

人参健心胶囊对阿霉素所致心衰大鼠神经内分泌系统的影响

董倩^{1*}, 丁书文²

(1. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053; 2. 山东省中医院, 济南 250011)

[摘要] **目的:** 观察人参健心胶囊对阿霉素所致心衰大鼠神经内分泌系统的影响。**方法:** 采用持续腹腔注射阿霉素法, 每周 1 次, 共 6 周, 制造慢性充血性心衰大鼠模型, 第 5 周开始每日灌服中药寒凉剂共 7 d。将 50 只大鼠随机分为正常组、模型组(生理盐水)、卡托普利组(12.5 mg·kg⁻¹)、人参健心胶囊低、高剂量组(1.92, 3.83 g·kg⁻¹), 给药 2 周后检测大鼠血液内皮素、白介素 6、血管紧张素 II 水平、一氧化氮水平、肿瘤坏死因子的变化, 大鼠心重指数和心肌标本 HE 病理染色, 观察人参健心胶囊对慢性心衰大鼠神经内分泌系统及大鼠心肌细胞形态学的影响。**结果:** 与正常组比较, 模型组大鼠心脏质量($P < 0.05$)、左心室质量($P < 0.01$)、左心室指数(LVW/BW)和心重指数(HW/BW)明显增加($P < 0.01$); 与模型组比较, 人参健心胶囊可显著降低慢性心衰大鼠全心指数($P < 0.01$)和左心室指数($P < 0.01$), 降低血管内皮素($P < 0.01$)、白介素 6($P < 0.01$)、血管紧张素 II($P < 0.01$)和一氧化氮水平($P < 0.01$), 且中药高剂量组优于中药低剂量组($P < 0.01$)。人参健心胶囊可减轻心肌细胞变性和炎细胞浸润, 具有心肌保护作用。**结论:** 人参健心胶囊可改善阿霉素诱导的心衰大鼠的左室心肌肥厚, 可能通过调节神经内分泌系统发挥作用, 并对阿霉素导致的心肌损害起保护修复作用。

[关键词] 充血性心力衰竭; 人参健心胶囊; 阿霉素; 神经内分泌因子; 病理

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0243-04

[doi] 10.11653/syfy2013140243

Effect of Renshen Jianxin Capsule on Neuroendocrine Activation in Rat Congestive Heart Failure Caused by Doxorubicin

DONG Qian^{1*}, DING Shu-wen²

(1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China;
2. Shandong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250011, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Renshen Jianxin (RSJX) capsule on neuroendocrine activation in rat chronic congestive heart failure (CHF). **Method:** The rat CHF model was established by intraperitoneal injection of adriamycin (ADM) once a week for 6 weeks. From the fifth week rats were given cold

[收稿日期] 20120402(005)

[通讯作者] * 董倩, 博士, 肿瘤专业博士后, Tel: 010-88001500, E-mail: dongqian99@126.com

- [6] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 10.
- [7] Giardino R, Giavaresi G, Fini M, et al. The role of different chemical modifications of superoxide dismutase in preventing a prolonged muscular ischemia/reperfusion injury[J]. Arit Cells Blood Substit Immobil Biotechnol, 2002, 30(1): 189.
- [8] 杨斌. 复方地黄对老年痴呆动物模型学习记忆能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 195.
- [9] 郭晓峰, 冯玉华, 赵延龙. 大黄蛰虫丸、当归补血汤对 D-半乳糖致衰小鼠肝组织中的 SOD 活性和 MDA 含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 197.
- [10] Limoli C L, Kaplan M I, Giedzinski E, et al. Attenuation of radiation-reduced genomic instability by free radical scavengers and cellular proliferation[J]. Free Radio Boil Med, 2001, 31(1): 10.
- [11] 张良和, 张红英, 孙晓宇. 马齿苋乙醇提取物对 D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 229.

[责任编辑 聂淑琴]

herbal compound for 7 days. Fifty Wistar rats were divided into five groups at random including: normal group, model group, captopril group, low dose and high dose. Groups of RSJX after 2 weeks, the circulatory level of nitric oxide (NO), endothelin (ET), angiotensin II (Ang II), interleukin (IL)-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α) in blood of rats, cardiac index and cardiac muscle pathology were analyzed. **Result:** Compared with normal group, the heart weight (HW) ($P < 0.05$), left ventricle weight (LVW) ($P < 0.01$), index of LVW (LVW/BW) and HW (HW/BW) of model group were increased obviously ($P < 0.01$). Compared with model group, RSJX capsule could reduce LVW/BW ($P < 0.01$) and HW/BW ($P < 0.01$), decrease the circulatory level of ET ($P < 0.01$), IL-6 ($P < 0.01$), Ang II ($P < 0.01$) and NO ($P < 0.01$), and the high dose group was better than the low dose group ($P < 0.01$). The pathological section of cardiac muscle showed that RSJX capsule could protect the cardiac muscle by improving the degeneration of the cardiac cell and reducing the inflammatory cell infiltration. **Conclusion:** RSJX capsule can improve the left ventricular hypertrophy in CHF rats caused by ADM with the possible mechanism of regulating the neuroendocrine activation and also can protect cardiac damage caused by ADM.

[Key words] chronic congestive heart failure; Renshen Jianxin capsule; doxorubicin; neuroendocrine factors; pathology

阿霉素是临床常用的抗肿瘤药物,因具有心脏毒性,可引起迟发性心力衰竭,故其在临床应用受到一定限制。阿霉素治疗后的患者需要定期检查心脏功能,一旦出现心肌损害,往往表现为心律失常、心肌缺血及心功能衰竭。心衰是各种心血管疾病的终末阶段,也是至今为止唯一发病率仍在继续增加的心血管疾病^[1]。人参健心胶囊具有益气活血,温阳通络,养心复元的作用,笔者将其用于治疗冠状动脉供血不足、心功能不全等,收到良好疗效。为进一步探讨其是否可用于阿霉素导致的心衰,笔者通过动物实验,观察了人参健心胶囊对阿霉素诱导的心衰大鼠神经内分泌系统的影响及对大鼠心肌病理改变的影响。

1 材料

1.1 动物 健康 Wistar 大鼠 50 只,雌雄各半,体重 (210 ± 20)g,山东大学实验动物中心提供,动物许可证号 SCXK(鲁)20030004。

1.2 药品和试剂 人参健心胶囊(人参、黄芪、桂枝、茯苓、白术、泽泻、丹参、水蛭按 0.67:2:0.6:1:1:1:1:0.33 比例配制,取黄芪、丹参、桂枝加水煎液浓缩成浸膏,余药研为细粉,与浸膏混匀,干燥、粉碎,过筛分装,0.25 g/粒,药品质量符合《中国药典》有关胶囊的相关规定)由山东中医药大学附属医院制剂室提供(批号 Z0120090307)。以生理盐水溶解,配成含生药 $0.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 备用。卡托普利(山东罗欣药业股份有限公司,批号 090515)。阿霉素(注射用盐酸多柔比星,深圳万乐药业有限公司,批号 0602E1), 10 mg/支 。内皮素-1 (ET-1)试剂盒、肿瘤

坏死因子(TNF)试剂盒、白介素-6(IL-6)试剂盒、血管紧张素 II (Ang II) 试剂盒(中国人民解放军总医院科技开发中心放免研究所,批号 0907),一氧化氮(NO)试剂盒(南京建成生物工程研究所生产,批号 20090712)。

1.3 仪器 DDL-5 低速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂),GMJ 型全自动放射免疫 γ 计数器(江苏省医疗电子研究所),721 分光光度计(上海第三分析仪器厂),AE200S 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 按文献所述^[2-3],采用持续 ip 阿霉素法,按 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量溶于 1 mL 生理盐水,每周 1 次,共 6 周。第 5 周起每日 ig 1 次寒凉药 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (石膏:知母为 4:3,水煎浓缩为 100% 药液, $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),共喂药 7 d,造成阳虚模型。将 50 只大鼠随机分为正常组、模型组、卡托普利组 ($12.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、人参健心胶囊低、高剂量组 ($1.92, 3.83 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),每组 10 只,雌雄各半。中药组和卡托普利组于造模 7 周后开始给药,每日 1 次,共 14 d。所有大鼠从腹主动脉取血,取血后摘取大鼠心脏,分别称取全心质量(HW)和左心室质量(LVW),并计算心重指数:全心重/体重(HW/BW),左心重/体重(LVW/BW)。将左心室以 10% 福尔马林固定后送病理。

2.2 检测指标 采用放射免疫法测定 ET-1, Ang II, TNF, IL-6 含量,采用硝酸还原酶法测定 NO 含量。病理切片采用 HE 染色。

2.3 统计学方法 统计软件采用 SPSS 17.0 软件进行统计。根据观察指标及结果不同,以配对 t 检验比较组内治疗前后各项参数差异的显著性。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠一般状态 大鼠腹腔注射阿霉素 1 周后逐渐出现不同程度毛色黯淡无光及脱毛、食欲下降、消瘦、行动迟缓等表现。模型组于造模第 6 周、人参健心胶囊高剂量组于造模第 7 周各有 1 只雄性大鼠死亡。

3.2 对大鼠心肌肥厚的影响 如表 1 所示,与对照

组(正常鼠)比较,造模后大鼠心脏质量($P < 0.05$)、左心室质量($P < 0.01$)、左心室指数(LVW/BW)和心重指数(HW/BW)明显增加($P < 0.01$),符合左心衰左室肥厚模型。与模型组相比,各治疗组大鼠全心指数显著下降($P < 0.01$),卡托普利组和人参健心胶囊高剂量组左室肥厚改善($P < 0.05$),人参健心胶囊高剂量组优于卡托普利组($P < 0.05$),人参健心胶囊高剂量组全心指数与正常鼠比较无显著性差异。以上说明:造模后大鼠出现心肌肥厚,左室肥大,经药物干预,心重指数均有改善,以人参健心胶囊高剂量组改善最明显($P < 0.01$)。

表 1 人参健心胶囊对大鼠心肌肥厚的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	例数	BW/g	HW/g	LVW/g	HW/BW/ $g \cdot kg^{-1}$	LVW/BW/ $g \cdot kg^{-1}$
对照	-	10	315.49 ± 54.81	0.850 ± 0.094	0.450 ± 0.067	2.726 ± 0.251	1.432 ± 0.060
模型	-	9	276.67 ± 35.29	0.975 ± 0.124 ¹⁾	0.535 ± 0.06 ²⁾	3.526 ± 0.109 ²⁾	1.936 ± 0.053 ²⁾
卡托普利	0.012 5	10	291.35 ± 44.26	0.886 ± 0.132	0.471 ± 0.065 ³⁾	3.038 ± 0.106 ^{2,4)}	1.634 ± 0.040 ^{2,4)}
人参健心	1.92	10	294.14 ± 49.83	0.879 ± 0.118	0.497 ± 0.079	3.006 ± 0.156 ^{2,4)}	1.691 ± 0.037 ^{2,4,5)}
	3.83	9	309.53 ± 50.13	0.876 ± 0.127	0.467 ± 0.070 ³⁾	2.858 ± 0.146 ^{4,5)}	1.512 ± 0.074 ^{2,4,6)}

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;与卡托普利组比较⁵⁾ $P < 0.05$,⁶⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 对大鼠血浆 ET-1, Ang II, TNF- α , IL-6, NO 水平的影响 如表 2 所示,造模后大鼠血浆 Ang II 水平无明显变化,ET, TNF- α , IL-6, NO 水平明显升高($P < 0.01$)。给药后各组大鼠 Ang II 水平显著下降($P < 0.01$),人参健心胶囊高、低剂量组均优于卡托普利组($P < 0.01$)。卡托普利和人参健心胶囊均可降低心衰大鼠 ET-1 水平和 NO 水平,人参健心胶囊

组明显优于卡托普利组($P < 0.01$)。卡托普利对造模后大鼠 IL-6 水平变化无显著影响,人参健心胶囊可降低 IL-6 水平($P < 0.01$);卡托普利和人参健心胶囊对 TNF- α 水平升高均无显著影响。其中,对 Ang II, NO, IL-6 的影响,人参健心胶囊高剂量组优于低剂量组($P < 0.01$)。

表 2 人参健心胶囊对大鼠血浆 Ang II, ET, NO, IL-6, TNF- α 水平的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	例数	Ang II / $ng \cdot L^{-1}$	ET-1 / $ng \cdot L^{-1}$	NO / $\mu mol \cdot L^{-1}$	IL-6 / $ng \cdot L^{-1}$	TNF- α / $\mu g \cdot L^{-1}$
对照	-	10	110.40 ± 5.78	93.34 ± 3.87	35.83 ± 1.41	63.95 ± 4.23	0.79 ± 1.12
模型	-	9	115.67 ± 8.99	117.56 ± 7.73 ²⁾	50.81 ± 2.01 ²⁾	74.20 ± 6.56 ²⁾	1.53 ± 0.07 ²⁾
卡托普利	0.012 5	10	54.57 ± 3.47 ⁴⁾	100.52 ± 5.78 ⁴⁾	41.24 ± 0.51 ⁴⁾	70.22 ± 5.95	1.38 ± 0.27 ³⁾
人参健心	1.92	10	47.32 ± 6.02 ^{4,5)}	79.48 ± 5.95 ^{4,5)}	48.72 ± 1.39 ^{4,5)}	67.25 ± 4.79 ^{4,5)}	1.44 ± 0.10
	3.83	9	30.04 ± 3.43 ^{4,5,6)}	76.13 ± 4.93 ^{4,5)}	39.22 ± 1.60 ^{4,5,6)}	37.43 ± 2.23 ^{4,5,6)}	1.41 ± 0.05

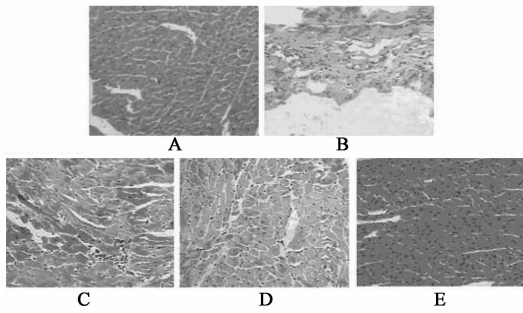
注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;与卡托普利组比较⁵⁾ $P < 0.01$;人参健心胶囊高剂量与低剂量组比较⁶⁾ $P < 0.01$ 。

3.4 大鼠心肌病理学变化 病理结果显示,造模后大鼠心肌细胞灶性脂肪变性,心肌肿胀肥大,部分区域心肌灶性坏死并纤维化形成。卡托普利组大鼠的心肌呈部分变性,心肌间脂肪组织增生,个别心肌坏死,纤维结缔组织增生。在人参健心胶囊 1.92 $g \cdot kg^{-1}$ 组大鼠中可见到个别心肌变性肥大,少数心肌

坏死,炎细胞浸润;人参健心胶囊 3.83 $g \cdot kg^{-1}$ 组大鼠心肌形态及结构基本正常,心肌细胞变性坏死明显改善。见图 1。

4 讨论

采用腹腔注射阿霉素建立慢性心衰大鼠模型是一种常用的造模方法^[2]。利用该模型,有研究者从



A. 正常组; B. 模型组; C. 卡托普利 12.5 mg·kg⁻¹;
D. 人参健心胶囊 1.92 g·kg⁻¹; E. 人参健心胶囊 3.83 g·kg⁻¹

图 1 各组大鼠心肌病理结果(HE 染色, ×100)

抗氧化角度观察中药对大鼠阿霉素心肌损伤的保护作用,发现大剂量黄芪甲苷通过增加心肌抗氧化酶活力,增强心肌组织抗氧化酶 mRNA 转录水平以及蛋白质表达水平发挥保护作用^[4]。有文献报道四逆汤可以明显改善阿霉素性心力衰竭大鼠的症状和体征,提高心功能,降低心肌组织及线粒体的氧化损伤和抑制心肌细胞凋亡^[5]。还有研究发现,中药利心冲剂可明显降低阿霉素导致的大鼠心肌细胞炎性相关因子 TNF- α ,抑制了心衰时的炎症反应,可保护心肌^[6]。

现代医学大量研究发现慢性心力衰竭(CHF)的发生和发展是一个进行性过程,始终有神经内分泌的激活,这种过度的激活虽能对低下的心室功能起代偿作用,但同时也加重了心肌的损害,加剧了心衰的恶化^[7]。另外,循环和组织中多种细胞因子的水平也会增加,这些因子和神经内分泌激活可损害心肌细胞的活性和功能,刺激心肌纤维化,促使心肌细胞水平重塑。在这些因子中,IL-6 有一定致炎作用,缺氧、交感神经系统激活、内皮素(ET)和 TNF- α 均引起血管壁细胞和白细胞释放 IL-6^[8],在慢性心衰患者中 TNF- α 和 IL-6 的分泌升高,而高水平的 TNF- α ,IL-6 又能降低心肌收缩力,减少心输出量,促进心衰进一步恶化^[9]。血浆 ET 水平增高、心肌 ET 合成和释放增加是慢性心衰的重要致病介质,心衰患者 ET-1 水平的增高与心衰严重程度相关。NO 可以调节外周血管及心脏的舒缩活动,最大限度地维持机体的正常功能。但随着心衰程度的加重,NO 合成增加代偿过度,又对机体造成损害^[8]。目前对于 CHF 不同中医证型的神经内分泌之间关系的研究,多数医家的研究结果均表明神经内分泌因子的激活在 CHF 虚证中更明显,尤其是气虚与阳虚证型,并且随着心功能的恶化,神经内分泌激活越剧烈^[10]。本研究通过建立阳虚型心衰大鼠模型,从神

经内分泌激活导致的细胞因子变化观察了人参健心胶囊改善阿霉素所致大鼠心衰的机制。本研究显示,人参健心胶囊可改善阿霉素所致心衰大鼠的心室肥厚和心肌重构,对阿霉素导致的受损心肌有一定保护作用,可能是通过抑制心衰大鼠的神经内分泌激活,降低 IL-6,ET-1,Ang II 和 NO 水平来发挥抗心衰作用的。但对 TNF- α 无明显降低作用,是否通过其他途径减轻炎性损伤值得进一步探讨。

人参健心胶囊的主要成分是人参、黄芪、桂枝、茯苓、丹参等,具有益气活血,养心复元之功。祖国医学认为,慢性心衰属本虚标实之证,本病早期病理变化主要为心气不足,进而阳气亏虚,最终导致心脾肾诸脏阳虚,甚者心阳虚脱。本方切中病机,尤其在老年慢性心衰患者的临床应用中显示了良好疗效。在本实验研究的基础上,展望将来可针对阿霉素化疗后出现心气、心阳不足的心衰患者开展临床研究和实验研究,进一步探讨该药心肌保护作用的机制。

[参考文献]

- [1] 杨跃进. 心力衰竭预后的预测因素[J]. 中华心血管病杂志[J]. 2002,30(10):686.
- [2] 杨建业,张迎春,唐俊明,等. 阿霉素诱导大鼠心衰模型的建立[J]. 郟阳医学院学报,2005,24(5):268.
- [3] 毕晓明,王逸平. 三七组分(Rx)对心脏功能及血流动力学的作用[J]. 山东中医药大学学报,2000,24(2):152.
- [4] 李丽,陶辉宇,陈杰斌,等. 黄芪甲苷保护阿霉素心肌损伤的抗氧化机制研究[J]. 临床儿科杂志,2007,25(1):58.
- [5] 赵明奇,吴伟康,段新芬,等. 四逆汤对阿霉素性心衰大鼠心肌线粒体功能的影响[J]. 中药材,2005,6:486.
- [6] 郁晓群,高想,蒋凤荣,等. 利心冲剂对心衰大鼠模型神经内分泌及炎性因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(10):147.
- [7] 钱方毅. 重视心力衰竭发病机制中神经内分泌细胞因子系统的研究[J]. 中国循环杂志,2001,16(4):243.
- [8] 迟路湘. 心力衰竭分解代谢进展[J]. 现代诊断与治疗,2002,13(5):281.
- [9] 杨兵生,王声愿. 慢性心衰患者血浆中肿瘤坏死因子及白细胞介素-6水平的变化[J]. 苏州医学院学报,2000,20(9):818.
- [10] 吴时达,吴桐,吴吕碧,等. 温阳健心灵口服液治疗收缩功能不全性心力衰竭的临床研究[J]. 中国中西医结合急救杂志,2001,8(2):223.

[责任编辑 聂淑琴]