

荞麦花叶总黄酮对阿霉素致心力衰竭大鼠的保护作用及机制

高风华¹, 白静^{2*}, 吕华²

(1. 唐山钢铁集团有限责任公司医院重症医学科, 河北 唐山 063000;
2. 河北联合大学药理教研室, 河北 唐山 063000)

[摘要] **目的:**观察荞麦花叶总黄酮(TFBFL)对阿霉素致心力衰竭大鼠的保护作用并分析其可能机制。**方法:**SD大鼠随机分为正常对照组、模型对照组、荞麦花叶总黄酮低、中、高剂量组(100, 200, 400 mg·kg⁻¹)及卡托普利组(10 mg·kg⁻¹)。采用腹腔注射阿霉素建立大鼠心衰模型,于造模第4周各组同时灌胃给予治疗药物,1次/d,连续3周。末次给药后测定各组大鼠心功能指标;放射免疫法测定血清心钠素(ANP)、脑钠素(BNP)水平;ELISA法检测血清中一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平。**结果:**与正常对照组比较,模型对照组大鼠心功能各项指标如左室收缩压(LVSP)、左室舒张末压(LVEDP)、左室内压最大上升、下降速度($\pm dp/dt_{max}$)及血清中ANP、BNP、NO、NOS、IL-1 β 、IL-6及TNF- α 水平均出现显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型对照组比较,TFBFL各剂量组大鼠上述心功能各项指标及血清中各指标均出现不同程度的降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论:**TFBFL可改善阿霉素致心衰大鼠心功能,其机制可能与其降低血清中ANP、BNP、NO、NOS、IL-1 β 、IL-6及TNF- α 水平相关。

[关键词] 荞麦; 黄酮; 心力衰竭

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0185-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014070185

Protective Effect of Total Flavones of Buckwheat Flower and Leaf on Adriamycin Induced Heart Failure in Rats and its Mechanism

GAO Feng-hua¹, BAI Jing^{2*}, LV Hua²

(1. Department of Intensive Care Unit, Hospital of Tangshan Steel Limited Coporation, Tangshan 063000, China;
2. Department of Pharmacology, Hebei United University, Tangshan 063000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe effects of total flavones of buckwheat flower and leaf (TFBFL) on adriamycin induced heart failure in rats and its mechanism. **Method:** The rats were randomly divided into normal control group, heart failure model contrast group, TFBFL groups at different doses (100, 200, 400 mg·kg⁻¹) and captopril group (10 mg·kg⁻¹). The rat heart failure model was induced by intraperitoneal injection of adriamycin. The rats of each group were given therapeutic drugs by ig for 3 weeks. The cardiac function indexes were determined after the last administration. The levels of atrial natriuretic peptide (ANP) and brain natriuretic peptide (BNP) in serum were determined by radioimmunoassay. The levels of nitric oxide (NO), nitric oxide synthase (NOS), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Result:** Compared with the normal control group, the myocardial infarction indexes such as left ventricular systolic pressure (LVSP), left ventricular end-diastolic pressure LVEDP) and $\pm dp/dt_{max}$, and the levels of ANP, BNP, NO, NOS, IL-1 β , IL-6 and TNF- α in serum were increased remarkably ($P < 0.05$, $P < 0.01$). But compared with the model group, the myocardial infarction

[收稿日期] 20130817(001)

[基金项目] 河北省自然科学基金(CZ010001795)

[第一作者] 高风华, 硕士, 从事重症医学临床, E-mail:13513259511@sina.com

[通讯作者] * 白静, 硕士, 副教授, 从事药理学研究, Tel:0315-3725870, E-mail:1003214620@qq.com

indexes and the levels of ANP, BNP, NO, NOS, IL-1 β , IL-6 and TNF- α in serum were decreased to some extent ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** TFBFL could improve cardiac function of heart failure induced by adriamycin, which may be related to decreasing the levels of ANP, BNP, NO, NOS, IL-1 β , IL-6 and TNF- α in serum.

[**Key words**] buckwheat; flavones; heart failure

近年来,黄酮类化合物在心血管方面的研究取得了显著进展。从银杏、水杉、黄芩等植物中提取的黄酮类被证实具有降脂、抗血栓、扩血管、抗氧化等作用^[1-2]。本研究以经济无毒的荞麦为原料,从荞麦花、叶中提取出黄酮类化合物,即荞麦花叶总黄酮(total flavones of buckwheat flower and leaf, TFBFL),前期研究发现其具有显著的降脂、抗血栓、改善心肌重构等作用^[3-4]。为进一步研究该药在心血管方面的作用,本研究建立了阿霉素致大鼠心衰模型,观察 TFBFL 对心衰大鼠心功能的影响,并分析其可能的机制。

1 材料

1.1 药品与试剂 荞麦花叶采自内蒙古库伦旗,经河北联合大学药理教研室韩淑英教授鉴定为蓼科荞麦属甜荞麦(*Fagopyrum esculentum*)。将荞麦花叶研碎物经水浴加热 3 次合并滤液,滤液经醇提干燥后即得荞麦花叶总黄酮(TFBFL)。经中国科学院药物研究所鉴定黄酮含量为 98%。盐酸阿霉素(深圳万乐药业有限公司产,批号 0905E1),卡托普利(中美施贵宝制药有限公司产,批号 1102031),白细胞介素-1 β (IL-1 β),白细胞介素-6(IL-6)试剂盒(北京北方生物技术研究所产,批号 20110823,20110826),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)试剂盒(深圳科润达生物工程有限公司产,批号 27194),一氧化氮(NO)试剂盒(北京晶美生物工程有限公司产,批号 SKI50623),一氧化氮合酶(NOS)试剂盒(上海源叶生物公司产,批号 41993),心钠素(ANP)试剂盒(北京北方生物技术研究所产,批号 200805016),脑钠素(BNP)试剂盒(北京方程生物公司产,批号 FU-R2063)。

1.2 动物 雄性 SD 大鼠 60 只,体重 220 ~ 280 g,由中国医学科学院提供,合格证号 SCXK(京)2009-0001。

1.3 仪器 PT-DR200B 酶标仪(北京普天新桥技术有限公司),FA2004 型电子天平(上海良平仪器仪表有限公司),BL-420A 生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司)。

2 方法

2.1 模型的建立及分组给药 SD 大鼠 60 只,随机分为正常对照组,模型对照组,TFBFL 低、中、高剂

量组(100,200,400 mg·kg⁻¹)及卡托普利组(10 mg·kg⁻¹),每组 10 只。除正常对照组外,其余各组大鼠 ip 盐酸阿霉素 0.8 mg·L⁻¹,第 1 ~ 3 周按 3 mg·kg⁻¹ 给药,第 4 ~ 6 周按 2 mg·kg⁻¹ 给药,1 次/周;正常对照组大鼠 ip 等量生理盐水,1 次/周。给药第 4 周各组同时灌胃给予相应治疗药物,正常对照组、模型对照组大鼠灌胃生理盐水 10 mL·kg⁻¹,各组灌胃给药 3 周,1 次/d。

2.2 心功能指标的测定 各组大鼠给药后用 10% 水合氯醛 1 mL·kg⁻¹ 腹腔注射麻醉,仰位固定于手术台上,四肢皮下插入心电图电极,记录心电图。待心电图稳定后,分离右颈总动脉,头端结扎进行动脉插管,将插管插入左心室直至出现心室压力波形,稳定后采用 BL420 系统测量左心室功能指标:左室收缩压(LVSP)、左室舒张末压(LVEDP)、左室内压最大上升、下降速度($\pm dp/dt_{max}$)。

2.3 血清 ANP, BNP, NO, NOS, IL-1 β , IL-6, TNF- α 测定 腹腔静脉取血,3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,分离血清后 -80 °C 保存。放射免疫法测定血清中 ANP 及 BNP 含量。ELISA 法检测 NO, NOS, IL-1 β , IL-6, TNF- α 。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 12.0 软件进行统计分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析法进行组间比较。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠心功能指标的影响 与正常对照组比较,模型对照组大鼠 LVSP, LVEDP 及 $\pm dp/dt_{max}$ 均明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),表明模型对照组大鼠心脏收缩和舒张功能均出现显著下降。与模型对照组比较,卡托普利和 TFBFL 不同剂量组均可不同程度降低 LVSP, LVEDP 及 $\pm dp/dt_{max}$ 值($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 1。

3.2 对大鼠血清 ANP, BNP 的影响 与正常对照组比较,模型对照组大鼠血清中 ANP, BNP 水平均出现显著升高($P < 0.01$)。与模型对照组比较,卡托普利和 TFBFL 不同剂量组可不同程度降低 ANP, BNP 水平,以中、高剂量组更明显($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 2。

表1 TFBFL对大鼠心功能指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	LVSP /mmHg	LVEDP /mmHg	+ dp /dt _{max} /mmHg·s ⁻¹	- dp/dt _{max} /mmHg·s ⁻¹
正常对照	-	99.23 ± 11.28	1.72 ± 0.47	6 731 ± 537	5 221 ± 538
模型对照	-	146.38 ± 14.53 ²⁾	3.64 ± 0.95 ²⁾	9 969 ± 844 ²⁾	6 043 ± 674 ¹⁾
卡托普利	10	111.47 ± 12.95 ⁴⁾	2.13 ± 0.53 ⁴⁾	7 321 ± 617 ⁴⁾	5 269 ± 574 ³⁾
TFBFL	100	134.74 ± 13.51	2.67 ± 0.64 ³⁾	9 145 ± 718	5 515 ± 610
	200	117.68 ± 13.13 ⁴⁾	2.16 ± 0.51 ⁴⁾	8 964 ± 664 ³⁾	5 414 ± 609
	400	108.57 ± 11.85 ⁴⁾	2.01 ± 0.49 ⁴⁾	7 414 ± 586 ⁴⁾	5 217 ± 459 ³⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型对照组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表2~4同)。

表2 TFBFL对大鼠血清 ANP, BNP 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	ANP ng·L ⁻¹	BNP ng·L ⁻¹
正常对照	-	35.1 ± 4.4	17.3 ± 2.2
模型对照	-	63.7 ± 8.1 ²⁾	52.4 ± 7.4 ²⁾
卡托普利	10	41.3 ± 5.5 ⁴⁾	24.8 ± 3.8 ⁴⁾
TFBFL	100	56.1 ± 6.4	45.6 ± 5.6 ³⁾
	200	46.5 ± 5.7 ⁴⁾	36.4 ± 4.8 ⁴⁾
	400	40.5 ± 5.3 ⁴⁾	21.7 ± 3.7 ⁴⁾

表4 TFBFL对大鼠血清 IL-1 β ,IL-6, TNF- α 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	IL-1 β	IL-6	TNF- α
正常对照	-	92.5 ± 11.6	24.6 ± 3.9	7.5 ± 1.1
模型对照	-	147.4 ± 16.1 ²⁾	43.9 ± 6.8 ²⁾	18.3 ± 4.5 ²⁾
卡托普利	10	97.3 ± 14.6 ⁴⁾	27.8 ± 4.5 ⁴⁾	9.5 ± 1.7 ⁴⁾
TFBFL	100	127.9 ± 15.4 ³⁾	37.1 ± 5.4 ³⁾	15.1 ± 3.5
	200	118.6 ± 14.9 ⁴⁾	31.6 ± 4.7 ⁴⁾	11.2 ± 3.1 ⁴⁾
	400	105.5 ± 12.7 ⁴⁾	29.5 ± 4.1 ⁴⁾	8.5 ± 1.6 ⁴⁾

3.3 对大鼠血清 NO, NOS 的影响 与正常对照组比较,模型对照组大鼠血清中 NO, NOS 水平均出现显著升高($P < 0.01$)。与模型对照组比较,卡托普利和 TFBFL 不同剂量组可不同程度降低 NO, NOS 水平,以高剂量组更明显($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表3。

表3 TFBFL对大鼠血清 NO, NOS 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	NO / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	NOS / $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$
正常对照	-	24.1 ± 4.6	29.1 ± 5.1
模型对照	-	51.3 ± 8.9 ²⁾	57.3 ± 7.1 ²⁾
卡托普利	10	35.7 ± 6.5 ⁴⁾	37.2 ± 5.8 ⁴⁾
TFBFL	100	40.5 ± 7.1 ³⁾	48.5 ± 7.9
	200	36.4 ± 6.8 ⁴⁾	47.5 ± 7.2 ³⁾
	400	37.4 ± 7.1 ⁴⁾	41.6 ± 7.5 ⁴⁾

3.4 对大鼠血清 IL-1, IL-10, TNF- α 的影响 与正常对照组比较,模型对照组大鼠血清中 IL-1 β , IL-6 及 TNF- α 水平均出现显著升高($P < 0.01$)。与模型对照组比较,卡托普利和 TFBFL 不同剂量组可不同程度降低 IL-1, IL-10, TNF- α 水平,以中、高剂量组更明显($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表4。

4 讨论

阿霉素是一种广谱抗肿瘤药物,但其对心肌有明显的毒副作用,严重时常导致心力衰竭^[5],故本研究采用连续腹腔注射阿霉素6周,1次/周,造成阿霉素在体内蓄积,以建立大鼠心衰模型。结果表明模型对照组大鼠心功能各项指标如 LVSP、LVEDP 及 $\pm dp/dt_{\text{max}}$ 均较正常对照组低,提示心衰模型建立成功。与模型对照组比较,TFBFL 不同剂量组心功能各项指标值均显著下降,提示 TFBFL 可改善阿霉素致心衰大鼠心功能。

ANP 主要由心房合成,BNP 由心室合成,当心房、心室容量负荷过重,房、室壁张力增加,二者释放增多。心衰时,由于容量负荷增加,心房、心室牵张刺激增强而使得 ANP, BNP 合成分泌增多。有报道,血浆 ANP 及 BNP 水平可作为评定心衰的进程和判断预后的指标,心衰时外周血 ANP, BNP 水平越高,心功能恶化越显著^[6]。本结果表明,模型对照组 ANP, BNP 含量显著高于正常对照组,而 TFBFL 不同剂量组其含量显著降低。提示 TFBFL 可改善心衰大鼠心功能,延缓心衰进程。

NO 是体内主要的血管舒张物质之一,在心脑血管疾病的发生发展过程中有极其重要作用。NO

的合成受内皮细胞中 NOS 的表达和活性的调节。但心衰时 NOS 的表达过度增强,使血管内皮细胞释放 NO 过度增多,可对心肌造成直接损害,降低心肌收缩力^[7]。本实验结果显示,模型对照组大鼠血清 NO, NOS 浓度显著增高,提示大鼠在心衰形成的过程中,血管内皮细胞 NO, NOS 代偿性分泌增多。而 TFBFL 可降低血清 NO, NOS 浓度,提示 TFBFL 可能抑制 NO, NOS 释放,从而减轻心肌损伤。

炎症反应是近年来备受关注的一种引起心血管疾病的危险因素。有研究表明致炎因子 IL-1 β , IL-6 及 TNF- α 均参与了心衰的进程^[8]。TNF- α 可直接作用于心脏,使心室功能下降。IL-1 β 可通过增加心肌负荷、刺激并增强 TNF- α 对靶器官的敏感性,加重心衰进程。IL-6 对心肌细胞可产生负性肌力和细胞毒作用^[9]。血浆中 IL-1 β , IL-6 及 TNF- α 水平与心功能恶化程度呈正相关^[10]。本实验结果显示,模型对照组大鼠血清中 IL-1 β , IL-6 及 TNF- α 水平均显著增高,而 TFBFL 不同剂量组可显著降低血清中三者水平,提示 TFBFL 可通过降低此 3 种致炎因子水平,从而减轻心肌损伤。

[参考文献]

[1] El-Boghdady N A. Increased cardiac endothelin-1 and nitric oxide in adriamycin-induced acute cardiotoxicity: protective effect of Ginkgo biloba extract[J]. Indian J Biochem Biophys, 2013, 50(3): 202.
[2] 王建行, 张俊梅, 韩婷, 等. 荞麦花叶总黄酮对大鼠血栓形成及血黏度的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 23

(9): 2169.
[3] 姜妍, 韩淑英. 荞麦花叶总黄酮对实验性大鼠心肌梗厚的保护作用[J]. 中国现代医学杂志, 2007, 17(11): 1287.
[4] 张博男, 储金秀, 韩淑英, 等. 荞麦花叶总黄酮的舒张血管作用及其机制[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(7): 952.
[5] 许志威, 吴伟康, 蓝涛华, 等. 银杏提取物抗大鼠阿霉素性心衰的作用及机制研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(21): 2786.
[6] Ahluwalia N, Blacher J, Szabo de Edelenyi F, et al. Prognostic value of multiple emerging biomarkers in cardiovascular risk prediction in patients with stable cardiovascular disease[J]. Atherosclerosis, 2013, 228(2): 478.
[7] Tsutsui M, Shimokawa H, Otsuji Y, et al. Nitric oxide synthases and cardiovascular diseases: insights from genetically modified mice [J]. Circ J, 2009, 73(6): 986.
[8] 谷仿丽, 陈光亮. 心衰康颗粒对心衰大鼠心室重塑的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(4): 54.
[9] Athilingam P, Moynihan J, Chen L, et al. Elevated levels of interleukin 6 and C-reactive protein associated with cognitive impairment in heart failure [J]. Congest Heart Fail, 2013, 19(2): 92.
[10] 朱海霞. 慢性心力衰竭患者血清白介素 6、高敏 C 反应蛋白和肿瘤坏死因子 α 水平的变化及临床意义[J]. 中国全科医学, 2011, 14(29): 3362.

[责任编辑 聂淑琴]

《中国医药导报》杂志 欢迎订阅 欢迎投稿

《中国医药导报》杂志是国家卫生和计划生育委员会主管、中国医学科学院主办的国家级医药卫生类科技核心期刊,现为旬刊,国内统一刊号:CN11-5539/R,国际标准刊号 ISSN1673-7210,邮发代号:80-372,本刊系中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊,并被万方数据、中国知网、中国学术期刊网络出版总库、中国期刊全文数据库、解放军医学图书馆中文生物医学期刊文献数据库、中文科技期刊数据库收录。每期定价 20 元,全年 36 期优惠价 540 元。

本刊设有专家论坛、研究进展、论著、临床研究、药理与毒理、中医中药、生物医药、病理分析、药品鉴定、制剂与技术、药物与临床、麻醉与镇痛、医学检验、影像与介入、护理研究、教学研究、药物经济学、科研管理、政策研究、医药监管等栏目,是广大医药科研、教育、临床等人员开阔视野、交流经验、增进学术交流的贴身参谋和得力助手,也是发表学术论文的园地。在本刊发表的论文可获得继续教育学分。本刊订户凭订阅单复印件投稿优先发表,来稿注明单位名称、地址、电话、联系人姓名。

社址:北京市朝阳区通惠家园惠润园(壹线国际)5-3-601 邮编:100025

投稿热线:010-59679061 59679063 发行热线:010-59679533

传真:010-59679056 投稿信箱:yyzx68@vip.163.com

网址:www.yiyaodaobao.com.cn