

· 博士之窗 ·

压力负荷增加大鼠心肌和血浆血管紧张素Ⅱ的改变及鹿角方的作用

蔡 辉^{1△} 胡婉英² 董耀荣² 赵 卫²

内容提要 **目的:**观察压力负荷增加大鼠心肌组织和血浆血管紧张素Ⅱ(Ang Ⅱ)的改变及鹿角方的作用。**方法:**采用实验性腹主动脉狭窄所致压力负荷增加大鼠充血性心力衰竭心肌肥厚模型,观察左室质量指数(LVMI);采用放射免疫法检测心肌组织和血浆 Ang Ⅱ水平。**结果:**LVMI 模型组明显高于假手术组($P < 0.001$),鹿角方大、小剂量组与模型组比较均有明显下降($P < 0.01$, $P < 0.05$);左室心肌 Ang Ⅱ水平模型组较假手术组显著升高($P < 0.001$),鹿角方大、小剂量组与模型组比较均有明显下降($P < 0.001$);血浆 Ang Ⅱ水平模型组较假手术组显著升高($P < 0.001$),鹿角方大、小剂量组与模型组比较均有明显下降($P < 0.01$)。**结论:**压力负荷增加使充血性心力衰竭心肌肥厚大鼠心肌组织和血浆血管 Ang Ⅱ水平明显升高;鹿角方可显著降低大鼠心肌组织和血浆 Ang Ⅱ水平;鹿角方治疗充血性心力衰竭的疗效,可能与该方降低心肌和血浆 Ang Ⅱ水平、逆转左室肥厚的作用有关。

关键词 充血性心力衰竭 心肌肥厚 压力负荷 血管紧张素Ⅱ 鹿角方

Changes of Myocardial Tissue and Plasma Angiotensin Ⅱ in Rats with Pressure Overload and Effect of Lujiao Prescription CAI Hui, HU Wanying, DONG Yaorong, et al *Nanjing General Hospital of Nanjing Military Area, Nanjing (210002)*

Objective: To observe the changes of myocardial tissue and plasma angiotensin Ⅱ in rats with pressure overload and effect of Lujiao prescription (LJP). **Methods:** Left ventricular mass index (LVMI), cardiac tissue and plasma angiotensin Ⅱ were measured in the rat model with myocardial hypertrophy of congestive heart failure and pressure overload by abdominal aortic constriction by radioimmunoassay. **Results:** LVMI level in the model group was obviously higher than that of the sham group ($P < 0.001$), while in LJP groups (both groups of low and high dose) was lowered significantly as compared with the model group. The myocardial and plasma angiotensin Ⅱ levels in the model group were obviously higher than those of the sham group ($P < 0.001$), while those of the LJP groups were also lowered significantly ($P < 0.001$). **Conclusions:** Cardiac tissue and plasma angiotensin Ⅱ in rats with myocardial hypertrophy of congestive heart failure by pressure overload were increased, and LJP could decrease them significantly. The therapeutic mechanism of LJP in treating heart failure might be related with the lowering of angiotensin Ⅱ in cardiac tissue and plasma so as to reduce the left ventricular hypertrophy.

Key words congestive heart failure, myocardial hypertrophy, pressure overload, angiotensin Ⅱ, Lujiao prescription

大量的研究已经证明,肾素—血管紧张素系统(RAS)参与充血性心力衰竭(CHF)心肌肥厚的发生发

展过程。随着组织RAS的发现,人们注意到心脏RAS在CHF左室肥大的发展过程中起着极其重要的作用。本实验以腹主动脉狭窄所致压力负荷过重CHF心肌肥厚大鼠为模型,研究中药复方鹿角方对该大鼠模型左室肥厚的逆转作用及对心脏肌血管紧张素Ⅱ(Ang Ⅱ)和循环Ang Ⅱ水平的影响,以探讨治疗充血性心力衰竭的可能机制。

1. 南京军区南京总医院(南京 210002); 2. 上海中医药大学附属曙光医院

[△] 现在河北医科大学博士后流动站(石家庄 050017)

材料与方法

1 材料 动物:雄性 Wistar 大鼠 46 只, 体重 160~200g, 由上海医科大学实验动物中心提供。药物:鹿角方口服液由鹿角、补骨脂、淫羊藿、山萸肉、女贞子、沉香等组成, 上海曙光医院制剂室按既定工艺制备, 每毫升含生药 1.6g。血管紧张素 II 放射免疫分析测定盒, 由北京北方生物技术研究提供。

2 方法

2.1 造模方法 参考 Anversa 方法^[1]。在双肾动脉上方分离腹主动脉, 并用一内径为 0.7mm 的银夹造成腹主动脉狭窄。

2.2 分组处理 将动物随机分成 4 组, 均常规喂养。假手术组 ($n=12$): 手术时只分离腹主动脉, 不造模, 手术 4 周后, 双蒸水灌胃 1.5ml/100g, 每天 1 次, 连续 4 周。模型组 ($n=12$): 造模 4 周后, 双蒸水灌胃 1.5ml/100g, 每天 1 次, 连续 4 周。鹿角方大剂量组 ($n=12$): 造模 4 周后, 用鹿角方口服液灌胃 1.5ml/100g (24g 生药/kg, 相当于成人剂量 15 倍), 每天 1 次, 连续 4 周。鹿角方小剂量组 ($n=10$): 造模 4 周后, 用鹿角方口服液灌胃 0.75ml/100g (12g 生药/kg, 相当于成人剂量 7.5 倍), 每天 1 次, 连续 4 周。

2.3 观察指标

2.3.1 左室质量指数 (left ventricular mass index, LVMI) 左室与室间隔的质量为左室质量, 用上海天平仪器厂制造的 MD100-1 电子天平称取质量。LVM(mg)/体质量(g)为 LVMI(%)。

2.3.2 血浆 Ang II 放射免疫测定 取腹主动脉血 5ml, 迅速注入冰水冷却的抗凝管 (10% EDTA Na₂) 中, 摇匀, 即刻再放回冰水浴中冷却, 4℃, 1000r/min 离心 5min, 分离血浆, 血浆放入 -70℃ 保存。冰冻的标本在流动的冷水浴中快速融化, 加样操作后 3500r/min, 离心 15min, 吸弃上清, 测定各管沉淀的放射 Bi(cpm)。以相对百分结合率为纵坐标, Ang II 标准浓度为横坐标, 在半对数坐标纸上画图, 作出标准曲线, 未知样品的 Ang II 值可根据其相对百分结合率在标准曲线上查出。

2.3.3 心肌 Ang II 放射免疫测定 取出心肌活组织, 吸去血迹, 称取质量, 取 100mg 尽快加 1mol/L HAC 1ml 略作碾磨, 然后在 100℃ 水浴中煮沸 10min, 匀浆, 4℃, 3000r/min 离心 15min, 取上清, -20℃ 以下保存, 测定时用 PBS 稀释调节 pH 值。加样操作及以后步骤, 同放射免疫法测定血浆 Ang II。

2.4 统计学方法 采用 t 检验。

结 果

各组 LVMI、心肌 Ang II 及血浆 Ang II 含量比较: 见表 1。LVMI 模型组明显高于假手术组 ($P<0.001$), 鹿角方大、小剂量组均较模型组明显降低 ($P<0.01$, $P<0.05$); 心肌 Ang II 及血浆 Ang II 含量模型组较假手术组均升高 ($P<0.001$), 鹿角方大、小剂量组与模型组比较均降低 ($P<0.001$, $P<0.01$)。

表 1 各组大鼠 LVMI、心肌 Ang II 及血浆 Ang II 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	LVMI (%)	心肌 Ang II (pg/mg)	血浆 Ang II (pg/ml)
假 手 术	12	2.24 ± 0.12	2.64 ± 0.57	130.2 ± 30.0
模 型	12	$3.15 \pm 0.47^*$	$3.96 \pm 0.77^*$	$196.7 \pm 48.6^*$
鹿角方大剂量	12	$2.60 \pm 0.44^{\Delta\Delta}$	$2.49 \pm 0.57^{\Delta\Delta\Delta}$	$130.7 \pm 38.1^{\Delta\Delta}$
鹿角方小剂量	10	$2.74 \pm 0.36^{\Delta}$	$2.65 \pm 0.55^{\Delta\Delta\Delta}$	$138.4 \pm 34.4^{\Delta\Delta}$

注: 与假手术组比较, * $P<0.001$; 与模型组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$, $\Delta\Delta\Delta P<0.001$

讨 论

近年来, 心力衰竭的病理生理概念有了重大进展, 认为神经内分泌的过度激活可加剧心室重构, 加重心力衰竭, 由此也带来治疗观念的转变, 即心力衰竭的治疗措施不应只局限于纠正血液动力学紊乱, 还应干预神经内分泌的作用^[2]。

充血性心力衰竭的心室重构与许多因素有关, 其中肾素-血管紧张素系统 (RAS) 在心室重构发生中起着重要作用, 最为引人注目。近年来还发现存在一种局部 RAS, 其成分在心、脑、肾、主动脉和肾上腺等组织出现, 以旁分泌、自分泌和胞内分泌形式参与了许多生理和病理过程。生理条件下, Ang II 有正性肌力, 促使交感神经兴奋, 维持血管张力, 调节冠脉流量和心率, 从而影响心脏功能; 病理情况下, 超生理浓度的 Ang II 有可能通过交感神经系统引起儿茶酚胺释放或对心脏直接作用, 即通过旁分泌、自分泌和胞内分泌, 从而促使心肌肥厚^[3]。据报道, 机械牵拉可刺激心肌细胞直接分泌 Ang II, 并加强其致左室肥厚的作用^[4]; 用血管紧张素转换酶抑制剂 (ACEI) 喂饲腹主动脉狭窄大鼠, 可防止心肌肥厚的发生^[5]。可见, 有效抑制心脏组织和血浆血管紧张素 II 的水平, 对于防治充血性心力衰竭的心肌肥厚及左室重构具有重要的临床意义。

本研究采用腹主动脉银夹狭窄造成压力负荷增加 CHF 心肌肥厚大鼠模型, 观察造模后 LVMI、心肌 Ang II、血浆 Ang II 的改变, 并进一步观察鹿角方的疗效,

(下转第 285 页)

HP 的近期根除率与丙组相当。

5 副作用及随访 甲乙两组未见有副作用发生者,丙组有恶心 17 例(34.0%),便秘 3 例(6.0%),均未影响疗程,各组血、尿、便常规及谷丙转氨酶无显著改变。胃镜随机复查治愈后满 1 年的患者,甲组 21 例复发 7 例(33.3%);乙组 30 例复发 2 例(6.7%);丙组 25 例复发 1 例(4.0%),复发者 HPUT 均为阳性,溃疡复发部位与当初基本一致。

讨 论

近年认为 HP 感染是 PU 的重要致病因子,我国 HP 感染率 >50%,而 HP 在 PU 的患者中检出率高达 90% 以上,所以把 HP 的根除当作是 PU 治愈的金标准。金银花属忍冬科植物,藤花皆可入药,其有效成分氯原酸和异亮原酸对多种细菌有抑制作用,尚有皂甙能增加肠粘膜的吸收,并具有抗菌、解热镇痛等活性作用(中草药成分化学,北京:北京科学技术出版社,1997:398—455),民间常用其花当茶饮以治疗胃病有一定

的疗效。我们通过临床对照研究证实金银花有抗 PU 作用,机理可能是其有效成分皂甙的抗 HP 作用和口服后其粉末在溃疡面形成一层保护膜,防止氧自由基损伤胃粘膜从而预防溃疡形成及促进溃疡的愈合。单用金银花疗效一般,加 Ran 之后疗效明显提高。Ran 是组胺 H₂ 受体阻滞剂,能与组胺竞争 H₂ 受体,抑制胃酸分泌作用,在质子泵抑制剂尚未问世前是治疗 PU 的有效药物,两药合用相辅相成,能显著提高 HP 清除率、减轻及活动性炎症消失、提高溃疡愈合的效果,而且两药同用未发现毒副作用。丙组是按照推荐方案即质子泵抑制剂加两种抗生素,虽然治疗 HP 相关性 PU 疗效好,其 HP 的根除率可达 90% 以上,但费用较高,一般患者难以承受,尤其是 HP 的感染率和 PU 的发病率大于城市的农村。而乙组即金银花加 Ran 14 天的药费较丙组经济实惠,治疗效果并未降低,且无副作用,药源广泛。所以,金银花加 Ran 是目前治疗 HP 相关性 PU 的有效组合之一。

(收稿:1999-02-12 修回:1999-08-16)

(上接第 283 页)

以探讨鹿角方治疗 CHF 的可能机制。模型组 LVMI、心肌 Ang II 及血浆 Ang II 水平明显高于假手术组(P 均 < 0.001);鹿角方大剂量组 LVMI、心肌 Ang II 及血浆 Ang II 水平较模型组明显下降。鹿角方小剂量组 LVMI、心肌 Ang II 及血浆 Ang II 水平也较模型组明显下降。从本结果看,腹主动脉狭窄所致压力负荷增加可造成心肌肥厚,与此同时,心肌和血浆 Ang II 水平升高,压力负荷过重的牵张刺激可能是造成心肌肥厚的始动因子,在该心肌肥厚的发生过程中,心肌和循环血浆的 Ang II 起着重要作用。鹿角方具有明显抗心肌肥厚的作用;明显降低心肌与血浆 Ang II 水平。我们曾用鹿角方治疗充血性心力衰竭确有疗效^[6],可能与本方降低心肌与血浆 Ang II 水平、逆转 CHF 左室肥厚有关,但还要作进一步的系统观察。

参 考 文 献

1. Anversa P, Hagopian M, Loud AV. Quantitative radioauto-

graphic localization of protein synthesis in experimental cardiac hypertrophy. *Lab Invest* 1973;29(3):282—292.

2. 侯应龙,杜日映.现代心力衰竭诊断治疗学.北京:人民军医出版社,1997:1.

3. Dostal DE, Baker KM. Evidence for a role of an intracardiac renin-angiotensin system in normal and failing hearts. *Trends Cardiovasc Med* 1993;3(2):67—74.

4. Kent RL, Hooper JK, Cooper GIV. Load responsiveness of protein synthesis in adult mammalian myocardium: role of cardiac deformation linked to sodium influx. *Circ Res* 1989;64(1):74—85.

5. Baker KM, Aceto JF. Angiotensin II stimulation of protein synthesis and cell growth in chick heart cells. *Am J Physiol* 1990;259(2):H610—H618.

6. 胡婉英,周 华,董耀荣.鹿角方治疗心力衰竭的临床和实验研究.上海中医药杂志 1992;(11):8—11.

(收稿:1998-11-09 修回:2000-01-07)