

金匱肾气丸对异丙肾上腺素致心室重构大鼠神经体液因子的调节

廖月玲, 刘艳, 顾燕频, 黄玮, 章忱, 袁宝萍, 吕嵘, 卫洪昌*

(上海中医药大学病理教研室, 上海 201203)

[摘要] **目的:**研究金匱肾气丸对异丙肾上腺素致大鼠心室重构相关神经体液因子和形态学的改变。**方法:**异丙肾上腺素连续 3 d 以 20, 10, 5 mg·kg⁻¹ 递减皮下注射, 3 mg·kg⁻¹ 维持 7 d 制备大鼠心室重构模型, 造模成功后分别用依那普利 (2 mg·kg⁻¹), 金匱肾气丸 (7.5 g·kg⁻¹) ig 给药 5 周及 15 周, 从血浆中神经内分泌因子和形态学进行疗效比较研究。**结果:**血浆中神经内分泌因子的检测: 5, 15 周时模型组血浆中心房钠尿肽 (ANP) 含量均高于正常组; 5 周时与模型组比较, 金匱肾气丸组的 ANP 含量均较低 ($P < 0.05$); 15 周时, 金匱肾气丸组的 ANP、脑钠肽 (BNP) 含量均降低 ($P < 0.05$)。5 周模型组的血清去甲肾上腺素 (NE) 浓度高于正常组, 但无显著性差异, 15 周模型组的 NE 显著高于正常组 ($P < 0.05$); 5, 15 周时, 依那普利组和金匱肾气丸组的 NE 与模型组比较均无显著性差异。5, 15 周, 模型组的血清血管紧张素 II (Ang II) 浓度与正常组比较均无显著性差异。心肌病理形态学观测**结果:**5 周时, 模型组有较多成纤维细胞和新生毛细血管, 肉芽组织较明显, 15 周时, 模型组呈现广泛纤维化, 形成疤痕组织; 5, 15 周时, 金匱肾气丸组的心肌细胞均有一定程度的病理变化, 但较模型组而言均有改善。**结论:**金匱肾气丸能够改善异丙肾上腺素致大鼠心室重构过度激活的神经体液水平, 但这种改善作用在晚期时较为明显。

[关键词] 慢性心力衰竭; 异丙肾上腺素; 心室重构; 心房钠尿肽; 脑钠尿肽; 去甲肾上腺素; 血管紧张素 II; 金匱肾气丸

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0184-05

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120515.1540.013.html>

[网络出版时间] 2012-05-15 15:40

Regulation of Neuroendocrine Factors by Jinkui Shenqi Wan on Cardioventricular Reconstruction in Rat Induced by Isoproterenol

LIAO Yue-ling, LIU Yan, GU Yan-pin, HUANG Wei, ZHANG Chen, YUAN Bao-ping,
LV Rong, WEI Hong-chang*

(Department of Pathophysiology, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Jinkui Shenqi Wan on the cardioventricular reconstruction in rat induced by Isoproterenol (ISO). **Method:** The rats were injected subcutaneously by 20, 10, 5 mg·kg⁻¹ ISO for 3 days and then 3 mg·kg⁻¹ ISO as maintenance dose for 7 days to build the rat model of cardioventricular reconstruction, Enalapril and Jinkui Shenqi Wan were given to the rats for 5 and 15 weeks as interventions and after that, stained the myocardium with Hematoxylin Eosin (HE) staining method and observed the myocardial morphologic changes by light microscope. The density of atrial natriuretic peptide (ANP), brain natriuretic peptide (BNP), norepinephrine (NE) and angiotensin II (Ang II) in blood serum were detected by method of ELISA. **Result:** The results of neuroendocrine factors in blood serum: at 5 weeks, compared with model group, the density

[收稿日期] 20111204(013)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30973821); 上海市教委重点学科建设基金项目(J50301)

[第一作者] 廖月玲, 博士研究生, 中医药防治心血管疾病实验研究, Tel: 021-51322460, E-mail: lylsolo@126.com

[通讯作者] * 卫洪昌, 教授, 从事中医药防治心血管疾病的基础研究, Tel: 021-51322158, E-mail: bljys@yahoo.com.cn

of ANP of Jinkui Shenqi Wan group was significantly lower ($P < 0.05$). At weeks 15, compared with model group, the density of ANP and BNP of Jinkui Shenqi Wan group decreased ($P < 0.05$). The density of NE in blood serum of model group at week 5 was higher than normal group, but with no significant difference, while that of model group at week 15 was significantly higher than normal group ($P < 0.05$). At week 5 and 15, NE in the treat groups was no significant difference compared with model group. Both at weeks 5 and 15, there was not significant difference in the density of Ang II in blood serum between model group and normal group. The results of pathomorphologic observation on myocardium: At week 5, the model group had many collagenoblast and neogenesis micrangium, while the collagenoblasts degenerated into fibrocytes, widespread fibrosis appeared and the granulation tissues changed into scar tissues at week 15. Both at week 5 and 15, the myocardial cells in enalapril group and Jinkui Shenqi Wan have some extents of pathological changes, but it was less than model group.

Conclusion: Jinkui Shenqi Wan has some therapeutic effects on cardioventricular reconstruction by suppressing the over-expression neuroendocrine factors both in earlier period and advanced stage of rat induced by isoproterenol. However, this effect is more obvious for advanced stage of cardioventricular reconstruction.

[**Key words**] chronic heart failure; isoproterenol; cardioventricular reconstruction; atrial natriuretic peptide; brain natriuretic peptide; norepinephrine; angiotensin II; Jinkui Shenqi Wan

目前中医药治疗慢性心力衰竭(CHF)的报道很多,普遍认为中医药有改善心功能、缓解临床症状等作用。近年来,有很多学者从去甲肾上腺素(NE)和血管紧张素II(Ang II)角度对心力衰竭或心室重构进行了深入的研究^[1-7]。笔者的前期工作通过对CHF辨证分型的文献进行整理和统计分析发现:心肾阳虚证、阳虚水泛证、气虚血瘀证、气阴两虚证、心肺气虚证是CHF患者最容易出现的5种证型^[8]。在此研究基础上,以异丙肾上腺素建立大鼠心室重构模型,用金匱腎氣丸干预5周和15周,然后从血浆中神经内分泌因子和形态学角度进行疗效比较研究,探讨温补法对心室重构神经体液因素的调节作用。

1 材料

1.1 动物 Sprague-dawley大鼠,雄性,清洁级,3~4周龄,体重(200±20)g,由中国科学院上海实验动物中心提供,许可证号SCXK(沪)2007-0005。

1.2 药物 依那普利,扬子江药业集团生产。盐酸异丙肾上腺素,购自美国Sigma公司。金匱腎氣丸(桂枝3g,附子3g,熟地黄24g,山茱萸12g,山药12g,茯苓9g,丹皮9g,泽泻9g)采用上海雷允上药业有限公司饮片,中药加工方法:各组中药分别经冷浸-煎煮-合并-抽滤,制成冻干粉备用。中药制备工作由上海中医药大学中药制药工程实验室完成。给药剂量:参照我们前期工作结果确定,以成人用药剂量为标准,按人与大鼠体表面积换算值的2倍值。

1.3 试剂 心房钠尿肽(ANP),脑钠尿肽(BNP),NE和Ang II ELISA试剂盒均为美国R&B公司生产。

1.4 仪器 5415R型高速冷冻离心机,德国Eppendorf公司生产;ELX800酶标仪,美国BioTeck公司生产。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药 动物采用随机分组法分为4组:正常组、模型组、依那普利组和金匱腎氣丸组。每组2个时间,共8组,每组15只大鼠。参照文献[9],异丙肾上腺素连续3d以20,10,5 mg·kg⁻¹的剂量递减sc,再以3 mg·kg⁻¹的剂量注射维持7d。正常组每天sc以相应量生理盐水。造模结束后,正常对照组及模型组每天给予蒸馏水2 mL ig;各治疗组以相应药物溶于2 mL蒸馏水中ig,给药剂量分别是:依那普利(2 mg·kg⁻¹),金匱腎氣丸(7.5 g·kg⁻¹)。持续给药5,15周后进行以下实验。

2.2 血浆中神经内分泌因子检测 大鼠在处死前均经腹主动脉采集血液8 mL,静置4 h后,3 000 r·min⁻¹离心15 min,分离血清,储存于-80℃冰箱中,用于检测ANP,BNP,NE和Ang II的含量。检测时,严格按照各试剂盒说明书操作,并保证标准曲线 $r^2 > 0.90$ 。

2.3 心肌组织病理学观察 每组取4只大鼠心脏做病理学检测。用10%的KCl约2 mL通过静脉导管注入,处死大鼠,并使其心脏停搏于舒张状态。迅速摘取心脏,剪去主动脉弓、心房、心耳等,只保留左右心室,10%中性缓冲福尔马林液固定,石蜡包埋,制备厚4 μm组织切片,做病理观察。以上操作均在冰上进行。石蜡切片HE染色,光学显微镜下观测,并拍照。

2.4 统计方法 所有实验数据采用 SPSS 12.0 软件进行统计分析。同时间点不同组别的实验数据的比较采用单因素方差分析方法,同组别的 5 周和 15 周的实验数据的比较采用双因素方差分析方法。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 血清 ANP, BNP 含量比较 5, 15 周时, 模型组的 ANP 含量均显著高于正常组的 ANP 含量 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 依那普利组、金匱肾气丸组的 ANP 含量均降低 ($P < 0.05$)。依那普利组、肾气丸组的 15 周 ANP 含量与 5 周 ANP 比较, 则明显减少 ($P < 0.05$), 见表 1。

5, 15 周时, 模型组的 BNP 含量显著高于正常组 ($P < 0.05$)。持续给药 5 周时, 依那普利组和金匱

肾气丸组与模型组比较无显著性差异; 15 周时, 依那普利组和金匱肾气丸组的 BNP 含量均降低 ($P < 0.05$), 见表 1。

3.2 血清 NE, Ang II 含量比较 5 周时, 模型组 NE 含量和正常组比较无显著性差异; 药物干预组的 NE 含量与模型组比较, 均无显著性差异。15 周时, 模型组的 NE 显著高于正常组 ($P < 0.05$); 但是, 药物干预组的 NE 含量与模型组比较, 均无显著性差异, 见表 2。

5, 15 周时, 模型组 Ang II 含量与正常组比较无显著性差异; 金匱肾气丸组 Ang II 均显著低于正常组 ($P < 0.05$)。15 周时, 与模型组和正常组比较, 依那普利组的 Ang II 较低 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 1 各组大鼠血清中 ANP, BNP 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	ANP/%				BNP/%			
		n	5 周	n	15 周	n	5 周	n	15 周
正常	-	8	100.00 ± 8.31 ²⁾	7	100.00 ± 10.64 ²⁾	6	100.00 ± 15.14 ²⁾	6	100.00 ± 7.19 ²⁾
模型	-	8	171.17 ± 23.89 ¹⁾	7	144.57 ± 8.44 ¹⁾	6	172.96 ± 8.96 ¹⁾	6	132.10 ± 6.07 ¹⁾
依那普利	2 × 10 ⁻³	8	120.52 ± 9.74 ²⁾	7	75.95 ± 8.32 ²⁾	6	179.11 ± 24.09 ¹⁾	6	80.87 ± 7.77 ²⁾
金匱肾气丸	7.5	8	107.86 ± 10.78 ²⁾	7	82.72 ± 13.35 ²⁾	6	139.93 ± 9.13 ¹⁾	6	107.08 ± 8.09 ²⁾

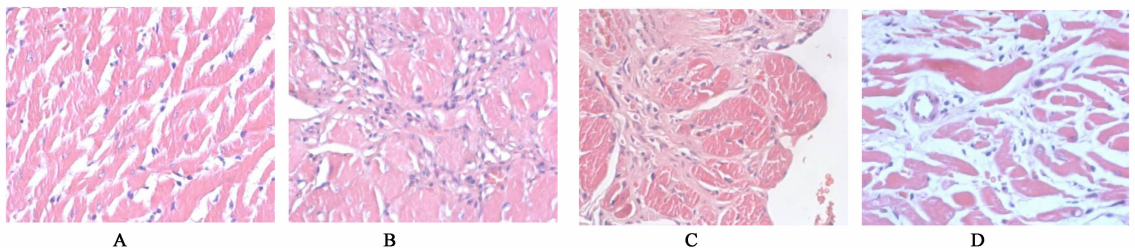
注: 与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

表 2 各组大鼠血清中 NE, Ang II 含量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ g·kg ⁻¹	NE		Ang II	
		5 周	15 周	5 周	15 周
正常	-	47.76 ± 2.67	48.99 ± 2.64 ²⁾	28.35 ± 0.40	27.55 ± 1.39
模型	-	48.10 ± 2.08	56.33 ± 0.99 ¹⁾	26.70 ± 1.09	27.50 ± 0.74
依那普利	2 × 10 ⁻³	53.95 ± 1.89	49.86 ± 0.87	27.60 ± 1.45	21.89 ± 1.42 ^{1,2)}
金匱肾气丸	7.5	45.82 ± 3.21	54.76 ± 3.39	22.08 ± 0.88 ²⁾	26.16 ± 2.12

3.3 心肌组织形态学观察 正常组: 心肌细胞结构清晰, 心肌纤维排列整齐, 横纹清楚, 无炎症细胞浸润, 无坏死或纤维化 (图 1A, 图 2A)。模型组: 5 周时, 间质纤维化, 表现为大量成纤维细胞和较多新生

的毛细血管。心肌细胞水肿, 炎症细胞浸润 (图 1B); 15 周时, 成纤维细胞进一步退化成纤维细胞, 呈现广泛纤维化, 形成疤痕组织, 残存心肌细胞肥大, 胞浆空泡变性, 间质增宽, 大量炎症细胞浸润



A. 正常组; B. 模型组; C. 依那普利 2 mg·kg⁻¹组; D. 金匱肾气丸 (7.5 g·kg⁻¹) 组 (图 2 同)

图 1 各组大鼠 5 周时心肌形态学变化比较 (HE 染色, ×400)

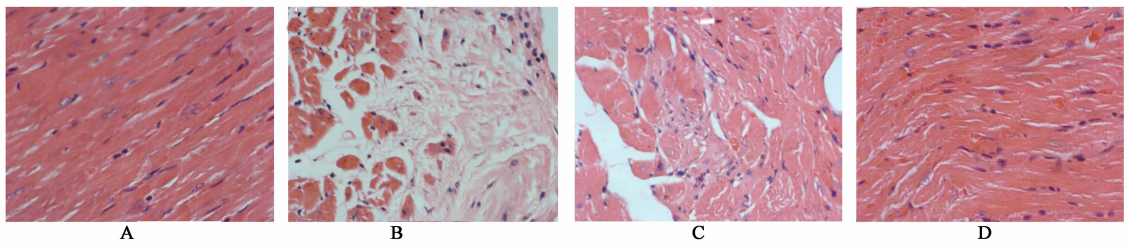


图2 各组大鼠15周时心肌形态学变化比较(HE染色,×400)

(图2B)。依那普利组:5周时,局部可见心肌间质纤维化,但较模型组减少(图1C);15周时,心肌间质纤维化较模型组明显减少,心肌排列基本正常,心肌可见空泡变性及肥大,有较多炎症细胞浸润(图2C)。金匱腎氣丸组:5周时,可见局部心肌间质纤维化。主要表现为成纤维细胞,新生毛细血管,心肌细胞水肿(图1D);15周时,心肌间质纤维化主要表现为纤维细胞堆积,心肌细胞肥大(图2D)。

4 讨论

导致慢性心力衰竭的一个重要原因是神经内分泌系统的激活,如血管紧张素-醛固酮系统、交感神经系统和内皮素等缩血管-抗利钠系统。Groenning等进行了多种血浆神经内分泌激素对心功能评价价值的研究,认为ANP和BNP是心衰的最强标志物^[10]。Lerman等通过研究认为血浆ANP浓度明显增高可作为无症状心力衰竭的诊断指标^[11]。也有许多研究证实,在CHF发生发展过程中,血浆NE和Ang II水平也会随之发生改变^[1-2]。

本文实验结果表明,依那普利和金匱腎氣丸在大鼠心室重构早期和晚期均能有效降低血清中的ANP浓度,而仅在大鼠心室重构晚期时能降低血清中的BNP浓度。另外,异丙肾上腺素致大鼠心室重构早期时,NE有一定的代偿性升高,但升高趋势不明显,晚期NE的病理性持续升高较明显。而且金匱腎氣丸并不能起到明显改善异丙肾上腺素性大鼠心室重构的血清NE水平的作用。5周和15周,模型组的血清Ang II浓度与正常组比较均无显著性差异,推测可能的原因是:本实验是针对血清Ang II水平进行研究,而在异丙肾上腺素致大鼠心室重构时,血清Ang II水平的病理改变可能并不明显,也可能是由于样本量不够大导致无统计学差异。上述问题都值得我们在今后的科研工作中去进一步探讨。

目前认为心肌重塑是心肌在损伤因素作用下,心功能由代偿发展为失代偿的结构基础。心肌重塑在组织病理学上的特征是心肌组织结构的重组,包括心肌细胞肥大、心脏成纤维细胞增殖、间质纤维化、细胞死亡等表现。本实验心肌病理形态学观测

结果表明,模型组15周心脏形态学病理改变较5周时严重。依那普利和金匱腎氣丸能改善异丙肾上腺素致大鼠心肌的病理改变。

本研究针对5周和15周异丙肾上腺素性大鼠心室重构进行了研究,分别代表早期和晚期心室重构病变阶段。现代研究表明温肾药对神经体液因素有着显著的调节作用。郗旦明等发现,右归丸可以改善甲状腺素代谢紊乱^[12]。刘欣等研究表明金匱腎氣丸可抑制血浆内皮素(ET)水平升高,改善血管舒缩功能^[13]。可见,金匱腎氣丸能够改善过度激活的神经体液水平。从而,提示我们在慢性心衰治疗上(尤其是晚期),应当在辨证的基础上考虑运用温补法。

[参考文献]

- [1] 王江,田颖,聂凌,等. 不同严重程度心力衰竭患者心肌组织ACE和Ang II蛋白的表达[J]. 第三军医大学学报,2007,29(5):445.
- [2] 顾伟梁,陈长勋,王樱. 玄参对心室重构大鼠血管紧张素II及其1型受体基因表达的影响[J]. 时珍国医国药,2008,19(7):1547.
- [3] 张贵生,李隆贵,耿召华. 92例充血性心力衰竭患者血浆环核苷酸和心钠素及去甲肾上腺素的变化及临床意义[J]. 新医学,1997,28(10):529.
- [4] 罗晓颖,戚文航. 卡维地洛对慢性心力衰竭患者心功能、脑钠肽和去甲肾上腺素水平的影响[J]. 心脏杂志,2003,15(4):316.
- [5] 廖宝霞,李国锋,郝爱旗. 充血性心力衰竭患者血浆sICAM 1与Ang II水平变化及相关性探讨[J]. 山东医药,2008,48(2):47.
- [6] 严夏,杨喆,王大伟. 心衰2号方对慢性心力衰竭大鼠血清Ang II及IL6的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2008,11(6):1307.
- [7] 杜武勋,朱林平,张建平. 强心冲剂对心衰家兔模型心钠素、血管紧张素II的影响[J]. 世界中医药,2008,(3)4:244.
- [8] 刘艳,陈丽云,章忱,等. 慢性心力衰竭中医证型的文献分析[J]. 上海中医药大学学报,2008,22(4):43.

新疆大枣的抗肿瘤作用

朱虎虎^{1*}, 玉苏甫·吐尔逊², 斯坎德尔·白克力³

- (1. 新疆医科大学医学实验动物中心, 乌鲁木齐 830011;
2. 新疆医科大学维吾尔医药系, 乌鲁木齐 830011;
3. 新疆医科大学基础医学院, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] **目的:**研究新疆大枣抗肿瘤作用。**方法:**ICR小鼠随机分为模型组、环磷酰胺(CTX)组、25%大枣汁组、50%大枣汁组、100%大枣汁组、CTX+100%大枣汁组,每组10只。右前肢腋窝皮下接种S180小鼠肉瘤细胞,24h后连续给药(大枣汁灌胃,20 mL·kg⁻¹·d⁻¹,CTX腹腔注射,50 mg·kg⁻¹·d⁻¹)14d后,测定瘤重、抑瘤率、胸腺和脾脏脏器指数,外周血象、血清白介素-2(IL-2)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、生存时间和生命延长率。**结果:**与模型组比较,CTX组、100%大枣汁组和CTX+100%大枣汁组瘤重、胸腺、脾脏指数明显降低;与CTX组比较,50%大枣汁、100%大枣汁组和CTX+100%大枣汁组胸腺、脾脏指数明显升高;与模型组比较,CTX组白细胞数(WBC)、血小板计数(PLT)明显降低,100%大枣汁组RBC与WBC明显升高;与CTX组比较,50%大枣汁组、100%大枣汁组和CTX+100%大枣汁组WBC与PLT明显升高;与模型组比较,CTX组的IL-2和TNF-α水平明显降低;与CTX组比较,50%大枣汁组、100%大枣汁组和CTX+100%大枣汁组IL-2和TNF-α明显升高;与模型组比较,50%大枣汁组、100%大枣汁组和CTX+100%大枣汁组生存时间明显延长;与CTX组相比较,CTX+100%大枣汁组生存时间明显延长。**结论:**新疆大枣对荷瘤小鼠体内肿瘤细胞的增殖有明显的抑制作用。

[关键词] 新疆大枣; 抗肿瘤; 生命延长率; 免疫功能

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0188-04

Research on Anti-cancer Effect of Xinjiang Jujube

ZHU Hu-hu^{1*}, YU Sup-Tursun², Skandar-Bakeri³

- (1. Experimental Animal Center, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;
2. Department of Uighur medicine, Xinjiang Medical University. Urumqi 830011, China;
3. College of Basic Medical Sciences, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

[Abstract] **Objective:** To study the anti-cancer effect of Xinjiang Jujube. **Method:** ICR mice were randomly divided into model group, cyclophosphamide (CTX) group, 25% jujube juice group, 50% jujube juice

[收稿日期] 20111222(017)

[基金项目] 新疆医科大学研究生创新基金项目(30525023)

[通讯作者] *朱虎虎,本科,中级实验师,从事中草药药理药效研究,E-mail:zh0719@163.com

[9] Fans H, Leenen H, Rosel Y N. Isoproterenol-induced cardiac hypertrophy: role of circulatory versus cardiac rennin-angiotensin system [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001, 281(6):H2410.

[10] Groenning B A, Nilsson J C, Sondergaard L, et al. Evaluation of impaired left ventricular ejection fraction and increased dimensions by multiple neurohumoral plasma concentrations[J]. Eur J Heart Fail, 2001, 3(6):699.

[11] Lerman A, Gibbons R J. Circulating N-term ineral atrial natriuretic peptide as a marker for symptomless left-ventricular dysfunction [J]. Lancet, 1993, 341(8853):1105.

[12] 郇旦明,蒋蓝英,付仲颖,等.右归丸对合并亚临床甲状腺功能减退老年慢性心力衰竭患者的影响[J].中华中医药学刊,2010,28(5):1108.

[13] 刘欣,兰金美,李冬梅.金匮肾气丸对肾虚小鼠血浆内皮素一氧化氮含量的影响[J].辽宁中医药大学学报,2011,13(3):186.

[责任编辑 聂淑琴]