

芪参益气滴丸改善心梗模型大鼠心室重构的相关机制

谢东霞*, 黄显章, 毛秉豫
(南阳理工学院张仲景国医学院, 河南 南阳 473004)

[摘要] **目的:**探讨芪参益气滴丸改善心梗模型大鼠心室重构的相关机制。**方法:**结扎 SD 大鼠冠状动脉前降支建立心肌梗死模型后随机分为芪参益气滴丸药物组、卡托普利药物组、心梗对照组各 16 只,另设假手术组 16 只。芪参益气滴丸组给与 38 mg·kg⁻¹·d⁻¹芪参益气滴丸混悬液 ig 给药、卡托普利组给与 10.125 mg·kg⁻¹·d⁻¹卡托普利混悬液 ig 给药;心梗对照组给与假手术组给等量生理盐水 ig。8 周后观察左室舒张终末压(LVEDP)、左室收缩内压峰值(LVSP)、左室内压上升、下降最大速率(±dp/dt_{max});左室质量(LVM)和左心质量指数(LVMI);血清脑钠肽(BNP)、血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、内皮素 1(ET-1)等指标的变化。**结果:**8 周后药物组、对照组血清 AngⅡ,TNF-α,ET-1,BNP 等均大于假手术组($P < 0.05$);但使用药物干预后的药物组血清 AngⅡ,TNF-α,ET-1,BNP 等低于心梗对照组($P < 0.05$);药物组、对照组 LVEDP 大于假手术组($P < 0.05$);LVSP, ±dp/dt_{max} 小于假手术组($P < 0.05$);LVM 及 LVMI 大于假手术组($P < 0.05$);使用药物干预后的药物组 LVM 及 LVMI,LVEDP 等小于心梗对照组($P < 0.05$),LVSP, ±dp/dt_{max} 大于心梗对照组($P < 0.05$)。药物组中芪参益气滴丸药物组优于卡托普利药物组,但两组比较无统计学意义。**结论:**芪参益气滴丸能改善心梗模型大鼠心室重构,其相关机制与拮抗神经内分泌因子的过度激活有关。

[关键词] 芪参益气滴丸;心肌梗死;心室重构;心功能;机制
[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)06-0180-04

Mechanisms of Qishen Yiqi Dropping Pills on Ventricular Remodeling after Myocardial Infarction of Rat Model

XIE Dong-xia*, HUANG Xian-zhang, MAO Bing-yu
(ZHANG Zhong-jing Traditional Chinese Medicine College, Nanyang University of Technology,
Nanyang 473004, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Qishen Yiqi Dropping Pills on ventricular remodeling and function after myocardial infarction model in rats. **Method:** The myocardial infarction model of SD rat was established by logating the anterior descending coronary artery and then the rats were divided into myocardial infarction control group and medicine group ($n = 16$ in each froup). Meanwhile, a sham-operation group was build including 16 rats. The rats in medicine group were intragastrically given Qishen Yiqi Dropping Pill at the dose of 38 mg·kg⁻¹·d⁻¹. The rats in the control group and the sham-operation group were intragastrically given at the same dosage of normal saline. Eight weeks later, left ventricular end-diastolic pressure, left ventricular peak pressure, the maximum change rate of left ventricular pressure rise and fall, left ventricular mass and left ventricular mass index, serum and plasma angiotensinⅡ, tumor necrosis factor α, endothelin-1, brain natriuretic peptide, etc. were tested. **Result:** Eight weeks later, left ventricular end-diastolic pressure of the control group was higher than that of sham-operation group ($P < 0.05$); left intraventricular systolic pressure, the maximum change rate of left ventricular

[收稿日期] 20101001(001)
[基金项目] 河南省重点科技攻关项目(082102330018)
[通讯作者] * 谢东霞,副教授,硕士研究生,主要从事中医内科临床、科研及教学工作,Tel:13513776369,E-mail:XDX6369@163.com

pressure rise and fall were lower than those of the sham-operation group ($P < 0.05$); serum ICAM-1 and plasma Angiotensin II, tumor necrosis factor α , endothelin-1 and brain natriuretic peptide etc were higher than those of sham-operation group ($P < 0.05$). After drugs intervention, left ventricular mass and left ventricular mass index, left ventricular end-diastolic pressure, serum angiotensin II, tumor necrosis factor α , endothelin-1 and brain natriuretic peptide of the rats in the medicine group were lower than those of the control group; left intraventricular systolic pressure, the maximum change rate of left ventricular pressure rise and fall were higher than those of the control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Qishen Yiqi Dropping Pills can improve the ventricular remodeling and function for the myocardial infarction model in rats.

[**Key words**] Qishen Yiqi Dropping Pills; myocardial infarction; ventricular remodeling; heart function; mechanism

芪参益气滴丸是提取黄芪、丹参、三七、降香等药材中有效成分而制成的现代中药制剂,具有益气通脉、活血止痛的功效,临床上广泛用于治疗心血管疾病,能显著改善心肌梗死患者的预后。近来一些临床和实验研究也证实该药具有一定的防治心室重构的作用。本研究通过建立大鼠急性心肌梗死(AMI)模型,观察芪参益气滴丸对心梗模型大鼠神经内分泌因子的影响,并与反映心梗模型大鼠的心肌肥厚、心室腔大小程度的左心室质量(LVM),左心质量指数(LVMI)及左室舒张终末压(LVEDP),血清脑钠肽(BNP)水平及反映心梗模型大鼠心脏功能的左室收缩内压峰值(LVSP),左室内压上升、下降最大速率($\pm dp/dt_{\max}$)对照,探讨芪参益气滴丸改善心梗模型大鼠心室重构的相关机制。

1 材料

1.1 药物 芪参益气滴丸,天士力制药股份有限公司生产,批号 Z20070139;卡托普利,施贵宝药品公司生产,批号 H31022986。实验时取内容物用 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)配成所需浓度的混悬液。

1.2 动物 SD 大鼠,体重(250 ± 50)g,SPF 级,合格证号为 00003604,由湖北省实验动物中心提供,许可证号为 SCXK(鄂)2008-0005。

1.3 试药 戊巴比妥钠(中国医药集团上海化学试剂公司,批号 F20090418);血管紧张素 II(Ang II)放免试剂盒,批号 20080530;肿瘤坏死因子 α (TNF- α)放免试剂盒,批号 20080525;BNP 放免试剂盒,批号 GS-E50094,均购自北京北方生物技术研究所以,内皮素 1(ET-1)放免试剂盒,解放军总医院东亚免疫技术研究所,批号 20080603。

1.4 仪器 BS110S 分析天平(德国 Sartorius 公司);TICR-200A 型小动物呼吸机(江西特力公司);

多导生理信号采集分析系统(美国 BIOPAC 公司);AXSYM 型全自动免疫分析仪(美国雅培公司)。

2 方法

2.1 造模 按文献[1]方法建立心梗模型,SD 大鼠乙醚麻醉,切开颈部皮肤,分离肌层暴露气管,气管插管行呼吸机辅助通气(通气频率为 60 次/分、潮气量为 0.6 ~ 0.8 mL),然后经左侧第 4 肋间剪开皮肤,钝性分离肌肉组织,打开胸腔,剪开心包膜,挤压出心脏,在左心耳与肺动脉圆锥之间接近主动脉根部 2 mm 处用 7 号丝线结扎左冠状动脉前降支,结扎后心室前壁变苍白,心电图 II 导联 ST 段明显弓背抬高(纸速 50 mm·s⁻¹),表明结扎成功,然后迅速将心脏放回胸腔,随即缝合关闭胸腔,缝合胸部及颈部肌肉和皮肤,待大鼠有自主呼吸后拔除气管插管。假手术组除不结扎冠状动脉外,其余操作与模型组动物相同。术后给予青霉素 400 U 皮下注射,1 次/d,连续 3 d。

2.2 给药 芪参益气滴丸药物组依据芪参益气滴丸的成人用量计算大鼠的 1 日用量,实验前称取一定量的浸膏,用 0.5% 羧甲基纤维素钠配成 3.8 mg·mL⁻¹浓度的芪参益气滴丸混悬液,按 38 mg·kg⁻¹·d⁻¹给药;卡托普利药物组用 0.5% 羧甲基纤维素钠配成 1.012 5 g·L⁻¹浓度的卡托普利混悬液,按 10.125 mg·kg⁻¹·d⁻¹给药;心梗对照组及假手术组均给予等量生理盐水 ig;均为每天上午 1 次。4 组大鼠的进食、进水情况一致。

2.3 指标检测

2.3.1 心脏功能检测 所有大鼠给药 8 周后称体重(BM),然后用 3% 戊巴比妥钠(30 mg·kg⁻¹)ip 麻醉,分离左颈总动脉,将内充肝素-生理盐水的导管逆行插入左心室,稳定 10 min 后,用多导生理记录

仪测定 LVSP, LVEDP, $\pm dp/dt_{\max}$, 观察心脏功能改变。

2.3.2 左心室质量指数测定 生理记录仪描记各项参数完毕, 颈动脉抽血处死大鼠, 立即开胸取出心脏, 剪去大血管、心外膜脂肪组织, 用生理盐水清洗, 剪除心房、右心室, 滤纸吸干后用电子天平称左心室质量(LVM), 计算左心质量指数(LVMI)。左心室质量指数计算公式为:

$$\text{LVMI} = \text{LVM} / \text{B M}$$

(左心质量指数 = 左心室质量 / 体重)

2.3.3 血浆中 BNP 水平测定 大鼠心肌梗死 1 d 后颈动脉取血 4 mL, 沿管壁缓慢推入含 EDTA 的抗凝管中, 迅速放入离心机中 $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min 后分离血清, 采用微粒子捕捉法测定血清中 BNP 水平。

2.3.4 血清中 Ang II, TNF- α , ET-1 含量测定 称取左室非梗死区心肌 100 mg 剪碎, 加入试剂盒中缓冲液 0.6 mL, 在冰浴中进行超声匀浆, 匀浆液在 4℃下以 $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min, 取上清液原液及稀释 10 倍后液体, 按试剂盒说明书操作方法测定 Ang II, TNF- α 和 ET-1 含量。

表 1 用药 8 周后各组大鼠血液动力学与心功能情况($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	例数	LVSP /mmHg	LVEDP /mmHg	+ dp/dt _{max} /mmHg·s ⁻¹	- dp/dt _{max} /- mmHg·s ⁻¹
假手术对照	-	16	133.2 ± 3.6	4.7 ± 1.1	1 126.8 ± 177.6	593.5 ± 40.4
心梗模型对照	-	14	126.3 ± 4.3 ³⁾	24.9 ± 7.6 ⁴⁾	582.15 ± 89.53 ⁴⁾	326.4 ± 38.7 ⁴⁾
芪参益气滴丸	38	15	131.1 ± 4.5 ^{1,3)}	14.1 ± 2.3 ^{2,4)}	906.97 ± 134.59 ^{1,3)}	418.6 ± 34.6 ^{1,3)}
卡托普利	10.125	15	129.8 ± 4.1 ^{1,3)}	13.8 ± 1.9 ^{2,4)}	876.32 ± 128.62 ^{1,3)}	398.2 ± 28.4 ^{1,3)}

注:与心梗对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与假手术组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

3.3 对 LVM 及 LVMI 的影响 LVM 及 LVMI 情况见表 2。手术前及手术后 8 周各组大鼠体重均无明显差别, 虽然梗死模型组大鼠 LVM 及 LVMI 明显高于假手术组($P < 0.05$);但干预后, 药物组 LVM 和

2.4 统计学方法 实验数据用 SPSS11.0 软件包进行统计学处理。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用方差分析检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠生存状态的影响 心梗组有 2 只大鼠死亡、药物组各有 1 只大鼠死亡。假手术组大鼠活动、进食基本正常。心梗对照组、药物组大鼠术后食欲下降, 神态疲倦, 活动明显减少。药物组大鼠用药后一般情况有好转, 较前活泼。

3.2 对大鼠血液动力学和心功能的影响 8 周后各组大鼠血液动力学与心功能情况如表 1 所示。心梗对照组 LVSP、 $\pm dp/dt_{\max}$ 均低于假手术组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), LVEDP 高于假手术组($P < 0.01$), 芪参益气滴丸药物组、卡托普利药物组 LVSP、 $\pm dp/dt_{\max}$ 虽低于假手术组, 但高于心梗对照组($P < 0.05$), 药物组 LVEDP 高于假手术组($P < 0.01$), 低于心梗对照组($P < 0.01$)。说明药物组 8 周后与假手术组相比, 也存在收缩、舒张功能异常, 但与心梗对照组相比, 收缩、舒张功能异常明显轻于心梗对照组。说明药物干预可减轻收缩、舒张功能异常。

LVMI 明显低于心梗对照组($P < 0.05$)。芪参益气滴丸药物组与卡托普利药物组比较, 芪参益气滴丸药物组虽稍优于卡托普利药物组, 但差异无统计学意义。

表 2 用药 8 周后各组大鼠左室 LVM 及 LVMI 比较($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	例数	BM/g	LVM /mg	LVMI/mg·g ⁻¹
假手术对照	-	15	287.2 ± 23.5	438.1 ± 37.2	1.65 ± 0.2
心梗模型对照	-	14	273.4 ± 21.9	689.7 ± 57.9 ²⁾	2.96 ± 0.2 ²⁾
芪参益气滴丸	38	15	284.3 ± 23.8	502.3 ± 52.6 ^{1,2)}	1.95 ± 0.3 ^{1,2)}
卡托普利	10.125	15	283.8 ± 22.7	555.7 ± 0.13 ^{1,2)}	2.25 ± 0.3 ^{1,2)}

3.4 对大鼠血清 BNP, Ang II, TNF- α , ET-1 水平的影响 8 周后各组大鼠血清 BNP, Ang II, TNF- α , ET-1 水平情况见表 3。和假手术组相比, 心梗模型组大鼠血清 BNP, Ang II, TNF- α , ET-1 明显升高($P < 0.01$)。干预后, 药物组大鼠血清 BNP, Ang II,

TNF- α , ET-1 水平明显低于心梗对照组($P < 0.05$)。芪参益气滴丸药物组与卡托普利药物组比较, 芪参益气滴丸药物组虽稍优于卡托普利药物组, 但差异无统计学意义。

表3 用药8周后各组血清BNP,AngⅡ,TNF-α,ET-1($\bar{x} \pm s$) ng·L⁻¹

组别	剂量 / mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	n	BNP	AngⅡ	TNF-a	ET-1
假手术对照	—	15	119.56 ± 17.82	209.6 ± 16.58	69.05 ± 7.18	58.19 ± 5.37
心梗模型对照	—	14	341.67 ± 44.69 ³⁾	419.7 ± 44.48 ³⁾	124.63 ± 12.67 ³⁾	118.35 ± 11.06 ³⁾
芪参益气滴丸	38	15	186.25 ± 27.57 ^{1,3)}	315.6 ± 28.85 ¹⁾	85.78 ± 9.43 ¹⁾	77.65 ± 6.13 ^{1,3)}
卡托普利	10.125	15	206.25 ± 18.57 ^{1,3)}	327.6 ± 24.74 ¹⁾	96.35 ± 8.98 ¹⁾	81.73 ± 7.56 ^{1,3)}

4 讨论

心室重构是指心室由于心肌损伤或负荷增加所产生的大小、形状、组织结构和功能的变化过程。BNP,AngⅡ,ET-1,TNF-α等对心室重构的形成具有重要影响。BNP可通过直接抑制近曲小管和髓内集合管的钠运输及抑制肾上腺素的产生而降低心脏前后负荷,改善心肌的能量消耗,减慢心肌肥厚、心脏扩大的进程。心肌缺血、坏死、损伤、心室壁张力及压力负荷过重时刺激心室肌细胞合成、分泌、释放BNP。心肌肥厚、心功能改善时BNP下降。此种机制是BNP成为反映心肌肥厚、心功能变化的敏感指标^[2]。AngⅡ可以与其受体结合激活原癌基因表达,引起细胞异常增殖,体积增大导致心肌肥厚,增加心脏僵硬度,降低顺应性,形成心室重构^[3];TNF-α可引起心肌细胞数目减少,同时使胶原含量改变,从而促进心室重构^[4-5];ET可以直接引起分子和细胞变化而导致心肌肥厚^[6],又能刺激AngⅠ转变为AngⅡ和增强AngⅡ引起醛固酮分泌而影响心室重构^[7]。

芪参益气滴丸是提取黄芪、丹参、三七、降香等药材中有效成分而制成的现代中药制剂,具有益气通脉、活血止痛的功效。现代药理研究表明其中所含黄芪可减轻或逆转急性心肌梗死后左室构型的重塑,对心肌梗死后的胶原损伤有一定的保护作用^[8];丹参可抑制心肌成纤维细胞的增殖和胶原的合成,预防心室肥厚^[9];芪参益气滴丸能减轻心肌损伤程度,增加冠脉血流量、降低心肌耗氧量,在不增加左室做功的情况下,增加心脏每搏出量和心输出量,对心肌纤维化的形成有明显的干预、治疗作用^[10]。

在本研究中,芪参益气滴丸组中代表心肌肥厚程度的LVM,LVMI及LVEDP,BNP,明显低于心梗对照组;LVSP及+dp/dt_{max}明显高于心梗对照组,提示该药改善了心室重构和心脏收缩舒张功能。心室重构和心脏收缩舒张功能的改善与血浆AngⅡ,TNF-α,ET-1水平下降一致,提示芪参益气滴丸改善心梗所致的心室重构和心脏收缩舒张功能的机制可

能与拮抗神经内分泌因子的过度激活有关。

[参考文献]

[1] Olivetti G,Capasso J M,Meggs L G,et al. Cellular basis of chronic ventricular remodeling after myocardial infarction in rat[J]. Circ Res,1991,68:856.

[2] 卜法芹. AMI患者血浆脑钠肽水平测定及其与左室重构的关系[J]. 山东医药,2007,47(2):45.

[3] Yee D K, Suzuki A, Luo L, et al. Identification of structural determinants for G protein-independent activation of mitogen-activated protein kinases in the seventh trans-membrane domain of the angiotensin II type 1 receptor [J]. Mol Endocrinol, 2006, 20(8):1924.

[4] Berry M F, Woo Y J, Pirolli T J, et al. Administration of a tumor necrosis factor inhibitor at the time of myocardial infarction attenuates subsequent ventricular remodeling [J]. Heart Lung Transplant, 2004, 23(9):1061.

[5] Sihvola R K, Koskinen P K, Pulkkinen V P, et al. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha attenuates myocardial remodeling in rat cardiac allografts[J]. Heart Lung Transplant, 2006,25(5):569.

[6] Stessel H,Brunner F. Effect of endothelin antagonism on contractility, intracellular calcium regulation and calcium regulatory protein expression in right ventricular hypertrophy of the rat [J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2004,94(1):37.

[7] Jolda M B, Salomon P. Cytokines and remodeling of the heart in patients with congestive heart failure[J]. Pol Arch Med Wewn, 2003,109(1):23.

[8] 侯云生,何振山,齐书英,等. 黄芪对急性心肌梗死后左室重构的实验研究[J]. 中国急救医学,2000,(7):383.

[9] 宋德明,苏海,吴美华,等. 川芎嗪、丹参对心肌成纤维细胞胶原合成和细胞增殖的影响[J]. 中国中西医结合杂志,1998,18(7):423.

[10] 燕芳芳,刘艳,刘运芳,等. 芪参益气滴丸对实验性动脉粥样硬化斑块组织学的影响[J]. 南京中医药大学学报,2007,23(5):295.

[责任编辑 聂淑琴]