

益心解毒方改善心梗后心衰大鼠心功能的作用研究

李春, 王勇, 欧阳雨林, 啜文静, 黄黎明, 郭淑贞, 王伟*
(北京中医药大学基础医学院, 北京 100029)

[摘要] **目的:** 阐明益心解毒方对心梗后心衰大鼠心功能的影响及其相关机制。**方法:** 利用左冠状动脉结扎术复制心梗后心衰大鼠模型, 并在术后将动物随机分为模型组、益心解毒方高、低剂量组 ($18.66, 9.33 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和福辛普利钠组 ($4.67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 同时设立假手术组对照。术后第 2 天开始 ig 给药, 连续给药 28 d。通过心脏超声对各组动物的心功能做出评价; 并留取各组动物血浆, 通过放射免疫法对各组动物血浆中的醛固酮 (ALD) 和血管紧张素 II (Ang II) 进行测定。通过免疫比浊法对血清中高敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 进行测定。**结果:** 与假手术组相比, 模型组大鼠的左室舒张末内径 (LVEDd) 和左室收缩末内径 (LVEDs) 显著增加 ($P < 0.05$), 射血分数 (EF) 和短轴缩短率 (FS) 明显下降 ($P < 0.05$); 益心解毒方高、低剂量组以及福辛普利钠组均能提高心衰大鼠的 EF 和 FS, 同时益心解毒方能有效改善大鼠心功能并且缩短 LVEDd 和 LVEDs。模型组大鼠的血浆 Ang II 明显高于假手术组; 益心解毒方高、低剂量以及福辛普利钠能够下调心衰大鼠血浆 Ang II 浓度, 分别下调了 16.58%, 15.58%, 12.79% ($P < 0.05$)。益心解毒方能够有效的降低心梗后心衰大鼠血清中上升的 hs-CRP 水平, 具有一定的抗炎作用。**结论:** 益心解毒方能够缩短心衰大鼠的 LVEDd 和 LVEDs 进而改善心肌重塑的进展, 提高心衰大鼠的心功能。其机制可能与降低心衰大鼠血浆中 RAAS 系统激活的水平尤其是 Ang II 水平, 改善心脏的后负荷以及抗炎作用有关。

[关键词] 心衰; 心功能; 血管紧张素 II; 高敏 C 反应蛋白

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0165-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120504.1253.045.html>

[网络出版时间] 2012-05-04 12:53

Study on Effect of Yixin Jiedu Formula on Heart Failure after Myocardial Infarction in Rats

LI Chun, WANG Yong, OUYANG Yu-lin, CHUO Wen-jing, HUANG Li-ming, GUO Shu-zhen, WANG Wei*
(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To clarify effect and possible mechanism of Yixin Jiedu formula (YXJDF) on the heart failure after infarction induced by Qi deficiency and blood stasis syndrome. **Method:** The heart failure model after myocardial infarction was prepared by left coronary artery ligation. Drugs were given by continuous intragastric administration for 28 d. Then cardiac function of each group was evaluated by echocardiography, plasma angiotensin II (Ang II) and aldosterone (ALD) levels were also examined by radioimmunoassay (RIA) in all groups. The level of high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) in serum was detected by immunoturbidimetric assay. **Result:** Compared with the sham group, the left ventricular end-diastolic diameter (LVEDd) and left ventricular end-systolic diameter (LVEDs) of model group increased significantly ($P < 0.05$), ejection fraction (EF) and fractional shortening (FS) decreased significantly ($P < 0.05$). After given the high-dose and middle-dose of YXJDF and the fasinopril sodium, the two drugs could improve EF and FS, further to improve the cardiac

[收稿日期] 20110926(008)

[基金项目] 国家科技重大专项资助项目(2009ZX09502-018); 重大新药创制项目(2012ZX09103-201-011); 北京中医药大学自主选题(JYBZZ-JS055)

[第一作者] 李春, 博士在读, 从事中西医结合心血管药理研究, E-mail: huaixiaokui@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 王伟, 博士, 教授, Tel: 010-64286508, E-mail: wangwei26960@126.com

function. Moreover, YXJDF could effectively shorten the LVEDd and LVEDs, and fosinopril sodium did not work. RIA results showed that Ang II of model group in plasma was significantly higher than sham group; the high-dose and middle-dose of YXJDF and fosinopril sodium could down-regulate the plasma Ang II by 16.58%, 15.58%, 12.79% ($P < 0.05$) respectively. And the experimental results of immunoturbidimetric assay showed that YXJDF could reduce high levels of hs-CRP in serum and inhibit inflammatory response. **Conclusion:** YXJDF can shorten the LVEDd and LVEDs, and thus slow down the process of cardiac remodeling and strength the cardiac function. The mechanism may be that it can decrease plasma Ang II levels and reduce RAAS activity thus to improve cardiac afterload in heart failure rats and suppress the inflammatory response.

[**Key words**] heart failure; cardiac function; angiotensin II; high-sensitivity C-reactive protein

随着人口的老齡化和生活水平的提高,心血管疾病严重危害着人类的命和健康。而心力衰竭作为各种心脏病发展的终末阶段,正成为 21 世纪致死致残率最高的重大疾病。流行病学资料表明,全球心衰患者的数量已高达 2 250 万,并且仍以每年 200 万的速度递增,且 5 年存活率与恶性肿瘤相仿^[1]。近几年,中医药治疗心衰取得了极大的进展,同时也展现出了其独特的优势,尤其在改善症状,提高生活质量和增强体质,预防心衰复发等方面^[2]。项目组前期研究发现气虚血瘀毒蕴是心衰最基本的证候要素;根据临床经验自拟益心解毒方,治则在益气活血的基础上辅以清热解毒,取得了确定的临床疗效。本研究旨在通过益心解毒方对心衰气虚血瘀证模型的干预,进一步研究益心解毒方对心衰大鼠心功能的改善及其可能作用机制。

1 材料

1.1 动物 正常雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 80 只,体重(220 ± 10)g,清洁级,许可证号 SCXK(京)2010-2011,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。常规饲料饲养,自由饮水。

1.2 药物与试剂 益心解毒方由黄芪、丹参等 6 味中药组成,均购于北京同仁堂制药有限公司,以上药材加适宜倍量水煎煮提取两次,合并提取液,滤过,收集滤液。滤液浓缩至适宜体积,放冷,边搅拌边缓慢加入乙醇,至乙醇含量达到适宜浓度,冷置 24 h,过滤,收集滤液。滤液回收乙醇并浓缩得适宜密度的稠膏,减压干燥,干膏粉碎成细粉,粉碎过筛,加适量糊精混匀,制粒,干燥,分装,即得。福辛普利钠片(由中美上海施贵宝制药有限公司提供,批准文号国药准字 H19980197),醛固酮(ALD)和血管紧张素 II(Ang II)放射免疫试剂盒(康源瑞德生物技术有限公司)。

1.3 仪器 FX7200 型心电图机(福田公司,日本),325 型小动物呼吸机(Kent Scientific,美国),

D100 数码相机(Nikon,日本),LXJ-II 型离心机(上海医用分析仪器厂),Sonos 7500 型超声检测仪(Philips,荷兰,探头频率 12 MHz)。hs-CRP 检测仪器:日立 7170A 型全自动生化分析仪(Orion Diagnostica Oy,芬兰)。

2 方法

2.1 动物分组 大鼠适应性饲养 1 周后,按照体重随机分为模型组和假手术组。模型动物行左冠脉结扎术,术后进行心电图检测,大鼠心电图标准 12 导联中出现 6~8 个导联 Q 波的模型组大鼠纳入研究范围。将其中 40 只造模成功大鼠随机分为 4 组:模型组、益心解毒方组高、低剂量组(18.66, 9.33 g·kg⁻¹)以及西药福辛普利钠片(4.67 mg·kg⁻¹)组。10 只假手术组动物除穿线不结扎外,余同模型组。术后第 2 天开始给药,均以水溶方式每天 ig 给药,体积为 10 mL·kg⁻¹,假手术组和模型组动物给予同体积纯净水,连续给药 28 d。

2.2 心衰气虚血瘀证大鼠模型的复制 参考课题组前期方法制备冠心病心肌缺血大鼠模型^[3-4]。于大鼠左胸第 3,4 肋间开口,逐层开胸,暴露心脏,于左心耳与肺动脉圆锥间距离左心耳 1~1.5 mm 处结扎大鼠冠状动脉左室支;结扎后心脏表面即刻给予利多卡因注射液 1~2 滴,常规缝合关胸;关胸后腹腔注射利多卡因注射液 0.1~0.2 mL、吠塞米注射液 0.1~0.2 mL。假手术组穿线不结扎,其他步骤与模型组相同。采用临床诊断指标等效转化的方法对模型大鼠进行动态全面的证候评价,评价方法包括游泳力竭实验、呼吸频率、舌爪颜色、血液流变学等。确立术后 28 d 模型大鼠主要表现为气虚血瘀证^[3-4]。

2.3 心脏超声检测 戊巴比妥钠 ip 麻醉大鼠后,于左胸上至锁骨下至肋骨下缘处备皮。分别对大鼠的左室收缩末内径(LVEDs),左室舒张末内径(LVEDd),射血分数(EF)和短轴缩短率(FS)进行

检测。

2.4 血浆中 ALD 和 Ang II 的测定 从腹主动脉处留取血液样本,静置 2 h 后 $3\ 000\ r \cdot \min^{-1}$ 离心 10 min, $-80\ ^\circ\text{C}$ 冰箱保存。利用放射免疫法检测大鼠血浆中 ALD 和 Ang II 的浓度。

2.5 血清中 hs-CRP 测定 采用免疫比浊法,使用日本日立 7170A 全自动生化分析仪,按标准操作规程进行对血清 hs-CRP 的测定。

2.6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理,所得正态分布数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组均值比较采用 ANOVA 方差分析,以 $P < 0.05$ 为差

异有统计学意义。相关性分析采用 Pearson 法。

3 结果

3.1 心脏超声 术后 28 d,模型组与假手术组相比,LVEDd 和 LVEDs 显著增加($P < 0.05$),EF 和 FS 显著下降($P < 0.05$);与模型组相比,益心解毒方高、低剂量组均能有效的降低心衰大鼠扩张的 LVEDd 和 LVEDs(分别下降 22.10% 和 28.57%, $P < 0.05$),尤以改善收缩末内径为主;且进一步提高 EF($P < 0.05$);福辛普利钠仅能改善心衰大鼠的 EF 值,对 LVEDd 和 LVEDs 作用不明显,统计学无差异,见表 1。

表 1 益心解毒方治疗 28 d 对心衰大鼠心脏超声检测指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	LVEDd/cm	LVEDs/cm	FS/%	EF/%
假手术	-	$0.65 \pm 0.10^{2)}$	$0.37 \pm 0.13^{2)}$	$43.92 \pm 9.05^{2)}$	$81.52 \pm 5.97^{2)}$
模型	-	$0.95 \pm 0.10^{1)}$	$0.77 \pm 0.13^{1)}$	$25.33 \pm 11.18^{1)}$	$41.55 \pm 14.37^{1)}$
益心解毒方	18.66	$0.74 \pm 0.13^{2)}$	$0.55 \pm 0.14^{2)}$	29.71 ± 9.99	$57.18 \pm 11.68^{2)}$
	9.33	$0.84 \pm 0.16^{2)}$	$0.63 \pm 0.17^{2)}$	26.35 ± 7.95	$56.71 \pm 13.04^{2)}$
福辛普利钠	4.67×10^{-3}	0.89 ± 0.14	0.70 ± 0.13	24.20 ± 9.29	$50.98 \pm 9.09^{2)}$

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

3.2 血浆中 ALD, Ang II 与血清中 hs-CRP 测定 与假手术组相比,模型组大鼠血浆 Ang II 显著上升;益心解毒方高、低剂量组与福辛普利钠均能够降低模型大鼠血浆 Ang II ($P < 0.05$),但两组之间无统计学差异,说明益心解毒方能抑制肾素-醛固酮-血管紧张素系统(RAAS)的激活,其程度与福辛普利

钠作用相当;血浆中 ALD 浓度变化无统计学意义。心梗后心衰大鼠血清 hs-CRP 明显上升($P < 0.01$);给予益心解毒方高、低剂量干预后,心衰大鼠血清 hs-CRP 显著下降($P < 0.05$),说明益心解毒方具有一定的抗炎作用;西药福辛普利钠组与模型组相比,差异无统计学意义,如表 2 示。

表 2 益心解毒方治疗 28 d 对心衰大鼠血浆中 ALD, Ang II 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	Ang II/ $\text{pg} \cdot \text{L}^{-1}$	ALD/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	hs-CRP/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
假手术	-	$165.59 \pm 21.35^{2)}$	208.85 ± 47.95	$4.50 \pm 0.82^{2)}$
模型	-	$211.28 \pm 19.85^{1)}$	220.32 ± 20.61	$27.50 \pm 1.67^{1)}$
益心解毒方	18.66	$176.71 \pm 27.66^{2)}$	236.49 ± 32.97	$15.70 \pm 1.81^{2)}$
	9.33	$178.36 \pm 28.69^{2)}$	231.57 ± 21.78	$18.42 \pm 1.74^{2)}$
福辛普利钠	4.67×10^{-3}	$184.75 \pm 29.10^{2)}$	228.72 ± 17.60	25.00 ± 2.07

3.3 Ang II 与 hs-CRP 相关性分析 通过对 Ang II 和 hs-CRP 的相关性分析发现,Ang II 和 hs-CRP 存在正相关($Y = 0.452\ 7X - 64.778, R^2 = 0.7318, P < 0.05$)。

4 讨论

心力衰竭作为一个严重的全球性公众健康和临床问题,日益受到重视。现代医学治疗心衰已经从短期的改善血流动力学,逐渐转变为长期地调控神经体液乃至试图逆转心肌异常,但仍旧存在着很多弊端,如不能很好的改善症状以及药物副作用的不可避免等^[5]。近几年,中医药治疗心衰已经取得了

很大的进展,依赖于中医的整体调控思想,中药很好的改善心衰患者诸多症状并且提高生活质量。益心解毒方来源于经方,并经过多年临床应用的证明,利用黄芪、丹参补气活血的同时,采用银花以清热解毒,治疗心衰取得了很好的疗效。

传统中医理论认为,心衰是本虚标实之证,治则多以养心益气,活血化瘀为主。多项研究同时表明炎症参与了动脉粥样硬化、心肌梗死和心肌炎等心脏疾病的过程^[6],而心衰的从毒论证就是鉴于解毒中药的抗炎作用^[7]。本研究通过心梗后心衰大鼠模型的建立,并在其气虚血瘀证出现的时间窗内给

予益心解毒方的干预。实验证明:心梗后心衰大鼠血清中 hs-CRP 的水平显著升高,炎症反应参与了冠心病气虚血瘀证的形成,而益心解毒方能够通过其中药银花的配伍,有效的降低炎症反应。

通过本研究同时发现益心解毒方可以改善大鼠的心功能,尤其是在延缓心衰进展中以心室扩大为主要表现的心肌重塑,能够有效的减少左室收缩末内径和舒张末内径。心肌重塑与诸多因素有关,目前的研究已证实,RAAS 在这一病理过程中担当着重要角色^[8]。尤其是心脏局部产生的 Ang II,通过血管紧张素受体引起心肌细胞生长、成纤维细胞增殖、细胞外蛋白表达、基质沉积等,导致了心肌肥大和心肌纤维增殖,在心室重塑中发挥了主要作用^[9]。本实验研究已经证明益心解毒方能够缓解心衰大鼠扩张的心腔,而结果同时显示该复方还能有效的降低心衰过程中升高的 Ang II,故认为该复方改善心功能、抑制心肌重塑的机制与降低血浆中 Ang II、抑制 RAAS 活性有关。

同时利用相关性分析得出,心衰大鼠血浆中高表达的 Ang II 浓度与血清中高表达的 hs-CRP 之前存在正相关的关系,两者之间可能相互诱导,相互影响。有实验研究表明:在 Ang II 的刺激下,体外培养人类的血管内皮细胞、血管平滑肌细胞,白介素-6 (IL-6)、细胞间黏附分子-1 (ICAM-1)、CRP 等因子的表达增加^[10-11];同时,于大鼠体内注入 Ang II 可使血管细胞黏附分子 (VCAM-1)、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)等表达上调,引发动脉和心肌组织的炎细胞侵入^[12]。这些研究均说明 Ang II 能够引发炎症反应并上调 hs-CRP 水平。同时大量临床及实验研究显示:作为冠心病独立危险因素 hs-CRP^[13],能够通过上调 Ang II 的 1 型受体 (AT₁),激活 TGF-β/Smad 以及 NF-κB 等信号转导通路进一步促进 Ang II 的释放,同时降低该患者的 EF,FS 并促进心肌的纤维化以及炎症反应^[14]。因此,抗炎或是抑制 RAAS 活性均为治疗慢性心衰的关键途径。综上,项目组前期研究认为大鼠行左冠状动脉结扎术后 7~28 d,表现为活动缓慢、安静状态下呼吸减慢、舌和爪底皮肤青紫等一系列的气虚血瘀证的表现^[3-4]。而本方以益气活血为主,辅以清热解毒,在心衰的气虚血瘀证的时间窗给予干预,并对心衰大鼠的心功能和神经内分泌的相关指标进行的检测。发现益心解毒方既能够改善心衰大鼠心功能的相关超声指标,又能够抑制炎症反应、抗心肌重塑。本研究一方面能够通过对比益心解毒方的药效药理机制的

了解,进一步指导临床的合理辨证用药;同时通过该研究也进一步的阐明心衰气虚血瘀证的形成与 RAAS 的激活有关,为证候生物学基础的研究提供依据。

[参考文献]

- [1] 姜红,葛均波.心力衰竭流行病学特点[J].中国医学前沿杂志(电子版),2010,2(1):1.
- [2] 潘光明,邹旭,盛小刚,等.中医药治疗慢性心力衰竭的优势和切入点[J].辽宁中医药大学学报,2011,13(4):44.
- [3] 仇琪,王勇,李春,等.心肌缺血模型大鼠气虚证相关信息的评价[J].中华中医药杂志,2010,25(2):210.
- [4] 仇琪,李春,王勇,等.心肌缺血模型大鼠血瘀证相关信息的评价[J].中国中西医结合杂志,2010,30(9):974.
- [5] 谢钢,郑晓黎,杨林,等.中医药治疗慢性心力衰竭的研究进展[J].中外医疗,2010(23):126.
- [6] 陈志亮,顾宁,赵庆峰,等.麝香保心丸抑制急性心肌梗死模型大鼠梗死组织炎症性因子的研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(20):224.
- [7] 刘鲁炯,王肖龙.清热解毒中药在冠心病临床治疗中的应用[J].世界临床药物,2009,30(9):562.
- [8] 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.
- [9] 曾武涛,陈伟燕,冷秀玉,等.AVE0991改善大鼠心肌梗死后心室重塑和心功能[J].中国动脉硬化杂志,2011,19(2):89.
- [10] Kranzhofer R, Schmidt J, Pfeiffer Cah, et al. Angiotensin induces inflammatory activation of human vascular smoothmuscle cells [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1999, 19: 1623.
- [11] Pastore L, Tessitore A, Martinotti S, et al. Angiotensin II stimulates intercellular adhesion molecule21 (ICAM21) expression by human vascular endothelial cells and increases soluble ICAM21 release *in vivo* [J]. Circulation, 1999, 100: 1646.
- [12] Usui M, Egashira K, Tomita H, et al. Important role of local angiotensin II activity mediated via type 1 receptor in the pathogenesis of cardiovascular inflammatory changes induced by chronic blockade of nitric oxide synthesis in rats [J]. Circulation, 2000, 101:305.
- [13] Ridker P M. C-reactive protein: eighty years from discovery to emergence as a major risk marker for cardiovascular disease [J]. Clin Chem, 2009,55:209.
- [14] Rongxin Zhang, Yuan Yuan Zhang, Xiao R. C-reactive protein promotes cardiac fibrosis and inflammation in angiotensin II-induced hypertensive cardiac disease [J]. Hypertension, 2010, 55:953.

[责任编辑 聂淑琴]