

黄芪及其有效成分治疗心功能衰竭机制的研究

张 萌¹ 高俊虹² 王玉敏³ 马淑骅³ 崔晶晶²

马琰岩³ 杨育红¹ 王洪新¹ 付卫星² 喻晓春^{3*}

(1. 辽宁医学院药理教研室, 锦州市凌河区松坡路三段 40 号, 121001;

2. 中国中医科学院针灸研究所; 3. 中国中医科学院医学实验中心)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81073089, 30873295); 国家重点基础研究发展计划("973"计划)

资助项目(2006CB504506); 中国中医科学院自主选题项目(ZZ2007001)

* 通讯作者: yuxc@mail.cintcm.ac.cn, (010) 64014411 转 2775

[摘要] 细胞内钙是介导心肌舒缩活动最关键的因素, 心功能衰竭进程中参与调节细胞内钙变化的众多调节因子亦都发生改变, 而强心药物正性肌力作用的发挥也最终都与钙信号调节有关。结合既往的研究, 提出黄芪及其有效成分可能通过影响钙调机制相关的 Ryanodine 受体(RyR)、肌浆网钙泵(SERCA-ATPase)、磷酸受纳蛋白(PLB)以及肌钙蛋白(Tn)的含量或功能, 从而增加心肌收缩力, 改善心功能衰竭。

[关键词] 心功能衰竭; 黄芪; 机制研究

从增效减毒的角度考虑, 治疗心功能衰竭(心衰)的药物并不能阻止心衰病程的进展。Opie 等指出, 心衰的高死亡率使我们必须重新审视心脏生物学知识和对心衰机制的认识, 以便找到更好的新的治疗策略^[1]。黄芪等补气类中药以其独特而又广泛的作用可以为心衰的治疗开辟出一条新的治疗途径。近年来对黄芪单方、复方及黄芪的有效成分进行了大量的药理方面的研究, 证实了黄芪对心脏具有明显的强心作用, 其抗心衰作用也是非常明确的。本文主要回顾了近年来心衰机制和黄芪及其有效成分治疗心衰研究的不同方面, 并在此基础上从钙信号调节角度总结分析黄芪及其有效成分治疗心衰的可能机制及其未来的研究思路, 以期探索补气中药治疗心衰的新途径提供参考。

1 心衰机制研究概况

心衰, 通常是指心血管疾病发展至一定严重程度, 心肌收缩力减弱或舒张功能障碍, 心排血量减少, 不能满足机体组织细胞代谢需要, 同时静脉血回流受阻, 静脉系统淤血, 引发血液动力学、神经体液学的变化, 从而出现的一系列症状和体征。心衰的发病率和死亡率都非常高(约 50% 的病死率), 五年存活率与恶性肿瘤相似^[2-3]。

心衰的进程中最主要的障碍是心肌机械收缩力下降导致心脏泵血功能不足。众所周知, 细胞内钙是介导心肌兴奋-收缩耦联最关键的因素。而细胞内

钙又受众多调节因子的调节, 其中与心衰发生、发展机制密切相关的主要有肌浆网(Sarcoplasmic reticulum, SR)上钙离子释放通道-Ryanodine 受体(Ryanodine receptors, RyR)、负责钙离子回摄的肌浆网钙泵(Sarcoendoplasmic reticulum calcium-ATPase, SERCA-ATPase)、调节钙离子回摄进肌浆网的磷酸受纳蛋白(Phospholamban, PLB)及与Ca²⁺敏感性有关的收缩装置上的肌钙蛋白(troponin)等。研究显示, 心衰进程中参与调节细胞内钙变化的上述众多调节因子都可发生改变。

1.1 RyR 受体

RyR 是一种钙离子释放通道, 由于和植物碱 Ryanodine 呈高亲和力的结合, 并受其调节而得名。根据不同的组织分布和药理学作用, RyR 可以分为 RyR1、RyR2、RyR3。在心肌细胞中钙释放通道的主要类型是 RyR2, 其在心肌的兴奋收缩耦联中发挥着重要作用。

Zuzan 等^[4]在犬慢性起搏诱导的心衰模型中研究了心衰的亚细胞和分子学特点, 通过测量胞浆和肌浆网钙并记录单个 RyR2 通道的功能状态, 显示衰竭心肌收缩力下降与肌浆网钙离子释放量的明显减少有关, 而这种改变是由于 RyR2 敏感性下降导致肌浆网钙渗漏增加和肌浆网内钙容量不足的结果。Andrew^[5]的研究也证实, 在衰竭心脏中 PKA 高度磷酸化增加了 RyR2 对钙诱导激活的敏感性, 导

致RyR²功能的缺陷。研究发现,除因L型钙通道异常使钙内流减少造成肌浆网钙释放减少外,晚期心衰患者心脏RyR²mRNA和蛋白表达量亦降低。可见,RyR功能抑制和数量减少使肌浆网钙释放不足,导致心肌收缩力降低,最终引发心衰。

1.2 肌浆网钙泵(SERCA-ATPase)

肌浆网钙泵又名受磷蛋白调制钙泵,是一种ATP酶,它有很多异构体,在心肌细胞是异构体2(SERCA-ATPase²),其主要功能是心肌舒张时将胞浆内Ca²⁺摄取回肌浆网。

心衰时心肌钙调节紊乱的最主要环节是肌浆网钙泵功能障碍。心肌细胞膜钙内流减少,对肌浆网钙释放的刺激降低;钙外流减少促进钙超载的发生和发展,导致心肌舒缩功能障碍。随心力衰竭程度的加重,SERCA²转录和翻译受损、钙泵数量降低、肌浆网摄钙能力进一步降低,胞浆游离Ca²⁺明显升高。除心肌舒张不全外,还影响到下一个心动周期的肌浆网钙释放,加之钙释放通道的损伤,使肌浆网释放钙减少,心肌收缩力减弱^[6]。实验证明自发性高血压大鼠(SHR)肌质网钙泵活性减低、编码基因SERCA²mRNA表达下调及其表达产物SERCA^{2a}减少、肌质网重摄取Ca²⁺功能障碍^[7-8],是导致心肌细胞内Ca²⁺浓度升高的主要机制。因而肌浆网钙转运异常是心力衰竭时心肌舒缩功能障碍的重要细胞和分子机制。

1.3 磷酸受纳蛋白(PLB)

心肌SERCA²的活性受一个可磷酸化蛋白质——PLB的调节。对于钙泵活性的调节,最主要的是PLB磷酸化与去磷酸化的调节。PLB与SERCA²一起存在于肌浆网纵管,以五个相同的单位组成的五聚体形式存在,由52个氨基酸组成的一种小分子蛋白质,分子量为25~27kDa。蛋白激酶A和Ca²⁺钙调素依赖性蛋白激酶可催化PLB磷酸化,磷酸化的PLB与钙泵解离,消除对钙泵的抑制作用,钙泵与Ca²⁺的亲和力增高,Ca²⁺转运速度加快。PLB的去磷酸化是在磷酸酶(phosphatase)的催化下进行的,磷酸酶使PLB脱去磷酸重新与钙泵结合,从而抑制其活性。

Meyer等^[9]观察到衰竭心脏钙泵蛋白水平比PLB水平下降更为明显,提示钙泵与PLB之间的比例发生了改变,PLB/SERCA²比升高可能与心功能恶化有关,PLB对衰竭心脏比对非衰竭心脏的抑制作用更加明显。另有研究发现^[10],心衰模型心脏

SERCA蛋白质水平存在显著降低,PLB蛋白质水平亦呈显著下降,但PLB的mRNA水平没有变化。其mRNA水平与蛋白质水平改变的不一致可能与研究方法及对象不同有关。

1.4 肌钙蛋白(Troponin, Tn)

Tn是一种调节肌肉收缩的蛋白质,存在于骨骼肌和心肌的细肌丝上,是由三种不同的亚单位组成的复合体,即TnI、TnT、TnC。其中TnI是抑制性亚单位,是肌钙蛋白和原肌球蛋白复合物的抑制蛋白,可抑制肌球蛋白和肌钙蛋白的作用而防止肌肉收缩。TnT是与原肌球蛋白结合的亚单位。TnC是与钙离子结合的受体,TnC呈晶体结构,是肌钙蛋白复合体中的钙离子结合亚基,其N端与钙离子结合后诱导构象改变,阻断TnI的抑制作用,触发肌肉收缩。TnT和cTnI是心肌纤维细肌丝上肌钙蛋白复合物的两个亚单位,为心肌的结构蛋白,仅少量游离于胞浆内。

慢性心衰患者血流动力学受损和心功能恶化与血清cTnI升高密切相关^[11],可能是由于心脏负担过重时(充盈压过大),导致心肌纤维被动拉长易位。这个过程可能导致心肌细胞膜的损伤^[12],严重左心室肥厚心内膜下心肌灌注减少,可能导致心肌坏死,引起cTnI浓度升高^[13]。但慢性心衰患者cTnI升高的最后共同通路是心肌细胞的损伤和死亡,并最终损伤心肌的收缩装置,减少存活心肌细胞总数,引起心肌重构和心功能进行性降低,可能是慢性心衰不断进展的机制之一^[14]。

2 黄芪及其有效成分治疗心衰机制研究

黄芪,是豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪的干燥根,具有益气升阳、利水消肿之功。其主要含有皂苷类、黄酮类、多糖类、生物碱及氨基酸等多种成分。研究表明:黄芪对改善心功能作用的主要有效成分是黄芪皂苷,黄芪皂苷大部分是以环黄芪皂醇为苷元的皂苷,其中黄芪甲苷含量最高^[15]。其能够改善心衰大鼠的收缩功能,且黄芪皂苷的正性肌力作用无心率增快、心肌耗能增加、致心律失常等副作用^[16]。细胞内钙是介导心肌舒缩活动最关键的因素,没有钙离子的参与心脏就没有收缩。黄芪皂苷改善心脏收缩功能主要与调控细胞内钙转运有关。

2.1 抑制Na⁺-K⁺-ATP酶

王奇玲等^[17]在大鼠离体心脏上发现黄芪皂苷50~200 μg/ml对离体心肌有剂量依赖性正性肌力作用,而30 μg/ml则呈负性肌力作用。该作用与毒毛

旋花子苷K表现相似,即高浓度抑制 $\text{Na}^+ \text{-K}^+ \text{-ATP}$ 酶,低浓度兴奋 $\text{Na}^+ \text{-K}^+ \text{-ATP}$ 酶^[18],推测黄芪皂苷Ⅳ的强心机制是结合心肌细胞膜上的 $\text{Na}^+ \text{-K}^+ \text{-ATP}$ 酶并抑制其活性,导致钠泵失灵而使细胞内 Na^+ 增多,并通过钠钙双向交换机制使胞浆内 Ca^{2+} 增多,增加心肌收缩力。

2.2 抑制PDE活性

秦腊梅等^[19]报道,黄芪对实验鼠心肌 $\text{Na}^+ \text{-K}^+ \text{-ATP}$ 酶活性并无明显抑制作用。但能抑制磷酸二酯酶(PED)活性,其作用强度呈明显剂量依赖性关系。PED是cAMP的水解酶,PED被抑制后,cAMP分解减少,浓度升高,心肌中cAMP浓度升高介导的钙离子浓度增加,从而增强了心肌收缩力。认为这就是黄芪的强心机制。出现上述两种结果的原因可能是由于作用的黄芪制剂不同所致,但也说明黄芪至少存在着两种作用途径而产生正性肌力作用。

2.3 增加心肌β受体数目

郑仕中等^[20]报道,腹腔注射黄芪注射液200mg/kg,连续7天,可使小鼠心肌β受体密度(Bmax)和平衡解离常数(Kd)值明显增加。给老年大鼠喂服黄芪(0.125g生药/d),连续6个月,也可使降低的老年大鼠心肌β受体Bmax显著提高^[21]。黄芪能增加小鼠及老年大鼠心肌细胞膜上的Bmax,其可能的机理为黄芪增加了心肌细胞受体的外移或增加受体的合成,这可能是黄芪具有强心作用的另一依据。

2.4 调节肌浆网钙转运蛋白

如前所述,心肌细胞肌浆网上的SERCA-ATPase是重要的 Ca^{2+} 转运蛋白,心肌舒张期摄取胞浆 Ca^{2+} 至肌浆网,使肌浆网内 Ca^{2+} 浓度升高,增加收缩期钙瞬流,改善心肌收缩功能^[22]。研究证实心衰时SERCA的活性明显降低,且与PLB的磷酸化水平有关,PLB磷酸化时可增加SERCA的活性^[23]。黄芪皂苷Ⅳ能够调节急性心衰大鼠肌浆网上SERCA的mRNA以及蛋白水平的表达,并通过增加PLB的磷酸化水平来提高SERCA的活性以促进其对 Ca^{2+} 摄取^[24],提示黄芪皂苷Ⅳ的正性肌力作用可能与调节肌浆网 Ca^{2+} 转运蛋白相关。

2.5 直接作用于肌钙蛋白

有研究表明,洋地黄类药物、磷酸二酯酶抑制剂、儿茶酚胺类药物均升高心肌细胞内 Ca^{2+} 浓度,这是其正性肌力作用的主要机制,而黄芪对生理状态下心肌细胞内静息游离 Ca^{2+} 浓度无明显影响,对于异丙肾上腺素、去甲肾上腺素诱导的及缺血时的心

肌细胞 Ca^{2+} 浓度升高有抑制作用^[25],同时肌质网钙负荷及细胞内总钙含量也下降。提示黄芪的正性肌力作用机制与以上3种药物都不同,不是通过信号转导,也不是通过增加心肌细胞内 Ca^{2+} 浓度,而可能是直接作用于肌丝上的收缩蛋白或钙调蛋白,增加心肌收缩力,这有可能是黄芪正性肌力作用的真正靶点^[26]。

此外,黄芪皂苷治疗心衰的机制除了与调节心肌细胞内钙变化作用相关的SERCA-ATPase、PLB、Tn以及抑制氧自由基等作用之外,还可以改善心脏泵血功能、干预心室重塑和调控神经内分泌系统等,与其他抗心衰药比较,黄芪皂苷的药理作用广泛,尤其在改善心脏泵血功能方面具有独特的作用:既增强心脏收缩功能、降低心脏后负荷,又改善心肌能量代谢,且副作用小^[27],有助于提高患者远期生存率。

3 小结

已如前述,细胞内钙是介导心肌兴奋-收缩耦联最关键的因素,心力衰竭进程中参与调节细胞内钙变化的众多调节因子亦都发生改变,而强心药物的正性肌力作用的发挥也最终都与钙信号调节有关。鉴于以上,黄芪及其有效成分治疗心衰的机制可能涉及钙调机制的各个环节,主要包括以下几个方面:①黄芪及其有效成分可能改变RyR2的数量或影响RyR2通道功能,从而增加肌浆网钙离子的释放量。②黄芪及其有效成分可能改变SERCA-ATPase2蛋白或mRNA水平,进而影响肌浆网的摄钙功能。③黄芪及其有效成分可能影响PLB磷酸化状态,以提高钙泵与 Ca^{2+} 的亲合力,加快 Ca^{2+} 转运速度。④黄芪及其有效成分亦可能直接作用于与 Ca^{2+} 敏感性有关的Tn,从而增加心肌收缩力,改善心衰。

综上所述,由于治疗心衰迄今尚无理想的方法,目前采用的联合用药方法也无法阻止心衰的进程,澄清并明确黄芪及其有效成分对于心衰的作用机制显得尤为重要。基于对黄芪及其有效成分对心衰的作用机制的不断探索,加上我们一直致力于研究黄芪及/或其有效成分在治疗心衰中的作用,及其不同成分发挥作用的相关机制的实验表明,黄芪及其有效成分可以为治疗心衰提供更加明确的治疗依据,也能为心衰及心肌缺血等与力能学过程紊乱有关的疾病的治疗开辟出一条新的治疗途径。

参考文献

- [1] Ashrafian H, Frenneaux MP, Opie LH. Metabolic mechanisms in heart failure[J]. *Circulation*, 2007, 116(4): 434-448.
- [2] Kannel WB. Incidence and epidemiology of heart failure[J]. *Heart Fail Rev*, 2000, 5(2): 167-173.
- [3] Sliwa K, Damasceno A, Mayosi BM. Epidemiology and etiology of cardiomyopathy in Africa[J]. *Circulation*, 2005, 112(23): 3577-3583.
- [4] Kubalova Z, Terentyev D, Viatchenko-Karpinski S, et al. Abnormal intrastore calcium signaling in chronic heart failure[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(39): 14104-14109.
- [5] Marks AR. Ryanodine receptor/calcium release channels in heart failure and sudden cardiac death[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2001, 33(4): 615-624.
- [6] Li ZP, Cao Q. Effects of astragaloside IV on myocardial calcium transport and cardiac function in ischemic rats[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23(10): 898-904.
- [7] Yusuf S, Pfeffer MA, Swedberg K, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and preserved left-ventricular ejection fraction: the CHARM-Preserved Trial[J]. *Lancet*, 2003, 362(9386): 777-781.
- [8] Takahashi T, Schunkert H, Isoyama S, et al. Age-related differences in the expression of proto-oncogene and contractile protein genes in response to pressure overload in the rat myocardium[J]. *J Clin Invest*, 1992, 89(3): 939-946.
- [9] Meyer M, Bluhm WF, He H, et al. Phospholamban-to-SERCA² ratio controls the force-frequency relationship[J]. *Am J Physiol*, 1999, 276(3 Pt 2): H779-785.
- [10] O'Rourke B, Kass DA, Tomaselli GF, et al. Mechanisms of altered excitation-contraction coupling in canine tachycardia-induced heart failure[J]. *Circ Res*, 1999, 84(5): 562-570.
- [11] Horwich TB, Patel J, MacLellan WR, et al. Cardiac troponin I is associated with impaired hemodynamics, progressive left ventricular dysfunction, and increased mortality rates in advanced heart failure[J]. *Circulation*, 2003, 108(7): 833-838.
- [12] Francis GS, McDonald K, Chu C, et al. Pathophysiologic aspects of end-stage heart failure[J]. *Am J Cardiol*, 1995, 75(3): 11A-16A.
- [13] Del Carlo CH, O'Connor CM. Cardiac troponins in congestive heart failure[J]. *Am Heart J*, 1999, 138(4 pt 1): 646-653.
- [14] Ricchiuti V, Zhang J, Apple FS. Cardiac troponin I and T alterations in hearts with severe left ventricular remodeling[J]. *Clin Chem*, 1997, 43(6 pt 1): 990-995.
- [15] 王金山. 黄芪中有效成分环黄芪醇皂苷和黄芪甲苷的含量测定[J]. *海峡药学*, 2009, 21(2): 39-40.
- [16] 刘艳霞, 刘在萍, 焦建杰, 等. 黄芪苷IV对正常和心力衰竭大鼠左心室心肌力学的影响[J]. *中草药*, 2001, 32(4): 332.
- [17] 王奇玲, 李云义, 齐辉, 等. 黄芪皂苷对离体工作心脏的肌力作用及其可能机制[J]. *中国中药杂志*, 1992, 17(9): 557.
- [18] 刘元元, 沈筱同. 黄芪甙IV与米利酮及哇巴因对心衰豚鼠的强心效应比较[J]. *基础医学与临床*, 2001, 21(6): 571.
- [19] 秦腊梅. 补气药黄芪、党参对血小板钙调蛋白活性的影响[J]. *中药药理与临床*, 1998, 4(3): 25.
- [20] 郑仕中, 邹洪波, 王天宇, 等. 黄芪对小鼠心肌β受体影响初探[J]. *南京医科大学学报*, 1997, 17(1): 78.
- [21] 石瑞初, 刘艳红, 何路明, 等. 黄芪对老年大鼠脑M受体、心肌β受体等的调节作用[J]. *中国中医药科技*, 1998, 5(1): 27-30.
- [22] 李小鹰. 心血管疾病分子生物学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2001: 280.
- [23] Ikeda Y, Hoshijima M, Chien KR, et al. Toward biologically targeted therapy of calcium cycling defects in heart failure[J]. *Physiology*, 2008, 23: 6-16.
- [24] Xu XL, Ji H, Gu SY, et al. Modification of alterations in cardiac function and sarcoplasmic reticulum by astragaloside IV in myocardial injury in vivo[J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 568(1-3): 203-212.
- [25] 张静, 史茂伟, 王冬梅, 等. 黄芪对急性心肌梗死兔心肌细胞L₂钙通道电流的影响[J]. *中国药理学杂志*, 2007, 42(3): 233-234.
- [26] 徐慧聪, 任毅, 江巍, 等. 黄芪注射液治疗心力衰竭的研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2009, 7(1): 72-75.
- [27] 胡清宇. 黄芪总苷的提取及药理作用的研究[J]. *科技信息(学术版)*, 2007, (5): 237-238.

(收稿日期: 2010-10-08)

[编辑: 李巍]

本刊“专题笔谈”栏目征稿

为继续办好《中医杂志》“专题笔谈”栏, 欢迎广大作者、读者踊跃投稿。现继续征集稿件, 具体药名如下: 升麻、天花粉、玄参、郁金、红藤、白花蛇舌草、白头翁、肿节风、白薇、僵蚕、威灵仙、冬虫夏草、刘寄奴、仙鹤草、贯众、槐花、茜草、木瓜、薏苡仁。以上药物任选某味介绍, 要求有别于教科书, 确为家传师授或个人经验。每药独立成篇, 择优录用, 恕不退稿。

来稿请寄北京市东直门内南小街16号, 中医杂志编辑部2号编辑收(100700)。

电子信箱: jtemeditor2@yahoo.com.cn

Copyright © 1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net