

冠心Ⅱ号对心肌梗死大鼠血管内皮生长因子与B型钠尿肽的影响

李琦^{1,2} 卢跃卿³ 张荣利⁴ 尚晓泓² 李连达²

(1. 中国科学院研究生院,北京市石景山区玉泉路19号,100039; 2. 中国中医科学院西苑医院;
3. 河南中医学院第一附属医院; 4. 北京大学分子医学研究所)

[摘要] **目的** 研究冠心Ⅱ号对大鼠实验性心肌梗死的治疗作用,观察心肌梗死发生后血清血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维生长因子(bFGF)与B型钠尿肽(BNP)的相关性。**方法** 健康雄性大鼠36只随机选取9只作为假手术组,另27只行冠脉结扎术制造心肌梗死模型,后分为模型组冠心Ⅱ号低剂量组(冠心Ⅱ号3g/kg)冠心Ⅱ号高剂量组(冠心Ⅱ号9g/kg)各9只,术后15日进行心肌梗死面积定量组织学测定,酶联免疫吸附法测定血清VEGF、bFGF和BNP等指标,Bivariate Correlation法分析心肌梗死发生后血清VEGF、bFGF与BNP的相关性。**结果** 给药15日后,冠心Ⅱ号高剂量组心肌梗死范围减小,血清BNP降低,VEGF升高,与模型组比较差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。**结论** 冠心Ⅱ号可以减轻心肌坏死,可通过调节VEGF、bFGF对心肌梗死发挥治疗作用,心肌梗死后VEGF、bFGF与BNP具有相关性。

[关键词] 冠心Ⅱ号;心肌梗死;血管内皮生长因子;B型钠尿肽

Effect of Guanxin Ⅱ on Vascular Endothelial Growth Factor and B Natriuretic Peptide of Rats with Myocardial Infarction

LI Qi^{1,2}, LU Yue-qing³, ZHANG Rong-li⁴, et al.

(1. The Graduate School of the Chinese Academy of Science, Beijing 100039; 2. Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Science; 3. The First Affiliated Hospital of Henan University of TCM; 4. Institute of Molecular Medicine, Peking University)

ABSTRACT **Objective** To study the therapeutic effect of Guanxin Ⅱ (Prescription for coronary heart disease) on the experimental myocardial infarction of rats and to observe the correlation among the vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF) and B natriuretic peptide (BNP) after the occurrence of myocardial infarction. **Methods** Of the 36 healthy male rats, 9 were put into the sham operation group. Of the 27 male rats with coronary artery ligation to establish the myocardial infarction models, 9 were put into the model group, 9 put into the Guanxin Ⅱ low dosage group (3g/kg), and 9 put into the Guanxin Ⅱ high dosage group (9g/kg). Fifteen days after the operation, N-BT staining was adopted to determine the area of myocardial infarction, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) used to determine VEGF, bFGF and BNP, and Bivariate Correlation method was used to analyze the correlation of VEGF, bFGF and BNP. **Results** With 15 days' medication, the area of myocardial infarction in the Guanxin Ⅱ high dosage group was reduced, BNP decreased and VEGF increased, showing a statistical significance in comparing with the model group ($P<0.01$ or $P<0.05$). **Conclusion** Guanxin Ⅱ can reduce the area of myocardial infarction. It treats myocardial infarction through regulating VEGF and bFGF. And VEGF, bFGF and BNP are correlated with each other after occurrence of myocardial infarction.

Key Words Guanxin Ⅱ (Prescription for coronary heart disease); Myocardial infarction; Vascular endothelial growth factor (VEGF); B natriuretic peptide (BNP)

冠心Ⅱ号方是由丹参、红花、降香、川芎、赤芍五味中药组成,全方具有活血化瘀,理气止痛功能,主治胸痹,适用于冠心病(心绞痛、心肌梗死)等^[1]。为进一步研究冠心Ⅱ号对大鼠实验性心肌梗死的治疗作用机理,我们利用大鼠冠脉结扎术制造心肌梗死模型,观察冠心Ⅱ号方对血清血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维生长因子(bFGF)和B型钠尿肽(BNP)等观测

指标的影响,进而探讨冠心Ⅱ号方对血管内皮再生的作用,现报告如下。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级Wistar大鼠36只,雄性,体重180~220g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[京动许字(2000)第010号]。

1.2 药物与试剂

冠心Ⅱ号汤剂,由中国中医科学院中药研究所提供。制备方法:按比例称取冠心Ⅱ号各饮片(丹参:红

花：川芎：赤芍：降香=2：1：1：1：2/3)，加水 5 倍，浸泡 30 分钟，加热至药液沸腾，保持微沸 20 分钟，滤过，药渣加水 3.3 倍，加热至沸腾，保持微沸 15 分钟，滤过，合并两次煎液，离心，上清液浓缩，定容，混匀，装瓶，灭菌。制成每毫升含生药 1.8g 的实验用药备用。

BNP 试剂由美国 ASSAYPRO 提供，批号：5026012，为大鼠专用；VEGF 试剂由美国 ADL 提供，批号：RT 110371，为大鼠专用；bFGF 试剂由美国 ADL 提供，批号：RT 110371，为大鼠专用。

1.3 仪器

多媒体彩色病理图像分析系统：MPIAS-500 型。全自动酶标仪：Alisei，意大利 SEAC 公司。

2 方法

2.1 动物分组

将大鼠随机分为 4 组：假手术组、模型组、冠心Ⅱ号低剂量组和冠心Ⅱ号高剂量组，每组各 9 只。

2.2 大鼠心肌梗死造模与给药方法

3.5%水合氯醛按 10ml/kg 体重麻醉，接呼吸机，打开胸腔，暴露心脏，在肺动脉圆锥与左心耳之间结扎左冠状动脉后，关闭胸腔，缝合皮肤，局部应用青霉素以预防感染。假手术组开胸后，不结扎冠状动脉，其余与模型组相同操作。结扎 3 小时后首次灌胃给药，以后每日下午 5 点灌胃给药 1 次，冠心Ⅱ号低剂量组、高剂量组分别按 3g/kg、9g/kg 给药，假手术组、模型组按体重给等量生理盐水，连续给药 15 天。末次给药后 1 小时，腹主动脉取血 5ml，取心脏，结扎线下平均切 5 片染色进行梗死面积测量^[2]。

2.3 观测指标

生化指标：酶联免疫吸附方法测定血清 VEGF、bFGF、BNP 含量。

心肌梗死范围测定(N-BT 染色法)：动物处死后，立即取下心脏，生理盐水冲洗，用滤纸吸去水分，称重，在结扎线以下，从心尖起平行切成等厚 5 片，分别称重，置于硝基四氮唑蓝染液中，常温避光 2 分钟，用多媒体彩色病理图像分析系统测量每个切面的面积、心肌梗死面积(N-BT 非染色区)，计算心室肌总面积、心

室肌梗死总面积，分别算出心肌梗死面积占心室面积百分比及梗死重量百分比。

2.4 统计学方法

应用 SPSS 11.0 统计软件，计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用方差分析，相关性检验采用 Correlate-Bivariate 分析^[3]。

3 结果

3.1 冠心Ⅱ号对心肌梗死程度的影响

表 1 示，与模型组比较，冠心Ⅱ号低剂量组心肌梗死面积/心室面积、心肌梗死重量/心脏重均下降 ($P < 0.05$)，冠心Ⅱ号高剂量组心肌梗死面积/心室面积、心肌梗死重量/心脏重均明显下降 ($P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠心肌梗死程度比较($\bar{x} \pm s$, %)

组别	鼠数	剂量 (g/kg)	心肌梗死面积 /心室面积	心肌梗死重量 /心脏重量
模型组	9	—	33.10±15.32	22.82±10.35
冠心Ⅱ号低剂量组	9	3	28.30±13.20*	19.30±9.23*
冠心Ⅱ号高剂量组	9	9	22.71±10.12**	15.21±7.33**

与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

3.2 冠心Ⅱ号对血清 VEGF、bFGF、BNP 含量的影响

表 2 示，与假手术组比较，模型组血清 VEGF、bFGF 和 BNP 含量均明显增加 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与模型组比较，冠心Ⅱ号高剂量组血清 VEGF 含量明显增加 ($P < 0.05$)，血清 BNP 含量明显下降 ($P < 0.05$)。

3.3 心肌梗死发生后血清 VEGF、bFGF 与 BNP 含量的相关性分析

表 3 示，假手术组血清 VEGF、bFGF、BNP 水平间均没有相关性 ($P > 0.05$)。模型组 VEGF 与 bFGF 含量呈正相关 ($P < 0.05$)，VEGF 与 BNP 含量呈负相关 ($P < 0.01$)，bFGF 与 BNP 含量呈负相关 ($P < 0.05$)。冠心Ⅱ号低剂量组和冠心Ⅱ号高剂量组 VEGF 与 bFGF 含量呈正相关 ($P < 0.05$)，VEGF 与 BNP 含量呈负相关性 ($P < 0.05$)，bFGF 与 BNP 含量呈负相关 ($P < 0.05$)。模型组、冠心Ⅱ号低剂量组和冠心Ⅱ号高剂量组综合分析，VEGF 与 bFGF 含量呈正相关 ($P < 0.05$)，VEGF 与 BNP 含量呈负相关 ($P < 0.01$)，bFGF 与 BNP 含量呈负相关 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠血清 VEGF、bFGF、BNP 含量比较($\bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	剂量 (g/kg)	VEGF (pg/ml)	bFGF (ng/ml)	BNP (ng/L)
假手术组	9	—	106.7±66.4	1.322±0.453	0.863±0.504
模型组	9	—	192.1±99.6**	1.924±0.978*	1.157±0.570*
冠心Ⅱ号低剂量组	9	3	201.1±55.3	1.928±0.421	1.015±0.550
冠心Ⅱ号高剂量组	9	9	272.3±111.7	2.063±0.352	0.634±0.332

与假手术组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，△ $P < 0.05$

表 3 各组大鼠血清 VEGF、bFGF 和 BNP 水平的相关性

组别	鼠数	剂量(g/kg)	VEGF 与 bFGF		VEGF 与 BNP		bFGF 与 BNP	
			P 值	相关系数 r	P 值	相关系数 r	P 值	相关系数 r
假手术组	9	—	>0.05	0.161	>0.05	0.233	>0.05	-0.219
模型组	9	—	<0.05	0.700	<0.01	-0.810	<0.05	-0.758
冠心Ⅱ号低剂量组	9	3	<0.05	0.586	<0.05	-0.688	<0.05	-0.632
冠心Ⅱ号高剂量组	9	9	<0.05	0.388	<0.05	-0.655	<0.05	-0.656
模型组加冠心Ⅱ号组	27	—	<0.05	0.595	<0.01	-0.807	<0.05	-0.659

4 讨论

VEGF 具有特异性促进血管内皮细胞增殖分裂、促进新生血管形成和侧枝循环开放等作用。心肌缺血时血清 VEGF 水平明显高于正常,成功血运重建后迅速下降,再次发生缺血后又迅速升高,因此,检测血清 VEGF 水平不仅可了解冠状动脉病变程度及心肌缺血程度,而且还可作为观察血运重建效果,了解有无急性闭塞、再狭窄等并发症的良好指标^[4]。bFGF 是纤维生长因子(FGF)家族中的重要成员,在某些病理情况下细胞的完整性遭到破坏,就可使储存形式的 bFGF 释放出来,促进血管新生,并参加组织的修复过程。bFGF 有两个主要功能,诱导内皮细胞萌芽、增殖,增加血管通透性^[5]。VEGF 和 bFGF 发挥作用时具有协同机制,可以共同促进侧枝循环,改善供血^[6,7],用两者共同刺激体外培养的毛细血管内皮细胞,在同样的条件下,其细胞数目要比单独用任何一种时多 2~8 倍^[8,9]。BNP 是来自脑和心室的 32 个氨基酸多肽,在血中以 4KD 和 10KD 两种形式存在,主要促进尿和尿钠的排泄和血管扩张。在心力衰竭发生早期便开始增加,而且其增加的程度和心力衰竭的严重度成正比,和射血分数成反比,并随治疗有效而下降。BNP 是预测心力衰竭存在与否的单个较好指标,对于人体来说,BNP 在大于 100pg/ml 时的敏感性为 90%,特异性为 76%^[10]。

本研究结果发现,与模型组相比,冠心Ⅱ号显著减少心肌梗死面积,降低血清 BNP,增加 VEGF 和 bFGF 值的作用。表明冠心Ⅱ号治疗心肌梗死可能与促进 VEGF、bFGF 生成,进而刺激体内血管形成内皮再生,促进侧枝循环和调节血管通透性有关^[11]。

将血清学指标进行相关性分析,发现模型组和冠心Ⅱ号高剂量组血清 VEGF 与 bFGF 含量呈正相关,而与血清 BNP 含量均呈负相关,提示 VEGF 与 bFGF 有可能反映心肌缺血后发生心力衰竭的潜在危险性,具有进一步研究的价值。分组分析时模型组和冠心Ⅱ号高、低剂量组中 3 个指标之间具有相关性,而假手术组 3 个指标之间没有任何相关性,提示正常机体三者含量可能并不相关,心肌梗死发生后机体产生应答才可能引起三者相应的发生变化。

参考文献

[1]李连达,靖雨珍.中医药研究.北京:科学技术出版社,2001:365~370.

[2]徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学.3版.北京:人民卫生出版社,2002:1042~1052.

[3]邓海平,沈雪勇,丁光宏,等.太渊穴自发红外辐射与肺功能的相关性分析.中医杂志,2007,48(1):47~49.

[4]韦方,耿庆山,周钢,等.冠心病患者血清血管内皮生长因子水平与冠状动脉病变程度的关系.临床心血管病杂志,2003,19(3):132~133.

[5]Yamada H, Yamada E, Kwak N, et al. Cell injury unmarks latent proangiogenic phenotype in mice with increased expression of FGF2 in the retina. J Cell Physiol, 2000,185(1):135~142.

[6]Wakisaka N, Pagano JS. Epstein-Barr virus induces invasion and metastasis factors. Anticancer Res,2003,23(3A):2133~2138.

[7]Eriksson K, Magnusson P, Dixelius J, et al. Angiostatin and endostatin inhibit endothelial cell migration in response to FGF and VEGF without interfering with specific intracellular signal transduction pathways. FEBS Lett, 2003,536(1~3):19~24.

[8]Pepper MS, Mandriota SJ, Jeltsch M, et al. Vascular endothelial growth factor(VEGF)-C synergizes with basic fibroblast growth factor and VEGF in the induction of angiogenesis in vitro and alters endothelial cell extracellular proteolytic activity. J Cell Physiol, 1998,177(3):439~452.

[9]Saadeh PB, Mehrara BJ, Steinbrech DS, et al. Mechanisms of fibroblast growth factor-2 modulation of vascular endothelial growth factor expression by osteoblastic cell. Endocrinology, 2000,14(6):2075~2083.

[10]周新,徐植光主编.临床生物化学和生物化学检验.3版.北京:人民卫生出版社,2005:303.

[11]郝亚荣,李建军,江洪,等.冠心病患者血清 VEGF 水平的研究.心脏杂志,2004,16(4):339~341.

(收稿日期:2008-06-02;修回日期:2008-08-15)
[编辑:崔京艳]

更正 本刊2008年第7期第589页《门成福治疗妇科病经验》一文作者赵继红单位应为“洛阳市第一中医院”;2008年8期第715页标题和摘要中“益气调血,扶本培元”应为“益气调血,扶本培元”,特此更正,并向作者及读者致歉。