

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.21.016

# 茯苓-桂枝药对对慢性心力衰竭模型大鼠心肌组织血管紧张素 II 受体 1 及血清炎症因子的影响

王文琪, 崔磊, 张馨方, 杨光, 孙明江\*

山东中医药大学, 山东省济南市长清区大学科技园大学路 4655 号, 250355

**摘要** 目的 探讨茯苓-桂枝药对对慢性心力衰竭大鼠心肌组织的影响及可能作用机制。方法 60 只雄性 Wistar 大鼠随机分为假手术组、模型组、卡托普利组及茯苓桂枝高、中、低剂量组, 每组 10 只。除假手术组外, 其余各组采用腹主动脉缩窄的方法制备慢性心力衰竭大鼠模型。造模成功后假手术组与模型组给予 2 ml/kg 蒸馏水灌胃, 茯苓桂枝高剂量组给予茯苓 2.16 g/(kg·d)、桂枝 1.62 g/(kg·d) 灌胃, 茯苓桂枝中剂量组给予茯苓 1.08 g/(kg·d)、桂枝 0.81 g/(kg·d) 灌胃, 茯苓桂枝低剂量组给予茯苓 0.54 g/(kg·d)、桂枝 0.41 g/(kg·d) 灌胃, 卡托普利组给予卡托普利混悬溶液 6.3 mg/(kg·d) 灌胃, 均每日 1 次, 共 4 周。比较各组大鼠收缩压、心脏质量指数(HMI), 检测血清中血管紧张素 II(Ang II)、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、内皮素 1(ET-1) 含量, HE 染色观察心肌组织病理改变, 检测心肌组织血管紧张素 II 受体 1(AT1) 含量。结果 与假手术组比较, 模型组大鼠 HMI、收缩压、心肌组织 AT1 及血清 Ang II、ET-1、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平升高 ( $P < 0.01$ ), 病理显示心肌细胞束的间隙稍增宽, 心肌纤维排列紊乱、变粗肥大。与模型组比较, 卡托普利组及茯苓桂枝中、高剂量组大鼠 HMI、收缩压、心肌组织 AT1 及血清 Ang II、ET-1、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 茯苓桂枝高剂量组与卡托普利组病理显示心肌组织炎症细胞减少, 细胞形态较清晰, 心肌纤维化程度低。与卡托普利组比较, 茯苓桂枝高剂量组各指标差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结论 茯苓-桂枝药对可以调节慢性心力衰竭大鼠血压, 抑制心肌肥厚与心室重构, 改善大鼠心肌纤维化, 可能与控制炎症反应、抑制神经内分泌过度激活有关, 且以高剂量效果最佳。

**关键词** 茯苓; 桂枝; 慢性心力衰竭; 心脏质量指数; 心肌纤维化; 血管紧张素 II 受体 1; 炎症因子

慢性心力衰竭 (chronic heart failure, CHF) 是指心脏在各种有害因素影响下出现功能或结构异常的一种复杂综合征。其临床症状主要为呼吸出现障碍、乏力及由右心衰竭引起的胸闷和左心衰竭引起的水肿等, 是各种心脏疾病的终末阶段<sup>[1]</sup>。茯苓-桂枝药对是经典名方苓桂术甘汤的核心药对, 临床常用于治疗冠心病、心力衰竭等疾病<sup>[2]</sup>。有研究<sup>[3]</sup>显示, 益气、温阳、利水是中医治疗 CHF 的主要治则, 而茯苓与桂枝配伍温阳利水, 正对病机。

心室重构是引起 CHF 发生的主要原因, 目前其确切机制尚不完全清楚, 但神经内分泌与细胞因子的过度激活是引发心室重构的主要原因之一。血管紧张素 II (Ang II) 过度释放可诱导心室重构,

而血管紧张素 II 受体 1 (AT1) 在 Ang II 发挥作用过程中起到关键作用<sup>[4]</sup>。另外, 炎症细胞因子是 CHF 病理生理和发病机制中的重要因子, 包括肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 等, 而且 CHF 发生时心室负荷过重会导致内皮素 1 (ET-1) 分泌增多<sup>[5]</sup>。本研究观察茯苓-桂枝药对对 CHF 模型大鼠心肌组织 AT1 及血清炎症因子的影响, 探讨其治疗 CHF 的可能作用机制。本研究经山东中医药大学实验动物福利伦理委员会批准, 批件号 SDUTCM2018120301。

## 1 材料

### 1.1 动物

雄性健康 Wistar 大鼠 60 只, 体重 (200  $\pm$  20) g, 由济南朋悦实验动物繁殖有限公司提供, 实验动物合格证号: SCXK (鲁) 20140007。自由饮水摄食,

基金项目: 国家自然科学基金 (81073031)

\* 通讯作者: 13869180658@163.com

适应性饲养 1 周后进行实验。大鼠饲养于山东中医药大学实验动物中心 SPF 级实验室, 每笼 5 只, 人工光循环 12 h/12 h, 温度为  $(24 \pm 2.0) ^\circ\text{C}$ , 湿度为  $(55 \pm 5) \%$ 。

## 1.2 药品与试剂

茯苓配方颗粒 (三九医药股份有限公司, 每克相当于 10 g 饮片, 批号: 1711003W); 桂枝配方颗粒 (三九医药股份有限公司, 每克相当于 6 g 饮片, 批号: 1801002S); 卡托普利片 (山东健康药业有限公司, 批号: 1706034); 注射用青霉素钠 (山东鲁抗医药股份有限公司, 批号: L121021); 苏木素-伊红 (HE) 染色试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司, 批号: G1120); DAB 显色试剂盒 (批号: 13E04A22)、即用型 SABC (小鼠/兔 IgG) 免疫组化染色试剂盒 (批号: 13E22K11E03)、内源性过氧化物酶阻断液 (批号: 13F06A08)、抗 AT1 抗体 (批号: 17811110)、磷酸盐缓冲液 (PBS, 批号: 13C01A30), 武汉博士德生物工程有限公司; AngII ELISA 试剂盒 (批号: m1002823)、ET-1 试剂盒 (批号: m1002890)、TNF- $\alpha$  试剂盒 (批号: m1002859)、IL-1 $\beta$  试剂盒 (批号: m1003057), 上海酶联生物科技有限公司; 水合氯醛 (天津市大茂化学试剂厂, 批号: 20170109)。

## 1.3 主要仪器

BL-420E 生物机能实验系统 (成都泰盟科技有限公司); KL-I 生物组织自动包埋机、KL-I 生物组织摊片烤片机, 湖北康龙电子科技有限责任公司; RM2015 生物组织切片机 (德国徕卡公司); CI-L 生物显微镜 (日本 Nikon 公司); softron BP-98A 动物无创测压系统 (北京软隆生物技术有限公司); Multiskan MK3 酶标仪、Sorvall ST 8R 离心机, Thermo Fisher 公司; BX50F4 光学显微镜 (Olympus 公司)。

## 2 方法

### 2.1 造模、分组及给药

将 60 只大鼠适应性饲养 1 周后按随机数字表法分为假手术组、模型组、卡托普利组及茯苓桂枝高、中、低剂量组, 每组 10 只。除假手术组外, 其余各组参照文献 [6] 采用腹主动脉缩窄法制备大鼠 CHF 模型。各组大鼠术前禁食 12 h, 不禁水, 使用 10% 水合氯醛 0.3 ml/100 g 腹腔注射麻醉, 大鼠麻醉平稳后固定于手术台上, 将大鼠腹部手术区域的体毛剪净, 分离暴露左肾动脉上方腹主动脉,

将 7 号针头与腹主动脉平行放置, 使用手术线进行结扎, 形成腹主动脉 50% ~ 70% 缩窄, 结扎后将针头退出, 用生理盐水将大鼠肠道冲洗干净, 复位器官, 分层关腹, 逐层缝合切口。假手术组只进行开腹, 不进行缩窄术。术后每只大鼠肌肉注射青霉素 15 万单位, 连续 5 天, 以预防感染。术后 4 周测定大鼠尾动脉血压, 以大鼠收缩压  $\geq 140$  mmHg 为造模成功标准 [7]。50 只大鼠均造模成功。

造模成功后开始给药。茯苓、桂枝的剂量依照苓桂术甘汤的饮片剂量: 茯苓 12 g, 桂枝 9 g。大鼠灌胃剂量按人和动物间等效剂量换算方法 [8], 大鼠等效剂量为中剂量, 按照 2 : 1 : 0.5 的比例设高、中、低剂量。茯苓桂枝高剂量组配方颗粒灌胃剂量为: 茯苓 2.16 g/(kg · d), 桂枝 1.62 g/(kg · d); 茯苓桂枝中剂量组配方颗粒灌胃剂量为: 茯苓 1.08 g/(kg · d), 桂枝 0.81 g/(kg · d); 茯苓桂枝低剂量组配方颗粒灌胃剂量为: 茯苓 0.54 g/(kg · d), 桂枝 0.41 g/(kg · d), 卡多普利组灌胃剂量为 6.3 mg/(kg · d), 假手术组与模型组大鼠给予 2 ml/kg 蒸馏水灌胃。各组均每日 1 次, 连续给药 4 周。

### 2.2 观察指标及方法

2.2.1 收缩压测定 固定大鼠, 在其清醒状态下采取套尾法测量尾动脉血压 (收缩压), 每只大鼠测量 5 次, 取其中相近的 3 组数的平均值。分别于造模前、造模 4 周后以及给药 4 周后进行测量。

2.2.2 血清 Ang II、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、ET-1 含量测定 给药 4 周后, 各组大鼠禁食 12 h, 使用 10% 水合氯醛 0.3 ml/100 g 腹腔注射麻醉, 腹主动脉取血, 置于采血管后静置 30 min, 放于离心机中以 4 $^\circ\text{C}$ 、转速 3000 r/min 离心 20 min, 半径 8.5 cm, 检测步骤按照 ELISA 试剂盒说明书进行操作。

2.2.3 心肌组织 AT1 含量 采用免疫组化法测定。用 8% 组织固定液将心肌组织标本进行固定, 24 h 后取左心室组织进行常规石蜡包埋切片, 切片厚度约为 5  $\mu\text{m}$ 。按照免疫组化试剂盒说明书进行, 显微镜 400 倍视野下随机采取 5 个视野, 应用 Image Pro Plus 图像分析软件进行结果分析。

2.2.4 心脏质量指数检测 实验末次给药前称各组大鼠体重 (BM), 大鼠处死后打开胸腔取出心脏, 称取心脏湿重 (HM), 计算心脏质量指数 (HMI) = HM/BM。

2.2.5 HE 染色观察心肌病理组织 用 8% 组织固定液将心肌组织标本进行固定, 24 h 后取左心室组

织进行常规石蜡包埋切片，切片厚度约为 5  $\mu\text{m}$ ，切片做常规 HE 染色。光学显微镜下进行组织形态学观察，图像分析系统采集图像。

### 2.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析，计量数据采用  $(\bar{x} \pm s)$  表示，多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD- $t$  检验。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 3 结果

本实验过程中，茯苓桂枝高、中、低剂量组以及西药组各死亡 1 只，模型组死亡 2 只，均为造模后第 5 周死亡。

### 3.1 各组大鼠不同时间收缩压水平比较

表 1 示，造模前各组大鼠收缩压差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )；造模 4 周后，与本组造模前比较，假手术组大鼠收缩压差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )，其余各组收缩压均明显上升 ( $P < 0.01$ )，并且高于假手术组 ( $P < 0.01$ )。给药 4 周后，与假手术组比较，其余各组大鼠收缩压均明显升高 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，卡托普利组及茯苓桂枝中、高剂量组收缩压明显降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )；与卡托普利组比较，茯苓桂枝中、低剂量组收缩压明显升高 ( $P < 0.01$ )，茯苓桂枝高剂量组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )；茯苓桂枝低、中剂量组大鼠收缩压差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )；茯苓桂枝高剂量组大鼠收缩压显著低于茯苓桂枝低、中剂量组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

### 3.2 各组大鼠心肌组织 HE 染色结果

假手术组心肌纤维排列整齐，着色均匀，细胞大小均一；模型组心肌细胞束的间隙稍增宽，心肌纤维排列紊乱、变粗肥大，提示 CHF 模型复制成功；各给药组较模型组情况均有所改善，其中茯苓桂枝高剂量组与卡托普利组改善效果最为显著，炎

症细胞减少，细胞形态较清晰，心肌纤维化程度低。

### 3.3 各组大鼠 HMI 及心肌组织 AT1 含量比较

表 2 示，与假手术组比较，模型组及茯苓桂枝低、中剂量组 HMI 显著升高 ( $P < 0.01$ )，而茯苓桂枝高剂量组、卡托普利组 HMI 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )；模型组、卡托普利组及茯苓桂枝各剂量组大鼠 AT1 含量亦明显升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较，卡托普利组及茯苓桂枝中、高剂量组大鼠 HMI、AT1 含量显著降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。与卡托普利组比较，茯苓桂枝低、中剂量组大鼠 HMI、AT1 含量升高 ( $P < 0.01$ )，而茯苓桂枝高剂量组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。茯苓桂枝低、中剂量组大鼠 HMI、AT1 含量差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。茯苓桂枝高剂量组大鼠 HMI、AT1 含量显著低于茯苓桂枝低、中剂量组 ( $P < 0.01$ )。

光镜下观察各组大鼠心肌组织 AT1 表达，可见假手术组大鼠心肌组织中只有微小模糊的棕黄色颗粒，表达不显著。与假手术组相比，模型组大鼠心肌组织中棕黄色颗粒明显增多，表达呈强阳性。各给药组大鼠心肌组织中棕黄色颗粒较模型组均有不同程度下降，其中茯苓桂枝高剂量组与卡托普利组心肌组织中棕黄色颗粒明显减少。

表 2 各组大鼠 HMI 及心肌组织 AT1 含量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别       | 鼠数 | HMI (mg/g)                      | AT1 (灰度值)                          |
|----------|----|---------------------------------|------------------------------------|
| 假手术组     | 10 | 2.25 $\pm$ 0.19                 | 99.80 $\pm$ 11.27                  |
| 模型组      | 8  | 2.82 $\pm$ 0.17*                | 180.38 $\pm$ 17.56*                |
| 卡托普利组    | 9  | 2.35 $\pm$ 0.14 $\Delta\Delta$  | 139.67 $\pm$ 14.58* $\Delta\Delta$ |
| 茯苓桂枝低剂量组 | 9  | 2.73 $\pm$ 0.16* $\Delta\Delta$ | 171.78 $\pm$ 13.89* $\Delta\Delta$ |
| 茯苓桂枝中剂量组 | 9  | 2.66 $\pm$ 0.10* $\Delta\Delta$ | 161.33 $\pm$ 16.54* $\Delta\Delta$ |
| 茯苓桂枝高剂量组 | 9  | 2.37 $\pm$ 0.15 $\Delta\Delta$  | 140.89 $\pm$ 15.07* $\Delta\Delta$ |

注：HMI，心脏质量指数；AT1，血管紧张素 II 受体 1；与假手术组比较，\*  $P < 0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ ；与卡托普利组比较， $\Delta P < 0.01$ ；与茯苓桂枝高剂量组比较， $\#P < 0.01$ 。

表 1 各组不同时间大鼠收缩压水平比较 (mmHg,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别       | 鼠数 | 造模前               | 造模 4 周后                      | 给药 4 周后                                  |
|----------|----|-------------------|------------------------------|------------------------------------------|
| 假手术组     | 10 | 115.65 $\pm$ 4.69 | 119.83 $\pm$ 5.63            | 122.61 $\pm$ 9.88                        |
| 模型组      | 8  | 116.24 $\pm$ 4.82 | 162.99 $\pm$ 10.6* $\square$ | 190.82 $\pm$ 14.65*                      |
| 卡托普利组    | 9  | 114.53 $\pm$ 3.96 | 163.33 $\pm$ 9.81* $\square$ | 160.32 $\pm$ 10.78* $\Delta\Delta$       |
| 茯苓桂枝低剂量组 | 9  | 115.41 $\pm$ 4.85 | 164.25 $\pm$ 7.57* $\square$ | 181.70 $\pm$ 9.61* $\Delta\Delta\Delta$  |
| 茯苓桂枝中剂量组 | 9  | 117.51 $\pm$ 5.36 | 163.88 $\pm$ 7.92* $\square$ | 177.17 $\pm$ 11.01* $\Delta\Delta\Delta$ |
| 茯苓桂枝高剂量组 | 9  | 113.93 $\pm$ 5.42 | 162.09 $\pm$ 8.19* $\square$ | 166.07 $\pm$ 9.19* $\Delta\Delta$        |

注：与假手术组比较，\*  $P < 0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ ；与卡托普利组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ ；与茯苓桂枝高剂量组比较， $\#P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ ；与本组造模前比较， $\square P < 0.01$ 。

表 3 各组大鼠血清 Ang II、ET-1、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平比较 (ng/L,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别       | 鼠数 | Ang II                                              | ET-1                                              | TNF- $\alpha$                                       | IL-1 $\beta$                                   |
|----------|----|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 假手术组     | 10 | 195.53 $\pm$ 37.07                                  | 41.52 $\pm$ 4.80                                  | 141.23 $\pm$ 13.50                                  | 16.90 $\pm$ 2.87                               |
| 模型组      | 8  | 413.01 $\pm$ 32.23 **                               | 73.12 $\pm$ 6.27 **                               | 233.07 $\pm$ 17.97 **                               | 33.35 $\pm$ 7.17 **                            |
| 卡托普利组    | 9  | 275.33 $\pm$ 27.95 ** $\Delta\Delta$                | 51.83 $\pm$ 4.55 ** $\Delta\Delta$                | 153.36 $\pm$ 12.02 $\Delta\Delta$                   | 21.12 $\pm$ 2.79 $\Delta\Delta$                |
| 茯苓桂枝低剂量组 | 9  | 386.25 $\pm$ 40.70 ** $\Delta$                      | 67.85 $\pm$ 6.88 ** $\Delta$                      | 216.09 $\pm$ 17.03 ** $\Delta$                      | 29.11 $\pm$ 6.89 ** $\Delta$                   |
| 茯苓桂枝中剂量组 | 9  | 362.91 $\pm$ 30.45 ** $\Delta\Delta$ $\Delta$       | 65.36 $\pm$ 8.25 ** $\Delta\Delta$ $\Delta$       | 188.95 $\pm$ 16.27 ** $\Delta\Delta$ $\Delta$       | 27.70 $\pm$ 5.72 ** $\Delta\Delta$ $\Delta$    |
| 茯苓桂枝高剂量组 | 9  | 288.35 $\pm$ 29.41 ** $\Delta\Delta$ $\Delta\Delta$ | 53.76 $\pm$ 7.14 ** $\Delta\Delta$ $\Delta\Delta$ | 159.08 $\pm$ 11.06 ** $\Delta\Delta$ $\Delta\Delta$ | 21.17 $\pm$ 3.33 $\Delta\Delta$ $\Delta\Delta$ |

注: AngII, 血清血管紧张素II; ET-1, 内皮素 1; TNF- $\alpha$ , 肿瘤坏死因子  $\alpha$ ; IL-1 $\beta$ , 白细胞介素 1 $\beta$ ; 与假手术组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 与卡托普利组比较,  $\Delta P < 0.01$ ; 与茯苓桂枝低剂量组比较,  $\#P < 0.01$ ; 与茯苓桂枝中剂量组比较,  $\&P < 0.05$ ,  $\&\&P < 0.01$

### 3.4 各组大鼠血清 Ang II、ET-1、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平比较

表 3 示, 与假手术组比较, 模型组大鼠血清 Ang II、ET-1、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平明显升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 卡托普利组及茯苓桂枝中、高剂量组 Ang II、ET-1、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平明显降低, 茯苓桂枝低剂量组 TNF- $\alpha$  水平亦降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 与卡托普利组比较, 茯苓桂枝中、低剂量组 Ang II、ET-1、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平明显升高 ( $P < 0.01$ ), 茯苓桂枝高剂量组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 与茯苓桂枝低剂量组比较, 茯苓桂枝中剂量组 ET-1、TNF- $\alpha$  明显降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 茯苓桂枝高剂量组大鼠 Ang II、ET-1、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平显著低于茯苓桂枝低、中剂量组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

### 4 讨论

中医学认为, CHF 属“心悸”“喘证”“痰饮”“水肿”等范畴, 多由情志损伤、劳累过度、先天不足等引起, 如《金匱要略》曰“咳逆倚息, 短气不得卧, 其形如肿, 谓其支饮”; 《黄帝内经》曰“脉痹不已, 复感于邪, 内舍于心”。治则应用益气温阳、利水消肿之法为主<sup>[8]</sup>。茯苓与桂枝配伍温阳利水, 符合中医治疗 CHF 的核心治则。现代药理研究显示, 茯苓主要含有茯苓多糖、茯苓素等成分, 具有利尿、免疫调节、抗炎、抑制心肌肥厚、延缓心力衰竭等作用, 其利尿作用与利尿药呋塞米相比, 作用更加持久, 且副作用更少<sup>[10-11]</sup>; 桂枝含有桂皮醛、桂皮酸等成分, 具有降压、扩血管、抗凝血、抗病毒、解热、抗炎等药理活性<sup>[12]</sup>。腹主动脉缩窄法进行大鼠 CHF 模型的建立, 其术后肾血流量显著减少, 激活肾素-血管紧张素-醛固酮 (RAAS) 系统并造成体内钠水潴留, 心脏后负荷增加, 左室代偿性肥大, 引起心肌

重构, 形成了不易受药物影响的稳定的高血压, 后期心脏失代偿最终形成心力衰竭, 与临床 CHF 患者病理变化过程相似, 适合研究由压力负荷过大引起的 CHF<sup>[13]</sup>。

现代研究<sup>[14]</sup>表明, 在 CHF 发生时, RAAS 的激活起到了关键作用, 而 RAAS 中最主要的活性因子就是 Ang II。Ang II 可与 AT1 受体结合, 激活原癌基因表达, 使心肌细胞肥大, 并诱导相关蛋白激酶激活, 使心脏负荷增加, 加速心脏纤维化与心脏重塑<sup>[15]</sup>。因此, 抑制 Ang II 的过度分泌与 AT1 的过度表达对于 CHF 的防治与改善预后都有重要意义。ET-1 的收缩血管的能力是目前体内已知的最强的因子<sup>[16]</sup>, 在 CHF 早期可起到代偿作用, 但 ET-1 长期分泌增加会加重 CHF 进程。ET-1 还可与其受体结合引发心律失常, 导致心肌损伤<sup>[17]</sup>。正常人血浆中 ET-1 的含量较低, 而 CHF 患者体内 ET-1 含量会显著升高, 其水平高低与 CHF 严重程度呈正相关, 因此可作为评价 CHF 发展状况的重要指标<sup>[18]</sup>。

CHF 发生时心肌组织出现缺血、缺氧等病理状态, 会分泌大量的 TNF- $\alpha$ <sup>[19]</sup>, TNF- $\alpha$  在患者体内的含量高低可以反映其心肌损害程度<sup>[20]</sup>。心脏同样也是 TNF- $\alpha$  作用的靶器官<sup>[21]</sup>。TNF- $\alpha$  可直接损伤心肌纤维, 造成心肌水肿, 使心肌收缩功能下调; 还可导致神经鞘髓磷脂酶被激活, 使心肌细胞内  $Ca^{2+}$  水平下降, 心肌收缩能力减弱<sup>[22]</sup>。同时 TNF- $\alpha$  也可激活细胞内的 Caspase 信号转导通路, 参与各种凋亡途径, 引起细胞的程序性死亡, 且此细胞凋亡过程不可逆<sup>[23]</sup>。白细胞介素 1 (IL-1) 是一种关键性促炎因子, 其主要形式为 IL-1 $\beta$ , 后者主要由炎性体中的半胱天冬酶 1 激活<sup>[24]</sup>。激活后的 IL-1 $\beta$  可通过与其受体结合, 促进一系列激酶磷酸化, 启动核因子  $\kappa B$  (NF- $\kappa B$ ) 信号通路, 进而促进白细胞介素 6 (IL-6)、TNF- $\alpha$  等二级炎症因

子的表达,而 TNF- $\alpha$  的增多又会引起 IL-1 分泌增加,造成恶性循环<sup>[23]</sup>。IL-1 $\beta$  主要通过抑制心肌细胞收缩力,刺激其他细胞因子释放,并能增强 TNF- $\alpha$  对靶器官的损伤,提高主要器官对 TNF- $\alpha$  的敏感性、促进心肌肥大,诱导心肌细胞凋亡,从而在 CHF 病理进程发挥重要作用<sup>[24]</sup>。

本研究结果显示,茯苓桂枝高剂量组与卡托普利组均能有效降低 CHF 大鼠收缩压,提示茯苓-桂枝药对可能通过调节血压改善 CHF。在 CHF 发生时,左心室出现心肌肥厚,心脏体积增大,HMI 可以较为准确地反映左心功能不全程度<sup>[25]</sup>。本研究中模型组大鼠 HMI 较假手术组显著上升,表明模型组大鼠已出现心功能不全、心肌肥厚等 CHF 症状。与模型组相比,茯苓桂枝高、中剂量组和卡托普利组 HMI 均有所下降,且茯苓桂枝高剂量组与卡托普利组 HMI 相比差异无统计学意义,说明茯苓-桂枝药对与卡托普利治疗效果相当,茯苓-桂枝药对可能通过减轻 CHF 大鼠心肌肥厚,抑制心室重构达到治疗 CHF 的效果。模型组大鼠血清 Ang II、ET-1 含量与心肌组织 AT1 水平较假手术组均显著上升,而茯苓桂枝高剂量组与卡托普利组均可明显下调大鼠体内 Ang II、ET-1 与 AT1 水平,且两组之间差异无统计学意义,提示茯苓-桂枝药对可能通过抑制 RAAS 与内皮素系统的过度激活,进而调节神经内分泌功能,从而改善 CHF 病情。同时模型组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平显著上升,说明 CHF 发生时细胞炎症因子被激活,茯苓桂枝高剂量组与卡托普利组均可有效降低 CHF 大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平,且两组之间差异无统计学意义,说明茯苓-桂枝药对可能通过抑制 CHF 大鼠体内过度激活的细胞炎症因子的增加,减轻炎症反应,减少心肌凋亡,从而减缓心室重构。

综上,茯苓-桂枝药对对 CHF 大鼠心肌组织有保护作用,其作用机制可能与通过调节血压,抑制心肌肥厚与心室重构,改善大鼠心肌纤维化,控制炎症反应,抑制神经内分泌过度激活有关,且其药效呈剂量依赖性。但本研究样本量较少,未能验证茯苓桂枝药对对 CHF 大鼠病死率的影响,在后续的实验中将进一步扩大样本量,另外中药化学成分复杂多样,后续研究中还将对其主要活性成分进行深入探讨。

## 参考文献

- [1] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014 [J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42 (2): 98-122.
- [2] 刘锴,黄芳,薛大权,等. 茯苓-桂枝药对对慢性心肌缺血大鼠的影响 [J]. 湖北中医药大学学报, 2016, 18 (2): 5-7.
- [3] 黄平东,罗懿明,黄衍寿,等. 充血性心力衰竭中医证型特征及其演变规律的临床观察 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2003, 1 (12): 685-686.
- [4] 尚莉莉,全爱君,王馨,等. 祛痰通阳汤对慢性心力衰竭模型大鼠超声心动图及血清 AngII 含量、心肌组织 AT1 mRNA 表达的影响 [J]. 中医杂志, 2018, 59 (1): 56-60.
- [5] 刘学会,樊光辉. 中医药对慢性心衰神经内分泌和细胞因子影响的研究概述 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2013, 11 (7): 853-854.
- [6] DOERING CW, JALIL JE, JANICKI JS, et al. Collagen network remodeling and diastolic stiffness of rat ventricle with pressure overload hypertrophy [J]. Cardiovasc Res, 1988, 22 (10): 686-695.
- [7] 高俊杰,吴琼,王肖龙,等. 潜阳合剂对腹主动脉缩窄致高血压模型大鼠血压的影响 [J]. 上海中医药杂志, 2015, 48 (6): 74-77.
- [8] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9 (9): 1069-1072.
- [9] 杨勇,陈新宇. 陈新宇教授治疗心悸(慢性心衰)临床经验 [J]. 光明中医, 2013, 28 (4): 666-668.
- [10] 梁学清,李丹丹,黄忠威. 茯苓药理作用研究进展 [J]. 河南科技大学学报(医学版), 2012, 30 (2): 154-156.
- [11] 李侠,蒋长兴,胡有东,等. 茯苓多糖对异丙肾上腺素所致心肌肥厚大鼠心功能的影响 [J]. 中华损伤与修复杂志, 2014, 9 (4): 367-371.
- [12] 朱华,秦丽,杜沛霖,等. 桂枝药理活性及其临床应用研究进展 [J]. 中国民族民间医药, 2017, 26 (22): 61-65.
- [13] 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.
- [14] 张双伟. 益气活血解毒法对慢性心力衰竭炎症状态的研究 [J]. 广州: 广州中医药大学, 2012.
- [15] 廖佳丹,张艳,宫丽鸿,等. 益气活血利水不同配伍对慢性心衰大鼠 AT1、ERK2 影响的实验研究 [J]. 中华中医药学刊, 2012, 23 (10): 2270-2273.
- [16] 韩旭,王高丹. 冠心病的发病机制及与内皮素、一氧化氮相关性研究进展 [J]. 中国医药导报, 2014, 11 (11): 167-168.
- [17] 倪国华,张向阳. 内皮素系统与心力衰竭 [J]. 心血管病学进展, 2007, 28 (2): 280-282.
- [18] 白延平,刘智娜,高燕. 强心宁煎剂联合曲美他嗪对慢性心衰左心室功能及血浆心钠素和内皮素水平的影响

- 响 [1]. 四川中医, 2016, 34(9): 69-71.
- [9] 任晓霞, 王显. 炎症在心力衰竭中的作用 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2010, 2(1): 49-53.
- [10] 金迪, 李颖. 老年慢性心衰患者血浆 TNF- $\alpha$  和超敏 C 反应蛋白变化及临床意义 [J]. 中国医疗前沿, 2013, 8(12): 22.
- [11] 吕先念, 王卫淑. 肿瘤坏死因子- $\alpha$  与心力衰竭 [J]. 山西医药杂志, 2007, 36(11): 998-1000.
- [12] 张兴平, 陈庆伟. 细胞因子与慢性心力衰竭的研究进展 [J]. 微循环学杂志, 2006, 16(2): 58-61.
- [13] MELDRUM DR. Tumor necrosis factor in the heart [J]. Am J Physiol, 1998, 274(3Pt2): 577-595.
- [14] STUTZ A, GOLENBOCK DT, LATZ E. Inflammasomes: too big to miss [J]. J Clin Invest, 2009, 119(12): 3502-3511.
- [15] 麻兴华, 王宪沛, 高传玉. 核因子- $\kappa$ B 介导心肌缺血再灌注损伤机制的研究进展 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31(1): 88-91.
- [16] 刘文秀. 慢性心衰患者血清炎症细胞因子及外周血单核细胞 BCL-2、BAX 基因表达与心功能的关系 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2019.
- [17] 陈茂, 范忠才, 饶莉, 等. 心脏重量指数评价左心功能不全价值的研究 [J]. 四川医学, 2005, 26(5): 483-484.

# Effects of Drug-Pair of Poria and Guizhi ( *Ramulus Cinnamomi* ) on Angiotensin II Receptor 1 and Serum Inflammatory Factors of Myocardial Tissue in Chronic Heart Failure Model Rats

WANG Wenqi, CUI Lei, ZHANG Xinfang, YANG Guang, SUN Mingjiang

Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, 250355

**ABSTRACT Objective** To study the effects and mechanisms of Poria and Guizhi ( *Ramulus Cinnamomi* ) drug-pair on myocardial tissue of rats with chronic heart failure ( CHF ). **Method** A total of 60 male Wistar rats were randomly divided into a sham operation group, a model group, a captopril group and drug-pair high, medium and low dose groups, with 10 rats in each group. Except for the sham operation group, method of constricting the abdominal aorta was used to prepare the model of chronic heart failure ( CHF ). After successful modeling, the sham operation group and the model group were given distilled water 2 ml/kg by gavage, and the drug-pair high-dose group was given Poria 2.16 g/( kg · d ) and Ramulus Cinnamomi 1.62 g/( kg · d ) by gavage; the drug-pair medium-dose group was given Poria 1.08 g/( kg · d ), Ramulus Cinnamomi 0.81 g/( kg · d ); and the drug-pair low-dose group was given Poria 0.54 g/( kg · d ) and Ramulus Cinnamomi 0.41 g/( kg · d ); the captopril group was given captopril suspension 6.3 mg/( kg · d ) by gavage. All groups were given once a day for 4 weeks. The systolic blood pressure and heart mass index ( HMI ) of rats in each group were compared. The serum angiotensin II ( Ang II ), tumor necrosis factor  $\alpha$  ( TNF- $\alpha$  ), interleukin 1 $\beta$  ( IL-1 $\beta$  ) and endothelin ( ET-1 ) content were detected. HE staining was used to observe the pathological changes of myocardial tissue, and detect the content of angiotensin II receptor 1 ( AT1 ) in myocardial tissue. **Results** Compared with the sham operation group, the model group had significantly higher levels of HMI, systolic blood pressure, myocardial tissue AT1, serum Ang II, ET-1, TNF- $\alpha$ , and IL-1 $\beta$  (  $P < 0.01$  ), and pathology showed that the gaps of myocardial cell bundles were slightly widened, and the arrangement of myocardial fibers was disordered, thickened and hypertrophy. Compared with the model group, the levels of HMI, systolic blood pressure, myocardial tissue AT1, and serum Ang II, ET-1, TNF- $\alpha$ , and IL-1 $\beta$  in captopril group and drug-pair high-dose groups were significantly reduced (  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$  ); the pathology of drug-pair high-dose group and captopril group had reduced myocardial tissue inflammatory cells, clear cell morphology, and low degree of myocardial fibrosis. Compared with the captopril group, there was no statistically significant difference in the drug-pair high-dose group (  $P > 0.05$  ). **Conclusion** Drug-pair Poria and Ramulus Cinnamomi could regulate blood pressure in CHF rats, inhibit myocardial hypertrophy and ventricular remodeling, and improve myocardial fibrosis in rats. It may be related to controlling inflammation, and inhibiting neuroendocrine overactivation, and it has best efficacy in high doses. **Keywords** Poria; Ramulus Cinnamomi; chronic heart failure; heart mass index; myocardial fibrosis; angiotensin II receptor 1; inflammatory factor

( 收稿日期: 2020-03-01; 修回日期: 2020-05-26 )

编辑: 王利芬