

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.22.014

# 参葵通脉颗粒对慢性心力衰竭模型大鼠心肌超微结构及线粒体动力学的影响

严士海, 田磊, 周仲瑛, 李七一\*

(南京中医药大学附属医院, 江苏省南京市汉中路 155 号, 210029)

**摘要** 目的 探讨参葵通脉颗粒治疗慢性心力衰竭的可能作用机制。方法 采用腹主动脉缩窄法制备慢性心力衰竭大鼠模型, 40 只造模成功大鼠随机分为模型组、阳性药组和中药低、中、高剂量组, 每组 8 只, 另以 8 只正常大鼠为假手术组。造模 8 周后, 中药低、中、高剂量组分布给予参葵通脉颗粒 4.32、8.64、17.28 g/(kg·d) 灌胃, 阳性药组给予盐酸贝那普利片 0.9 mg/(kg·d) 灌胃, 假手术组和模型组给予蒸馏水 10 ml/(kg·d) 灌胃。各组均灌胃 4 周后, 检测各组大鼠心功能指标及血清血管紧张素 II (Ang II) 水平, 计算左心室指数 (LVMI), 电镜检测心肌超微结构, 检测心肌组织动力相关蛋白 1 (Drp-1)、分裂蛋白 1 (Fis-1)、融合蛋白 2 (Mfn 2)、视神经萎缩蛋白 1 (Opa 1) 蛋白表达及腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK)、过氧化物酶体增殖剂激活受体 (PPAR $\alpha$ ) mRNA 表达。结果 与假手术组比较, 模型组大鼠心功能及心肌超微结构损伤, 血清 Ang II 水平升高, 心肌组织 Drp-1、Fis-1 蛋白表达增加, Mfn 2、Opa 1 蛋白表达及 PPAR $\alpha$  mRNA 降低 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 中药各剂量组上述指标均有一定程度改善, 且以中药高剂量组效果最佳 ( $P < 0.05$ )。结论 参葵通脉颗粒对慢性心力衰竭模型大鼠心肌线粒体损伤有良好的改善作用, 这可能是其治疗慢性心力衰竭的机制之一。

**关键词** 慢性心力衰竭; 参葵通脉颗粒; 心功能; 血管紧张素 II; 超微结构; 线粒体动力学

慢性心力衰竭 (chronic heart failure, CHF) 是多种心脏疾病导致的心脏结构或功能异常, 使心室充盈或泵血障碍, 以乏力、呼吸困难和液体潴留为主要临床表现的复杂综合征。CHF 发病率高、预后差, 当前全世界 CHF 患者数量高达 2250 万, 并且正以每年 200 万左右的速度快速增长, 心力衰竭患者 5 年的存活率相当于恶性肿瘤<sup>[1-3]</sup>。近年来随着中医药在该领域的使用, 其在稳定 CHF 患者病情、降低住院率、提高生活质量等方面表现出越来越多的优势<sup>[4]</sup>。参葵通脉颗粒是根据国医大师周仲瑛教授治疗 CHF 的临床经验而创制的院内制剂, 临床研究结果显示, 参葵通脉颗粒治疗 CHF 安全、有效, 可改善心功能, 抗氧化应激<sup>[5]</sup>。本研究探讨参葵通脉颗粒对 CHF 大鼠模型心肌线粒体及其代谢动力学紊乱的影响, 为其进一步开发应

用提供实验依据。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 100 只, 12 周龄, 体重 (220 ± 20) g, 扬州大学比较医学中心提供, 实验动物许可证号: SCXK (苏) 2017-0007。饲养于江苏省药理实验室 SPF 动物饲养室, 室温 (22 ± 2) °C, 常规饲料喂养, 自由饮水, 12 h 光照, 室温 22 ~ 24 °C, 相对湿度 40% ~ 50%。适应性饲养 1 周后进行试验。

### 1.2 药物

参葵通脉颗粒组成: 炙黄芪 20 g, 灵芝 20 g, 淫羊藿 10 g, 桂枝 10 g, 丹参 10 g, 黄蜀葵 10 g, 茯苓 10 g, 陈皮 6 g。颗粒剂由江苏省中医院制剂部生产, 批号: 20171012。盐酸贝那普利片 (洛汀新), 北京诺华制药有限公司生产, 批号: X2632。

### 1.3 主要试剂及仪器

戊巴比妥钠 (批号: 57330), MERCK 公司; 青霉素粉针剂 (批号: B60608), 山东鲁抗医药股

基金项目: 全国名老中医药传承工作室建设项目 (2012); 江苏省“六大人才高峰”高层次人才选拔培养资助计划 (WSN-Q57); 江苏省中医院博士项目基金 (Y17019)

\* 通讯作者: 1123639263@qq.com, (025) 86617141 转 50308

份有限公司; 血管紧张素 II (Ang II) 检测试剂盒 (批号: 20170426BN), 购自 R&D 公司; 2.5% 戊二醛 (批号: 20150812), 成都市科龙化工试剂厂; 10% 锇酸 (批号: 20160802), 上海榕柏生物技术有限公司; 甲苯胺蓝 (批号: 20160404), Amresco 公司; 兔抗大鼠动力相关蛋白 1 (Drp-1, 批号: GR3208156-2)、融合蛋白 2 (Mfn 2, 批号: GR314342-3)、视神经萎缩蛋白 1 (Opa 1, 批号: GR165633-1) 单克隆抗体、兔抗大鼠分裂蛋白 1 (Fis-1, 批号: GR316029-1) 多克隆抗体, 购自 Abcam 公司; RNA 提取试剂盒 (批号: 20170421), 天根生化科技有限公司; 逆转录试剂盒 (批号: 7E282C8), 南京诺唯赞生物科技有限公司。

PE-50 聚乙烯导管, 英国 Smiths Medical 公司; 压力换能器输入生理多道仪, 美国 BIOPAC 公司; V 型超薄切片机, 瑞典 LKB 公司; JEM-2100F 型电镜, 日本电子株式会社; HX-300S 型动物呼吸机, 成都泰盟科技有限公司; CS-SP5 型共聚焦显微镜, 德国蔡司公司; 164-5051 型电泳仪, 美国 Bio-Rad 公司; UV-2450/2550 型紫外-可见分光光度计, 日本岛津公司; Microfuge 20/20R 型低温离心机, 美国贝克曼公司。

#### 1.4 造模方法

参考课题组前期实验方法<sup>[5-6]</sup>, 采用肾上腹主动脉缩窄法建立 CHF 大鼠模型, 使大鼠腹主动脉直径减少 40%~60%。另取同源 SD 大鼠作为假手术组, 该组仅游离腹主动脉但不缩窄, 其他操作与手术组相同。每日腹腔注射青霉素  $8 \times 10^4$  U/只, 连续 3 天, 预防感染。

#### 1.5 分组与给药

40 只造模成功大鼠采用随机数字表法分为模型组、阳性药组和中药低、中、高剂量组, 每组 8 只, 另取 8 只正常大鼠设为假手术组。造模 8 周后, 中药低、中、高剂量组分别给予参芪通脉颗粒 4.32、8.64、17.28 g/(kg·d) 灌胃, 剂量分别为人临床等效剂量的 1/2、1、2 倍。阳性药组给予盐酸贝那普利片 0.9 mg/(kg·d) 灌胃, 剂量为人临床等效剂量。假手术组和模型组给予蒸馏水 10 ml/(kg·d) 灌胃。各组均灌胃 4 周。

#### 1.6 观察指标及方法

1.6.1 大鼠一般状态 每日定时观察大鼠的生存状态, 如进食、进水、体重、呼吸、活动、精神、大便、小便和皮毛等。

1.6.2 心功能检测 禁食不禁水过夜, 末次灌胃后 2 h 称重, 1.0% 戊巴比妥液 (40 mg/kg) 腹腔内注射麻醉, 仰卧且四肢固定于手术台, 常规备皮、消毒。切开颈正中皮肤, 分离气管并插管, 连接 HX-300S 型动物呼吸机。钝性分离右颈动脉, 插入充满肝素生理盐水的 PE-50 聚乙烯导管, 缓缓插入至心室腔, 另一端接压力换能器输入生理多道仪系统, 记录大鼠左心室收缩压 (LVSP)、左心室舒张期末压 (LVEDP)、左心室内压最大上升速率、左心室内压最大下降速率。

1.6.3 血清 Ang II 水平 腹主动脉取血分离血清, 采用酶联免疫法 (ELISA 法) 检测, 按照试剂盒说明书进行检测。

1.6.4 左心室质量指数 (LVMI) 及心肌细胞线粒体的结构变化 迅速开胸取出心脏, 冰生理盐水洗净, 滤纸吸干, 沿房室沟剪掉两心房, 剪掉主、肺动脉, 紧贴室间隔右侧剪下右心室游离壁, 剩余部分即为左心室。称取左心室质量, 计算左心室质量/体质量, 即 LVMI。于左心室中部沿横轴切取 0.5 cm 厚的心肌组织置于 4% 多聚甲醛中以便包埋, 切片厚度 4  $\mu$ m, 用于染色。大鼠心尖部内膜面心肌, 2.5% 戊二醛固定, 10% 锇酸后固定, 逐级丙酮脱水, 包埋, 半薄切片, 甲苯胺蓝染色, 用超薄切片机作超薄切片, 醋酸铀和柠檬铅电子染色, 电镜观察、摄片, 观察心肌线粒体结构及病变程度。

1.6.5 心肌组织 Drp-1、Fis-1、Mfn 2、Opa 1 表达 其余左心室组织切成小块包于无菌锡纸并立即放入液氮速冻 24 h 后置 -80℃ 贮藏, 用于 Western blot 法检测。严格按试剂盒提示提取心脏总蛋白, 采用 BCA 法定量蛋白, 采用凝胶图像分析软件 (Image Lab 3.0) 进行吸光度分析, 将 Drp-1、Fis-1、Mfn 2、Opa 1 蛋白条带的吸光度与  $\beta$ -actin 比值作为信号强弱比较。

1.6.6 心肌组织腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK)、过氧化物酶体增殖剂激活受体  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) mRNA 表达 采用实时定量聚合酶链反应 (Real time PCR) 检测, 按总 RNA 提取试剂盒说明提取总 RNA, 然后按照试剂盒说明逆转录出 cDNA, 以 cDNA 为模板进行扩增检测。基因引物由 Invitrogen 公司设计, AMPK: 上游 5'-GTGGCTTATCATCT-CATCATTG-3', 下游 5'-ATTTGGGCTTAGTTGTGTTG-5', 扩增片段长度 217bp; PPAR $\alpha$ : 上游 5'-AAG-GCTGCAAGGGCTTCTTTTCG-3', 下游 5'-ACGGACAG-

GCACTTGTGGAAC-3, 扩增片段长度 133bp;  $\beta$ -actin: 上游 5-GTCGGTGTGAACGGATTTC-3, 下游 5-TCCCATTCTCAGCCTTGAC-3, 扩增片段长度 181bp。采用计算  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  的方法分析目的基因的相对表达量。

### 1.7 统计学方法

采用 SPSS 17.0 分析软件包, 计量资料采用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠一般状态结果

假手术组大鼠一般情况较好, 毛色白、光滑, 活动力正常, 尾巴、足趾部皮肤粉红色。模型组大鼠一般情况差, 表现为鼠毛蓬松、稀疏、干燥无光泽, 活动力降低, 呼吸急促, 怕冷、挤作一团, 尾巴、足趾部皮肤紫绀, 肢体头面部水肿; 各用药组大鼠症状相对模型组减轻。

### 2.2 各组大鼠心功能指标比较

表 1 示, 与假手术组比较, 模型组大鼠 LVEDP 升高, LVSP、左心室内压最大上升速率、左心室内压最大下降速率降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 中药各剂量组和阳性药组大鼠 LVEDP 显著降低, LVSP、左心室内压最大上升速率、左心室内压最大下降速率显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与阳性药组比较, 中药低剂量组 LVEDP、左心室内压最大上升速率、左心室内压最大下降速率差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 中药中剂量组各指标差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。中药高剂量组 LVEDP 低于阳性药组, LVSP、左心室内压最大上升速率、左心室内压最大下降速率高于阳性药组 ( $P < 0.05$ )。中药中、高剂量组 LVEDP、左心室内压最大上升速率、左心室内压最大下降速率与中药低剂量组比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 各组大鼠 LVMI 与血清 Ang II 水平比较

表 2 示, 与假手术组比较, 模型组大鼠 LVMI、AngII 显著增加 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 中药各剂量组 LVMI 显著降低, 中药中、高剂量组 AngII 降低, 阳性药组 LVMI、Ang II 均降低 ( $P < 0.05$ ); 与阳性药组比较, 中药低、中、高剂量组血清 AngII 水平均升高 ( $P < 0.05$ )。

表 2 各组大鼠 LVMI 与血清 Ang II 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | 鼠数 | LVMI (mg/g)              | Ang II (ng/L)               |
|--------|----|--------------------------|-----------------------------|
| 假手术组   | 8  | 1.93 $\pm$ 0.15          | 52.66 $\pm$ 12.58           |
| 模型组    | 8  | 2.52 $\pm$ 0.24*         | 226.35 $\pm$ 41.96*         |
| 中药低剂量组 | 8  | 2.09 $\pm$ 0.14 $\Delta$ | 198.34 $\pm$ 39.64 $\Delta$ |
| 中药中剂量组 | 8  | 2.01 $\pm$ 0.18 $\Delta$ | 174.23 $\pm$ 32.57 $\Delta$ |
| 中药高剂量组 | 8  | 1.97 $\pm$ 0.15 $\Delta$ | 162.64 $\pm$ 30.32 $\Delta$ |
| 阳性药组   | 8  | 2.01 $\pm$ 0.10 $\Delta$ | 89.42 $\pm$ 17.63 $\Delta$  |

注: LVMI, 左心室质量指数; Ang II, 血管紧张素 II; 与假手术组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ; 与阳性药组比较,  $\Delta P < 0.05$

### 2.4 各组大鼠心肌超微结构比较

假手术组心肌线粒体双层膜清楚, 肌节排列整齐, 横纹清楚, 明带、暗带清晰可见; 模型组心肌线粒体超微结构可见明显空泡化, 部分双层膜融合, 模糊不清, 可见扩张的肌浆网终池, 肌原纤维紊乱, 闰盘扭曲紊乱; 阳性药组心肌线粒体轻度水肿, 部分嵴融合模糊不清, 或断裂、缺失, 肌浆网终池扩张, 程度较模型组轻; 中药各剂量组心肌线粒体轻度水肿, 部分嵴模糊不清, 或断裂、缺失, 可见扩张的肌浆网终池, 病变较模型组轻, 且随剂量增加, 病变程度越轻。

### 2.5 各组大鼠心肌组织 Drp-1、Fis-1、Mfn 2、Opa 1 蛋白表达比较

表 3 示, 与假手术组比较, 模型组大鼠心肌组织 Drp-1、Fis-1 蛋白表达增加, Mfn 2、Opa 1 蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 中药各剂量组和阳性药组大鼠心肌组织 Drp-1、Fis-1 蛋白表

表 1 各组大鼠心功能指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | 鼠数 | LVSP (mmHg)                 | LVEDP (mmHg)              | 左心室内压最大上升速率 (mmHg/s)          | 左心室内压最大下降速率 (mmHg/s)          |
|--------|----|-----------------------------|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 假手术组   | 8  | 122.25 $\pm$ 6.63           | 3.06 $\pm$ 0.64           | 4065.96 $\pm$ 187.31          | 3328.88 $\pm$ 165.85          |
| 模型组    | 8  | 81.38 $\pm$ 10.56*          | 17.14 $\pm$ 1.65*         | 2094.12 $\pm$ 242.53*         | 1566.19 $\pm$ 178.49*         |
| 中药低剂量组 | 8  | 95.50 $\pm$ 10.84 $\Delta$  | 14.67 $\pm$ 2.49 $\Delta$ | 2559.93 $\pm$ 212.76 $\Delta$ | 1995.88 $\pm$ 152.63 $\Delta$ |
| 中药中剂量组 | 8  | 107.13 $\pm$ 13.84 $\Delta$ | 7.34 $\pm$ 1.01 $\Delta$  | 3062.74 $\pm$ 297.72 $\Delta$ | 2890.43 $\pm$ 221.48 $\Delta$ |
| 中药高剂量组 | 8  | 110.63 $\pm$ 8.38 $\Delta$  | 6.48 $\pm$ 1.14 $\Delta$  | 3286.44 $\pm$ 112.90 $\Delta$ | 2992.60 $\pm$ 163.48 $\Delta$ |
| 阳性药组   | 8  | 107.50 $\pm$ 11.83 $\Delta$ | 7.95 $\pm$ 0.49 $\Delta$  | 2795.30 $\pm$ 210.49 $\Delta$ | 2749.80 $\pm$ 200.10 $\Delta$ |

注: LVSP, 左心室收缩压; LVEDP, 左心室舒张期末压; 与假手术组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ; 与阳性药组比较,  $\Delta P < 0.05$ ; 与中药低剂量组比较, #  $P < 0.05$

表 3 各组大鼠心肌组织 Drp-1、Fis-1、Mfn 2、Opa 1 蛋白表达比较 ( $\beta$ -actin,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | 鼠数 | Drp-1                  | Fis-1                   | Mfn 2                   | Opa 1                  |
|--------|----|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| 假手术组   | 3  | 0.37 ± 0.06            | 0.23 ± 0.06             | 1.63 ± 0.15             | 0.90 ± 0.10            |
| 模型组    | 3  | 1.63 ± 0.15*           | 1.50 ± 0.10*            | 0.07 ± 0.03*            | 0.06 ± 0.04*           |
| 中药低剂量组 | 3  | 1.23 ± 0.06 $\Delta$ ▲ | 1.17 ± 0.06 $\Delta$ ▲  | 0.22 ± 0.10 $\Delta$ ▲  | 0.19 ± 0.05 $\Delta$ ▲ |
| 中药中剂量组 | 3  | 0.73 ± 0.06 $\Delta$ # | 0.80 ± 0.10 $\Delta$ ▲# | 0.73 ± 0.06 $\Delta$ ▲# | 0.27 ± 0.06 $\Delta$   |
| 中药高剂量组 | 3  | 0.57 ± 0.15 $\Delta$ # | 0.50 ± 0.10 $\Delta$ ▲# | 1.03 ± 0.15 $\Delta$ ▲# | 0.33 ± 0.06 $\Delta$ # |
| 阳性药组   | 3  | 0.53 ± 0.15 $\Delta$   | 0.47 ± 0.06 $\Delta$    | 0.67 ± 0.15 $\Delta$    | 0.47 ± 0.15 $\Delta$   |

注: Drp-1, 动力相关蛋白 1; Mfn 2, 融合蛋白 2; Opa 1, 视神经萎缩蛋白 1; Fis-1, 分裂蛋白 1; 与假手术组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ; 与阳性药组比较, ▲  $P < 0.05$ ; 与中药低剂量组比较, #  $P < 0.05$ ; 与中药中剂量组比较, ☆  $P < 0.05$

达下降, Mfn 2、Opa 1 蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ )。与阳性药组比较, 中药低剂量组 Drp-1、Fis-1 蛋白表达增加, Mfn 2、Opa 1 蛋白表达降低, 中药中剂量组 Fis-1、Mfn 2 升高, 中药高剂量组 Mfn 2 升高 ( $P < 0.05$ )。与中药低剂量组比较, 中药中剂量组 Drp-1、Fis-1、Mfn 差异有统计学意义, 中药高剂量组 Drp-1、Fis-1、Mfn 2、Opa 1 蛋白表达差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与中药中剂量组比较, 中药高剂量组 Fis-1、Mfn 2 蛋白表达差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

## 2.6 各组大鼠心肌组织 AMPK、PPAR $\alpha$ mRNA 表达比较

表 4 示, 与假手术组比较, 模型组 AMPK mRNA 升高, PPAR $\alpha$  mRNA 显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 中药各剂量组及阳性药组 AMPK、PPAR $\alpha$  mRNA 都显著增加 ( $P < 0.05$ )。与阳性药组比较, 中药高剂量组 AMPK mRNA 增加 ( $P < 0.05$ ); 与中药低剂量组比较, 中药中、高剂量组 PPAR $\alpha$  mRNA 亦增加 ( $P < 0.05$ )。

表 4 各组大鼠心肌组织 AMPK、PPAR $\alpha$  mRNA 表达比较 ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | 鼠数 | AMPK                   | PPAR $\alpha$          |
|--------|----|------------------------|------------------------|
| 假手术组   | 3  | 1.00 ± 0.11            | 1.01 ± 0.14            |
| 模型组    | 3  | 1.61 ± 0.16*           | 0.24 ± 0.07*           |
| 中药低剂量组 | 3  | 2.33 ± 0.38 $\Delta$   | 0.48 ± 0.07 $\Delta$   |
| 中药中剂量组 | 3  | 2.78 ± 0.68 $\Delta$   | 0.70 ± 0.11 $\Delta$ # |
| 中药高剂量组 | 3  | 3.14 ± 0.59 $\Delta$ ▲ | 0.76 ± 0.12 $\Delta$ # |
| 阳性药组   | 3  | 2.06 ± 0.21 $\Delta$   | 0.65 ± 0.13 $\Delta$   |

注: AMPK, 腺苷酸活化蛋白激酶; PPAR $\alpha$ , 过氧化物酶体增殖剂激活受体  $\alpha$ ; 与假手术组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ; 与阳性药组比较, ▲  $P < 0.05$ ; 与中药低剂量组比较, #  $P < 0.05$

## 3 讨论

国医大师周仲瑛提出 CHF 治疗应当辨别虚实标本, 治脏腑应以心为主而兼顾他脏, 祛邪勿忘化

痰祛瘀和调理气机<sup>[5]</sup>。CHF 发病多为各种原发病直接或间接损伤心主血的功能, 导致心气不足, 心阳不振, 血脉瘀阻, 以致心血不畅, 肺失肃降, 脾运不健, 肾虚失纳, 肝失疏泄等多脏同病, 导致瘀阻水停。由于气 (阳) 虚血滞, 脏腑气化功能障碍, 水液输布排泄失常, 必致体内水湿痰饮潴留, 但尤以血瘀为其主要病理因素, 如《金匱要略·水气篇》曰“血不利则为水”, 而致本虚与标实互为因果, 故气 (阳) 亏虚、血瘀 (水停) 为其基本病机特点。参芪通脉颗粒方中炙黄芪益气养元、扶正祛邪、养心通脉、健脾利湿, 为补气要药。灵芝补气安神、止咳平喘, 用于心神不宁、失眠心悸、肺虚咳喘、虚劳短气、不思饮食等病症。炙黄芪与灵芝共为君药, 共奏补心气、安心神之功。淫羊藿与桂枝共为臣药, 淫羊藿性温不寒, 能益精气, 助真阳, 正合 CHF 心肾阳虚、失于温运的病机。桂枝既可温扶脾阳以助运水, 又可温肾阳、逐寒邪以助膀胱气化, 而行水湿痰饮之邪。丹参、黄蜀葵花、茯苓养血活血利水为佐。陈皮理气健脾, 燥湿化痰, 用于 CHF 之时水湿困脾之脘腹胀满, 促进诸药吸收, 为佐助药。诸药合用, 攻补兼施, 扶正不留邪, 祛邪不伤正。

本研究结果显示, 模型组大鼠出现怕冷、血瘀等症状, LVEDP 显著升高, LVSP、左心室内压最大上升速率、左心室内压最大下降速率显著降低, 提示 CHF 模型大鼠造模成功, 且具有中医气阳亏虚、血瘀水停证的特点。模型组大鼠 LVMI、AngII 水平亦显著增加, 提示 CHF 模型大鼠左心室增大, 神经内分泌紊乱, 这些与文献报道<sup>[6]</sup>一致。而给予参芪通脉颗粒各剂量药物干预后, 上述症状与指标都显著改善, 且以高剂量效果最佳。

线粒体是细胞内能量转换的场所, 其形态结构易受细胞内、外环境的影响而发生明显变化, 因此线粒体结构损伤是细胞病变或损伤时的敏感指标之一<sup>[7]</sup>。本研究中模型组大鼠心肌细胞线粒体结构

发生改变,提示 CHF 大鼠细胞能量代谢异常。与模型组比较,参葵通脉颗粒各剂量组线粒体损伤减轻,显示参葵通脉颗粒可能通过保护心肌线粒体,改善心肌能量代谢与心力衰竭。

线粒体是动态的细胞器,能通过裂解和融合而不断地改变其外形,可在长的相互连接的网络状和不连接的破碎的状态之间转换,这一动态平衡过程称为线粒体动力学<sup>[6]</sup>。Drp-1 和 Fis-1 是调节裂解的主要蛋白,Drp-1 是一种进化上保守的 GTP 酶,大约 97% 存在于细胞浆中,通过接头蛋白 Fis-1 定位于线粒体膜而发挥其裂解线粒体的功能;调节线粒体外膜融合的蛋白主要为 Mfn 2,而调节线粒体内膜融合的主要蛋白为 Opa 1<sup>[11-13]</sup>。研究结果显示,模型组 Drp-1、Fis-1 表达水平显著增加,Mfn 2、Opa 1 蛋白表达水平显著降低,说明心肌能量代谢紊乱。而各用药组均对心力衰竭心肌线粒体动力学紊乱具有良好的调控作用,且高剂量效果最佳。

AMPK 是一种分布于真核生物细胞中的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,与糖脂代谢密切相关,被称为“能量代谢感受器”,在心肌能量代谢调节方面起重要作用<sup>[14]</sup>。脂肪酸代谢中,AMPK 通过上调 PPAR $\alpha$  表达,调节脂肪酸代谢;AMPK 与 PPAR $\alpha$  构成 AMPK-PPAR $\alpha$  信号通路,对心肌能量代谢进行调控<sup>[15]</sup>。本研究发现,参葵通脉颗粒可以上调 AMPK、PPAR $\alpha$  信号的基因表达,改善线粒体代谢动力学,保护线粒体,抑制 CHF 心肌损伤。

综上所述,慢性 CHF 模型大鼠心肌线粒体损伤明显增加,参葵通脉颗粒对心肌线粒体损伤与代谢动力学紊乱具有良好的改善作用,这可能是其治疗 CHF 的机制之一。

## 参考文献

- [1] SHIMOKAWA H, MIURA M, NOCHIOKA K, et al. Heart failure as a general pandemic in Asia [J]. Eur J Heart Fail, 2015, 17(9): 884-892.
- [2] GEDELA M, KHAN M, JONSSON O. Heart failure [J]. S D Med, 2015, 68(9): 403-405, 407-409.
- [3] SUN J, ZHANG K, XIONG WJ, et al. Clinical effects of a standardized Chinese herbal remedy, Qili Qiangxin, as an adjuvant treatment in heart failure: systematic review and meta-analysis [J]. BMC Complement Altern Med,

2016, 16: 201. doi: 10.1186/s12906-016-1174-1.

- [4] 严士海,王道成,沈竹阳,等.参葵通脉颗粒治疗慢性心力衰竭气虚血瘀证 310 例临床观察 [J]. 中医杂志, 2018, 59(4): 316-319.
- [5] 苗梦露,李七一,严士海,等.抗心衰颗粒对心衰大鼠 RAAS 及心肌细胞内 TGF- $\beta$ 1 的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2013, 29(3): 247-250.
- [6] 朱林强,周永焯,谢晓明,等.大鼠腹主动脉缩窄术致大鼠慢性心衰的建模与体会 [J]. 现代医院, 2015, 15(10): 21-24.
- [7] 周仲瑛. 读经典,谈感悟 [J]. 南京中医药大学学报, 1997, 23(5): 273-277.
- [8] LIANG T, ZHANG Y, YIN S, et al. Cardio-protect effect of qiliqiangxin capsule on left ventricular remodeling, dysfunction and apoptosis in heart failure rats after chronic myocardial infarction [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(5): 2047-2058.
- [9] ZHANG K, ZHOU Q, GUO Y, et al. Mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes (MAMs) involve in the regulation of mitochondrial dysfunction and heart failure [J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2018, 50(6): 618-619.
- [10] NAN J, ZHU W, RAHMAN MS, et al. Molecular regulation of mitochondrial dynamics in cardiac disease [J]. Biochim Biophys Acta, 2017, 1864(7): 1260-1273.
- [11] RIBA A, DERES L, EROS K, et al. Doxycycline protects against ROS-induced mitochondrial fragmentation and ISO-induced heart failure [J]. PLoS One, 2017, 12(4): e0175195.
- [12] GIVVIMANI S, PUSHPAKUMAR S, VEERANKI S, et al. Dysregulation of Mfn2 and Drp-1 proteins in heart failure [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2014, 92(7): 583-591.
- [13] GIVVIMANI S, PUSHPAKUMAR SB, METREVELI N, et al. Role of mitochondrial fission and fusion in cardiomyocyte contractility [J]. Int J Cardiol, 2015, 187: 325-333. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.03.352.
- [14] FENG Y, ZHANG Y, XIAO H. AMPK and cardiac remodeling [J]. Sci China Life Sci, 2018, 61(1): 14-23.
- [15] 赛庆彬,马延超,朱荣.有氧运动抑制心力衰竭大鼠心脏脂质沉积: AMPK-PPAR $\alpha$  信号通路的作用 [J]. 中国运动医学杂志, 2012, 31(12): 1081-1086.

# Effects of *Shenkui Tongmai Granules* (参葵通脉颗粒) on Myocardial Ultrastructure and Mitochondrial Dynamics in Chronic Cardiac Failure Model Rats

YAN Shihai, TIAN Lei, ZHOU Zhongying, LI Qiyi

(Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029)

**ABSTRACT Objective** To explore the probable mechanism of *Shenkui Tongmai Granules* (参葵通脉颗粒) in treating chronic heart failure. **Methods** Rat models of chronic cardiac failure were prepared by abdominal aortic coarctation. A total of 40 rats with successful modeling were randomly divided into model group, positive drug group and traditional Chinese medicine (TCM) low, medium and high dose groups, with 8 rats in each group. Another 8 normal rats were used as sham operation group. After 8 weeks of modeling, the low, medium and high doses of TCM groups were administered with 4.32, 8.64, and 17.28 g/(kg·d) *Shenkui Tongmai Granules* respectively, and the positive drug group was given 0.9 mg/(kg·d) benazepril tablet for gavage administration. The sham operation group and model group were given 10 ml/(kg·d) distilled water. After 4 weeks of gavage, the cardiac function indexes and serum angiotensin II (Ang II) levels were measured in each group. The left ventricular index (LVMI) was calculated. The myocardial ultrastructure was detected by electron microscopy. The dynamin-related protein 1 (Drp1), mitochondrial fission 1 protein (Fis-1), mitofusin 2 (Mfn 2), optic atrophic protein 1 (Opa 1) protein expression and adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK), peroxisome proliferation agent activating receptor- $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) mRNA expression were detected. **Results** Compared with the sham operation group, the cardiac function and myocardial ultrastructural damage, serum Ang II level increased, myocardial tissue Drp-1 and Fis-1 protein expression increased, while Mfn 2, Opa 1 protein expression and PPAR $\alpha$  mRNA decreased in the model group ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the above-mentioned indicators of high, medium and low dose TCM groups improved, and the effect was best in the high TCM dose group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** *Shenkui Tongmai Granules* can improve the myocardial mitochondrial damage in rats with chronic heart failure, which may be one of the mechanisms for the treatment of chronic cardiac failure.

**Keywords** chronic cardiac failure; *Shenkui Tongmai Granules*; cardiac function; angiotensin II; ultrastructure; mitochondrial dynamics

(收稿日期: 2018-04-28; 修回日期: 2018-07-17)

编辑: 邓 媛

## 欢迎邮购 《中医杂志》 过刊

1985、1987、1988、1989、1990、1992、1993、1994、1995、1996、1998、1999、2000、2001 年合订本, 每本 100 元, 2002 年合订本 105 元, 2003 年合订本 105 元, 2004 年合订本 115 元, 2005 年合订本 125 元, 2007—2010 年合订本每年 140 元。2011(缺 5、6 期)—2013 年每册 9.80 元, 2014(缺 21 期)—2017 年(缺 3、5、15、18 期) 每册 15 元, 2018 年每册 20 元(缺 5、7、9 期)。2011—2013 年合订本(每年 4 本), 每年 280 元, 2014、2015、2016、2017 年合订本(每年 4 本), 每年 400 元。2018 年上半年合订本, 300 元(共 2 本)。《中医杂志》2006—2008 年增刊每册 40 元。以上免费邮寄, 如需挂号每件另加 3 元。

欲购者请汇款至北京市东直门内南小街 16 号, 收

款人: 中医杂志社, 或关注《中医杂志》官方微信 (zyzzgzh) 购买。

邮编: 100700, 电话: (010) 64089195。

## 欢迎邮购 《中医杂志》光盘合订本

1951—1986 年(4 张光盘) 480 元; 1987—1994 年(1 张光盘) 260 元; 1995—2004 年(1 张光盘) 280 元; 2005—2013 年(1 张光盘) 300 元。

光盘合订本为计算机用数据光盘, 收入了同期出版的全部《中医杂志》内容, 可对所有文章进行任意字检索, 方便实用。

汇款地址: 北京东直门内南小街 16 号中医杂志社  
北京医海林音像书店, 邮政编码: 100700

电话: (010) 64035632

网址: <http://www.jtcm.net.cn>