

4 种不同中医治法干预异丙肾上腺素致大鼠 心肌肥大的研究

顾燕频, 吕嵘, 黄玮, 刘艳, 章忱, 郭炜, 陈丽云, 卫洪昌*
(上海中医药大学病理教研室, 上海 201203)

[摘要] 目的: 研究 4 种不同中医治法对异丙肾上腺素致大鼠心肌肥大的影响。方法: 以异丙肾上腺素连续 3 d 以 20, 10, 5 mg·kg⁻¹ 递减 sc, 3 mg·kg⁻¹ 维持 7 d 制备大鼠心肌肥大模型, 造模成功后分别给予金匱肾气丸、补阳还五汤、生脉饮及真武汤 10 周干预, 观察大鼠血流动力学指标、心输出量、心脏质量指数、左心室质量指数以及血清心房利钠肽 (ANP)、脑钠肽 (BNP) 含量的变化。结果: 金匱肾气丸、补阳还五汤能够有效提高左室收缩峰压 (LVSP)、左室内压最大收缩率 (+dp/dt_{max}) 及心输出量 (P < 0.05), 降低心脏指数、左心室指数及 ANP, BNP 水平 (P < 0.05)。生脉饮和真武汤对于心输出量、心肌舒缩功能、心脏指数、左心室指数及血清 ANP, BNP 含量均无明显作用。结论: 益气活血法和温补肾阳法可以显著改善大鼠心肌收缩功能, 增加心输出量, 抑制心肌肥大, 降低神经体液因子水平。

[关键词] 心肌肥大; 异丙肾上腺素; 金匱肾气丸; 补阳还五汤; 生脉饮; 真武汤

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0136-05

Four Different Treatments of Traditional Chinese Medicine for Inhibition of Myocardial Hypertrophy Induced by Isoproterenol in Rats

GU Yan-pin, LV Rong, HUANG Wei, LIU Yan, ZHANG Chen, GUO Wei, CHEN Li-yun, WEI Hong-chang*
(Department of Pathophysiology, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] Objective: To observe the effect of four different treatments of traditional Chinese medicine on the rat model of myocardial hypertrophy induced by isoproterenol (ISO). **Method:** The rats were injected subcutaneously by 20, 10, 5 mg·kg⁻¹ ISO degressively and then 3 mg·kg⁻¹ ISO as maintenance dose for 7 days to build the rat model of myocardial hypertrophy, Jinkui Shenqi Wan (JGSQ), Buyang Huanwu Tang (BYHW), Shengmai Yin (SMY) and Zhenwu Tang (ZWT) were given to the rats for 10 weeks as interventions and after that, the hemodynamics, cardiac output, heart mass index (HMI), left ventricular mass index (LVMI) and serum level of ANP, BNP were observed. **Result:** Comparing with the model group, JGSQ and BYHW groups increased the hemodynamics LVSP, +dp/dt_{max} greatly and made a significant promotion to cardiac output (P < 0.05). At the mean time, HMI and LVMI decreased in these two groups as well as ANP and BNP (P < 0.05). ZWT and SMY group had no significant difference in decreasing the levels of ANP and BNP as well as the levels of HMI and LVMI. It showed decreased cardiac output and myocardial systolic function after treatment with ZWT and SMY (P < 0.05). **Conclusion:** We can improve the hemodynamic status of the rats to increase their cardiac output, inhibit the myocardial hypertrophy and reduce the level of neurohumoral factor by using the TCM therapeusis of warming kidney yang and benefiting qi, activating blood.

[收稿日期] 20100329(001)

[基金项目] 上海市教委基金资助项目(07CZ03); 上海市教育委员会重点学科建设项目资助(J50301); 上海市重点学科建设项目(S30301); 国家自然科学基金项目(30973821)

[第一作者] 顾燕频, 博士研究生, 从事中医药防治心血管疾病的基础研究, Tel: 51322460, E-mail: bljys@yahoo.com.cn

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

[Key words] myocardial hypertrophy; isoproterenol; Jingui Shenqi Wan; Buyang Huanwu Tang; Shengmai Yin; Zhenwu Tang

随着人口老龄化进程的加快和高血压、冠心病等常见心血管病发病率的上升,心力衰竭(heart failure)的患病率正逐渐升高,其高病残率及死亡率正成为突出的公共卫生问题。心肌肥大是心脏在长期负荷增加的情况下,心肌及心肌间质出现的增生性变化,是向心力衰竭转变的重要过程和关键环节。因此,有效抑制心肌肥大的发生将能够抑制心衰的进展^[1]。研究资料表明^[2-3],通过药物干预可以缓解甚至逆转心肌肥大的发生,这成为延缓心力衰竭的有效手段。我们通过前期文献分析^[4],按中医辨证分型,慢性心衰以气虚血瘀证、心肾阳虚证、气阴两虚证、阳虚水泛证最为常见。本实验运用益气活血法、温补肾阳法、益气养阴法和温阳利水法 4 种不同中医治法干预异丙肾上腺素致大鼠心肌肥大的模型,寻求缓解/逆转心肌肥大的中医最佳治法,为临床中药运用提供理论及实验依据。

1 材料

1.1 动物 清洁级,雄性 SD 大鼠,体重(200 ±20)g,购自中国科学院上海实验动物中心,动物合格证号 02569。

1.2 药物及试剂 补阳还五汤加减(生黄芪 30 g,当归 10 g,地龙 10 g,川芎 10 g,赤芍 10 g,桃仁 10 g,红花 10 g);金匱肾气丸(桂枝 3 g,附子 3 g,熟地黄 24 g,山茱萸 12 g,山药 12 g,茯苓 9 g,丹皮 9 g,泽泻 9 g);生脉饮(党参 9 g,麦冬 9 g,五味子 6 g);真武汤(炮附子 9 g,生姜 9 g,茯苓 9 g,白芍 9 g,白术 6 g)。饮片购自上海养和堂药业有限公司,由我校国家教育部中药制剂工程中心,按照前期既定质控标准制备实验所需的中药制剂。马来酸依那普利片(批号 090103),上海现代制药股份有限公司生产。异丙肾上腺素(ISO)购于美国 Sigma 公司。肝素钠注射液(批号 0812126),江苏万邦生化医药股份有限公司生产。心房利钠肽(ANP)、脑钠肽(BNP) ELISA 试剂盒为美国 R&B 公司生产。

1.3 仪器 Powerlab8/30sp 生理记录仪,澳大利亚埃德仪器公司生产;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 造模 参考文献[5],异丙肾上腺素连续 3 d 以 20, 10, 5 mg·kg⁻¹ 的递减剂量于大鼠 sc,再以 3 mg·kg⁻¹ 的剂量 sc 维持 7 d。正常组以等量生理盐水 sc。所有大鼠在造模成功后即开始给药。

2.2 分组及给药 根据造模后大鼠的存活量,采用随机数字表法分为模型组(M),依那普利组(Ena, 2 mg·kg⁻¹),补养还五汤组(BYHW, 8 g·kg⁻¹),金匱肾气丸组(JGSQ 7.5 g·kg⁻¹),生脉饮组(SMY 2.0 g·kg⁻¹)及真武汤组(ZWT 4.0 g·kg⁻¹),各 12 只,另设正常组(N) 10 只。造模分组结束后,各药物组剂量按大鼠与人体表面积转换系数计算后,每鼠 ig 2 mL·d⁻¹。正常组及模型组 ig 等量蒸馏水。大鼠给药 10 周后检测各项指标。

2.3 大鼠的一般情况及体征 观察造模后及给药后大鼠的食量、活动等一般情况。

2.4 血流动力学检测 大鼠称重后,注射 3% 戊巴比妥钠(50 mg·kg⁻¹)行 ip 麻醉。颈部分离右颈总动脉,插入连接压力换能器的肝素化 PE-50 导管,打开 Powerlab 生理记录仪,记录收缩压、舒张压、平均动脉压后,PE-50 导管继续逆行插至左心室,分别记录左室收缩峰压(LVSP),左室舒张末压(LVEDP),左室内压最大收缩率(+dp/dt_{max}),左室内压最小舒张率(-dp/dt_{max})。

2.5 心输出量测定 血流动力学检测完毕后,分离右颈外静脉,插入连接三通的肝素化 PE30 导管。温度探头(MLT1402, AD Instruments)测冰生理盐水温度后,再经右颈总动脉插入升主动脉。150 μL 20 ~ 25 ℃ 生理盐水经 PE30 注入右心房,Powerlab 生理记录仪记录,间隔 5 min 后再次注入冰盐水,重复 3 次取平均值,使用 Lab Chart 软件中 Cardiac Output 模块计算心输出量。

2.6 心脏指数及左心室指数测定 腹主动脉取血后,开胸剪取心脏,滤纸吸尽残血,称全心质量,分离左心室(包括室间隔),称重。以全心质量(mg)、左室质量(mg)与体重(g)之比作为心脏指数、左心室指数。

2.7 血清 ANP, BNP 含量测定 采用 ELESAs 法测定 ANP, BNP 含量。血流动力学及输出量测定结束后,

腹主动脉取血并分离血清。按照试剂盒说明操作。

2.8 统计学方法 采用 SPSS13.0 统计分析软件的单因素方差分析法进行多组间比较, 计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对心衰大鼠的一般情况和体征的影响 造模 90 只, 存活 72 只。与正常组相比, 模型组大鼠毛色晦暗, 凌乱, 食量及活动量减少, 较温顺, 大便稀薄。与模型组相比, 给药各组大鼠食量、活动量较正常, 尤以金匱肾气丸组大鼠毛色光亮, 食量大, 便多, 体型壮硕。

3.2 各组大鼠血流动力学比较 与正常组相比, 模型组 SP, DP 及 HR 明显升高 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 依那普利组、补阳还五汤、金匱肾气丸组 SP, DP 及 HR 有不同程度的下降 ($P < 0.05$), 但生脉饮及真武汤组未见明显趋势。与正常组相比, 除 LVEDP 外, 模型组的 LVSP, $\pm dp/dt_{\max}$ 均有显著性下

降 ($P < 0.05$), 此外, 生脉饮、真武汤组的 $\pm dp/dt_{\max}$ 也具有下降趋势 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 依那普利组、补阳还五汤、金匱肾气丸组的 LVSP 有明显改善 ($P < 0.05$); 生脉饮、真武汤组的则无统计学意义。各组大鼠 LVEDP 与模型组比较, 显示均无统计学意义。依那普利、金匱肾气丸组及补阳还五汤组可显著提高 $+ dp/dt_{\max}$ ($P < 0.05$), 此 3 组的 $-dp/dt_{\max}$ 与模型组相比, 有上升趋势, 但无统计学意义。见表 1, 图 1。

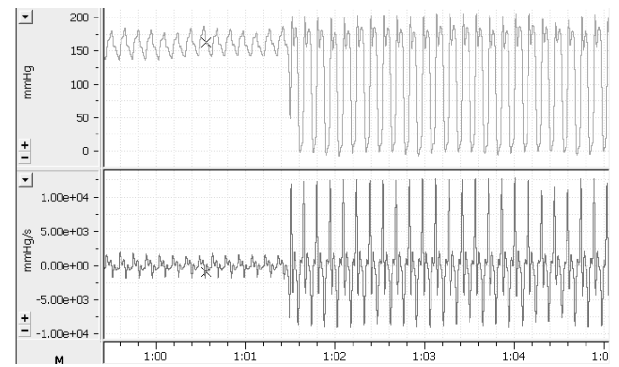


图 1 导管插入左心室前后压力及变化速率的改变

表 1 给药 10 周后各组大鼠血流动力学比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	SP/mmHg	DP/mmHg	HR 次 / min
正常	10	-	128.47 \pm 3.26 ¹⁾	110.84 \pm 5.24 ¹⁾	373.3 \pm 6.3 ¹⁾
模型	12	-	157.31 \pm 5.43 ²⁾	130.30 \pm 3.21 ²⁾	432.9 \pm 6.0 ²⁾
依那普利	12	0.002	137.27 \pm 4.65 ¹⁾	117.93 \pm 4.71 ¹⁾	388.9 \pm 11.6 ¹⁾
补阳还五汤	12	8.0	136.02 \pm 5.00 ¹⁾	118.31 \pm 3.74 ¹⁾	398.5 \pm 8.6 ¹⁾
金匱肾气丸	12	7.5	138.31 \pm 3.18 ¹⁾	116.46 \pm 3.05 ¹⁾	392.1 \pm 8.1 ¹⁾
生脉饮	12	2.0	152.17 \pm 4.93	124.91 \pm 4.85	413.5 \pm 8.0
真武汤	12	4.0	146.62 \pm 3.46	119.47 \pm 2.85	415.7 \pm 5.8

组别	n	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	LVSP/mmHg	LVEDP/mmHg	$+ dp/dt_{\max} / mmHg \cdot s^{-1}$	$-dp/dt_{\max} / mmHg \cdot s^{-1}$
正常	10	-	168.90 \pm 3.03 ¹⁾	1.67 \pm 1.27	12 204.8 \pm 429.3 ¹⁾	11 517.5 \pm 717.7 ¹⁾
模型	12	-	149.74 \pm 3.71 ²⁾	- 0.10 \pm 1.59	8 277.1 \pm 948.9 ²⁾	8 223.5 \pm 600.3 ²⁾
依那普利	12	0.002	160.71 \pm 4.61 ¹⁾	0.39 \pm 0.81	11 062.5 \pm 667.8 ¹⁾	9 811.6 \pm 768.6
补阳还五汤	12	8.0	162.66 \pm 3.66 ¹⁾	- 0.31 \pm 1.24	11 139.3 \pm 431.7 ¹⁾	9 649.9 \pm 829.3
金匱肾气丸	12	7.5	166.98 \pm 3.04 ¹⁾	- 1.09 \pm 0.94	11 555.4 \pm 607.8 ¹⁾	9 959.2 \pm 706.5
生脉饮	12	2.0	157.87 \pm 4.95	- 0.65 \pm 1.33	9 611.4 \pm 731.5 ²⁾	8 741.7 \pm 1 077.8 ²⁾
真武汤	12	4.0	155.80 \pm 4.15	0.75 \pm 1.58	9 039.7 \pm 697.1 ²⁾	9 159.4 \pm 495.2 ²⁾

注: 与模型组比¹⁾ $P < 0.05$; 与正常组比²⁾ $P < 0.05$ (表 2 ~3 同)。

3.3 各组大鼠心输出量、心脏指数及左心室指数比较 统计结果显示, 模型组心输出量明显低于正常组, 且心脏指数及左心室指数显著升高 ($P < 0.05$)。补阳还五汤、金匱肾气丸组的心脏指数、左心室指数与模型组相比, 差异有显著性, 并且能提高心输出量 ($P < 0.05$)。生脉饮、真武汤组能心输出量减少, 其

心脏指数、左心室指数虽有降低趋势, 但无统计学意义。见表 2, 图 2。

3.4 各组大鼠 ANP, BNP 比较 造模后各组 ANP, BNP 含量均明显高于正常组 ($P < 0.05$); 依那普利、补阳还五汤、金匱肾气丸组 ANP, BNP 含量较正常组比明显升高, 但与模型组相比有显著性差异 ($P < 0.05$);

表 2 各组大鼠心输出量、全心指数与左心室指数比较 (̄±s)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	CO/BW/mL·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	HW/BW/g·kg ⁻¹	LVW/BW/g·kg ⁻¹
正常	10	-	244.37 ±10.46 ¹⁾	2.367 ±0.043 ¹⁾	1.581 ±0.040 ¹⁾
模型	12	-	198.22 ±11.07 ²⁾	2.57 ±0.042 ²⁾	1.730 ±0.022 ²⁾
依那普利	12	0.002	231.29 ±6.64 ¹⁾	2.40 ±0.031 ¹⁾	1.612 ±0.023 ¹⁾
补阳还五汤	12	8.0	233.23 ±8.59 ¹⁾	2.431 ±0.029 ¹⁾	1.646 ±0.016 ¹⁾
金匱肾气丸	12	7.5	229.13 ±5.75 ¹⁾	2.423 ±0.023 ¹⁾	1.636 ±0.021 ¹⁾
生脉饮	12	2.0	202.37 ±6.91 ²⁾	2.502 ±0.045 ²⁾	1.662 ±0.028 ²⁾
真武汤	12	4.0	209.14 ±4.17 ²⁾	2.491 ±0.053 ²⁾	1.653 ±0.023 ²⁾

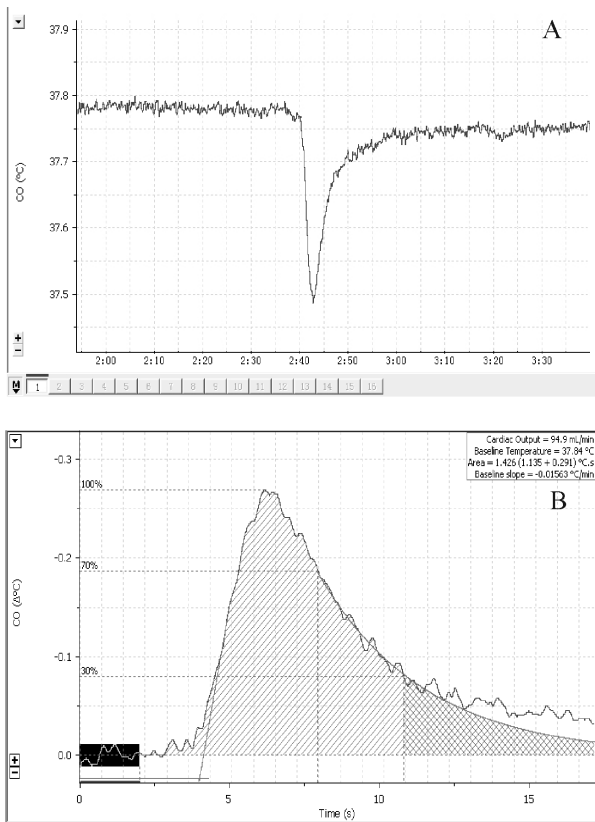


图 2 注入冷生理盐水前后大鼠主动脉弓处体温的改变(A)及热稀释法测心输出量的计算(B)

生脉饮、真武汤组 ANP, BNP 含量与模型组比无显著性差异。见表 3。

表 3 各组大鼠血清中 ANP, BNP 含量比较 (̄±s, n=8)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ANP/ng·L ⁻¹	BNP/ng·L ⁻¹
正常	-	72.45 ±5.28	295.32 ±28.26
模型	-	209.27 ±8.38 ²⁾	542.84 ±38.21 ²⁾
依那普利	0.002	105.44 ±7.68 ^{1,2)}	389.17 ±25.43 ^{1,2)}
补阳还五汤	8.0	121.36 ±10.37 ^{1,2)}	423.47 ±36.54 ^{1,2)}
金匱肾气丸	7.5	127.13 ±9.37 ^{1,2)}	418.75 ±17.34 ^{1,2)}
生脉饮	2.0	183.40 ±13.26 ²⁾	525.38 ±24.13 ²⁾
真武汤	4.0	184.11 ±17.24 ²⁾	496.11 ±26.54 ²⁾

4 讨论

慢性心力衰竭是一组复杂的症候群, 心脏收缩和(或)舒张功能障碍是心力衰竭发病机制的主要环节, 血液在静脉系统淤积及心输出量降低为心衰各种临床表现的基础。模型组大鼠食量减少、大便

稀薄可能与心输出量降低导致胃肠动脉灌注不足或胃肠瘀血, 从而引起的胃肠功能障碍有关。同时, 由于骨骼肌的灌注不足, 可能导致无氧代谢、乳酸性酸中毒, 从而使得模型组大鼠感到疲乏而致活动量减少。血流动力学和心输出量是衡量心功能的直接指标, 而 ANP, BNP 具有拮抗肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)产生利钠利尿的作用。有研究表明, ANP mRNA 的表达在代偿期、失代偿期均有分泌增加, 而 BNP mRNA 仅在心衰失代偿期表达增加, 因此 BNP 可为心衰由代偿期向失代偿期过度的指标^[6]。本实验采用异丙肾上腺素造模 10 周后, 结果显示模型组大鼠 LVSP, $\pm dp/dt_{max}$ 与心输出量显著降低, 血清 ANP, BNP 含量升高 ($P < 0.05$), 表明此时心衰处于代偿向失代偿过度阶段。

本实验发现金匱肾气丸与补阳还五汤能够增加模型大鼠心输出量, 减少心脏及左心室指数, 降低血清 ANP、BNP 含量。可能与金匱肾气丸具有抗氧化、抗衰老及细胞凋亡的作用有关^[7-8], 因为氧化应激、炎症因子的过度激活及心肌细胞凋亡是心肌肥大/心力衰竭的重要因素。有研究^[9]提示补阳还五汤具有抗缺血再灌注, 改善心肌细胞供氧及能量代谢。中医临床与动物实验也广泛应用益气活血法防治心肌重塑/心力衰竭^[10-11]。本实验还发现真武汤和生脉饮两组 LVSP, $\pm dp/dt_{max}$ 明显低于正常组, 表现出负性肌力作用, 并且对于降低的心输出量, 过度激活的神经体液因子及增高的心脏指数、左心室指数方面均未表现出干预作用。

[参考文献]

- [1] Frohlich E D. Cardiac Hypertrophy in Hypertension[J]. N Engl J Med, 1987, 317: 831.
- [2] Hunt S A, Abraham W T, Chin M H, et al. ACC/AHA 2005 Guideline update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult [J]. Circulation,

- 2005, 112: e154.
- [3] 宋晓东, 辛颖, 刘哲, 等. 欣力胶囊对心力衰竭大鼠心肌重塑及心功能的影响 [J]. 中国循环杂志, 2006, 21 (6) : 469.
- [4] 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.
- [5] 王培勇, 姚兴海, 欧和生, 等. 异丙肾上腺素致大鼠心肌肥大时心肌细胞核 Ca^{2+} 转运功能异常 [J]. 中国动脉硬化杂志, 1998, 6 (2) : 98.
- [6] Langenickel T, Page1 I, Hohnel K, et al. Differential regulation of cardiac ANP and BNP mRNA in different stages of experimental heart failure [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000, 278 (5) : H1500.
- [7] 刘浙伟. 金肾气丸为主改善老年人 SOD、LPO 等衰老指标的观察 [J]. 新中医, 1996, 28 (11) : 59.
- [8] 王新玲, 李月彩, 侯颖春, 金匱肾气丸抗自由基和细胞凋亡的作用 [J]. 第四军医大学学报, 2000, 21 (10) : 1209
- [9] 青显民. 补阳还五汤对大鼠全血比黏度、TXB₂、LPO 及 SOD 的影响 [J]. 山西医科大学学报, 2002, 33 (3) : 212.
- [10] 王振涛, 王硕仁, 赵明镜等. 活血和益气方药对心肌梗死后左心衰大鼠左心室重构影响的比较研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2002, 22 (5) : 376.
- [11] 续冬梅, 张福生. 补阳还五汤对心肌梗死后患者心脏重塑及心功能改善作用的临床研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8 (5) : 298.

[责任编辑 聂淑琴]