

参附芎泽方药对阿霉素所致心力衰竭大鼠心功能的影响

韩曼 马莉 于远望

【摘要】 目的 研究参附芎泽方药对阿霉素所致心力衰竭大鼠心功能的影响,并探讨其作用机制。**方法** SD大鼠随机分为2组:阿霉素组40只,腹腔注射阿霉素,2.5 mg/kg,3次/周,连续2周;生理盐水组,10只,腹腔注射同剂量的生理盐水,连续2周,随后正常饮食4周。2周后阿霉素组死亡7只,余下33只随机分为4组:阿霉素对照组9只,正常饮食;低剂量中药组(每毫升煎液含生药0.5 g)、中剂量中药组(每毫升煎液含生药1 g)、高剂量中药组(每毫升煎液含生药2 g),每组8只,持续灌胃4周,剂量均为12 ml/(kg·d),4周后测量每组大鼠体质量、心脏质量,计算心脏质量/体质量;右侧颈总动脉插管至左心室,采用多导生理信号采集处理系统监测大鼠血流动力学指标;病理切片,HE染色,光镜观察左心室心肌组织变化。**结果** 阿霉素组相对于生理盐水组大鼠体质量、心脏质量及心脏质量/体质量均降低,且体质量的降低更为显著($P<0.05$);血流动力学指标:平均动脉压、心率、左心室收缩压、左室内压最大上升及下降速率均下降,左心室舒张末期压升高($P<0.05$);镜下观察左心室心肌组织损伤明显,经各方药组灌胃干预4周后,以上各项指标均有所改善,且以大剂量方药组的作用显著。**结论** 参附芎泽方药对阿霉素所致心衰具有较好的防治作用,能够明显改善心衰大鼠的心脏功能。

【关键词】 参附芎泽方药; 阿霉素; 心力衰竭; 血流动力学

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2012.05.006

Effects of Shenfu Xiongze Decoction on cardiac function of adriamycin-induced heart failure rats

HAN Man, MA Li, YU Yuan-wang. Department of Physiology and Department of Anatomy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

Corresponding author: YU Yuan-wang, E-mail: yuyw2003214@yahoo.com

【Abstract】 Objective The present study was carried out to investigate the effects of Shenfu Xiongze Decoction on cardiac function of adriamycin-induced heart failure rats. **Methods** SD rats were randomly divided into 2 groups: adriamycin (ADR) group ($n=40$): 40 animals received ADR (2.5 mg/kg, i. p.) three times a week, for 2 weeks; control group ($n=10$), animals received equivalent volume of saline (i. p.). After 2 weeks, 7 animals died. 9 animals act on ADR control; 8 animals each received Shenfu Xiongze Decoction (low dose: 0.5 g crude drug in 1 ml physis liquor) for 4 weeks; 8 animals each received Shenfu Xiongze Decoction (moderate dose: 1 g crude drug in 1 ml physis liquor) for 4 weeks; 8 animals each received Shenfu Xiongze Decoction (high dose: 2 g crude drug in 1 ml physis liquor) for 4 weeks. The ADR-induced heart failure and protective action of Shenfu Xiongze Decoction were determined and quantitated with the use of body weight (BW), heart weight (HW), hemodynamic measurements and histopathological procedure. **Results** BW, HW, mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), left ventricular systolic pressure (LVSP) and maximal rising and falling rate of left intraventricular pressure

基金项目:陕西省中医管理局基金项目(JC63)

作者单位:712046 咸阳,陕西中医学院生理教研室(韩曼,于远望),解剖教研室(马莉)

作者简介:韩曼(1976-),女,硕士,讲师。研究方向:益气活血方药对心血管血流动力学及流变学的影响。E-mail: h2832122@163.com

通讯作者:于远望(1965-),本科,教授,陕西省生理学会理事。主要从事中医药防治慢性心力衰竭的实验研究。E-mail: yuyw2003214@yahoo.com.cn

($\pm LVdp/dtmax$) were decreased, while left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP) increased and histopathology revealed myocardial lesions indicative of ADR induced heart failure. In contrast, administration of Shenfu Xiongze Decoction significantly attenuated these effects. **Conclusion** Shenfu Xiongze Decoction is potentially protective against ADR-induced heart failure and improve cardiac function.

【Key words】 Shenfu Xiongze Decoction; Adriamycin; Heart failure; Hemodynamics

阿霉素属蒽环类抗肿瘤药,临床上用于白血病、淋巴瘤、硬癌等的治疗,效果显著,是目前最常用的抗肿瘤药物之一。但是阿霉素与心肌组织的亲和力明显高于其它组织,长期应用可引起剂量依赖性心脏毒性,主要表现为长期使用导致心肌病和慢性充血性心力衰竭,从而使其临床应用受到限制^[1]。尽管阿霉素引起的损伤是多因素作用的结果,其确切的病因机制尚未明确,但大量研究表明自由基和脂质过氧化作用增强引起的氧化应激以及机体抗氧化剂减少在阿霉素所致心脏毒性的发病机制中起很重要的作用^[2,3]。

阿霉素临床应用的广泛性鼓励人们寻找能够减弱其副作用的药物。已经发现一些药物(右丙亚胺)具有保护心肌的作用,从而减弱阿霉素所致的心脏毒性,然而长期应用右丙亚胺可导致血液毒性,且费用很高^[4]。故寻找毒副作用比较小花费相对低的能减弱阿霉素所致心衰从而改善心功能的药物势在必行。参附芎泽方是来源于临床治疗慢性充血性心力衰竭的有效方剂^[5],由人参、黄芪、附子、丹参、川芎、泽泻 6 味药物组成,共奏益气温阳、活血利水之功。本实验旨在观察参附芎泽方药对阿霉素所致心衰大鼠心功能的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SD 大鼠 50 只,雄性,体重(250±20)g,由第四军医大学实验动物中心提供(SCXK(军)2007-007)。

1.2 主要药物及仪器

戊巴比妥钠(美国 sigma 公司);注射用盐酸阿霉素(浙江海正药业股份有限公司,批号:100301),实验前阿霉素用生理盐水配制成 1 mg/ml;中药材购于陕西中医学院附属医院,经陕西中医学院中药鉴定室鉴定合格;6240 多道生理信号采集处理系统(成都仪器厂);PE50 导管(美国产)。

1.3 中药煎煮

按照处方用量 10 倍准备生药(人参 90 g、黄芪 300 g、制附子 60 g、川芎 100 g、丹参 100 g、泽泻

150 g,共计 800 g)。附子先煎煮 30 分钟,然后将其煎煮液和其它 5 味中药一起煎煮,浓缩至 400 ml,每 ml 药液相当于生药 2 g。分瓶密封,作为参附芎泽方高剂量组用药,4℃冰箱储藏备用。中剂量组和低剂量组用药,分别由高剂量用药加 1 倍和 3 倍去离子水稀释而成。

1.4 动物分组及实验处理

SD 大鼠随机分为两组,阿霉素组 40 只,腹腔注射阿霉素,2.5 mg/kg,3 次/周,连续 2 周,死亡 7 只。生理盐水组 10 只,腹腔注射同剂量的生理盐水,连续 2 周,随后 4 周正常饮食。第 3 周将阿霉素组依据体质量、水肿的程度及饮食饮水量随机分为 4 组:低剂量方药组(每毫升煎液含生药 0.5 g,8 只)、中剂量方药组(每毫升煎液含生药 1 g,8 只)、高剂量方药组(每毫升煎液含生药 2 g,8 只),停用阿霉素,中药持续灌胃 4 周,剂量均为 12 ml/(kg·d);阿霉素对照组(9 只)正常饮食,持续 4 周。

1.5 血流动力学指标监测

末次给药 12 小时后 2% 戊巴比妥钠 55 mg/kg 腹腔注射将大鼠麻醉,仰卧位固定于鼠板上,逐层打开颈部,暴露气管,行气管插管术。仔细分离右侧颈总动脉,行颈总动脉插管术,待稳定后,记录三分钟平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、心率(heart rate, HR),小心将插管经左房室瓣送入左心室,待稳定后,记录三分钟左右左心室收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP)、左心室内压最大上升及下降速率(maximal rising and falling rate of left intraventricular pressure, $\pm LVdp/dtmax$)及左心室舒张末期内压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)。

1.6 心脏形态学观察

血流动力学指标监测结束后,过量戊巴比妥钠(100 mg/kg)经颈动脉插管三通缓慢注射至血管内,将大鼠深麻,开胸,摘除心脏,生理盐水冲洗干净,滤纸吸干水分,称重。切除左心室迅速放入 4% 甲醛溶液固定,72 小时后转入 PBS 缓冲液中过夜,脱水,浸蜡,包埋,切片(5 μm),行 HE 染色,光镜观察。

1.7 数据分析

所有实验数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠心脏质量、体质量、心脏质量/体质量的变化

各方药组、阿霉素对照组与生理盐水组相比, 用药前体质量无显著差异, 6 周后阿霉素对照组与生理盐水组相比心脏质量、体质量、心脏质量/体质量均明显下降; 各方药组相对于阿霉素对照组心脏质量、体质量有所增加, 且高剂量组增加显著 ($P < 0.05$), 但高剂量方药组心脏质量/体质量与阿霉素对照组相比无显著性差异 (见表 1)。

表 1 参附芎泽方药对大鼠心脏质量、体质量、心脏质量/体质量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	心脏质量(g)	体质量(g)	心脏质量/体质量(g/kg)
生理盐水组 (n=10)	0.90±0.04	345.60±13.01	2.61±0.09
阿霉素对 照组(n=9)	0.72±0.07 ^a	301.20±10.08 ^a	2.39±0.18 ^a
低剂量方 药组(n=8)	0.74±0.06 ^a	315.60±15.60 ^a	2.35±0.19 ^a
中剂量方 药组(n=8)	0.76±0.03 ^a	318.20±16.60 ^a	2.38±0.14 ^a
高剂量方 药组(n=8)	0.81±0.04 ^{ab}	336.80±10.43 ^b	2.49±0.08

注: 与生理盐水组相比, ^a $P < 0.05$; 与阿霉素对照组相比, ^b $P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠血流动力学的变化

与阿霉素组相比, 方药各组的血流动力学指标 MAP、HR、LVSP、 \pm LVdp/dtmax 有所升高, LVEDP 明

显下降, 表明方药对阿霉素所致心衰有较好的防治作用, 可改善心衰大鼠心功能, 且以高剂量组的作用显著 (见表 2)。

2.3 心脏组织形态学的改变

左心室心肌组织 HE 染色镜下观察显示: 生理盐水组心肌纤维排列整齐, 细胞排列丰富均匀 (见图 1); 阿霉素组心肌组织受损, 呈心肌病样改变, 心肌细胞呈广泛的水肿, 有空泡形成, 部分肌原纤维溶解、断裂, 排列紊乱 (见图 2); 高剂量方药组心肌纤维排列相对整齐, 无心肌纤维的破坏, 细胞间隙正常, 未见水肿 (见图 3)。

3 讨论

在人和动物体内长期应用阿霉素可发生剂量依赖性多脏器的毒性效应, 其与心肌组织的亲和力明显高于其它组织, 心肌毒性效应更加明显, 加之此模型复制简便易行, 重复性好, 成功率高, 故阿霉素诱导大鼠心衰模型是目前研究心肌病型心力衰竭较理想的模型^[6]。中医虽无心力衰竭这一病名, 但根据其临床表现及特点属于中医学“心悸”、“胸痹”、“瘀血”, “喘证”、“水肿”等范畴^[7]。长期的临床研究分析表明: 大多数心衰的患者为气阴两虚, 瘀血阻滞所致。基于以上认识, 临床采用益气温阳、活血利水的方法治疗心衰取得了满意的疗效。本实验通过腹腔注射阿霉素观察参附芎泽方药对其所致心衰大鼠心功能的影响。腹腔注射阿霉素 2 周后, 与生理盐水组相比, 大鼠的毛发变为米黄色, 且枯燥, 无光泽; 眼周有红色分泌物, 纳差, 嗜睡, 四肢水肿, 腹腔增大伴有腹水, 体重未明显增加, 且有 13 例体重下降, 提示心衰模型复制成功。益气养阴活血方药干预后, 各组大鼠腹水和水肿程度明显减轻, 体重有所增加, 以高剂量方药组作用显著。左心室心肌组织光镜观察提示: 心肌纤维比阿霉素对照组排列整齐, 仅少数几例可见心脏组织结构的破

表 2 参附芎泽方药对大鼠血流动力学的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	MAP(mmHg)	LVSP(mmHg)	LVEDP(mmHg)	+LVdp/dtmax(mmHg/s)	-LVdp/dtmax(mmHg/s)	HR(bpm)
生理盐水组(n=10)	98.04±5.76	101.57±3.41	8.94±0.42	6002.70±200.58	3157.05±229.65	325.80±4.76
阿霉素对照组(n=9)	64.30±2.11 ^a	69.51±4.41 ^a	18.07±2.44 ^a	3316.57±458.95 ^a	2050.801±04.18 ^a	271.00±11.83 ^a
低剂量方药组(n=8)	69.15±5.76 ^b	72.07±5.83	17.79±2.04	3517.11±333.44	2415.65±381.46 ^b	297.80±6.18 ^{ab}
中剂量方药组(n=8)	69.15±1.52 ^b	72.27±2.62	15.72±1.96 ^b	3944.28±145.17 ^b	2601.602±26.45 ^b	299.40±7.23 ^{ab}
高剂量方药组(n=8)	76.61±4.28 ^b	80.08±5.79 ^b	11.82±1.15 ^b	4667.47±287.20 ^b	2888.08±23.44 ^b	315.00±4.47 ^{ab}

注: 与生理盐水组相比, ^a $P < 0.05$; 与阿霉素对照组相比, ^b $P < 0.05$ 。

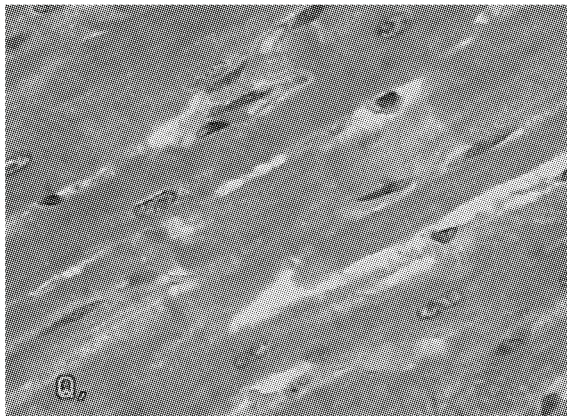


图1 生理盐水组大鼠心脏组织(左心室)的病理学变化(HE染色,×400)

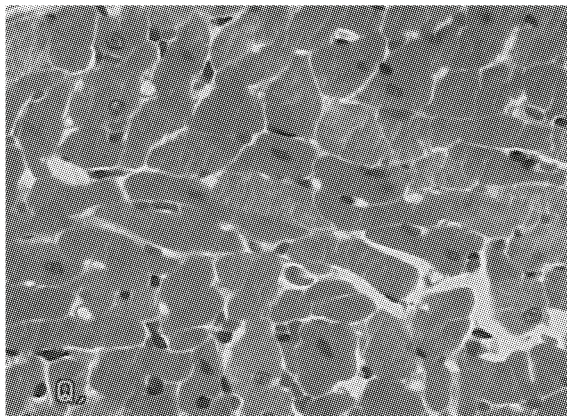


图2 阿霉素对照组大鼠心脏组织(左心室)的病理学变化(HE染色,×400)

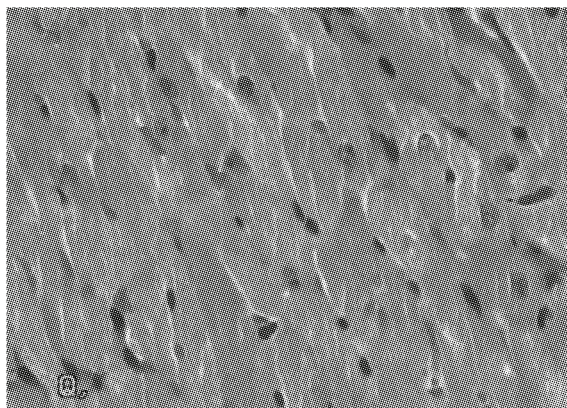


图3 参附芎泽方高剂量方药组大鼠心脏组织(左心室)的病理学变化(HE染色,×400)

坏和心室重塑。心肌结构得到保护可使左心室的收缩和舒张功能明显增强,从而改善心功能,这与实验监测的左心室血流动力学指标的改变一致。

尽管阿霉素所致的心衰是多因素综合的结果,但研究显示:阿霉素进入心肌细胞后,形成超氧阴离子、超氧自由基和脂质自由基,导致心肌组织损

伤,是阿霉素介导心肌病型心衰的原因之一。钙超载是阿霉素引起心衰的另一主要原因^[8]。本实验观察到,方药可改善心衰大鼠的 LVEDP、LVSP 和 \pm LVdp/dtmax。这可能与方药中的人参、黄芪、附子的正性肌力作用有关。药理实验研究表明:人参中的主要成分人参总皂甙可扩张冠脉,对抗实验性心肌缺血的作用,增加缺血心肌的能量贮备,增加心输出量,同时具有清除氧自由基、抑制脂质过氧化反应,保护心肌组织的作用^[9];黄芪中的黄芪甙IV具有正性肌力作用,还可提高机体的抗氧化能力,减轻各种原因产生的氧自由基对心肌的损伤^[10];附子提取物乌头碱可兴奋心肌细胞 β_1 受体,增强心肌收缩力。除此之外,方药中的泽泻具有利水渗湿、泻热之功效。可降低心衰大鼠的后负荷,增加心衰大鼠的心输出量。丹参可抑制钙超载,清除自由基抑制心肌细胞死亡;川芎与人参合用的治疗方法被称作益气活血法,具有扶助正气、活血化瘀的双重作用^[9]。

心衰发生过程中常伴有室重塑,心室重塑是一系列复杂分子和细胞机制共同作用导致心肌结构和功能发生变化,心室重塑进一步加剧心肌损伤和心功能的下降,形成恶性循环。本实验病理切片显示方药各组心室纤维排列比较整齐,心室重塑较阿霉素对照组明显减轻。这可能与方药中人参、黄芪、丹参清除氧自由基减轻心肌损伤有关。笔者还观察到方药在改善心功能的同时,不会使心率明显降低,提示方药对心率可能具有双向调节作用。

基于以上结果,笔者推测方药主要是通过对抗自由基和钙超载,增加心肌的血流量和心肌收缩力,减少心肌细胞死亡和心室重塑,从而减弱阿霉素所致心脏毒性作用,使心功能有所恢复。通过本实验研究表明参附芎泽方药对心肌组织具有保护作用,能改善阿霉素所致心衰大鼠的心功能,其具体的作用机制有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] McGuire WP. Prospective monitoring for an thracyclin cardiotoxicity: An introduction [J]. Cancer Treat Rep, 1978, 62(6): 855.
- [2] Singal PK, Khaper N, Palace V, et al. The role of oxidative stress in the genesis of heart disease [J]. Cardiovasc Res, 1998, 40(3): 426-432.
- [3] 王睿,徐长庆. 阿霉素心脏毒性作用机制研究进展 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2006, 27(10): 1221-1222.
- [4] Šimunek T, Klimentová I, Kaplanová J, et al. Rabbit model for in vivo study of adriamycin-induced heart failure and for the

- evaluation of protective agents[J]. Eur J Heart Fail, 2004, 6(4): 377-387.
- [5] 汶医宁. 中西医结合治疗慢性充血性心力衰竭 50 例[J]. 陕西中医学院学报, 2002, 25(3): 19-20.
- [6] 李梅秀, 田国忠, 欧叶涛, 等. 大鼠阿霉素慢性心衰模型的制备与心衰指标的判定[J]. 解剖学研究, 2005, 27(3): 176-178.
- [7] 单书健, 陈子华. 古今名医临证金鉴-心悸怔忡卷[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2000: 11.
- [8] Maeda A, Honda M, Kuramochi T, et al. Doxorubicin cardiotoxicity: Diastolic cardiac myocyte dysfunction as a result of impaired calcium handling in isolate cardiac myocyte[J]. Jpn Circ, 1998, 62(7): 505-511.
- [9] 杜先华, 杨芳炬. 中药对心肌细胞凋亡的保护作用[J]. 中药新药与临床药理, 2002, 13(6): 406-408.
- [10] 吴发宝, 陈希元. 黄芪药理作用研究综述[J]. 中药材, 2004, 27(3): 232-234.
- (收稿日期: 2011-11-27)
(本文编辑: 秦楠)

复方芪术汤对四氯化碳致大鼠肝纤维化的影响研究

陆云飞 陈晓蓉 刘成

【摘要】 目的 探讨复方芪术汤对四氯化碳(CCl_4)致大鼠肝纤维化药效的干预作用。**方法** Wistar 雄性大鼠 30 只, 随机分为正常组 10 只和四氯化碳处理组(20 只), 四氯化碳 1 ml/kg, 每周 2 次腹腔注射, 正常组注射等量的生理盐水。造模的第 8 周, 四氯化碳处理组大鼠随机分为复方芪术汤组和模型组, 每组 10 只。在继续造模的同时, 复方芪术汤组给予 70 千克成人的 10 倍量灌胃, 模型组给予等量的生理盐水灌胃, 给药 4 周。12 周末处死全部大鼠, 留取肝组织样本和血清, 测定谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、白蛋白(ALB)、总胆红素(TBil)。**结果** 四氯化碳造模 12 周, 模型组血清 ALT、AST 活性显著升高; ALB 含量显著下降。血清 TBil 含量显著升高。与模型组相比, 复方芪术汤组大鼠血清 ALB 含量显著升高, 血清 ALT 和 AST 活性显著降低($P < 0.01$)。但复方芪术汤对血清 TBil 降低不明显。病理组织学显示, 模型组假小叶形成, 肝脏纤维化程度分级均为 2、3 级; 复方芪术汤干预组肝小叶结构不同程度被破坏, 肝脏纤维化程度分级大部分在 1、2 级。**结论** 复方芪术汤可以显著改善大鼠肝功能, 对 CCl_4 引起的慢性肝纤维化大鼠有很好的降低肝纤维化程度的作用。

【关键词】 复方芪术汤; 四氯化碳; 肝纤维化; 大鼠

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2012.05.007

Therapeutic effects of Compound Qizhu Decoction on carbon tetrachloride (CCl_4)-induced liver fibrosis in rats LU Yun-fei, CHEN Xiao-rong, LIU Cheng. Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Public Health Clinical Center, Shanghai 201508, China

Corresponding author: LU Yun-fei, E-mail: luyunfei200@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the therapeutic effects of Compound Qizhu decoction on carbon tetrachloride (CCl_4)-induced liver fibrosis in rats. **Methods** 30 Wistar male rats were randomly divided into normal group (10) and CCl_4 -treated group (20), CCl_4 (1 ml/kg) was administrated

基金项目: 财政部、国家中医药管理局 2009 年中医药行业科研专项(200907001-1)

作者单位: 201508 上海市公共卫生临床中心中医科

作者简介: 陆云飞(1978-), 硕士, 主治医师。研究方向: 中医药治疗感染性疾病。E-mail: luyunfei200@126.com