

黄芪保心汤对阿霉素诱导扩张型心肌病大鼠心室重构的影响

卢磊^{1,2}, 张培影^{3*}, 陈永刚³, 刘晓丹^{1,2}

(1.南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210023; 2.南京中医药大学附属徐州市中医院, 江苏 徐州 221009; 3.徐州市中心医院, 江苏 徐州 221009)

摘要:目的 初步探讨黄芪保心汤对阿霉素诱导扩张型心肌病大鼠心室重构的影响及机制。方法 90 只 SD 大鼠腹腔注射阿霉素建立 DCM 模型, 成模 55 只, 随机分组给药如下: 模型组(等体积生理盐水)、黄芪保心汤低、中、高剂量组(分别予合生药量 5.67、11.34、22.68 g/kg), 卡托普利组(6.75 mg/kg), 每组 11 只, 每日喂药 1 次。另设正常对照组大鼠 10 只(等体积生理盐水)。4 周后, 超声心动图检测左室结构及功能变化; 颈动脉插管检测血流动力学指标; 观察心肌组织形态学改变; ELISA 法检测血清 N 末端脑钠肽前体(NT-proBNP)、基质裂解素 2(ST2)、血管紧张素 II(Ang II)、醛固酮(ALD)、肾素活性(Renin); 比色法测定心肌细胞超氧化物歧化酶(SOD)活性, 脂质过氧化物丙二醛(MDA)和乳酸脱氢酶(LDH)含量。结果 与正常组比较, 模型组大鼠 LVEDD、LVESD 增高, EF、FS 降低($P < 0.01$); LVDP、 $\pm dp/dt_{max}$ 减低, LVEDP 升高($P < 0.01$); 心脏质量指数增大($P < 0.01$); 心肌细胞排列紊乱, 大量纤维组织增生; 血 NT-proBNP、ST2、Renin、Ang II、ALD 水平均升高($P < 0.01$); SOD 水平降低, MDA、LDH 升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 黄芪保心汤低、中、高剂量组可不同程度地降低大鼠 LVEDD、LVESD, 升高 EF、FS 值($P < 0.05 \sim 0.01$); 升高 LVDP、 $\pm dp/dt_{max}$, 降低 LVEDP($P < 0.05 \sim 0.01$); 降低 HWI 和 LVMI($P < 0.05 \sim 0.01$); 心肌细胞排列整齐, 纤维组织增生减轻; 血 NT-proBNP、ST2、Renin、Ang II、ALD 水平不同程度下降($P < 0.05 \sim 0.01$); 降低 MDA 和 LDH, 并升高 SOD 水平($P < 0.05 \sim 0.01$)。各剂量组对上述指标的改善程度呈一定的剂量-效应关系。结论 黄芪保心汤可改善扩张型心肌病大鼠心脏肥大、纤维化增生, 通过调控氧化因子、抑制 RAAS 神经内分泌因子激活, 改善心功能, 抑制心室重构。

关键词: 黄芪保心汤; 扩张型心肌病; 阿霉素; 心功能

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-0482(2017)02-0160-07

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2017.0160

Effect of Huangqi Baoxin Decoction on Ventricular Remodeling in Rats with Dilated Cardiomyopathy Induced by Adriamycin

LU Lei^{1,2}, ZHANG Pei-ying^{3*}, CHEN Yong-gang³, LIU Xiao-dan^{1,2}

(1. The First Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China; 2. Xuzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Xuzhou, 221009, China; 3. Xuzhou Center Hospital, Xuzhou, 221009, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To preliminary discuss the influence and mechanism of Huangqi Baoxin Decoction on ventricular remodeling in rats with dilated cardiomyopathy (DCM) induced by adriamycin. **METHODS** 90 SD rats were given intraperitoneal injection of adriamycin to establish the DCM model, with 55 rats model being succeed. Then they were randomly divided into model group (the same volume of physiological saline solution), low-dose group with Huangqibaoxin Decoction (5.67 g/kg), middle-dose group with Huangqibaoxin Decoction (11.34 g/kg), high-dose group with Huangqibaoxin Decoction (22.68 g/kg), and captopril group (6.75 mg/kg of captopril), with 11 rats in each group. The rats were given orally administrated drugs once a day, with 10 rats in the normal control group being treated with the same volume of physiological saline solution. 4 weeks later, rats in each group went through the echocardiography to access the construction and function of their left ventricular. Crotid artery intubation was applied to monitor their hemodynamic indexes, with changes of myocardial tissue morphology being observed. Besides, NT-proBNP, ST2, Ang II, ALD and Renin were tested through ELISA, together with the activity of SOD, MDA, and LDH being tested via colorimetric method. **RESULTS** Compared with the normal group, the

收稿日期: 2016-10-13; 修稿日期: 2017-01-10

基金项目: 江苏省科技支撑计划社会发展项目(BE2015624)

作者简介: 卢磊(1982-), 男, 江苏徐州人, 南京中医药大学 2014 级博士研究生。* 通信作者: zhang_peiy@163.com

LVEDD and LVESD in rats of the model group were increased, with EF and FS being decreased ($P<0.01$). The LVDP, $\pm dp/dt_{max}$ went down, while the LVEDP went up ($P<0.01$). The heart weight index increased ($P<0.01$), with the myocardial cells being arranged in disorder and massive hyperplasia of fibrous tissue. The NT-proBNP, ST2, Renin, Ang II and ALD level increased ($P<0.01$). The level of SOD decreased, while the content of LDH and MDA increased ($P<0.01$). Compared to the model group, LVEDD and LVESD levels in the low, middle and high dose group of Huangqi Baoxin Decoction were reduced to varying degrees, with increased EF and FS ($P<0.05\sim 0.01$). They experienced an increased LVDP, $\pm dp/dt_{max}$ and decreased LVEDP ($P<0.05\sim 0.01$), decreased HWI and LVMI ($P<0.05\sim 0.01$). And the myocardial cells were neatly arranged, the hyperplasia of fibrous tissue were relived. Besides, the levels of NT-proBNP, ST2, Renin, Ang II and ALD went down on diverse degree ($P<0.05\sim 0.01$), with decreased LDH and MDA and increased SOD ($P<0.05\sim 0.01$). There was a dose-effect relationship among the groups of different doses towards the improvement on the above indexes. **CONCLUSION** Huangqi Baoxin Decoction can improve the cardiac hypertrophy and fibrosis in rats with dilated cardiomyopathy. It also improves the cardiac function and inhibits ventricular remodeling by regulating the oxidation factors and inhibiting the activation of RAAS neuroendocrine factors.

KEY WORDS: Huangqi Baoxin Decoction; dilated cardiomyopathy; adriamycin; heart function

扩张型心肌病(Dilated cardiomyopathy, DCM)是一种非缺血,以左心室或双心室球形扩大并伴有收缩功能进行性减退为特征性疾病,是原发性心脏病中最为常见的类型^[1]。它是充血性心力衰竭的第三位病因,心脏移植的第一位病因,目前缺乏有效而特异的治疗手段。心室重构是心肌通过病理的结构反应,导致心脏形态和功能的改变,是导致 DCM 进展的病理生理基础,在组织学水平表现为心肌实质和间质的重塑。神经内分泌激活在 DCM 的进展中起核心作用,RAAS 系统的过度激活,导致心肌细胞肥大、细胞凋亡,出现心室重构。

黄芪保心汤为我院张培影教授治疗心力衰竭的经验方,多年来应用于临床,取得了较好的疗效,并通过临床及动物实验验证了其抗心肌纤维化的作用^[2-4]。但其对 DCM 心室重构和具体机制尚不明确。本研究通过观察 DCM 大鼠心功能、神经内分泌因子等指标,探讨了黄芪保心汤对阿霉素诱导 DCM 大鼠心室重构的干预作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雄性 SD 大鼠 100 只,SPF 级,体质量(200 ± 20)g,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司,合格证号:SCXK(沪)2013-0016。

1.2 药物与试剂

黄芪保心汤由江苏颐海药业股份有限公司制备(批号:160601,浓度:1.89 g/mL,规格:200 mL/瓶);注射用盐酸多柔比星(阿霉素)购自浙江海正药业股份有限公司(批号:15006911);卡托普利片购自江苏黄河药业股份有限公司(批号:1508010);大鼠

血清 N 端前脑钠素(NT-proBNP)ELISA 试剂盒购自 LSBio 公司(批号:3926);大鼠血清基质裂解素 2 (ST2)ELISA 试剂盒购自 NeoBiolab 公司(批号:SW60617-NS);大鼠血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)ELISA 试剂盒购自 R&D 公司(批号:340785);大鼠血清醛固酮(ALD)ELISA 试剂盒(批号:201607)、大鼠血清血管紧张素 II (Ang II)ELISA 试剂盒(批号:201607)、大鼠血清内皮素(ET)ELISA 试剂盒(批号:201607)、大鼠血清肾素(Renin)ELISA 试剂盒(批号:201607),均购自北京诚林生物科技有限公司;考马斯亮兰试剂盒(批号:20160802)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号:20160804)、丙二醛(MDA)测试盒(批号:20160810)、乳酸脱氢酶(LDH)测试盒(批号:20160806),均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 主要仪器

VM7 型便携式彩色多普勒超声诊断仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);生物信号采集系统(AD 公司);FlexStation 3 钙流工作站(美国 Molecular Devices 公司)。

1.4 方法

1.4.1 实验动物分组及给药方法 随机将 100 只 SD 大鼠中 10 只作为正常对照组,90 只用作造模。根据文献报道的方法^[3,5-6],造模大鼠腹腔注射阿霉素 2.5 mg/kg(阿霉素粉针临用前用生理盐水配制成 1 mg/mL 溶液,避光保存),每周注射 1 次,共 8 次(阿霉素的累积剂量达到 20 mg/kg);正常组大鼠腹腔注射等体积的生理盐水。所有大鼠自末次注射后观察 1 周,然后行超声心动图检查检测左室功能,

左室射血分数(EF)≤65%为成模标准。将成模后的 55 只大鼠随机分为 5 组:模型组、黄芪保心汤高剂量组、黄芪保心汤中剂量组、黄芪保心汤低剂量组和卡托普利组。药物剂量按人和大鼠体表面积换算法,黄芪保心汤高剂量组给予黄芪保心汤 22.68 g/kg 灌胃,黄芪保心汤中剂量组给予黄芪保心汤 11.34 g/kg 灌胃,黄芪保心汤低剂量组给予黄芪保心汤 5.67 g/kg 灌胃,卡托普利组给予卡托普利 6.75 mg/kg 灌胃,以上各组药液按 12 mL/kg 等体积灌胃;正常组和模型组大鼠每日给予等体积蒸馏水,连续给予 4 周。

1.4.2 心脏超声心动图检测 各组大鼠称取体质量(BW),末次给药 1 h 后,10%水合氯醛麻醉,左胸部备皮,仰卧位,采用多功能超声诊断仪,用 12 M 探头(探头频率 8~12 MHz)检测。取胸骨旁左室长轴切面,获得清晰的左心室标准区二维图像,分别测量左室舒张末期内径(LVEDD)、左室收缩末期内径(LVESD)、左心室射血分数(EF)、左心室短轴缩短率(FS),结果取 3 个心动周期求平均值。

1.4.3 血流动力学检测 麻醉的大鼠固定后分离右颈总动脉和左股动脉,丝线结扎远端,动脉夹夹住近心端,经右颈总动脉插入充满 250 U/mL 肝素生理盐水的聚苯乙烯/PE-20 导管至左心室,连接生物信号采集系统,稳定 5 min 后记录左室发展压(LVDP)、左室舒张压(LVEDP)、左心室内压最大上升速率($+dp/dt_{max}$)、左心室内压最大下降速率($-dp/dt_{max}$)等指标。

1.4.4 血清神经内分泌指标检测 剖开大鼠腹腔,分离出腹主动脉,促凝管采血约 5 mL,静置 30 min 后以 4℃、3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,按照试剂盒说明采用 ELISA 法分别测定 NT-proBNP、ST2、ALD、Ang II 及 Renin 的含量。

1.4.5 心脏质量指数(HWI)、左室质量指数(LVMI)的测定 大鼠取血后用眼科弯镊夹住两心耳下方血管蒂,剪下心脏置于 4℃冷生理盐水中冲洗心腔内的残余血液,去除结缔组织,滤纸吸干后放于电子分析天平上,称出全心脏质量(HW)并记录;用眼科剪沿肺动脉圆锥修剪心脏,将血管、心房、心耳、右心室去除,称出左心室质量(LVW),通过计算出心脏质量指数(HW/BW, HWI)和左室质量指数(LVW/BW, LVMI)来评价各组间心脏肥厚程度的差异^[7]。

1.4.6 组织病理学检查 用锋利手术刀片沿左心

室横轴将左心室分成 3 份,中间部分放置于包埋盒中,然后浸入 10%多聚甲醛溶液固定 24 h 后脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋,连续切片 3 μm 厚,经苏木精-伊红(HE)染色及马松(Masson)染色后封片镜检^[8-9]。

1.4.7 心肌组织生化指标的检测 取左心室米粒大小组织,称质量,加 9 倍于所取组织质量的 0.9%氯化钠注射液,用眼科小剪剪碎组织,冰水浴条件机械匀浆,200 目筛网冲洗过滤后,制成 10%心肌组织匀浆;然后以 2 500 r/min 低温离心 10 min,取得的上清液便是心肌细胞悬液。采用考马斯亮兰法测定心肌组织总蛋白含量,按照试剂盒说明检测心肌细胞超氧化物歧化酶(SOD)活性,丙二醛(MDA)和乳酸脱氢酶(LDH)含量。

1.5 统计学处理

采用 SPSS13.0 软件进行统计分析,计量资料的统计叙述用 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计推断采用单因素方差分析(One-way ANOVA),方差齐性时组间多重比较采用 LSD 法,方差不齐时组间多重比较采用 Dunnet's T3 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般指标

实验过程中正常组大鼠毛色有光泽,行动灵活,反应敏捷,摄食饮水正常;余各组大鼠表现精神萎靡,毛色枯稿,脱毛,懒动,少食,腹泻,体质量逐渐下降,部分大鼠出现腹水和死亡。用药 4 周后,正常对照组大鼠无死亡(10/10),模型组死亡 4 只(7/11),黄芪保心汤低剂量组死亡 3 只(8/11),黄芪保心汤高、中剂量组及卡托普利组大鼠各死 2 只(9/11)。与模型组比较,用药各组大鼠成活率、活动能力、精神状态、体态、呼吸、皮肤、被毛状态、饮食及排泄物等均有不同程度改善,以中、高剂量组和卡托普利组改善效果明显。

2.2 心脏超声检测结果

由表 1 所示,与正常组比较,模型组 LVEDD、LVESD 明显增大,EF、FS、SV 明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,黄芪保心汤低、中、高剂量组和卡托普利组大鼠 LVEDD、LVESD 不同程度降低($P < 0.05 \sim 0.01$),EF、FS 及 SV 增加($P < 0.05 \sim 0.01$)。低、中、高剂量组呈现出一定的剂量-效应关系。各组典型心脏超声图见图 1。

表 1 黄芪保心汤对大鼠心脏彩超指标的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	LVEDD/mm	LVEDS/mm	EF/%	FS/%
正常组	10	5.60±0.43	2.96±0.44	85.09±4.09	46.89±3.83
模型组	7	7.45±0.34 ^{△△}	5.96±0.40 ^{△△}	49.15±3.27 ^{△△}	20.20±2.94 ^{△△}
低剂量组	8	6.89±0.36 [*]	5.23±0.47 ^{**}	56.27±4.96 ^{**}	24.56±3.20 [*]
中剂量组	9	6.60±0.37 ^{**}	4.79±0.43 ^{**}	61.01±4.66 ^{**}	27.27±2.82 ^{**}
高剂量组	9	6.55±0.36 ^{**}	4.65±0.41 ^{**}	64.41±4.49 ^{**}	29.29±2.93 ^{**}
卡托普利组	9	6.50±0.39 [*]	4.58±0.49 ^{**}	64.58±5.28 ^{**}	29.87±3.89 ^{**}

注:与正常组比较,△*P*<0.05,△△*P*<0.01;与模型组比较,**P*<0.05,***P*<0.01。

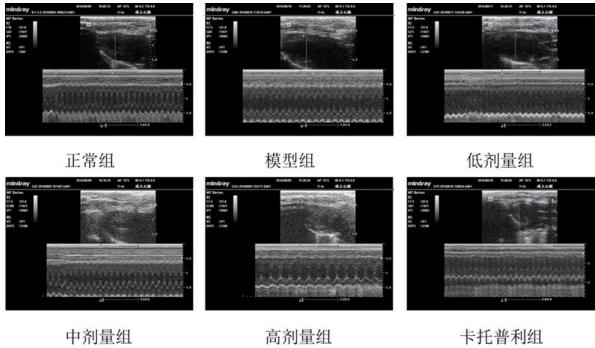


图 1 各组大鼠心脏超声图谱

2.3 血流动力学结果

由表 2 所示,与正常组比较,模型组 LVDP、+dp/dt_{max} 及 -dp/dt_{max} 明显降低,LVEDP 明显升高,差异有统计学意义(*P*<0.01)。与模型组比较,黄芪保心汤低、中、高剂量和卡托普利组大鼠 LVDP、+dp/dt_{max} 及 -dp/dt_{max} 不同程度升高(*P*<0.05~0.01),LVEDP 值降低(*P*<0.05~0.01)。低、中、高剂量组呈现出一定的剂量依赖性。

表 2 黄芪保心汤对大鼠血流动力学参数的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	LVDP/mmHg	LVEDP/mmHg	+dp/dtmax/(mmHg·s ⁻¹)	-dp/dtmax/(mmHg·s ⁻¹)
正常组	10	213.11±8.75	29.30±4.71	3 688.97±432.06	-3 680.38±437.71
模型组	7	164.26±12.45 ^{△△}	50.91±5.89 ^{△△}	1 998.31±313.69 ^{△△}	-1 968.83±323.95 ^{△△}
低剂量组	8	180.58±13.86 [*]	42.72±6.96 [*]	2 494.81±435.60 [*]	-2 505.58±449.89 [*]
中剂量组	9	193.37±14.34 ^{**}	40.23±6.81 ^{**}	2 751.29±421.58 ^{**}	-2 761.02±394.40 ^{**}
高剂量组	9	198.92±13.61 ^{**}	37.21±6.95 ^{**}	2 931.24±406.31 ^{**}	-2 925.36±382.55 ^{**}
卡托普利组	9	202.85±16.13 ^{**}	36.68±7.56 ^{**}	2 988.99±482.94 ^{**}	-2 964.84±476.60 ^{**}

注:与正常组比较,△*P*<0.05,△△*P*<0.01;与模型组比较,**P*<0.05,***P*<0.01。

2.4 心脏质量指数、左心室质量指数

由表 3 所示,与正常组比较,模型组 BW 明显下降(*P*<0.01),HWI 和 LVMI 明显升高(*P*<0.01)。与模型组比较,黄芪保心汤低、中、高剂量组及卡托普利组大鼠的 HWI 和 LVMI 均有不同程度降低(*P*<0.05~0.01),以高剂量组为优。

表 3 黄芪保心汤对大鼠心脏质量指数、左心室质量指数的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	BW/g	HWI/(mg·g ⁻¹)	LVMI/(mg·g ⁻¹)
正常组	10	498.00±17.83	2.99±0.12	2.02±0.15
模型组	7	303.00±24.68 ^{△△}	3.80±0.23 ^{△△}	2.83±0.25 ^{△△}
低剂量组	8	340.13±37.88	3.52±0.28 [*]	2.57±0.20 [*]
中剂量组	9	353.56±33.79 [*]	3.36±0.28 ^{**}	2.42±0.28 ^{**}
高剂量组	9	362.44±36.76 [*]	3.25±0.29 ^{**}	2.29±0.21 ^{**}
卡托普利组	9	367.44±44.19 [*]	3.26±0.27 ^{**}	2.33±0.22 ^{**}

注:与正常组比较,△*P*<0.05,△△*P*<0.01;与模型组比较,**P*<0.05,***P*<0.01。

2.5 HE 染色结果

结果见图 2。①正常组:心肌组织整体形态正常,心肌纤维排列整齐,横纹清晰,内膜细胞连续完整,核居中,胞浆纹理清楚,未见明显的组织学改变;②模型组:左心室内膜下及肌层可见较多心肌细胞坏死及纤维化区,形态多样,局部呈肉芽组织构象,心肌细胞排列紊乱肥大;③高剂量组:左心室梗死区显著缩小,有较少成片坏死纤维化区,部分区域心肌细胞周围呈少许纤维化,心肌细胞排列尚可,仅见少许炎细胞浸润;④中剂量组:左心室梗死范围较模型组明显缩小,纤维化程度低,可见纤维组织围绕心肌细胞,排列稍乱,间质轻度水肿伴少许炎性细胞浸润;⑤低剂量组:病变略有轻微改善,但还是可见较大范围心肌细胞坏死及纤维化伴少量炎细胞浸润,周围心肌细胞肥大,排列紊乱;⑥卡托普利组:左心室纤维化区域明显减小,多数肌纤维排列整齐,心肌细胞轻微水肿,少量炎细胞浸润。

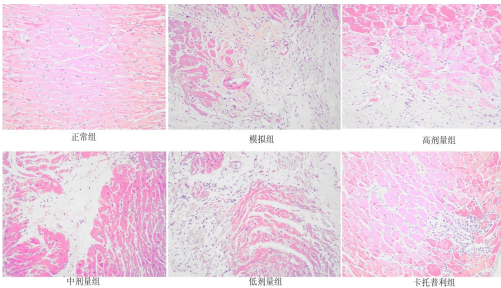


图 2 各组 HE 染色图(×200)

2.6 Masson 染色结果

见图 3,图中红色部分代表细胞质、心肌纤维、红细胞等,蓝色部分代表心肌间质胶原成分。正常组图中绝大多数为正常心肌组织,稍许掺杂有间质胶原纤维;模型组大鼠心肌间质胶原纤维较多,血管周围细胞外基质增多;高剂量组、中剂量组、低剂量组、卡托普利组可见成片被染成蓝色的胶原纤维,将心肌分隔成岛状,心肌纤维化严重程度从弱到强的顺序为卡托普利组、高剂量组、中剂量组和低剂量组。

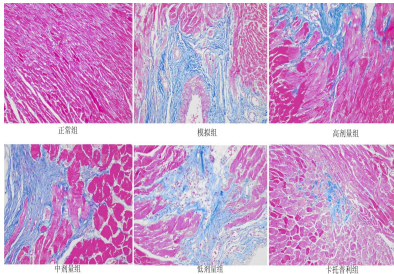


图 3 各组 Masson 染色结果(×200)

表 5 黄芪保心汤对血清中 Ang II、ALD、Renin 的影响($\bar{x} \pm s, \text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)

组别	<i>n</i>	ALD	Ang II	Renin
正常组	10	410.58±35.10	175.54±34.58	206.16±20.19
模型组	7	562.29±43.08 ^{△△}	460.29±47.62 ^{△△}	348.04±22.89 ^{△△}
低剂量组	8	512.15±48.53 [*]	340.88±57.40 ^{**}	319.60±32.84 [*]
中剂量组	9	493.16±47.39 ^{**}	317.95±48.12 ^{**}	304.51±28.37 ^{**}
高剂量组	9	478.23±40.58 ^{**}	293.24±44.48 ^{**}	298.61±26.24 ^{**}
卡托普利组	9	474.73±49.57 ^{**}	287.87±50.46 ^{**}	294.64±29.15 ^{**}

注:与正常组比较,△*P*<0.05,△△*P*<0.01;与模型组比较,**P*<0.05,***P*<0.01。

2.9 对心肌组织中 SOD、MDA、LDH 的影响

由表 6 所示,与正常组比较,模型组大鼠的组织匀浆液中 MDA 和 LDH 显著增高、而 SOD 显著降低(*P*<0.01)。与模型组比较,黄芪保心汤低、中、高剂量组及卡托普利组大鼠组织匀浆中 MDA 和 LDH 含量不同程度降低,而 SOD 水平升高,低剂量组仅 LDH 降低有意义(*P*<0.05),中、高剂量组和卡托普利组结果均有明显统计学意义(*P*<0.01),且呈一定的量效关系。

2.7 对血清中 NT-proBNP、ST2 的影响

由表 4 所示,与正常组比较,模型组大鼠血清 NT-proBNP、ST2 明显升高(*P*<0.01)。与模型组比较,黄芪保心汤低、中、高剂量组及卡托普利组大鼠血清中 NT-proBNP、ST2 均有不同程度降低(*P*<0.05~0.01),低、中、高剂量组呈现出一定的剂量依赖性,以高剂量组为佳。

表 4 黄芪保心汤对血清中 NT-proBNP、ST2 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	NT-proBNP/ (pg · mL ⁻¹)	ST2/ (ng · mL ⁻¹)
正常组	10	257.91±28.02	639.18±88.60
模型组	7	553.71±53.92 ^{△△}	1 017.70±105.33 ^{△△}
低剂量组	8	474.54±42.68 ^{**}	900.85±120.72 [*]
中剂量组	9	429.83±47.35 ^{**}	860.89±117.93 ^{**}
高剂量组	9	414.21±49.57 ^{**}	835.48±109.22 ^{**}
卡托普利组	9	409.07±49.65 ^{**}	815.84±122.15 ^{**}

注:与正常组比较,△*P*<0.05,△△*P*<0.01;与模型组比较,**P*<0.05,***P*<0.01。

2.8 对血清中 Ang II、ALD、Renin 的影响

由表 5 所示,与正常组比较,模型组大鼠血清 ALD、Ang II、Renin 结果明显升高(*P*<0.01)。与模型组比较,黄芪保心汤低、中、高剂量组及卡托普利组大鼠血清中 ALD、Ang II、Renin 水平均有不同程度降低(*P*<0.05~0.01),低、中、高剂量组呈现出一定的剂量依赖性。

3 讨论

DCM 是由不明原因所致弥散性心肌损害,心室扩大,或可伴左心收缩功能减退的心肌病。其病因目前尚不明确,缺乏特异性治疗手段,预后较差,死亡率高。其诱发神经内分泌系统的持续过度激活,导致心肌细胞数量、结构、功能的变化,进而导致心室重构和心肌纤维化。通过影响神经内分泌系统功能来保护心肌细胞,从而减轻心室重构已经成为 DCM 心力衰竭治疗的重要研究方向。近年来诸多心力衰竭领域专家对神经内分泌激活机制的研究逐

渐深入,更多的药物机制研究趋向于神经内分泌这一热点^[10]。

表 6 黄芪保心汤对心肌组织中 SOD、MDA、LDH 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	SOD/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)	LDH/(U·g ⁻¹)
正常组	10	124.13±7.58	1.32±0.52	3 905.77±168.10
模型组	7	98.72±7.42 ^{△△}	3.03±0.48 ^{△△}	5 034.15±176.98 ^{△△}
低剂量组	8	104.84±7.23	2.57±0.45	4 809.42±179.77 [*]
中剂量组	9	110.70±8.35 ^{**}	2.03±0.52 ^{**}	4 344.56±176.90 ^{**}
高剂量组	9	114.37±7.15 ^{**}	1.98±0.55 ^{**}	4 214.45±185.49 ^{**}
卡托普利组	9	115.28±9.72 ^{**}	1.97±0.58 ^{**}	4 198.33±182.84 ^{**}

注:与正常组比较,△*P*<0.05,△△*P*<0.01;与模型组比较,^{*}*P*<0.05,^{**}*P*<0.01。

中医对 DCM 的认识沿革至今,有着丰富的理论研究和治疗经验,且大量临床研究验证其可以改善短期症状及远期预后。中医认为毒邪侵袭是 DCM 的直接诱因,毒邪侵袭心脉,阻滞脉管,而心气亏虚无力推动血液运行,则致血瘀内阻、水饮内停为病。因而“心气虚、邪毒侵犯心肌”是该病的主要发病机制。基于扩张型心肌病“正虚邪实”的病理特点,黄芪保心汤以“益气养阴,解毒散瘀”为治疗法则,精选相关中药组方,治疗 DCM,多年来应用于临床中,取得了较好的疗效。该方君以黄芪、党参健脾益气,通心肺而养五脏;臣以麦冬、鳖甲、五味子、丹参、当归,既助君药以养阴扶正,又活血通络以治标。连翘、桂枝、茯苓为佐使。连翘清心解毒,贯通心之气血,为使药,引药入心经。诸药合用,益气养阴、解毒散瘀,以达到祛邪而不伤正,补气而不留邪,从而有效地防治扩张型心肌病。

本研究表明黄芪保心汤治疗后,可不同程度地降低大鼠 LVEDD、LVESD,升高 EF、FS 值;升高 LVDP、±dp/dtmax,降低 LVEDP;降低心脏质量指数;改善心肌细胞坏死及心肌纤维化;说明黄芪保心汤可以降低 DCM 模型大鼠的左室内径,提高心脏泵血功能,改善心肌纤维化,抑制心室重塑进而改善心功能,且其作用呈剂量依赖性,这一结果与之前研究得到的结论一致^[3]。

NT-proBNP 是作为自体心室细胞分泌的激素,其浓度的测定可帮助临床客观评价患者的心衰程度和预后,是公认的心衰评价指标^[11-12]。ST2 是生物机械应力产生的一种心肌蛋白,可由心肌成纤维细胞及心肌细胞表达,是心肌肥厚和纤维化的标志,且不受肾功能、体质量及年龄等因素的影响,故被推荐与 BNP 或 NT-proBNP 相结合,以准确地对心衰的预后进行判断。本实验结果显示,与正常组比较,模型组大鼠血清 NT-proBNP、ST2 水平显著升高。与模型组相比,黄芪保心汤低、中、高剂量组大鼠血清

NT-proBNP、ST2 水平不同程度降低,结果呈一定的量效关系,且高剂量组与卡托普利组结果无统计学差异,提示黄芪保心汤可明显改善扩张型心肌病大鼠的心功能及预后。

研究认为 RAAS 的过度激活是导致心室重构的重要因素。心力衰竭时,RAAS 系统被过度激活,Renin、Ang II、ALD 作为 RAAS 系统级联反应中的重要因子,它直接促进心肌的肥大和间质纤维化的形成,诱导了心室重构。特别是 Ang II 作为 RAAS 系统中起关键作用的因子,可导致成心肌细胞肥大、成纤维细胞的增殖、基质沉淀等。本实验结果表明 DCM 模型组大鼠血清 Ang II、Renin、ALD 含量显著增高,RAAS 系统激活,心功能下降,黄芪保心汤各剂量组可以不同程度的降低 RASS 系统相关指标,而以中高剂量组显著,且呈一定的剂量依赖性,高剂量组与卡托普利组无统计学差异。黄芪保心汤具有抑制神经内分泌系统过度激活的作用。

研究中我们发现扩张型心肌病模型大鼠的 MDA、LDH 水平升高,SOD 降低,说明扩张型心肌病存在氧化应激损伤,诱导心肌产生过量的 ROS,进而 SOD 水平下降,LDH、MDA 水平升高,导致心肌细胞的损伤。而予黄芪保心汤干预能够降低 MDA、LDH 水平,提高 SOD 活性,具有抗氧化应激,保护心肌细胞的作用。

综上所述,黄芪保心汤具有抑制 RAAS 系统激活,抗氧化应激,保护心肌细胞;进而改善 DCM 大鼠心功能,抑制心室重塑的作用。且研究表明黄芪保心汤的上述功效存在一定的剂量-效应关系。但是由于黄芪保心汤成分复杂,其成分之间是否发生削弱或增强的反应还不清楚,其临床治疗机制有待于进一步研究。

参考文献:

[1] LAKDAWALA NK, WINTERFIELD JR, FUNKE BH. Dilated Cardiomyopathy[J]. Circul Arrhythm Electrophysiol, 2013, 6

- (1):228-237.
- [2] 李志刚,张培影,黄芪保心汤治疗扩张型心肌病疗效观察[J].光明中医,2015,30(11):2351-2352.
LI ZG, ZHANG PY. Effects of Huangqi Baoxin Decoction treating for dilated cardiomyopathy[J]. Guangming J Chin Med, 2015, 30(11): 2351-2352.
- [3] 郑义,张培影,孙蓉蓉,等.黄芪保心汤对扩张型心肌病大鼠心室重构的影响[J].中国中医急症,2016,25(4):583-587.
ZHENG Y, ZHANG PY, SUN RR, et al. Influence of huangqi baoxin (HQBX) decoction on ventricular remodeling in rats with dilated cardiomyopathy (DCM) [J]. Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine, 2016, 25(4): 583-587.
- [4] 王娟,黄芪保心汤改善扩张型心肌病心肌纤维化的临床观察[D].南京:南京中医药大学,2015.
WANG J. Clinical observation of huangqi baoxin (HQBX) decoction treating the DCM myocardial fibrosis [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2015.
- [5] SCHWARZ ER, POLLICK C, DOW J, et al. A small animal model of non-ischemic cardiomyopathy and its evaluation by transthoracic echocardiography[J]. Cardiovasc Res, 1998, 39(1): 216-223.
- [6] 王智昊,赵学忠.扩张性心肌病变的实验动物模型研究[J].长春大学学报,2006,16(1):81-84.
WANG ZH, ZHAO XZ. The research of developing experimental animal model for cardiac dilatation disease[J]. J Changchun Univ, 2006, 16(1): 81-84.
- [7] 卢文,汪太平.超声检测高血压病患者左室心肌重量指数与心律失常关系的探讨[J].中国超声医学杂志,1994(10):19-21.
LU W, WANG TP. Study of Relationship between LVMI and Arrhythmia in Patient with Hypertension[J]. Chin J Ultrasound Med, 1994(10):19-21.
- [8] 周莉,曹敏,梁逸强,等.参蛤散对压力负荷性心室重构大鼠射血分数及左心室重量指数的影响[J].四川中医,2013(2):51-53.
ZHOU L, CAO M, LIANG YQ, et al. Effect of Shenge powder on ejection fraction (EF) and left ventricular weight index (LVW/BW) in ventricular remodeling caused by pressure-overload in rats[J]. J Sichuan Tradit Chin Med, 2013(2):51-53.
- [9] 罗灿峤,莫木琼,钟觉民.天狼星红苦味酸染色法和 MASSON 染色法在显示大鼠肾脏胶原纤维的比较应用[J].临床医学工程,2009,16(8):15-16.
LUO CJ, MO MQ, ZHONG JM. Comparative study on collagen fiber staining between sirius red in saturated carbazotic acid staining and MASSON trichrome staining on rat kidney specimen[J]. Med Health Care Instrum, 2009, 16(8): 15-16.
- [10] 陈欣华,孙琪,李亮,等.芪苈强心胶囊对缺血性心力衰竭患者神经内分泌细胞因子、左室重构及心功能的影响[J].现代中西医结合杂志,2014,23(25):2760-2763.
CHEN XH, SUN Q, LI L, et al. Effect of Qiliqiangxin capsules on neurohumoral factors, left ventricular remodeling and heart function in the patients with ischemic heart disease with heart failure[J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2014, 23(25):2760-2763.
- [11] 汪芳,李卫,黄洁,等.血浆 N 末端原脑利钠肽水平对慢性心力衰竭患者长期预后的预测价值[J].中华心血管病杂志,2006,34(1):28-32.
WANG F, LI W, HUANG J, et al. Prognostic value of N-terminal-pro-brain natriuretic peptide on admission in patients with chronic heart failure[J]. Chin J Cardiol, 2006, 34(1): 28-32.
- [12] 袁劲松.N-末端脑利钠肽原在心力衰竭中的临床应用进展[J].国际检验医学杂志,2010,31(12):1417-1419.
YUAN JS. Application progress of the N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in heart failure[J]. Int J Lab Med, 2010, 31(12): 1417-1419.

(编辑:董宇)