

# 增液汤和四逆汤抗心室重构的比较研究

王 樱, 陈长勋\*, 杜 军, 顾伟梁, 吕 见  
(上海中医药大学药理教研室, 上海 201203)

[摘要] 目的: 探讨寒性方增液汤和热性方四逆汤对实验性心室重构的影响。方法: 采用皮下注射异丙肾上腺素及腹主动脉不完全结扎法分别制备小鼠和大鼠心室重构模型, 观察增液汤和四逆汤对心脏指数、血压、血管紧张素 II (Ang II)、醛固酮 (ALD)、内皮素 (ET)、羟脯氨酸 (Hyp) 的影响。结果: 与正常对照组或假手术组比较, 模型组心脏指数显著增加, 血压升高, 心肌组织 Ang II、ET、Hyp 含量明显增加, 血清 ALD 含量明显增加; 增液汤能明显减少心脏指数, 降低血压, 减少 Ang II、ET、Hyp、ALD 含量; 四逆汤除了对心肌组织 ET 含量有一定的降低作用外, 对其他指标作用不明显。结论: 寒性方增液汤抗心室重构作用显著, 其作用机制与降低血压、抑制神经内分泌因子有关。热性方四逆汤无明显抗心室重构作用。

[关键词] 增液汤; 四逆汤; 心室重构

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)05-0058-05

## Comparative Study of Zengye Decoction and Sini Decoction in Inhibiting Ventricular Remodeling

WANG Ying, CHEN Chang-xun\*, DU Jun, GU Wei-liang, LV Jian

(Dept of Pharmacology, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the influence of Zengye Decoction and Sini Decoction on ventricle remodeling. **Methods:** Ventricular remodeling models were induced by injection of isoproterenol in mice and constriction of abdominal aorta in rats. The effects of Zengye Decoction and Sini Decoction on the heart weight index, blood pressure, Ang II, ALD, ET and Hyp levels were assessed. **Results:** Compared with those of the normal or sham operated group, the

[收稿日期] 2007-09-17

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30572379)

[通讯作者] \* 陈长勋, Tel: (021) 51322200; E-mail: cxchen6@126.com

heart weight index, blood pressure, the levels of Ang II, ET, Hyp in the myocardium and ALD in the blood serum were significantly increased in the model group. In group treated with Zengye Decoction, the heart weight index, blood pressure, the levels of Ang II, ET, Hyp in the myocardium and the serum level of ALD were decreased remarkably. Sini Decoction did not show such effects, except that it could decline the level of ET. **Conclusions:** Zengye Decoction has the effects on inhibiting ventricular remodeling. The mechanism may be related to decreasing the blood pressure and inhibiting neuroendocrine factors. Sini Decoction has no effects on inhibiting ventricular remodeling.

[ **Key words** ] Zengye Decoction; Sini Decoction; ventricular remodeling

研究证实, 导致充血性心力衰竭(CHF)发生发展的基本机制是心室重构<sup>[1]</sup>。心室重构是由于一系列复杂的分子和细胞机制导致心肌结构、功能和表型的变化。这些变化包括心肌细胞肥大、凋亡, 胚胎基因和蛋白质的再表达, 心肌细胞外基质量和组成的变化; 临床表现为心肌质量、心室容量的增加和心室形状的改变(横径增加呈球状)。使用药物干预和逆转心室重构是防治 CHF 更为有效的手段。

本实验试图探明寒凉及温热不同药性对心室重构发生与发展的不同影响, 哪类药性对心室重构抑制作用较为有利, 以筛选出具有较好抗实验性心肌肥大、心室重构作用的药物。我们从中医经典著作《温病条辨》和《伤寒论》中选择了寒性方增液汤和热性方四逆汤进行对比研究。

## 1 材料

**1.1 动物** 昆明种小鼠, 雄性, 体重(20~22)g; SD 大鼠, 雄性, 体重(220~250)g, 购于中科院上海实验动物中心, 合格证号 SCXK(沪)2003-0003。饲养于上海中医药大学实验动物中心清洁级动物实验室。

**1.2 药物** 增液汤: 玄参(批号: 060913, 产地浙江)、麦冬(批号: 070405, 产地四川), 生地(批号: 070326, 产地河南)按原方 30: 24: 24 比例共 780 g 加水煎煮 2 次, 每次 30 min, 合并两次煎液, 浓缩至 390 mL, 即每毫升含 2 g 生药, 实验时稀释成所需浓度; 四逆汤: 附子(批号: 061225, 产地江苏), 干姜(批号: 060817, 产地四川), 炙甘草(批号: 070323, 产地新疆)按原方 15: 9: 6 比例共 300 g 加水煎煮, 同上处理, 供实验用。以上药材均购自上海养和堂中药饮片有限公司; 盐酸异丙肾上腺素注射液(ISO, 批号: 5E20010), 上海禾丰制药有限公司; 酒石酸美托洛尔片(批号: 0605002), 阿斯利康制药有限公司; 卡托普利(批号: 060804), 上海衡山药业有限公司。

**1.3 试剂** 血管紧张素 II(Ang II) 放免试剂盒, 批号: 20070525, 内皮素(ET) 放免试剂盒, 批号:

20070625, 购于解放军医院科技开发中心放免所; 醛固酮(ALD) 放免试剂盒, 批号: 070520, 购于北京北方生物技术研究所; 羟脯氨酸(Hyp) 测试盒, 批号: 20070717, 考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒, 批号: 20070706, 购自南京建成试剂公司。

**1.4 仪器** RM6280 型多道生理信号采集处理系统(成都仪器厂); DL-50RC-L 离心机(上海中科生物医学高科技开发有限公司); SN-682 放射免疫  $\gamma$  计数器(中国科学院上海原子核研究所日环仪器厂); FJ-200 高速分散均质机(上海标本模型厂); 754 型紫外可见分光光度计(上海第三分析仪器厂)。

## 2 方法

**2.1 抗 ISO 致小鼠心室重构作用观察** 选用(20~22)g 的雄性昆明种小鼠 58 只, 随机分为 5 组: 正常对照组、模型组、美托洛尔组、增液汤组和四逆汤组, 除四逆汤组 10 只外, 余各组均为 12 只。各受试药组以临床等效量 4 倍的剂量, 即增液汤  $40.56 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、四逆汤  $15.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $0.02 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$  ig 给予对应的受试药, 1 次/d, 连续 7 d; 正常对照组、模型组 ig 给予相同体积的饮用水。给药当天开始除正常对照组外, 各组连续 7 d 背部 sc ISO  $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 1 次/d, 造成心室重构模型。正常组小鼠背部 sc 相同体积的生理盐水, 连续 7 d。小鼠于末次给药后禁食不禁水 12 h, 然后称体重, 摘眼球法取血, 分离血浆; 脱颈椎处死, 快速打开胸腔取出心脏, 用滤纸吸干表面水分, 去除大血管、心房、心外膜脂肪组织, 沿室壁剪开, 分离左、右心室, 电子天平准确称取左心室重量(LVW)和全心重量(HW)。计算全心重量/体重比, 左心室重量/体重比, 分别记为全心肥厚指数(HWI), 左心室肥厚指数(LVWI)。

**2.2 腹主动脉不完全结扎致大鼠心室重构模型的制备和作用观察**

**2.2.1 模型制备** 选用(220~250)g 雄性 SD 大鼠, 手术前 12 h 禁食不禁水, 3% 戊巴比妥钠按  $30 \text{ mg} \cdot$

kg<sup>-1</sup> ip 麻醉,待角膜反射消失后固定在手术台上,腹部正中剑突下(2~3)cm 处打开腹腔,分离腹主动脉,用银夹(银夹内径为 0.6 mm)不完全结扎二肾动脉之间腹主动脉,使腹主动脉外径缩窄为 0.6 mm,检查腹主动脉通畅后,青霉素钠 4 万单位/只注入腹腔防治感染,分层缝合腹壁。假手术组动物(10 只)开腹后仅分离腹主动脉,但不结扎,其余步骤与造模动物相同。手术后动物以青霉素钠 4 万单位/只 im,连续 3 d 以抗感染。

手术 1 周内出现部分动物死亡,解剖发现双肺明显瘀血,部分还伴有胸腔积液,其死亡与急性压力超负荷和感染有关。造模后 1 周,将存活的造模动物随机分组:模型组(11 只)、卡托普利组(9 只)、增液汤组(9 只)、四逆汤组(10 只)。各受试药组按临床等效量的 4 倍,即增液汤 20.08 g·kg<sup>-1</sup>、四逆汤 10.8 g·kg<sup>-1</sup>,以 0.02 mL·g<sup>-1</sup> ig 给予受试药,连续 3 周;假手术组、模型组 ig 给予相同体积的饮用水。

### 2.3 抗腹主动脉不完全结扎致大鼠心室重构指标检测

大鼠于末次给药后禁食不禁水 12 h,称重,用 25% 的乌拉坦 1 g·kg<sup>-1</sup>腹腔注射麻醉后,测定以下指标:

**2.3.1 血压测定** 分离右颈总动脉,用外径 0.45 mm 的聚乙烯管插入,通过压力换能器连接 RM6280 型多道生理信号采集处理系统,记录收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、平均动脉压(MAP)。

**2.3.2 大鼠心脏肥厚指数测定** 快速打开胸腔取出心脏,用滤纸吸干表面水分,去除大血管、心房、心外膜脂肪组织,沿室壁剪开,分离左、右心室,电子天平准确称取左心室重量(LVW)和全心重量(HW)。计算全心重量/体重,左心室重量/体重,分别记为全心肥厚指数(HWI),左心室肥厚指数(LVWI)。

**2.3.3 心肌组织 Ang II、ET、Hyp 含量测定** 取大鼠左室心肌组织,用冷生理盐水制备 10% 及 2% 组织匀浆。取 2% 组织匀浆测定 Ang II、Hyp 含量,取 10% 组织匀浆液测定 ET 含量。具体方法按试剂盒说明书进行。同时用考马斯亮蓝蛋白试剂盒测定匀浆总蛋白含量,结果以每毫克蛋白中的 Ang II、Hyp、ET 含量表示。

**2.3.4 血清 ALD 浓度测定** 腹主动脉取血,低温离心机 3 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上清液,用放射免疫法测定 ALD 浓度。具体方法按试剂盒说明书进

行。

**2.4 统计学方法** 实验数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析,两组间比较用 *q* 检验,以 *P* < 0.05、*P* < 0.01 分别表示统计学意义显著和非常显著。

## 3 结果

**3.1 对 ISO 致心室重构小鼠心脏指数的影响** 与正常组比较,模型组 LVWI、HWI 非常显著性地升高(*P* < 0.01);给予美托洛尔和增液汤干预后,LVWI、HWI 显著降低(*P* < 0.01);而四逆汤组对升高的 LVWI、HWI 无显著下降作用见表 1。

表 1 增液汤、四逆汤对 ISO 致心室重构小鼠心脏指数的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> )	<i>n</i>	LVWI (mg·g <sup>-1</sup> )	HWI (mg·g <sup>-1</sup> )
正常组	—	12	2.97 ± 0.20 <sup>2)</sup>	4.09 ± 0.29 <sup>2)</sup>
模型组	—	12	3.50 ± 0.30	4.72 ± 0.38
美托洛尔组	0.06	12	3.06 ± 0.13 <sup>2)</sup>	4.18 ± 0.14 <sup>2)</sup>
增液汤组	40.56	12	2.98 ± 0.16 <sup>2)</sup>	4.09 ± 0.25 <sup>2)</sup>
四逆汤组	15.60	10	3.37 ± 0.29	4.55 ± 0.34

注:与模型组比较<sup>1)</sup> *P* < 0.05,<sup>2)</sup> *P* < 0.01(下同)

### 3.2 腹主动脉不完全结扎致大鼠心室重构的影响

**3.2.1 对血压的影响** 与假手术组比较,模型组 SBP、DBP、MAP 均非常显著升高(*P* < 0.01);卡托普利非常显著降低 SBP、DBP、MAP(*P* < 0.01);增液汤能显著降低 SBP、MAP(*P* < 0.05),对 DBP 亦有一定下降作用;四逆汤无降低 SBP、DBP、MAP 作用,相反呈上升趋势见表 2。

表 2 增液汤、四逆汤对腹主动脉不完全结扎致大鼠心室重构大鼠动脉血压的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> )	<i>n</i>	SBP (kPa)	DBP (kPa)	MAP (kPa)
假手术组	—	10	19.22 ± 0.96 <sup>2)</sup>	14.78 ± 1.70 <sup>2)</sup>	16.60 ± 1.56 <sup>2)</sup>
模型组	—	10	24.92 ± 3.16	17.82 ± 2.29	21.08 ± 3.03
卡托普利组	0.04	9	19.47 ± 2.06 <sup>2)</sup>	14.94 ± 2.25 <sup>2)</sup>	16.75 ± 2.23 <sup>2)</sup>
增液汤组	28.08	9	21.51 ± 1.67 <sup>1)</sup>	15.41 ± 3.94	17.56 ± 2.33 <sup>1)</sup>
四逆汤组	10.80	9	27.81 ± 3.28	19.61 ± 1.82	22.96 ± 2.16

**3.2.2 对心脏指数的影响** 与假手术组比较,模型组 LVWI、HWI 显著升高(*P* < 0.01);给予卡托普利和增液汤干预后,LVWI、HWI 显著降低(*P* < 0.01);而四逆汤组对 LVWI、HWI 无明显作用见表 3。

表 3 增液汤、四逆汤对腹主动脉不完全结扎致心室重构大鼠心脏指数的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 ( $g \cdot kg^{-1}$ )	<i>n</i>	LVWI ( $mg \cdot g^{-1}$ )	HWI ( $mg \cdot g^{-1}$ )
假手术组	—	10	2.39 ± 0.23 <sup>2)</sup>	3.04 ± 0.25 <sup>2)</sup>
模型组	—	11	3.08 ± 0.36	3.80 ± 0.40
卡托普利组	0.04	9	2.65 ± 0.30 <sup>2)</sup>	3.31 ± 0.34 <sup>2)</sup>
增液汤组	28.08	9	2.72 ± 0.15 <sup>2)</sup>	3.34 ± 0.18 <sup>2)</sup>
四逆汤组	10.80	10	3.20 ± 0.21	3.89 ± 0.26

**3.2.3 对心肌 Ang II、ET、Hyp 含量的影响** 与假手术组比较,模型组心肌 Ang II、ET、Hyp 含量均明显升高( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ );与模型组比较,阳性药卡托普利组及增液汤组心肌 Ang II, ET, Hyp 显著地降低(各  $P < 0.01$ ),四逆汤组仅 ET 降低( $P < 0.01$ ),对 Ang II 和 Hyp 含量无明显影响。见表 4。

表 4 增液汤、四逆汤对腹主动脉不完全结扎致心室重构大鼠心肌组织 Ang II, ET, Hyp 含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 ( $g \cdot kg^{-1}$ )	<i>n</i>	心肌组织 Ang II 含量 ( $pg \cdot mg^{-1} prot$ )	心肌组织 ET 含量 ( $pg \cdot mg^{-1} prot$ )	心肌组织 Hyp 含量 ( $pg \cdot mg^{-1} prot$ )
假手术组	—	10	80.92 ± 4.35 <sup>2)</sup>	9.96 ± 2.61 <sup>2)</sup>	0.87 ± 0.20 <sup>1)</sup>
模型组	—	11	88.80 ± 6.85	54.32 ± 12.11	1.04 ± 0.13
卡托普利组	0.04	9	75.09 ± 7.89 <sup>2)</sup>	19.26 ± 7.81 <sup>2)</sup>	0.92 ± 0.06 <sup>1)</sup>
增液汤组	28.08	9	71.29 ± 5.76 <sup>2)</sup>	27.11 ± 3.64 <sup>2)</sup>	0.68 ± 0.09 <sup>2)</sup>
四逆汤组	10.80	10	104.60 ± 38.38	16.60 ± 3.32 <sup>2)</sup>	0.99 ± 0.09

**3.2.4 对血清 ALD 浓度的影响** 与假手术组比较,模型组血清 ALD 浓度明显升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,阳性对照药卡托普利组及增液汤组血清 ALD 浓度非常显著性地降低( $P < 0.01$ ),四逆汤组无下降血清 ALD 浓度的作用。见表 5。

表 5 增液汤、四逆汤对腹主动脉不完全结扎致心室重构大鼠血清 ALD 浓度的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 ( $g \cdot kg^{-1}$ )	<i>n</i>	血清 ALD 浓度 ( $ng \cdot mL^{-1}$ )
假手术组	—	10	0.71 ± 0.12 <sup>2)</sup>
模型组	—	11	1.11 ± 0.15
卡托普利组	0.04	9	0.77 ± 0.10 <sup>2)</sup>
增液汤组	28.08	9	0.74 ± 0.11 <sup>2)</sup>
四逆汤组	10.80	10	1.24 ± 0.23

## 4 讨论

增液汤临床多用于冠心病(心阴不足)、风湿性心脏病(心阴亏损)等多种疾病<sup>[2]</sup>。四逆汤因具有抗休克、强心、增加冠脉流量等作用,常通过加减或剂型改革而用于心血管等疾病的治疗<sup>[3]</sup>。

心室重构是血流动力学异常和神经内分泌紊乱相互作用的结果。本实验采用了异丙肾上腺素皮下注射法制备小鼠心室重构模型,腹主动脉不完全结扎法制备大鼠心室重构模型。这两种模型在国内外学术界已有广泛应用,方法可靠<sup>[4]</sup>。本实验结果显示,模型组心脏指数均高于正常组或假手术组,同时呈现 Ang II、ALD、ET 等神经内分泌因子升高,说明动物模型复制成功。

心脏压力负荷的增加被认为是刺激心肌肥厚发生的重要因素。本实验结果显示,压力超负荷模型组 SBP、DBP、MAP 较假手术组均显著性升高;增液汤能有效降低血压;而四逆汤不仅无降血压的作用,相反使之呈上升趋势。

在心室重构的发病机制中神经内分泌因素较血流动力学因素可能更为重要<sup>[5]</sup>。现已发现参与心室重构的神经内分泌因子主要有:Ang II、ALD、ET 等。肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)参与 CHF 的启动和发展,RAAS 的活化可刺激抗利尿激素和醛固酮释放,导致水钠潴留,血容量增加,加重心脏负荷,使心肌肥大,心室重构。RAAS 中主要的活性物质 Ang II 可通过血管紧张素 II-1 型受体(AT<sub>1</sub>R)发挥促心脏肥大的作用<sup>[6]</sup>;而 ALD 具有独立于 Ang II 和相加于 Ang II 的对心脏的不良作用,不仅具有钠水潴留、排钾作用,还可引起交感神经激活、胶原合成增多和间质的异常重塑而促进心肌纤维化、损伤内皮功能,使心室重构进行性恶化<sup>[7]</sup>。ET 是目前已知最强的缩血管和加压物质,其分泌异常和升高与 CHF 呈正相关<sup>[8]</sup>,一方面收缩血管、刺激肾素和醛固酮的分泌,另一方面促细胞生长和有丝分裂,使细胞生长肥大,参与心室重构<sup>[9]</sup>。同时有研究发现,无论是在分子水平还是在整体激素或血流动力学调节等方面,均存在 ET 和 RAAS 的交互作用。现有研究表明,抑制 Ang II、ALD 和 ET 能有效改善 CHF 患者的血流动力学异常并缓解症状。本实验研究表明,腹主动脉不完全结扎大鼠,其 Ang II 和 ALD 水平升高,心肌 ET 含量增加。增液汤能有效抑制 Ang II、ALD 和 ET,对于防治心室重构具有重要意义。四逆汤具

有一定降低 ET 的作用,与文献报导一致<sup>[10]</sup>,但对 Ang II 及 ALD 并无明显抑制作用。

心室重构的形态学改变主要涉及心肌细胞和细胞外基质的变化。心肌间质中基质胶原的增加,以及胶原类型、组分、相互连接的改变是“心室重构”的重要组成部分。Hyp 是机体胶原蛋白的主要成分之一,在正常胶原蛋白中含量约 13.4%,在弹性蛋白中含量极少,而在其他蛋白则不存在。因此,组织中 Hyp 含量可作为衡量胶原组织代谢和判断纤维化程度的重要指标。本实验结果显示,不完全结扎腹主动脉可使左心室组织羟脯氨酸含量明显升高,表明压力超负荷可促进心肌胶原蛋白合成、心肌间质增殖和纤维化。增液汤可明显降低羟脯氨酸含量,表明其可通过抑制心肌间质纤维化而改善心肌肥厚与重构过程,四逆汤无此作用。

综上所述,本次实验结果表明寒性方增液汤抗心室重构作用显著,表现在其明显地降低心脏指数、降低血压、抑制神经内分泌因子以及心肌间质纤维化。以往的文献说明四逆汤有较好改善心衰后期血流动力学作用,但本实验显示对心衰早期心室重构的防治作用并无明显作用。本次实验提示寒凉药性的增液汤抗实验性心室重构作用明显优于温热药性的四逆汤,但寒凉药比温热药更具抗心室重构的作用是否具有普遍性尚需大量的实验进一步证明。

## [参考文献]

- [ 1 ] Cohn JN. Structural changes in cardiovascular disease[ J]. Am J Cardiol, 1995, 76( 15) : 34E-37E.
- [ 2 ] 陈国源. 增液汤临床应用[ J]. 江西中医药, 1995, (s1) : 141-142.
- [ 3 ] 张玉萍, 李 锦, 时一兵. 四逆汤的抗氧化作用研究[ J]. 中草药, 2001, 32( 10) : 922-923.
- [ 4 ] 陈长勋, 方文贤. 心室肥厚动物模型及中药抗心室肥厚研究进展[ J]. 中国中药杂志, 2003, 28( 4) : 299-302.
- [ 5 ] Packer M. The neurohormonal hypothesis: a theory to explain the mechanism of disease progression in heart failure[ J]. J Am Coll Cardiol, 1992, 20( 1) : 248-254.
- [ 6 ] Matsubara H. Pathophysiological role of angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular and renal diseases[ J]. Circ Res, 1998, 83( 12) : 1182-1191.
- [ 7 ] 郭 娟, 陈长勋, 杜 军. 醛固酮对心室重构的影响及中药干预[ J]. 中草药, 2007, 38( 1) : 143-147.
- [ 8 ] 王保和, 孙兰军, 赵英强, 等. 强心剂对慢性心衰大鼠内皮素的影响[ J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 10( 11) : 29-30.
- [ 9 ] 张天泰. 内皮素系统在慢性心力衰竭中作用的研究进展[ J]. 国外医学药学分册, 2002, 29( 4) : 213-217.
- [ 10 ] 黄 亮, 张雅丽, 张晓芬, 等. 四逆汤对慢性充血性心力衰竭大鼠模型血清内皮素、降钙素基因相关肽水平的影响[ J]. 河北中医, 2006, 28( 1) : 65-67.