

参附益心颗粒对慢性心力衰竭大鼠血浆 与心肌血管紧张素 II 的影响

王永霞^{1*}, 张群生², 任红杰¹, 李彬¹, 朱明军¹

(1. 河南中医学院第一附属医院心脏中心, 郑州 450000;

2. 洛阳市第一人民医院, 河南 洛阳 471000)

[摘要] 目的:探讨参附益心颗粒对慢性心力衰竭大鼠血浆与心肌血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 水平的影响。
方法:随机将 150 只雄性 SD 大鼠分为造模组 130 只与假手术组 20 只,造模组结扎左冠状动脉前降支,假手术组仅冠状动脉前降支下穿线不结扎。造模 8 周后,经超声测定大鼠左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF) < 50% 者随机分为 5 组(卡托普利组、氯沙坦组、参附益心颗粒(5.5, 21.9 g·kg⁻¹) 2 个剂量组、模型组), 每组 10 只,另选假手术组大鼠 10 只。假手术组及模型组以纯净水 ig, 药物干预组将药物溶于纯净水中 ig 给药, 每天 1 次, 4 周后检测 LVEF、腹主动脉采血、取心肌组织检测 Ang II。**结果:**参附益心颗粒 21.9 g·kg⁻¹ 组有明显改善 LVEF 作用, 参附益心颗粒 2 个剂量组均明显降低血浆及心肌 Ang II 水平, 且作用与卡托普利相当。**结论:**参附益心颗粒可改善心衰大鼠心功能, 下调血浆及心肌 Ang II 水平, 阻断 RAS, 可能起到延缓或改善心肌重塑的作用。

[关键词] 参附益心颗粒; 慢性心力衰竭; 循环与心肌血管紧张素 II

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0226-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120827.1044.004.html>

[网络出版时间] 2012-08-27 10:44

Effect of Shenfu Yixin Granule on Circular and Myocardial Angiotensin II Level in Chronic Heart Failure Rats

WANG Yong-xia^{1*}, ZHANG Qun-sheng², REN Hong-jie¹, LI Bin¹, ZHU Ming-jun¹

(1. First Affiliated Hospital of Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China;

2. First Renmin Hospital of Luoyang, Luoyang 471000, China)

[收稿日期] 20120306(007)

[基金项目] 河南省科技攻关计划项目(0624410031);“十一五”国家科技支撑计划(2007BAI20B075);河南省教育厅自然科学基金(2006360006)

[通讯作者] *王永霞, 博士, 副教授, 从事中医药防治心血管疾病的临床与实验研究, Tel: 0371-66262960, E-mail: wyxchzhq@yahoo.com.cn

[3] Maruyama T, Gabazza E C, Morser J, et al. Community-acquired pneumonia and nursing home-acquired pneumonia in the very elderly patients[J]. Respir Med, 2010, 104(4): 584.

[4] 李建生, 李素云. 常见老年感染疾病现代治疗[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1999: 179.

[5] 李建生, 马利军, 李素云, 等. 毒素清对肺炎双球菌肺炎老龄大鼠小肠分泌型 IgA 和肿瘤坏死因子的影响[J]. 中国中医急症, 2003, 12(3): 252.

[6] 马培志, 马利军, 李建生. 毒素清对老年肺炎患者免

疫功能的影响[J]. 中国老年学杂志, 2006, 26(1): 119.

[7] 周素贞. 毒素清颗粒治疗老年人肺炎的临床疗效观察[J]. 中国中医药现代远程教育, 2009, 7(5): 28.

[8] Vassallo R, Kottom T J, Standing J E, et al. Vitronectin and fibronectin function as glucan binding proteins augmenting macrophage responses to Pneumocystis carinii[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2001, 25(2): 203.

[责任编辑 聂淑琴]

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Shenfu Yixin granule on circular and myocardial angiotensin Ⅱ (Ang Ⅱ) level in chronic heart failure rats. **Method:** One hundred and fifty healthy male SD rats were randomly divided into sham-operated group ($n = 5$) and model group ($n = 130$). In model group the left anterior descending coronary artery was occluded, in sham operation group the sutures were passed under the left anterior descending coronary artery without ligation. After 8 weeks the modeling group was randomly assigned to 5 groups ($n = 10$ in each group) based on the value of left ventricular ejection fraction (LVEF) $< 50\%$ obtained by Color Doppler Ultrasound, such as Captopril group, Losartan group, two groups of Shenfu Yixin granule ($5.5, 21.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), model group. All the medicine was given through gavage once a day for 4 weeks, the rats in model group and sham operation group ($n = 10$) were administered with equivalent sodium chloride once a day for 4 weeks. After 4 weeks LVEF was recorded with Color Doppler Ultrasound; the aortavalvular blood and cardiac muscular tissue were collected to detect index. **Result:** The LVEF was improved markedly in Shenfu Yixin granule ($21.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) group. Two Shenfu Yixin granule groups obviously decrease circular and myocardial angiotensin Ⅱ level, the function was similar to Captopril. **Conclusion:** Shenfu Yixin granule can improve cardiac function in chronic heart failure (CHF) rats, decrease circular and myocardial angiotensin Ⅱ level to block renin angiotensin system (RAS), maybe delay or improve cardiac remodeling.

[Key words] Shenfu Yixin granule; chronic heart failure; circular and myocardial angiotensin Ⅱ

参附益心颗粒(原心衰康冲剂)是根据我院名老中医孙建芝教授经验开发,在孙教授长期治疗慢性心力衰竭(CHF)的临床经验中,屡获良效。组方以益气温阳、活血利水为法立方,以人参益气,附子、桂枝温阳,丹参、益母草等活血化瘀,泽泻、葶苈子等利水去饮。在前期实验及临床观察中发现其具有明显的抗心力衰竭和抗心肌重塑的作用^[1-4],本实验采用大鼠左冠状动脉前降支结扎术复制慢性心力衰竭模型,观察参附益心颗粒对慢性心力衰竭大鼠LVEF以及血浆与心肌血管紧张素Ⅱ水平的影响以探讨该方药抗心肌重塑的机制。

1 材料

1.1 动物 SD 雄性大鼠 150 只,清洁级,体重为(250 ± 10)g,由河南省动物实验中心提供,合格证号医动字 610032。

1.2 药品与试剂 参附益心颗粒[主要药物组成为:人参 6 g,制附子 10 g,桂枝 12 g,丹参 20 g,益母草 30 g,泽泻 15 g,葶苈子 15 g,大枣 12 g 等,12 g/袋(生药 50 g),由陕西咸阳步长集团提供,批号 20060822];卡托普利片(常州康普药业有限公司,批号 H32023731);氯沙坦片(杭州默沙东制药有限公司,批号 H20030654);血管紧张素Ⅱ(Ang Ⅱ)放射免疫测定试剂盒(中国人民解放军总医院东亚免疫研究所,批号 20061130)。

1.3 仪器 JY-1001 型电子天平(上海民桥电子仪器厂),FA-1104 型微量电子天平(上海精密科学仪器有限公司天平仪器厂),TKR-200C 小动物呼吸机

(江苏特力麻醉呼吸公司),XDH-3 心电图机(上海医用电子仪器厂),ViVi7 型彩色多普勒超声诊断仪(美国 GE 公司),H. H. S11-2B 电热恒温水浴箱(上海医疗仪器五厂生产),Olympus YL-080 显微镜(日本 Olympus 株式会社生产),图像分析软件 Image proplus 6.0。

2 方法

2.1 慢性心力衰竭模型的建立^[5] 将 150 只 SD 大鼠随机分为造模组 130 只与假手术组 20 只。以 1.5% 戊巴比妥钠($35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉后,背位固定,经喉行气管插管术,连接小动物呼吸机,进行人工辅助呼吸,呼吸频率 80 次/min,潮气量 0.7 ~ 0.8 mL(按体重调节)。胸部去毛,消毒,在左侧第 3,4 肋间横向切开皮肤,长约 1.5 cm,钝性分离肌层,沿肋间隙打开胸腔,开胸器撑开,剪开心包,在动脉圆锥与左心耳之间约 1 mm 处结扎左冠状动脉前降支,心电示波器 I, II 导联出现明显 ST 段抬高后,重新置心脏于胸腔,迅速分层缝合胸壁,待动物状态平稳后,停止呼吸机辅助呼吸,术后 ip 青霉素($2.4 \times 10^4 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)3 d,预防感染。假手术组手术方法同上,仅在冠状动脉前降支下穿线不结扎。

2.2 分组与处理 造模 8 周后,经超声测定大鼠心功能,符合心力衰竭标准者[左室射血分数(LVEF) $< 50\%$]随机分为 5 组:模型组、卡托普利组($0.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、氯沙坦组($0.03 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、参附益心颗粒($5.5, 21.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)2 个剂量组,每组 10 只,另选择假手术组 10 只。假手术组

表 1 参附益心颗粒对 CHF 大鼠 LVEF 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	剂量/ $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$	治疗前 LVEF/%	治疗后 LVEF/%	前后差值
假手术	9	-	55.75 \pm 3.99	52.75 \pm 4.06	-1.56 \pm 1.06
模型	7	-	40.29 \pm 4.15	39.29 \pm 4.71	-1.00 \pm 1.16
卡托普利	9	0.05	44.00 \pm 4.41	45.75 \pm 6.96	2.56 \pm 1.23
氯沙坦	9	0.03	41.33 \pm 7.15	48.11 \pm 8.86 ¹⁾	6.78 \pm 2.16 ³⁾
参附益心颗粒	8	21.9	38.25 \pm 7.85	46.13 \pm 7.29 ²⁾	7.88 \pm 2.14 ⁴⁾
	8	5.5	42.78 \pm 7.74	45.33 \pm 7.15	2.00 \pm 1.69

注: 各组治疗前后比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组治疗后减治疗前差值比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

及模型组以纯净水 ig, 药物干预组均将药物溶于纯净水水中 ig^[3-4], 灌胃体积 20 mL·kg⁻¹, 1 次/d, 疗程 4 周。4 周后超声测定 LVEF、称重后, 腹主动脉抗凝采血, 取血浆用于 Ang II 测定、取心肌组织检测各项指标。

2.3 观察指标

2.3.1 LVEF 使用 GE 公司的 ViVi7 型彩色多普勒超声诊断仪, 探头选用 10 s, 图像深度调至 2.0 ~ 4.0 cm, 频率为 11.4 MHz, 尽量减小扇扫角度。利用 Teichholtz 公式法计算 LVEF。

2.3.2 血浆 Ang II 测定 腹主动脉取血 5 mL, 迅速注入冰水浴冷却的抗凝管中, 摇匀, 即刻再放回冰水中冷却, 4 ℃ 1 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 分离血浆; 血浆放入 -70 ℃ 保存。冰冻的标本在流动的冷水浴中快速融化, 加样操作后, 3 500 r·min⁻¹ 离心 15 min, 吸弃上清液, 测定各管沉淀的放射性 Bi (cpm)。以相对百分结合率为纵坐标, Ang II 标准浓度为横坐标, 在半对数坐标纸上画图, 作出标准曲线, 未知样品的 Ang II 值可根据其相对百分结合率在标准曲线上查出。按试剂盒要求测定。

2.3.3 心肌 Ang II 的检测 实验结束后, 处死动物, 取出心脏, 吸去血迹, 取心肌组织 100 mg 放入 1 mL 生理盐水略作碾磨, 然后入 100 ℃ 水浴中煮沸 10 min, 制作心肌匀浆, 4 ℃ 3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清 -20 ℃ 保存, 测定时用 PBS 稀释调节 pH 值。加样操作及以后步骤同 2.3.2 (按试剂盒说明进行)。

2.3.4 统计学分析 用 SPSS 13.0 For Windows 软件统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析; 治疗前后比较采用配对 *t* 检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对一般状态的影响 在造模过程中及分组后, 除假手术组外, 各组大鼠均出现不同程度的倦卧、脱

毛、消瘦、厌食、便溏等症状, 有一定数量的死亡情况 (总死亡率 48%)。模型组一般状态差, 具备 CHF 的某些临床表现, 表现为活动度显著下降, 进食、饮水量明显减少, 消瘦明显, 个别出现恶液质, 通过超声观察到胸水以及室壁瘤。干预组大鼠治疗后状态普遍较模型组有所改善, 一般状态尚可。

3.2 对 CHF 大鼠 LVEF 的影响 各模型组 LVEF 显著低于假手术组, 提示造模成功; 参附益心颗粒 21.9 g·kg⁻¹、氯沙坦可显著增加模型大鼠 LVEF, 治疗后氯沙坦组与模型组有显著差异 ($P < 0.05$), 治疗后减治疗前 LVEF% 差值比较, 氯沙坦组和参附益心颗粒 21.9 g·kg⁻¹ 与模型组比差异显著 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 1。

3.3 对 CHF 大鼠血浆和心肌 Ang II 的影响 假手术组的循环和心肌 Ang II 均显著低于模型组 ($P < 0.01$, $P < 0.001$), 除氯沙坦组外各药物干预组与模型组比较循环和心肌 Ang II 均有显著降低, 参附益心颗粒两剂量组的心肌 Ang II、参附益心颗粒 21.9 g·kg⁻¹·d⁻¹ 的循环 Ang II 水平与氯沙坦组比较均有显著降低。见表 2。

表 2 参附益心颗粒对 CHF 大鼠循环和心肌 Ang II 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	血浆 Ang II/ $ng \cdot L^{-1}$	心肌 Ang II/ $ng \cdot L^{-1}$
假手术	9	-	0.78 \pm 0.27 ²⁾	0.04 \pm 0.02 ³⁾
模型	7	-	0.17 \pm 0.89	0.10 \pm 0.03
卡托普利	9	0.05	0.88 \pm 0.10 ²⁾	0.07 \pm 0.02 ¹⁾
氯沙坦	9	0.03	0.16 \pm 0.78	0.10 \pm 0.02
参附益心颗粒	8	21.9	0.84 \pm 0.20 ^{2, 4)}	0.06 \pm 0.02 ^{1, 4)}
	8	5.5	1.00 \pm 0.13 ¹⁾	0.06 \pm 0.04 ^{1, 4)}

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$; 与氯沙坦组比较⁴⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

肾素-血管紧张素系统 (renin angiotensin system, RAS), 尤其心脏局部 RAS 的激活在心肌重

塑和 CHF 的发生发展中起重要作用。RAS 中的主要成分肾素、Ang II 在多项心力衰竭研究中均被证实有显著提高^[6-7]。RAS 及 Ang II 受体后的信号传导通路的变化是介导心肌重塑、心功能恶化的主要因素之一。

本实验运用大鼠左冠状动脉前降支结扎术,成功复制了慢性心力衰竭模型(动物死亡率约 48%,文献报道存活率因施术者^[8-11]具体操作方法而有差异 81.1%,60%,53.8%,20%)。造模动物一般状态较假手术组差,个别出现恶液质,胸水以及室壁瘤,符合冠脉结扎后心力衰竭的表现。对各组实验动物一般状态观察的结果显示,参附益心颗粒高剂量组与其他各造模组对比,具有明显的改善作用。

LVEF 作为临床判断心衰治疗的有效指标,资料显示 LVEF > 40% 的患者年死亡率 < 10%,而 LVEF < 40% 的患者年死亡率 > 25%^[10]。实验结果表明参附益心颗粒 $21.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 与模型组相比有明显的改善 LVEF 作用,并且参附益心颗粒 2 个剂量组干预作用与卡托普利组相当。

本实验显示,参附益心颗粒两个剂量组与卡托普利组、氯沙坦组有近似的对心衰心肌重塑的改善作用^[2],高剂量组与卡托普利组下调局部与循环 Ang II 的作用相近,且高、低剂量组一般状态以及心功能改善的趋势较西药组更有优势。推测参附益心颗粒可能具有 ACEI, ARB 的部分效应机制。从高低剂量的不同表现可以推测,中药组可能具有剂量依赖性,随着疗程的延长可能会出现更加理想的干预效果。参附益心颗粒可能具有调节心力衰竭时生长促进因子及内源性生长抑制因子之间效应的平衡的作用机制。其在细胞凋亡、神经内分泌(如生长因子、去甲肾上腺素、醛固酮、内皮素、炎症损伤因子

等)以及信号转导方面的影响,有待做进一步的研究进行探讨。

[参考文献]

- [1] 晋献春,孙建芝,朱明军,等.心衰康治疗充血性心力衰竭的临床研究[J].中国中医药科技,1997,4(5):266.
- [2] 王永霞,李彬,朱明军,等.参附益心颗粒对慢性心力衰竭大鼠心肌重塑的影响[J].中华中医药杂志,2011,26(10):2370.
- [3] 王永霞,朱明军,朱新峰,等.参附益心颗粒对心衰大鼠心肌 c-fos, c-myc 表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(3):145.
- [4] 王永霞,任红杰,朱明军,等.参附益心颗粒对慢性心力衰竭大鼠血清心钠素、脑钠素的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(4):118.
- [5] 李敏.慢性心力衰竭病证模型的构建及活血方药对左室重构影响的实验研究[D].北京:北京中医药大学,2000:1.
- [6] 许竹梅,赵水平,贺达仁.慢性充血性心力衰竭中的对立与统一[J].医师进修杂志,2002,25(2):73.
- [7] 朱林平,曹旭焱,刘岩,等.强心冲剂对心衰家兔心室重构血管活性物质的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(1):93.
- [8] 周文武,林玲,陈军,等.冠脉结扎法制做大鼠心肌缺血模型[J].中国实验动物学报,2004,12(4):226.
- [9] 朱彤莹,黄国英,顾勇,等.两种心衰模型大鼠心功能的比较[J].中国实验动物学报,2002,10(1):51.
- [10] 边长勇,秦永文,郑兴,等.大鼠充血性心力衰竭模型的制备[J].第二军医大学学报,2001,22(7):6936.
- [11] 赵洪云,管慧红,钟雪云,等.开胸冠状动脉结扎法制做大鼠心肌梗死模型[J].国外医学:内科学分册,2005,32(12):540.

[责任编辑 聂淑琴]