P < 0.001$), 见图 6。

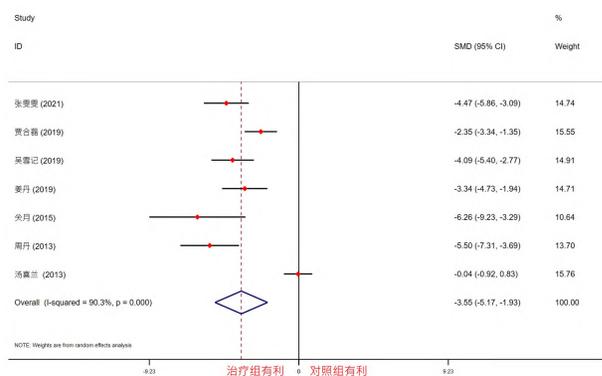


图 6 中医干预 MIRI 模型大鼠血清 TNF- α 的 Meta 分析

2.4.6 心肌组织蛋白 P-akt 表达 10 项^[9,11,16-18,20,31-33,36] 研究报告治疗后大鼠心肌组织蛋白 P-akt 改善情况,各研究间存在异质性 ($I^2 = 87\%$, $P < 0.001$) 采用随机效应模型合并统计量,结果显示与对照组相比,治疗组明显上调大鼠心肌组织蛋白 P-akt 表达,差异具有统计学意义 ($SMD = 5.53$, 95% $CI [3.85, 7.21]$, $P < 0.001$), 见图 7。敏感性分析后

发现所有研究结果的可信区间差异性小,故异质性主要来源可能与大鼠对药物敏感度、测量仪器灵敏度、大鼠体质量等有关。

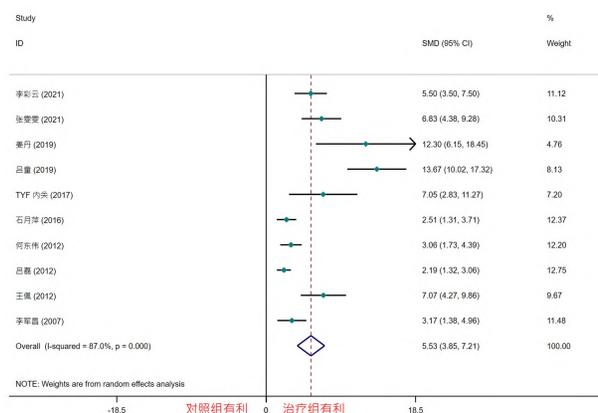


图 7 中医干预 MIRI 模型大鼠心肌组织蛋白 P-akt 的 Meta 分析

2.4.7 心肌组织蛋白 PI3K 表达 3 项^[8,10,34] 研究报告治疗后大鼠心肌组织蛋白 PI3K 改善情况,各研究间存在异质性 ($I^2 = 70.5\%$, $P < 0.05$) 采用随机效应模型合并统计量,结果显示与对照组相比,治疗组明显上调大鼠心肌组织蛋白 PI3K 表达,差异具有统计学意义 ($SMD = 11.85$, 95% $CI [7.12, 16.57]$, $P < 0.001$), 见图 8。

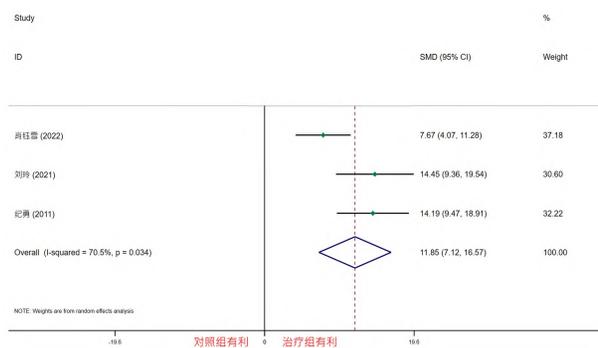


图 8 中医干预 MIRI 模型大鼠心肌组织蛋白 PI3K 的 Meta 分析

2.4.8 心肌组织蛋白 Bax 表达 6 项^[10-11,14,16,20,36] 研究报告治疗后大鼠心肌组织蛋白 Bax 改善情况,各研究间存在异质性 ($I^2 = 89.2\%$, $P < 0.001$) 采用随机效应模型合并统计量,结果显示与对照组相比,治疗组明显下调大鼠心肌组织蛋白 Bax 表达,差异具有统计学意义 ($SMD = -5.3$, 95% $CI [-7.62, -2.98]$, $P < 0.001$), 见图 9。

2.4.9 心肌组织蛋白 Bcl-2 表达 7 项^[10-11,14,16,20,23,36] 研究报告治疗后大鼠心肌组织蛋白 Bcl-2 改善情

况,各研究间存在异质性($I^2=94.3\%$, $P<0.01$)采用随机效应模型合并统计量,结果显示与对照组相比,治疗组明显上调大鼠心肌组织蛋白 Bcl-2 表达,差异具有统计学意义($SMD=3.7$, $95\%CI[1.3,6.09]$, $P<0.001$),见图 10。

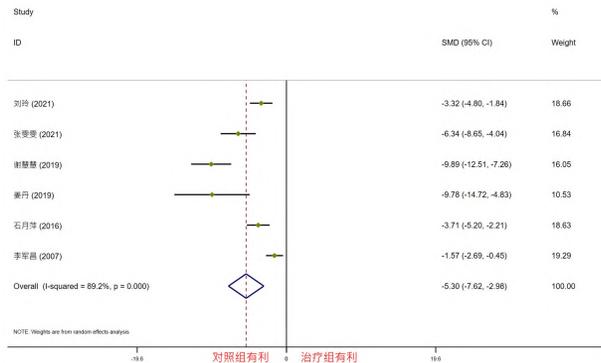


图 9 中医干预 MIRI 模型大鼠心肌组织蛋白 Bax 的 Meta 分析

2.5 敏感性分析

对纳入 10 篇及以上文献的 3 项结局指标血清 CK-MB、LDH、心肌组织蛋白 P-akt 进行敏感分析,逐一剔除每项研究后查看结局是否发生变化,详见图 11。血清 CK-MB 指标中有 3 项研究与其它差异较大,LDH 指标中有 2 项研究与其它差异较大,而心

肌组织蛋白 P-akt 指标结果较为集中。敏感性分析结果表明以上 3 项结局指标均不会因为剔除某项研究而发生结局指标的变化,表明 Meta 分析结论可靠。

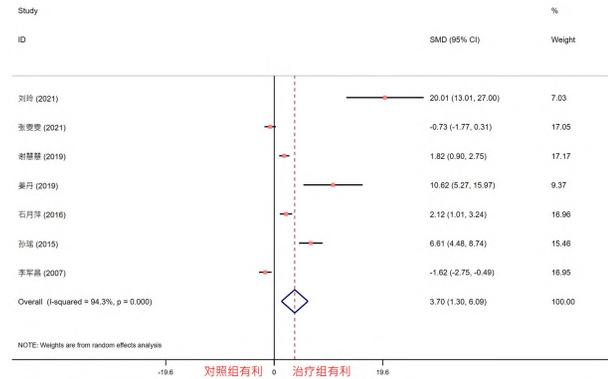
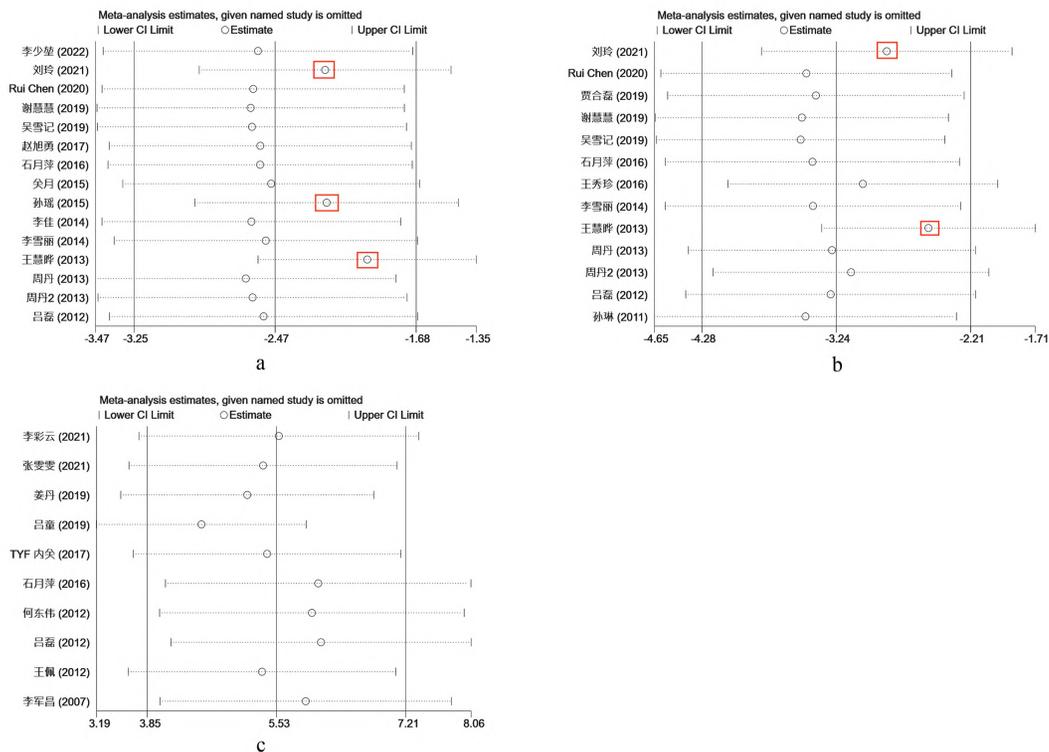


图 10 中医干预 MIRI 模型大鼠心肌组织蛋白 Bcl-2 的 Meta 分析

2.6 发表偏倚分析

对纳入 10 篇及以上文献的 3 项结局指标血清 CK-MB、LDH、心肌组织蛋白 P-akt 进行发表偏倚分析,采用 Egger's test,若 $P<0.05$ 提示存在发表偏倚,进一步利用剪补法添加虚拟数据后分析是否会逆转此项结局指标。



注: a 为 CK-MB 敏感性分析; b 为 LDH 敏感性分析; c 为 P-akt 敏感性分析。

图 11 中医干预 MIRI 模型大鼠的敏感性分析

2.6.1 血清 CK-MB 偏倚分析 对纳入 15 篇文献的血清 CK-MB 结局指标进行偏倚分析后表明偏倚存在 (Egger's test $t = -5.76, P < 0.05$), 进一步使用剪补法分析, 添加 2 篇虚拟数据后随机效应结果 ($SMD = -2.85, 95\% CI [-3.71, -2.00]$) 与未添加前血清 CK-MB 的随机效应结局无逆转 ($SMD = -2.47, 95\% CI [-3.25, -1.68]$), 故此项指标虽存在发表偏倚但结局依然稳健。见图 12。

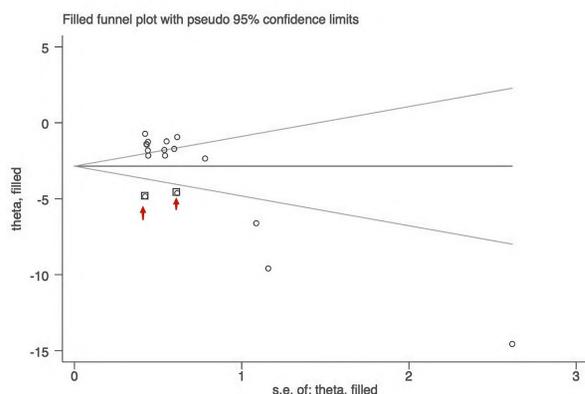


图 12 中医干预 MIRI 模型大鼠血清 CK-MB 的剪补漏斗图

2.6.2 血清 LDH 偏倚分析 对纳入 13 篇文献的血清 LDH 结局指标进行偏倚分析后表明偏倚存在 (Egger's test $t = -7.14, P < 0.05$), 进一步使用剪补法分析, 添加 1 篇虚拟数据后随机效应结果 ($SMD = -3.69, 95\% CI [-4.93, -2.4]$) 与未添加前血清 LDH 的随机效应结局无逆转 ($SMD = -3.24, 95\% CI [-4.28, -2.21]$), 故此项指标虽存在发表偏倚但结局依然稳健。见图 13。

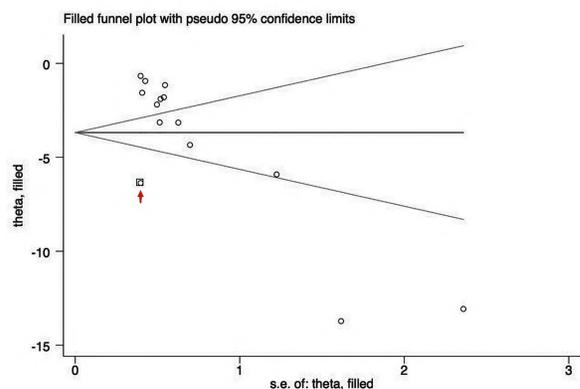


图 13 中医干预 MIRI 模型大鼠血清 LDH 的剪补漏斗图

2.6.3 心肌组织蛋白 P-akt 偏倚分析 对纳入 10 篇文献的心肌组织蛋白 P-akt 结局指标进行偏倚分析后表明偏倚存在 (Egger's test $t = 6, P < 0.05$),

进一步使用剪补法分析, 但未添加虚拟数据, 随机效应结果 ($SMD = 5.53, 95\% CI [3.85, 7.21]$), 故此项指标虽存在发表偏倚但结局依然稳健。见图 14。

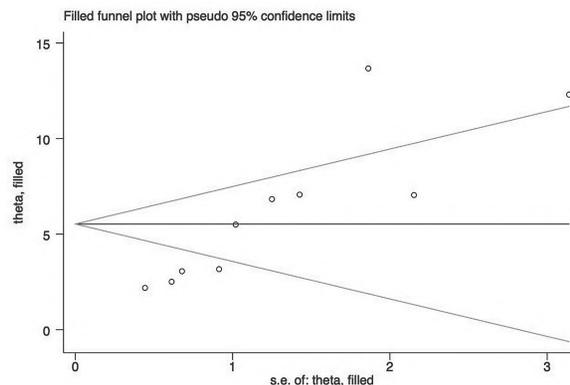


图 14 中医干预 MIRI 模型大鼠心肌组织蛋白 P-akt 的剪补漏斗图

3 讨论

3.1 分析总结

本项研究表明中医药疗法能显著降低 MIRI 大鼠模型的 cTnI、CK-MB、LDH、TNF- α 血清含量与 Bax 心肌组织蛋白表达, 并提升 SOD 血清含量与 P-akt、PI3K、Bcl-2 心肌组织蛋白表达。其中 cTnI 已被广泛应用于心肌梗死诊断中, 是心肌受损过程中的高特异性指标, 在心肌受损早期 cTnI 可快速入血, 血清中 cTnI 急速上升^[37], 故称其为梗死金指标; 血清 CK-MB 在正常人体中水平较低, 发生心肌受损时 CK-MB 从心肌进入血清中显著升高^[38], 故作为急性心梗的重要诊断与预后指标; LDH 是存在于心肌组织中的一种代谢酶, 心肌细胞损伤时血清 LDH 升高, 而 LDH 升高会进一步加剧心肌细胞损害从而陷入恶性循环^[39]; TNF- α 是一种可诱导心肌细胞凋亡的炎症因子, 参与心室重构, 在心肌梗死后水平显著增加^[40]; SOD 是一种自由基清除剂, 在发生 MIRI 时, SOD 可清除大量氧自由基, 保护心肌细胞免受自由基的损伤, 维持机体内的抗氧化平衡^[41-42]; 而 Bax 与 Bcl-2 蛋白是一对相互拮抗的凋亡与抗凋亡蛋白, 属 PI3K/Akt 通路下游靶蛋白^[43]。正常人体心肌细胞处于凋亡与抗凋亡的动态平衡中, 主要依靠 Bax/Bcl-2 蛋白比值决定。其中 Bax 属于促凋亡蛋白, Bcl-2 属于抗凋亡蛋白, 二者相互拮抗, 通过形成二聚体调控细胞凋亡。Bax/Bcl-2 比值高时, 同源二聚体形成较多, 可促进细胞凋亡, Bax/Bcl-2 比值

低时,异源二聚体形成较多,可抑制细胞凋亡^[44]。在 MIRI 刺激下,Bad 蛋白与分子伴侣蛋白裂解,使 Bax 表达上调,激活细胞凋亡程序。而 Akt 活化后将 Bad 蛋白的 Ser136 磷酸化与 Bax 竞争结合分子伴侣蛋白 14-3-3,从而使 Bax 蛋白失去诱导凋亡能力^[45],见图 15。

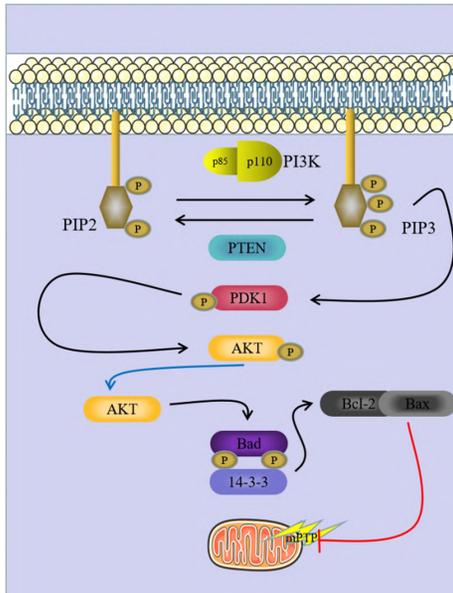


图 15 PI3K-Akt/Bax/Bcl 调控细胞凋亡信号通路图

因此,本文对 30 项中外研究中医干预 MIRI 大鼠模型的 cTnI、CK-MB、LDH、TNF- α 、SOD 血清含量进行分析,目的为评价中医治疗的有效性,对 P-akt、PI3K、Bax、Bcl-2 心肌组织蛋白表达进行分析,目的为评价中医治疗 MIRI 的机制。基于此,本研究对中医相关疗法通过 PI3K-Akt/Bax/Bcl 信号通路以改善患者心肌缺血再灌注后心肌细胞损伤为目的,从心肌细胞损伤的生化指标与通路蛋白的表达 2 个方面进行 Meta 分析,不仅论证了中医治疗 MIRI 的有效性,而且为中医相关机制研究增加了循证学依据,见图 16。



图 16 本文分析流程图

3.2 研究局限性及异质性来源

本项研究纳入总文献 30 篇,英文文献占 2 篇,未纳入其他语言文献,且研究地点均在中国,实验

模型均为大鼠,纳入文献质量评分较低,总体样本数量较少,异质性较大,Egger 运算仍有偏倚存在。对于异质性来源本文仅探讨纳入 ≥ 8 篇文献的结局指标 4 项,其中 2 项研究异质性来源为文献间差距较大,去除相关文献后无异质性。另外 2 项研究主要异质性来源不知,可能与以下几点有关:(1) 中医干预措施不同,治疗效果不同;(2) 所纳入研究大鼠样本量不一,存在大量小样本研究;(3) 大鼠对药物敏感性不同;(4) 测量仪器精准度不同。

此次研究总结补充中医不同疗法治疗 MIRI 在不同指标方面的疗效,其机制可能与 PI3K-Akt/Bax/Bcl 信号通路有关。但结论的准确性仍需更高质量、更大样本的动物实验来给予验证。

参考文献

- [1] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2021 概要[J]. 中国循环杂志,2022,37(6):553-578.
- [2] 《中成药治疗优势病种临床应用指南》标准化项目组. 中成药治疗冠心病临床应用指南(2020 年)[J]. 中国中西医结合杂志,2021,41(4):391-417.
- [3] Virani S S, Alonso A, Benjamin E J, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association[J]. Circulation,2020,141(9):e139-e596.
- [4] 谢延峰,马金,姚耿凯,等. 细胞程序性死亡与心肌缺血再灌注损伤的关系及中医药干预新视角[J]. 中国中药杂志,2021,46(6):1345-1356.
- [5] 刘恩岐,尹海林,顾为望. 医学实验动物学[M]. 北京:科学出版社,2008.
- [6] 陈匡阳,马彬,王亚楠,等. SYRCLE 动物实验偏倚风险评估工具简介[J]. 中国循证医学杂志,2014,14(10):1281-1285.
- [7] 李少堃,冯秀玲,林海龙. 红芪多糖对大鼠心肌缺血再灌注损伤后的影响[J]. 兰州大学学报(医学版),2022,48(1):28-31.
- [8] 肖钰雪,史晓梅,谢璐璐,等. 乌头赤石脂丸对大鼠心肌缺血再灌注损伤自噬及 PI3K/Akt/GSK-3 β 信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(11):26-32.
- [9] 李彩云,肖青,李鑫辉,等. 丹参通络解毒汤联合内皮祖细胞对心肌缺血再灌注损伤大鼠 PI3K/Akt 信号通路的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2021,28(11):46-50.
- [10] 刘玲. 调脾护心方通过 PI3K/Akt 信号通路对心肌缺血再灌注损伤模型大鼠的保护作用及机制研究[D]. 合肥:安徽中医药大学,2021.
- [11] 张雯雯. 益气搜风中药对心肌缺血再灌注损伤大鼠内皮功能影响与机制的研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2021.
- [12] CHEN R, CHEN T, WANG T, et al. Tongmai Yangxin pill reduces myocardial no-reflow by regulating apoptosis and activating PI3K/Akt/eNOS pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2020,28(261):113069.
- [13] 贾合磊,卢长青,王娟,等. 参附注射液通过调控自噬减轻大

- 鼠心肌缺血再灌注损伤的作用研究[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(18): 2213-2220.
- [14] 谢慧慧. 二仙汤对去卵巢大鼠心肌缺血再灌注损伤的作用及机制研究[D]. 南昌:江西中医药大学, 2019.
- [15] 吴雪记. 苦碟子注射液对大鼠心肌缺血再灌注后无复流的保护作用及机制研究[D]. 长春:吉林大学, 2019.
- [16] 姜丹. 搜风祛痰中药对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护机制的实验研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2019.
- [17] 吕童, 宫丽鸿, 肖福龙, 等. 搜风祛痰中药对大鼠心肌缺血再灌注损伤冠脉微循环内皮功能的保护作用[J]. 中国中医急症, 2019, 28(12): 2091-2094.
- [18] TIAN Y, GAO H, WANG J, et al. Effect of electroacupuncture at Ximen (PC 4) and Hegu (LI 4) on expression of Akt in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. J Tradit Chin Med, 2017, 37(6): 835-840.
- [19] 赵旭勇. 五味子乙素通过 PI3K/Akt 信号通路减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤[D]. 温州:温州医科大学, 2017.
- [20] 石月萍, 杨关林. 栝楼薤白半夏汤预处理保护缺血再灌注大鼠心肌 PI3K/Akt 通路机制[J]. 中国中医基础医学杂志, 2016, 22(7): 906-908, 921.
- [21] 王秀珍. 稳心丹对 MIRI 大鼠心肌保护作用及机制研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2016.
- [22] 关月. 丹参—红花心脏保护及丹参—大黄肾脏保护的药效物质及作用机制研究[D]. 西安:第四军医大学, 2015.
- [23] 孙瑶. 九龙藤总黄酮对心肌缺血/再灌注损伤细胞自噬及凋亡的作用[D]. 桂林:桂林医学院, 2015.
- [24] 李佳. 大株红景天对心肌缺血—再灌注损伤的保护作用及其机制的研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2014.
- [25] 李琳. 人参皂苷 Rg1 对大鼠心肌缺血再灌注损伤改善作用及机制探讨[D]. 北京:北京中医药大学, 2014.
- [26] 李雪丽. 中药复方双参宁心抗心肌缺血/再灌注损伤作用及线粒体保护机制研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2014.
- [27] 汤喜兰. 广枣抗心肌缺血再灌注损伤的物质基础及作用机制研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2013.
- [28] 王慧晔. 荜草苷抗 MIRI 作用中的自噬机制研究[D]. 北京:中央民族大学, 2013.
- [29] 周丹. 以药效差示血清色谱法研究丹红注射液治疗大鼠心肌缺血/再灌注损伤的 药效物质基础[D]. 西安:第四军医大学, 2013.
- [30] 周丹, 权伟, 关月, 等. 丹酚酸 B 通过 Akt-eNOS 通路对大鼠心肌缺血/再灌注损伤保护作用的研究[J]. 陕西中医, 2013, 34(1): 104-107.
- [31] 何东伟. PI3K-Akt 信号通路参与白藜芦醇对大鼠缺血再灌注心肌的保护作用[D]. 重庆:重庆医科大学, 2012.
- [32] 吕磊. PI3K/Akt 信号通路在川芎嗪对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护中的作用[D]. 南京:南京大学, 2012.
- [33] 王佩. 丹红注射液对大鼠心肌缺血—再灌注损伤中细胞凋亡影响的实验研究[D]. 锦州:辽宁医学院, 2012.
- [34] 纪勇, 陈国强, 黄斌, 等. 参附注射液对大鼠心肌缺血再灌注损伤 PTEN 和 PI3K 表达的影响[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2011, 5(10): 2900-2905.
- [35] 孙琳. 木豆叶指纹图谱及其提取物对心肌缺血再灌注损伤保护作用的研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2011.
- [36] 李军昌. 芪丹通脉片抑制缺血/再灌注心肌损伤作用及其信号通路机制[D]. 西安:第四军医大学, 2007.
- [37] 李硕, 梁晴, 翟秀娟. 急性冠脉综合征患者心肌损伤标志物 cTn I、CK-MB、Fib 表达与意义[J]. 临床输血与检验, 2018, 20(1): 73-75.
- [38] 李旭成, 张栋, 张军, 等. 脓毒症心力衰竭患者血清心肌肌钙蛋白 I 的相关性及五参汤治疗的临床疗效观察[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2017, 24(1): 10-13.
- [39] 李宏玉, 尹侠, 张世强, 等. 运动预处理对心肌缺血再灌注损伤老年大鼠心肌的影响[J]. 康复学报, 2021, 31(2): 131-137.
- [40] 蔡银链, 许朝祥, 王耀国, 等. 白藜芦醇通过抑制 TNF- α 的释放缓解大鼠缺血再灌注心脏损伤[J]. 免疫学杂志, 2018, 34(11): 934-939.
- [41] 马德彰, 余晶, 郝敏, 等. 超氧化物歧化酶清除自由基对心肌缺血再灌注损伤的保护作用及其机制[J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31(10): 2220-2222.
- [42] 汪宁, 高军, 白方会, 等. 基于 Akt/GSK-3 β 通路研究紫檀芪对脑缺血再灌注大鼠脑保护作用及血管内皮间质过度转化的影响[J]. 中草药, 2022, 53(8): 2399-2406.
- [43] Korshunova A Y, Blagonravov M L, Neborak E V, et al. BCL2 regulated apoptotic process in myocardial ischemiareperfusion injury (Review) [J]. Int J Mol Med, 2021, 47(1): 23-36.
- [44] 张静, 余鹏, 袁林辉, 等. 蛋白激酶 B/雷帕霉素靶蛋白通路在七氟醚后处理保护心肌缺血再灌注中的作用[J]. 中国循环杂志, 2016, 31(9): 896-901.
- [45] 谢延峥, 马金, 邹旭. PI3K/Akt 信号通路串扰在心肌缺血再灌注损伤中的作用及中医药防治进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(24): 201-210.

(收稿日期: 2022-12-20)

(本文编辑: 韩虹娟)