

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2015.23.020

冠心舒通胶囊对慢性心力衰竭大鼠心肌能量代谢的影响

张 艳^{*}, 刘秀娜², 王 懿², 王思尹², 宫丽鸿¹

(1. 辽宁中医药大学附属医院, 辽宁省沈阳市皇姑区崇山东路 72 号, 110032; 2. 辽宁中医药大学)

摘要 目的 观察冠心舒通胶囊对心肌梗死后慢性心力衰竭大鼠心肌能量代谢的影响及可能机制。方法 80 只 SD 大鼠随机选取 20 只作为空白组, 余采用左冠状动脉前降支结扎法配合力竭式游泳及节食方法复制慢性心力衰竭大鼠模型。将造模成功的大鼠随机分为模型组、西药组、冠心舒通胶囊组。造模后西药组给予赖诺普利片 1.5 mg/(kg·d) 灌胃, 冠心舒通胶囊组给予冠心舒通胶囊 10.0 g/(kg·d) 灌胃, 空白组和模型组分别给予等容积蒸馏水 3 ml/次灌胃, 均每日 1 次。持续 28 天后, 测定各组大鼠血浆 B 型尿钠肽 (BNP)、三磷酸腺苷 (ATP) 浓度, 测定心肌组织过氧化物酶体增殖活化受体 γ 辅助活化因子 1 α (PGC-1 α)、核呼吸因子 1 (NRF-1)、线粒体转录因子 A (mtTFA) 基因和蛋白表达。结果 与空白组比较, 模型组、西药组、冠心舒通胶囊组血浆 BNP 水平升高, 血浆 ATP 浓度和心肌组织 PGC-1 α 、NRF-1、mtTFA mRNA 及蛋白表达降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 西药组、冠心舒通胶囊组血浆 BNP 水平降低, 而 ATP 浓度、PGC-1 α 、NRF-1、mtTFA mRNA 及蛋白表达均升高 ($P < 0.05$), 并且西药组、冠心舒通胶囊组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 冠心舒通胶囊可能通过激活与心肌能量代谢有关的 PGC-1 α 、NRF-1、mtTFA 因子, 增加线粒体的产能, 从而改善和纠正心力衰竭。

关键词 慢性心力衰竭; 冠心舒通胶囊; 心肌组织; 能量代谢

慢性心力衰竭 (chronic heart failure, CHF) 是多种心脏病发展的终末阶段, 目前仍以药物治疗为主, 起搏器、干细胞移植等治疗费用昂贵, 难以推广应用。中医药在治疗 CHF 方面有了一定进展, 并且疗效显著^[1-2]。有研究显示, 能量代谢障碍是贯穿于心脏从代偿性肥大到衰竭的重要因素之一, 心肌线粒体产能的多少关系着心脏的泵血是否能够维持个体生命活动的进行^[3]。我们在临床应用冠心舒通胶囊治疗 CHF 有一定的疗效, 可明显改善患者症状, 提高生活质量^[4-5]。本研究通过观察冠心舒通胶囊对 CHF 大鼠心肌能量代谢的影响, 为其治疗 CHF 提供依据。

1 材料及方法

1.1 实验动物

SPF 级 12 周健康 SD 大鼠 80 只, 雄性, 体重 (250 ± 10) g, 由辽宁长生生物技术有限公司提

供, 实验动物许可证号: SCXK (辽) 2010-0001。

1.2 药物、试剂与仪器

赖诺普利片, 上海信谊万象药业股份有限公司, 每片 10 mg, 批号: H10960265; 冠心舒通胶囊 (其主要成分为广枣、丹参、丁香、冰片、天竺黄), 陕西步长制药有限公司, 每粒 0.3 g, 国药准字: Z20020055; 水合氯醛, 上海国药集团, 批号: 20131021; 青霉素钠, 华北制药集团有限责任公司, 批号: 030202659。DNAmaker (批号: GS101-01)、过氧化物酶体增殖活化受体 γ 辅助活化因子 1 α (PGC-1 α , 批号: RS-4832R)、核呼吸因子 1 (NRF-1, 批号: H00007791-PW1)、线粒体转录因子 A (mtTFA, 批号: 30029090) 试剂盒均购自于北京全式金生物技术有限公司; Trizol, Invitrogen 公司, 批号: R0016; B 型尿钠肽 (BNP)、三磷酸腺苷 (ATP) 试剂盒, 上海宸凛生物科技有限公司, 批号: CL20570、CL20992。HX-300 小动物呼吸机, 成都泰盟科技有限公司; 7500 型实时荧光定量 PCR 仪, 美国 Agilent 公司; 心电图机, 美国 GE 公司, 型号: CarclioSoft; 心脏彩超仪, 飞利浦

基金项目: 辽宁省沈阳市科技局应用基础研究项目 (F13-316-1-10)

* 通讯作者: yanzhang1016@126.com, 18102457306

公司, 型号: iu22。

1.3 模型制备

采用随机数字表法选取 20 只未予任何处理的正常大鼠为空白组, 余 60 只正常大鼠参照文献 [6-7] 制备 CHF 大鼠模型。适应性喂养 1 周后, 10% 水合氯醛 0.3 ml/100 g 腹腔麻醉大鼠, 将麻醉后大鼠取仰卧位于实验台固定好, 行经喉气管插管术连接小动物呼吸机 (频率为 80 次/min, 潮气量为 0.8 ml)。打开胸腔, 按照心脏的解剖特征在左心耳和肺动脉圆锥之间找到左冠状动脉前降支, 于其起源点下 2~4 mm 处用医用美容线结扎至周围心肌变白为度, 将心脏重置于胸腔, 逐层缝合肌层及皮肤, 恢复胸腔负压, 待动物能够自主呼吸后, 拔出气管插管针。连接心电图机, 胸导联显示 ST-T 段抬高为结扎成功。术后注射青霉素钠 3 万单位抗感染, 每天 1 次, 持续 3 天。常规喂养 5 天后, 将饲料减至常规喂养量的 1/2 使大鼠饥饿, 同时进行每天 1 次的力竭式游泳 (大鼠游泳时间随状态的变差, 力竭时间从初始 3 h 减少为 30 min), 持续 28 天。大鼠出现精神萎靡, 活动度减低, 毛色无光泽、脱毛, 甚者出现喉间哮喘音等体征, 经心脏彩超检测左室射血分数 (EF) $\leq 50\%$ 为 CHF 造模成功 [8]。

1.4 分组及给药

43 只造模成功的大鼠采用随机数字表法分为模型组 (14 只)、西药组 (14 只)、冠心舒通胶囊组 (15 只), 空白组留取 15 只以控制各组的样本量保持平衡状态。西药组给予赖诺普利片 1.5 mg/(kg·d) 灌胃, 每日 1 次; 冠心舒通胶囊组给予冠心舒通胶囊 10.0 g/(kg·d) 灌胃, 每日 1 次。造模后空白组和模型组分别给予常规等容积蒸馏水 3 ml/次灌胃, 每日 1 次。各组持续灌胃 28 天。

1.5 观察指标及方法

大鼠禁食不禁水 12 h, 腹主动脉取血, 以待测定 BNP、ATP 浓度; 取全心, 按实验检测要求平均分成两份于液氮中冷冻后在 -80°C 下保存待检, 实时荧光定量 PCR 技术和蛋白免疫印迹法

(Western blot) 测定 PGC-1 α 、NRF-1、mtTFA 基因和蛋白表达。操作步骤严格按照试剂盒说明书。基因与蛋白表达以光密度值的相对比值表示。

1.6 统计学方法

应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组间采用单因素方差分析进行统计, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

灌胃给药期间各组大鼠均出现死亡, 每组 10 只大鼠进入结果分析。

2.1 各组大鼠血浆中 BNP、ATP 浓度比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组、冠心舒通胶囊组和西药组大鼠血浆中 BNP 浓度升高、ATP 浓度减低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 冠心舒通胶囊组和西药组大鼠血浆中 BNP 浓度降低、ATP 浓度升高 ($P < 0.05$), 冠心舒通胶囊组和西药组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠血浆中 BNP、ATP 浓度比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	BNP (pg/ml)	ATP (U/mg prot)
空白组	10	215.97 $\pm$ 14.74	4.12 $\pm$ 0.78
模型组	10	499.07 $\pm$ 52.85*	0.97 $\pm$ 0.29*
冠心舒通胶囊组	10	328.52 $\pm$ 27.63* Δ	2.32 $\pm$ 0.37* Δ
西药组	10	324.27 $\pm$ 29.78* Δ	2.01 $\pm$ 0.08* Δ

注: BNP, B 型尿钠肽; ATP, 三磷酸腺苷; 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

2.2 各组大鼠心肌组织 PGC-1 α 、NRF-1、mtTFA 表达比较

表 2 示, 与空白组比较, 模型组、冠心舒通胶囊组和西药组大鼠心肌组织中 PGC-1 α 、NRF-1、mtTFA mRNA 及蛋白表达均降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 冠心舒通胶囊组和西药组大鼠心肌组织中 NRF-1、mtTFA、PGC-1 α mRNA 及蛋白表达均升高 ($P < 0.05$), 冠心舒通胶囊组与西药组 PGC-1 α 、NRF-1、mtTFA mRNA 及蛋白表达组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 各组大鼠心肌组织中 NRF-1、mtTFA、PGC-1 α mRNA 及蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	NRF-1		mtTFA		PGC-1 α	
		mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
空白组	5	1.01 $\pm$ 0.07	0.75 $\pm$ 0.02	0.99 $\pm$ 0.05	1.00 $\pm$ 0.02	0.98 $\pm$ 0.05	0.80 $\pm$ 0.02
模型组	5	0.28 $\pm$ 0.06*	0.35 $\pm$ 0.02*	0.50 $\pm$ 0.04*	0.45 $\pm$ 0.02*	0.41 $\pm$ 0.04*	0.34 $\pm$ 0.02*
冠心舒通胶囊组	5	0.37 $\pm$ 0.08* Δ	0.55 $\pm$ 0.00* Δ	0.61 $\pm$ 0.09* Δ	0.72 $\pm$ 0.09* Δ	0.70 $\pm$ 0.16* Δ	0.67 $\pm$ 0.01* Δ
西药组	5	0.39 $\pm$ 0.05* Δ	0.57 $\pm$ 0.02* Δ	0.62 $\pm$ 0.06* Δ	0.78 $\pm$ 0.01* Δ	0.64 $\pm$ 0.17* Δ	0.64 $\pm$ 0.01* Δ

注: NRF-1, 核呼吸因子 1; mtTFA, 线粒体转录因子 A; PGC-1 α , 过氧化物酶体增殖活化受体 γ 辅助活化因子 1 α ; 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

3 讨论

中医学把 CHF 归属于“水肿”“胸痹”“悬饮”“水饮”“心水”等范畴。我们认为 CHF 病的发生为本虚标实证, 最终导致虚实夹杂的病证。其病位在心, 可累及肺脾肾, 发病机理以心肾气阴阳俱虚为本, 痰浊、水停、血瘀为标, 虽各家理解的侧重点不同, 但都认为 CHF 的发生与气虚、血瘀、水停有关^[8]。“气行则血行, 气滞则血瘀”, 冠心舒通胶囊具有活血行气、温阳止痛的功效, 方中广枣行气活血、养心安神, 丹参活血化瘀, 丁香温肾助阳, 冰片、天竺黄清热豁痰利水。诸药合用共奏化瘀行血、温阳止痛、行气之功效。为了明确其疗效机理和作用靶点, 我们从心肌代谢的主要指标入手, 研究冠心舒通胶囊在心肌能量代谢的机理。

文献研究证实, 心力衰竭时心肌内存在能量代谢障碍^[9]。BNP 是 CHF 的主要诊断及治疗指标, BNP 升高说明心力衰竭的存在, 临床中以 BNP 指标来判定心力衰竭的疗效^[10]。Garnier 等最先在心力衰竭模型中发现 PGC-1 α 表达的下降^[11], 随后又有研究发现其下游的 NRF-1、mtTFA 也会相应下降, 从另一个侧面反映出在心力衰竭时, 心肌内线粒体生物过程中出现了 PGC-1 α 、NRF-1、mtTFA 整条通路的下降^[12]。PGC-1 α 是细胞内线粒体基因表达的重要中间因子, 其可以控制核膜和线粒体膜的基因表达而被认为是调控心肌线粒体生化的重要因子^[13]。NRF-1 在线粒体的生物发生中起着承上启下的作用, PGC-1 α 与 NRF-1 结合后, 激活其下游的目标基因 mtTFA, 在协同作用下增加线粒体 DNA 的表达和复制, 增加线粒体呼吸表达、调节心肌能量代谢状况, 减轻或预防心力衰竭的发生^[13]。

本研究发现, 模型组 ATP 的含量均低于其他 3 组, 说明 CHF 发生时存在着影响 ATP 供能的代谢障碍, 从另一方面可以反应中、西药物在治疗 CHF 时可以增加 ATP 的输出, 并且经冠心舒通胶囊治疗后的指标疗效接近于赖诺普利片, 能够达到所期望的治疗效果。在冠心舒通胶囊组和西药组中, 大鼠心肌组织中 PGC-1 α 、NRF-1、mtTFA mRNA 的表达较模型组均升高, 说明中、西药物在治疗 CHF 时可以升高 PGC-1 α 、NRF-1、mtTFA 及蛋白的表达, 从而增加线粒体的生成, 并且冠心舒通胶囊与赖诺普利片疗效接近。综上所述, 冠心舒通胶囊可以增加心肌线粒体的有效生成, 提高心肌代

谢所需能量的产生, 从而改善和纠正 CHF 的发生, 为中医药防治 CHF 提供客观、可信的科学实验依据。

参考文献

- [1] 冠心病中医临床研究联盟, 中国中西医结合学会心血管病专业委员会, 中华中医药学会心病分会, 等. 慢性心力衰竭中医诊疗专家共识 [J]. 中医杂志, 2014, 55(14): 1258-1260.
- [2] 刘彬, 陈齐军, 曾文真, 等. 慢性心力衰竭的诊断与治疗进展 [J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2015, 9(14): 2741-2744.
- [3] 农一兵, 苏敬泽, 温志浩, 等. 从补益心气与改善心肌能量代谢的关系探讨慢性心力衰竭中西医结合研究的思路 [J]. 中医杂志, 2007, 48(11): 1035-1036.
- [4] 丁建强, 魏娜, 薛迪中, 等. 冠心舒通胶囊治疗冠心病稳定型心绞痛临床观察 [J]. 安徽医药, 2012, 16(7): 1004-1005.
- [5] 孙志坚, 奥·乌力吉. 冠心舒通胶囊治疗冠心病心绞痛疗效观察 [J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2006, 21(4): 422-424.
- [6] 田颖, 王江, 李振魁, 等. 大鼠心肌梗死后心力衰竭模型的建立和评估 [J]. 心脏杂志, 2006, 18(4): 404-405, 410.
- [7] 李玉玲, 杨建业, 唐俊明, 等. 阿霉素诱导大鼠心衰模型不同方案的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(2): 93-96.
- [8] 张艳, 礼海, 王彩玲. 浅谈慢性心衰中医病名病机研究 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(6): 1547-1548.
- [9] 赵子粼, 罗建春, 黄梁艳, 等. 内皮祖细胞治疗心肌梗死后心力衰竭患者心肌酶及能量代谢的改变 [J]. 华南国防医学杂志, 2012, 26(2): 141-145.
- [10] 贺岩, 李富荣, 杜宗孝, 等. 血清 BNP、hs-CRP、cTnI 及 UA 联合检测对心力衰竭的临床价值 [J]. 检验医学, 2012, 27(8): 647-650.
- [11] Garnier A, Fortin D, Delomenie C, et al. Depressed mitochondrial transcription factors and oxidative capacity in rat failing cardiac and skeletal muscles [J]. J Physiol, 2003, 551(2): 491-501.
- [12] Watson M, Giordani C, Nediani C, et al. Induction of mitochondrial biogenesis is a maladaptive mechanism in mitochondrial cardiomyopathies [J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 50(14): 1362-1369.
- [13] Virbasius JV, Scarpulla RC. Activation of the human mitochondrial transcription factor A gene by nuclear respiratory factors: a potential regulatory link between nuclear and mitochondrial gene expression in organelle biogenesis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91(4): 1309-1313.

Effect of *Guanxin Shutong Jiaonang* (冠心舒通胶囊) on Myocardial Energy Metabolism of Chronic Heart Failure Model Rats

ZHANG Yan¹, LIU Xiuna², WANG Yi², WANG Siyin², GONG Lihong¹

(1. The First Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, 110032; 2. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To observe effect and possible mechanism of *Guanxin Shutong Jiaonang* (冠心舒通胶囊) on myocardial energy metabolism of chronic heart failure model rats after myocardial infarction. **Methods** Twenty of eighty SD rats were randomly selected as the blank group, and the others were copied to rats model with chronic heart failure used ligation of left coronary artery anterior descending branch cooperated with exhausting swimming and diet. Rats with successful model were randomly divided into model group, western medicine group and *Guanxin Shutong Jiaonang* group. The western medicine group was given lisinopril 1.5 mg/(kg·d) to gavage. The *Guanxin Shutong Jiaonang* group was given *Guanxin Shutong Jiaonang* 10.0 g/(kg·d) to gavage. The blank group and the model group were respectively given distilled water 3 ml each time to gavage, once a day. After 28 days, the researchers measured plasma b-type natriuretic peptide (BNP), triphosphadenine (ATP), gene and protein expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ auxiliary activation factor 1 α (PGC-1 α), nuclear respiratory factor 1 (NRF) and mitochondrial transcription factor A (mtTFA) of myocardial tissue in rats of each group. **Results** Compared with the blank group, plasma BNP level increased in the model group, the western medicine group and the *Guanxin Shutong Jiaonang* group but plasma ATP concentration and PGC-1 α , NRF-1, mtTFA mRNA and protein expression of myocardial tissue decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, plasma BNP level of the western medicine group and the *Guanxin Shutong Jiaonang* group decreased but ATP concentration, PGC-1 α , NRF-1, mtTFA mRNA and protein expression increased ($P < 0.05$), and the inter-group difference had no statistical significance between the western medicine group and the *Guanxin Shutong Jiaonang* group ($P > 0.05$). **Conclusion** *Guanxin Shutong Jiaonang* may improve and correct heart failure by activating PGC-1 α , NRF-1, mtTFA factor associated with myocardial energy metabolism and increasing capacity of mitochondria.

Keywords chronic heart failure; *Guanxin Shutong Jiaonang* (冠心舒通胶囊); myocardial tissue; energy metabolism

(收稿日期: 2015-04-08; 修回日期: 2015-08-19)

编辑: 邓 媛

欢迎订阅 2016 年《中医杂志》

《中医杂志》(ISSN 1001-1668, CN 11-2166/R)是由中华中医药学会和中国中医科学院主办的全国性中医药综合性学术期刊。1955 年创刊以来始终坚持“以提高为主, 兼顾普及”的办刊方针, 是我国中医药界创刊早、发行量大、具有较高权威性和学术影响力的国家级中医药期刊之一, 是中国中文核心期刊和科技核心期刊、中国精品科技期刊、首届国家期刊奖获得者和中国期刊方阵双奖期刊、新中国 60 年有影响力的期刊、中国百强科技期刊、中国百种杰出学术期刊, 荣获第二届、第三届新闻出版政府奖期刊奖提名奖。

《中医杂志》主要栏目中当代名医和临证心得分别介绍名老中医和临床医生辨证用药治疗疑难病的经验; 临床研究介绍中医药治疗的新方法、新成果; 学术探讨、思路与方法、专家论坛、病例讨论、综述、百家园等栏目, 提供最新学术观点、研究成果与治疗方法, 成为学习中医药、研究中医药, 不断提高临床及研究水平的良师益友。

《中医杂志》为半月刊, 每月 2 日和 17 日出版, 每期定价 15.00 元, 全年 360 元。读者可以到全国各地邮局办理订阅手续(邮发代号: 2-698), 也可以与本刊读者服务部联系邮购, 邮购免邮费。电话: 010-64035632, 010-64089195。国外发行: 中国国际图书贸易总公司(北京 399 信箱, 邮编: 100044, 代号: M140)。

本社地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 邮政编码: 100700。网址: <http://zyyz.chinajournal.net.cn>。