

· 基础研究 ·

生脉注射液与参附注射液单用及联用干预
慢性心力衰竭小鼠的比较研究

程 然 陶 怡 王旭栋 张骥越 史 红

摘要 目的 比较生脉注射液、参附注射液及其联合用药治疗盐酸异丙肾上腺素 (ISO) 诱导慢性心力衰竭 (CHF) 的效果。方法 用 ISO 诱导建立 CHF 小鼠模型, 将造模后的小鼠随机分为模型组 ($n=12$)、生脉组 ($n=11$)、参附组 ($n=11$) 和生参组 ($n=11$)。同时设 10 只小鼠为空白组。生脉组、参附组分给予与生脉注射液 [$1.04 \text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{d})$]、参附注射液 [$1.04 \text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{d})$]、生参组同时给予生脉注射液和参附注射液, 空白组和模型组给予生理盐水, 连续干预 14 d。旷场实验观察小鼠行为, 测量小鼠体重、脏器重量及左心室射血分数 (LVEF), ELISA 检测血清脑钠肽 (BNP) 水平, HE 染色后镜下观察心肌组织形态, 免疫组化染色法检测心肌 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 和 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 的表达。结果 空白组心肌细胞排列整齐, 细胞核大小、形态与结构正常, 模型组心肌细胞排列紊乱, 细胞核大小与形态不均匀, 生脉组心肌细胞排列较为整齐, 也较少见细胞间质均质粉染区域, 参附组、生参组心肌细胞排列较紊乱, 细胞核大小、形态不均匀。与空白组比较, 模型组体重、后肢直立次数、跨越格子数、LVEF、Bcl-2 表达及 Bcl-2/Bax 下降 ($P<0.05$, $P<0.01$), 心重/体重、肺重/体重、肝重/体重、血清 BNP 水平、Bax 表达升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 参附组体重、跨越格子数、Bcl-2 表达及 Bcl-2/Bax 升高, 肺重/体重、肝重/体重、血清 BNP 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); 生脉组肺重/体重、肝重/体重、血清 BNP 水平降低, 梳理毛发次数、后肢直立次数、LVEF、Bcl-2 和 Bax 表达、Bcl-2/Bax 增加 ($P<0.05$, $P<0.01$); 生参组肺重/体重、肝重/体重、血清 BNP 水平降低, 梳理毛发次数、后肢直立次数、跨越格子数、LVEF、Bcl-2 和 Bax 表达、Bcl-2/Bax 增加 ($P<0.05$)。与参附组比较, 生脉组 Bcl-2 表达及 Bcl-2/Bax 升高 ($P<0.05$), Bax 表达下降 ($P<0.05$)。结论 生脉注射液治疗 ISO 诱导 CHF 小鼠时, 能更好地保护心肌, 其疗效优于参附注射液及联合用药。

关键词 慢性心力衰竭; 血清脑钠肽; 左心室射血分数; 生脉注射液; 参附注射液; 细胞凋亡; 中成药

Comparative Study of Shengmai Injection and Shenfu Injection Alone and in Combination for Chronic Heart Failure Mice CHENG Ran, TAO Yi, WANG Xu-dong, ZHANG Qi-yue, and SHI Hong
Department of Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi (830011)

ABSTRACT Objective To compare the effect of Shengmai Injection, Shenfu Injection and their combination on isoprenaline hydrochloride (ISO) induced chronic heart failure (CHF) mice. **Methods** CHF mice model was established by ISO induction, the model mice were randomly divided into model group ($n=12$), Shengmai group ($n=11$), Shenfu group ($n=11$) and Shengshen group ($n=11$), another 10 mice were selected as blank group. Shengmai group and Shenfu group were given Shengmai Injection ($1.04 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) and Shenfu Injection ($1.04 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) respectively. Shengshen group were given Shengmai Injection and Shenfu Injection. The blank group and model group were given normal saline Injection. The intervention lasted for 14 days. The behavior of mice was observed by open field test. Body weight, organ weight and left ventricular ejection fraction (LVEF) were measured. The serum level of brain natriuretic peptide (BNP) was detected by ELISA. The morphology of

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.81560742); 新疆医科大学大学生创新计划项目 (No.202010760009)

作者单位: 新疆医科大学中医系 (乌鲁木齐 830011)

通讯作者: 史 红, Tel: 0991-4366153, E-mail: shihong_cyh@163.com

DOI: 10. 7661/j. cjm. 20230216.100

myocardial tissue was observed under microscope after HE staining. The expressions of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) and Bcl2-associated X protein (Bax) were detected by immunohistochemical staining. **Results** In the blank group, the myocardial cells arranged neatly, the size, shape and structure of cell nucleus were normal. The myocardial cells in model group arrange disorderly, the cell nucleus uneven in the aspect of size and shape. The myocardial cells in Shengmai group arranged neatly, and the homogenous powder staining area between cells was less common. The arrangement of myocardial cells in Shenfu group and Shengshen group were disordered, and the size and shape of nucleus were uneven. Compared with the blank group, body weight, number of hind limb upright, number of square lattice be walked, LVEF, expression of Bcl-2 and Bcl-2/Bax decreased ($P<0.05$, $P<0.01$), while the ratio of heart weight / bodyweight, lung weight / body weight and liver weight / body weight, level of BNP in serum and expression of Bax increased in model group ($P<0.01$). Compared with model group, body weight, number of square lattice be walked, expression of Bcl-2 and Bcl-2/Bax increased, while the ratio of lung weight / body weight, liver weight / body weight and the level of BNP in serum decreased in Shenfu group ($P<0.05$, $P<0.01$). The ratio of lung weight / body weight, liver weight / body weight, the level of BNP in serum decreased, while grooming times, hind limb upright times, LVEF, expression of Bcl-2 and Bax, Bcl-2/Bax increased in Shengmai group ($P<0.05$, $P<0.01$). The ratio of lung weight / body weight, liver weight / body weight, BNP level in serum decreased, while grooming times, hind limb upright times, number of square lattice be walked, LVEF, expression of Bcl-2 and Bax, Bcl-2/Bax increased in Shengshen group ($P<0.05$). Compared with Shenfu group, expression of Bcl-2 and Bcl-2/Bax increased ($P<0.05$), while expression of Bax decreased in Shengmai group ($P<0.05$). **Conclusion** Shengmai injection has better myocardium protection effect in treatment of ISO-induced CHF mice, and its efficacy is better than Shenfu injection and the combination of Shengmai injection and Shenfu Injection.

KEYWORDS chronic heart failure; brain natriuretic peptide; left ventricular ejection fraction; Shengmai injection; Shenfu injection; apoptosis; Chinese patent medicine

慢性心力衰竭 (chronic heart failure, CHF) 是多种原因导致心脏结构和 (或) 功能的异常改变, 使心室收缩和 (或) 舒张功能发生障碍而引起的一组复杂临床综合征。作为一种血流动力学疾病, CHF 的主要临床表现是呼吸困难、疲乏和液体潴留 (肺淤血、体循环淤血及外周水肿) 等, 我国成人 CHF 患病率为 0.9%^[1], 发达国家 CHF 患病率约为 1%~2%, 其中 70 岁以上患者超过 10%^[2, 3]。CHF 属于中医学“水肿”“心悸”“喘证”等范畴, 其常见证候类型为气虚血瘀、气阴两虚、阳虚水泛和喘脱危证^[4]。生脉注射液、参附注射液是临床常用中药复方制剂, 分别具有益气养阴和温阳补虚的功效, 对治疗 CHF 有较好疗效^[5, 6]。本研究以心肌组织形态、B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 和 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2-associated X protein, Bax) 表达、血清脑钠肽 (brain natriuretic peptide, BNP) 水平及小鼠自主活动及探索行为等为观察指标, 比较生脉注射液、参附注射液及其联合用药对 CHF 的疗效, 为临床治疗 CHF 的用药提供依据。

材料与方法

1 动物 90 只清洁级健康昆明种小鼠, 雌雄各

半, 4 周龄, 体重 (20 ± 2) g, 购自新疆医科大学动物实验中心 [许可证号: SCXK (新) 2018-0002], 饲养室环境温度 25℃, 相对湿度 40%~50%, 自然照明, 昼夜时间比值为 1:1, 普食饲喂, 自由饮食、饮水, 实验前适应性饲养 3 d。本实验方案经新疆医科大学实验动物伦理委员会审查批准 (No. IACUC-20210520-3)。

2 药品 注射用盐酸异丙肾上腺素 (isoprenaline hydrochloride, ISO) 粉剂 (5 mg/支, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 批号: L2007115), 生脉注射液 (由红参、麦冬、五味子组成, 2 mL/支, 常熟雷允上制药有限公司, 批号: 2011241), 参附注射液 [由红参、附片组成, 每 1 mL 注射液相当于生药红参 0.1g、附片 0.2g, 2 mL/支, 华润三九 (雅安) 药业有限公司, 批号: 210306AK06]。

3 试剂及仪器 BNP ELISIA 试剂盒 (美国 RayBio 公司, 批号: 0809217064), 封闭用羊血清工作液 (北京中杉金桥生物技术有限公司, 批号: 218061201), DAB 显色试剂盒 (北京中杉金桥生物技术有限公司, 批号: 224020110), Bax 兔抗鼠一抗 (美国 Affinity Biosciences 公司, 批号: 44q6915),

Bcl-2 兔抗鼠一抗 (美国 Affinity Biosciences 公司, 批号: 1109905), 辣根酶标记山羊抗兔 IgG (美国 Abcam 公司, 批号: GR3399203-17)。小动物麻醉机 (深圳瑞沃德生命科技有限公司, R500IE), B 超机 (荷兰飞利浦电子公司, HD11XE), 酶标仪 (美国赛默飞世尔科技公司, 1510), 台式低速离心机 (上海菲哈尔分析仪器有限公司, SEFI-TDL-5C), 电子天平 (上海菁海仪器有限公司, FA2004N), 自制 30 cm × 30 cm × 30 cm 小动物行为观察箱。

4 造模方法 CHF 建模参考文献 [7] 并进行改进, 无菌操作下用生理盐水配置 ISO 注射液 (6.67 mg/mL), 现配现用。持续 28 d 交替 (隔日) 选择腹腔注射法和颈部皮下多点注射法给药, 每只小鼠 0.15 mL/d, 剂量为 50 mg/(kg·d)。小鼠表现出不同程度的倒毛、皮毛脱落、活动量降低, LVEF 和血清 BNP 水平低于空白组时视为 CHF 建模成功 [8]。

5 分组及干预 分雌雄采用随机数字法按体重将小鼠随机分为空白组 ($n=10$, 雌雄各 5 只) 和建模组 ($n=80$, 雌雄各 40 只)。空白组腹腔注射生理盐水, 建模组注射 ISO 建立 CHF 模型, 造模过程中死亡 35 只 (雄性 19 只, 雌性 16 只), 死亡原因考虑为小鼠个体不能耐受注射 ISO 后引起的心动过速或心肌毒性作用。最终 45 只造模成功, 分雌雄采用随机数字表法分为模型组 ($n=12$, 雌雄各 6 只), 生脉组、参附组和生参组 (均 $n=11$, 其中雌鼠 6 只, 雄鼠 5 只)。造模分组后, 生脉组予生脉注射液 1.04 mL/(kg·d), 参附组予参附注射液 1.04 mL/(kg·d), 生参组接受两种药物干预, 模型组和空白组则予等量生理盐水, 交替 (隔日) 选择腹腔注射法和颈部皮下多点注射法给药, 连续干预 14 d。实验过程空白组死亡 1 只 (最终雌鼠 4 只, 雄鼠 5 只), 死亡原因为同笼小鼠撕咬死亡; 模型组死亡 3 只 (最终雌鼠 4 只, 雄鼠 5 只), 死亡原因为 CHF; 生脉组、参附组、生参组无死亡。实验结束后观察小鼠自主活动、探索行为, 麻醉下心脏超声检测 LVEF, 摘除眼球采血制备血清, 摘除脏器称重, 切取心脏常规包埋制备石蜡切片待测。

6 检测指标及方法

6.1 测量体重并计算脏器指数 普通电子天平称取麻醉后小鼠的体重, 摘眼球采血后断颈处死小鼠, 开胸摘取心脏、肺脏、双肾, 钝性剥离脏器上附着的其他组织, 滤纸吸干脏器表面水分, 置称量纸上用电子分析天平称取其重量, 并计算脏器指数 (脏器重量/体重)。

6.2 旷场试验 室温 (20 ± 2) °C, 安静环境, 箱体顶部固定拍摄装置。测试前清洁并消除箱内残留气味, 小鼠自箱体固定点放置于箱内, 适应 3 min 后观察小鼠行为 5 min。应用视频软件分析小鼠进入九宫格中央区的时间, 评价小鼠探索能力, 记录自主活动方式及时间 [9]。

6.3 HE 染色观察心肌组织形态 石蜡切片 (厚度 4 μm) 常规脱蜡, 水化, 浸入苏木素染液 1 min, 取出后自来水洗, 0.1% 盐酸乙醇分化 5 s, 自来水洗后浸入伊红染液 30 s, 自来水洗去多余染料, 常规脱水, 中性树脂封片后光镜下观察。

6.4 心脏 B 超测量左心室射血分数 (left ventricular ejection fractions, LVEF) 小动物麻醉机中异氟烷麻醉小鼠后, 经 B 超机测量小鼠左心室舒张末期容积 (left ventricular end-diastolic volume, LVEDV)、左心室收缩末期容积 (left ventricular end-systolic volume, LVESV), 按照公式 $LVEF = [(LVEDV - LVESV) / LVEDV] \times 100\%$ 计算 [10]。

6.5 ELISA 法检测血清 BNP 水平 冻存血清室温冰面平衡 30 min 待测。按照 ELISA 试剂盒说明书操作测定及分析血清 BNP 水平。

6.6 免疫组化染色法分析 Bax 和 Bcl-2 的表达 石蜡切片常规脱蜡, 消除内源过氧化物酶, 抗原修复, 羊血清工作液封闭 40 min, Bax 一抗和 Bcl-2 一抗 4 °C 过夜 (浓度均为 1:300), 二抗羊抗兔 (浓度 1:1000) 孵育 2 h, DAB 显色, 脱水、中性树脂封片。同一张切片 ($\times 200$) 视野下选取 5 处采图, 使用 Image Pro Plus6.0 分析积分光密度 (integral optical density, IOD) 值。

7 统计学方法 采用 Excel 录入数据, 应用 SPSS 23.0 统计软件统计分析数据。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析进行均数的两两比较, 方差齐时采用最小显著差法检验, 方差不齐时采用塔姆黑尼检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组小鼠体重和脏器指数比较 (表 1) 与空白组比较, 模型组体重减轻 ($P < 0.01$), 心重/体重、肺重/体重、肝重/体重升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 参附组体重升高 ($P < 0.05$), 生脉组、参附组、生参组肺重/体重、肝重/体重降低 ($P < 0.01$)。

2 各组小鼠自主活动和探索行为比较 (表 2) 与空白组比较, 模型组后肢直立次数和跨越格子数均减少 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 生脉组和生参组梳

表 1 各组小鼠体重及脏器指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	体重 (g)	心重 / 体重 (%)	肺重 / 体重 (%)	肝重 / 体重 (%)	肾重 / 体重 (%)
空白	9	38.82 ± 4.97	0.51 ± 0.05	0.54 ± 0.08	3.84 ± 0.28	0.62 ± 0.49
模型	9	31.20 ± 4.76*	0.65 ± 0.05*	0.75 ± 0.12*	5.55 ± 0.61*	0.71 ± 0.13
生脉	11	34.68 ± 3.88	0.58 ± 0.91	0.59 ± 0.72 ^{△△}	4.22 ± 0.65 ^{△△}	0.66 ± 0.10
参附	11	35.75 ± 1.97 [△]	0.60 ± 0.11	0.61 ± 0.05 ^{△△}	4.33 ± 0.66 ^{△△}	0.68 ± 0.14
生参	11	34.72 ± 3.58	0.59 ± 0.09	0.61 ± 0.06 ^{△△}	4.41 ± 0.61 ^{△△}	0.68 ± 0.12

注: 与空白组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

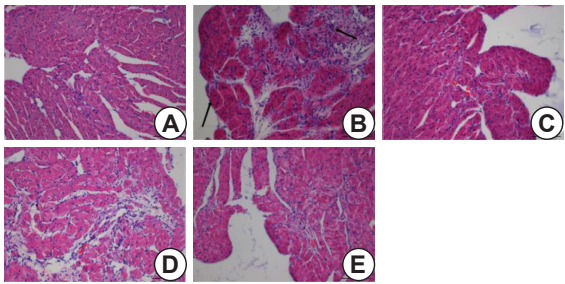
表 2 各组小鼠自主活动、探索行为比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	中央区停留时间 (s)	梳理毛发次数 (次)	后肢直立次数 (次)	跨越格子数 (次)
空白	9	24.57 ± 29.64	5.11 ± 2.37	46.89 ± 16.89	97.56 ± 40.07
模型	9	17.52 ± 20.29	2.89 ± 3.02	23.22 ± 26.53*	57.11 ± 38.25*
生脉	11	41.41 ± 32.24	7.09 ± 4.11 [△]	47.91 ± 25.61 [△]	82.91 ± 34.77
参附	11	34.62 ± 30.57	5.64 ± 4.39	38.00 ± 11.47	101.27 ± 37.24 [△]
生参	11	32.79 ± 37.95	6.55 ± 4.99 [△]	51.46 ± 13.82 [△]	105.82 ± 44.97 [△]

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$

理毛发次数、后肢直立次数均增加 ($P < 0.05$), 参附组和生参组跨越格子数升高 ($P < 0.05$)。

3 各组小鼠心肌 HE 染色结果 (图 1) 光镜下空白组心肌细胞排列整齐, 染色均匀, 细胞核大小、形态与结构正常。模型组心肌细胞排列紊乱, 偶见空泡细胞, 心肌组织间质可见均质粉染区域, 细胞质染色较浅, 细胞核大小与形态不均匀。生脉组心肌细胞排列较为整齐, 也较少见细胞间质均质粉染区域。参附组、生参组心肌细胞排列较紊乱, 细胞核大小、形态不均匀。



注: 箭头所指为心肌细胞肥大, 间质增生伴少量的炎性细胞浸润, 肌纤维排列紊乱; A 为空白组, B 为模型组, C 为生脉组, D 为参附组, E 为生参组, 下图同

图 1 各组小鼠心肌 HE 染色后光镜下表现 ($\times 200$)

4 各组小鼠 LVEF 及血清 BNP 水平比较 (表 3) 与空白组比较, 模型组 LVEF 降低 ($P < 0.01$), 血清 BNP 水平升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 生脉组和生参组 LVEF 升高 ($P < 0.05$), 生脉组、参附组和生参组血清 BNP 水平均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

5 各组小鼠心肌 Bcl-2、Bax 表达比较 (表 4, 图 2、3) 与空白组比较, 模型组 Bcl-2 表达及 Bcl-2/

Bax 下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), Bax 表达增加 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 生脉组和生参组 Bcl-2、Bax 表达及 Bcl-2/Bax 升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 参附组 Bcl-2 表达及 Bcl-2/Bax 升高 ($P < 0.01$)。与参附组比较, 生脉组 Bcl-2 表达及 Bcl-2/Bax 升高 ($P < 0.05$), Bax 表达下降 ($P < 0.05$)。

表 3 各组小鼠 LVEF 及血清 BNP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	LVEF (%)	BNP (pg/mL)
空白	9	0.78 ± 0.10	25.56 ± 5.82
模型	9	0.52 ± 0.77*	57.47 ± 10.86*
生脉	11	0.64 ± 0.11 [△]	45.24 ± 10.15 ^{△△}
参附	11	0.55 ± 0.14	47.41 ± 10.92 [△]
生参	11	0.65 ± 0.92 [△]	45.44 ± 6.68 ^{△△}

注: 与空白组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

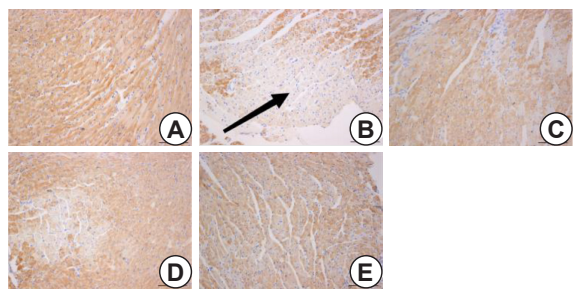
表 4 各组小鼠心肌 Bcl-2、Bax 表达及 Bcl-2/Bax 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Bcl-2	Bax	Bcl-2/Bax
空白	9	0.06 ± 0.03	0.02 ± 0.01	2.86 ± 1.44
模型	9	0.02 ± 0.01*	0.07 ± 0.02**	0.37 ± 0.17**
生脉	11	0.07 ± 0.01 ^{△△△}	0.04 ± 0.01 ^{△△△}	1.77 ± 0.60 ^{△△△}
参附	11	0.05 ± 0.01 ^{△△}	0.06 ± 0.03	1.05 ± 0.51 ^{△△}
生参	11	0.06 ± 0.01 ^{△△}	0.06 ± 0.02 [△]	1.19 ± 0.36 ^{△△}

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$; 与参附组比较, ^{△△} $P < 0.05$

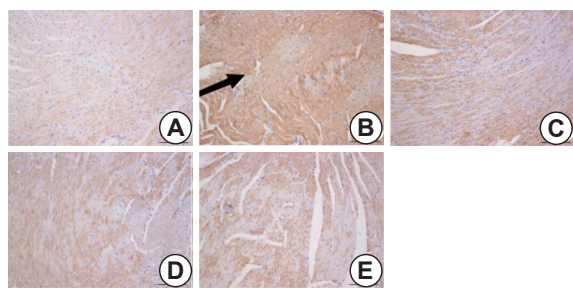
讨 论

生脉注射液原药为红参、麦冬和五味子, 20 世纪下叶由陈可冀教授主持研究将其制成注射剂, 生脉注射液的主要成分为人参皂苷、麦冬多糖、麦冬皂苷



注：图中箭头所指棕黄色为 Bcl-2 表达

图 2 各组小鼠心肌 Bcl-2 表达



注：图中箭头所指棕黄色为 Bax 表达

图 3 各组小鼠心肌 Bax 的表达

以及五味子醇甲等^[11]。参附注射液由红参、附子（黑顺片）经现代工艺加工制备而成，主要成分为人参皂苷与乌头类生物碱、附子苷、香豆素苷等^[12]。人参皂苷是上述两种注射液共有的化学成分，具有促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、抑制氧化应激、抗炎、增加细胞活力等多种药理作用，可对神经细胞、心肌细胞、干细胞、肝细胞、肺上皮细胞等多种细胞发挥保护作用^[13]，是生脉注射液和参附注射液治疗慢性心衰时发挥疗效的物质基础^[14]。

CHF 心功能不全时，心肌收缩力下降，每搏输出量减少，左心室舒张末容积增大，LVEF 会随之降低，心室肌细胞中 pre-pro BNP 会被释放并分解成 BNP 和 NT-proBNP，血清 BNP 水平也会显著升高。左心功能不全时心脏前负荷增加，造成体循环淤血和肺循环淤血^[15]，CHF 模型会出现肝重/体重、肺重/体重的升高^[16]。本研究中模型组较空白组 LVEF 降低，血清 BNP 水平升高，且光镜下模型组小鼠心肌细胞排列紊乱，小鼠后肢直立次数和跨越格子数均减少可判断 CHF 小鼠体能和自主活动能力下降，出现“神疲倦怠”的表征，提示 CHF 建模成功。干预后各给药组小鼠血清 BNP 水平均降低，LVEF 增加，脏器比重均下降，肺循环淤血和体循环淤血均得到相应的改善，参附组和生参组小鼠“精神好转”，自主活动增加，且生脉组小鼠梳理毛发等精细运动次数增加，可见生脉注射液、参附注射液及其联合用药治疗慢性

心衰疗效显著，此与临床试验结果及其他同类实验研究结果一致^[17]。

笔者认为，两种中药复方注射剂对心衰的疗效与人参皂苷增强心肌收缩力，提高心排出量及增强心脏工作效率的同时，减少心肌耗氧量，改善微循环，扩张周围血管，降低外周阻力有关，也与生脉注射液其他主成分的药效密切相关，如可调节糖代谢限速酶表达，提供足够的底物来提高糖类能量代谢效率，在心血管疾病治疗中有全方位改善能量代谢作用的麦冬多糖和麦冬皂苷^[11]。此外，生脉注射剂可抑制环氧化酶-2（cyclooxygenase-2，COX-2）和诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase，iNOS）蛋白表达，有较强抗炎活性，并具有保护血管内皮细胞作用的五味子醇甲等^[18]。此外，还可能与生脉注射液兴奋迷走神经，抑制交感神经，改善体循环淤血有关^[19]。

心肌细胞核的形态学表现对于判断心肌细胞的再生率和凋亡率具有重要价值，心肌细胞核排列、大小与形态越不均匀，则心肌细胞的再生率越低，凋亡率也越高。本研究中参附组、生参组心肌细胞排列较紊乱，细胞核大小、形态不均匀，但生脉组心肌细胞排列较为整齐，也较少见细胞间质均质粉染区域。干预后各给药组 Bcl-2/Bax 均高于模型组，说明两种中药复方注射液及其联合用药均作用于 Bcl-2/Bax 凋亡通路，拮抗 CHF 小鼠心肌细胞的凋亡。其中，生脉散组拮抗心肌细胞凋亡的效应较参附组和生参组更为显著，提示生脉注射液中具有更多或更加有效的保护心肌的化学成分。

中医学认为，宗气贯心脉行气血，赖脾肺之气充沛而生，其不足则心阳不振，血行郁滞。生脉散是由复脉汤（又名炙甘草汤）加减化裁而来，复脉与生脉含义相同，其效均为使虚弱之脉得以复常，鼓舞气血运行于脉内。生脉注射液益气养阴，补益心气，改善心功能之时，还可改善肺气亏虚，充宗气强心脉而促行血^[20]。本研究结果证实生脉注射液干预 ISO 诱导 CHF 小鼠时，不仅能够改善心功能、还能更好地保护心肌并减轻体循环瘀血^[21]，其疗效优于参附注射液。参附注射液具有回阳救逆、益气固脱功效，与生脉注射液适用于气阴两虚型 CHF 相比，参附注射液常用于治疗心肾阳虚、阳虚水泛、正虚喘脱型心衰。从方证相应的角度考虑，ISO 诱导 CHF 小鼠模型可能更倾向于气阴两虚型。而生参组疗效不及生脉组，则可能与干预生参组的生脉注射剂的剂量较生脉组减半有关。从药物成分方面考虑，生脉注射液中含有参

附注射液所不具备的化学成分,如五味子醇甲、麦冬多糖、麦冬皂苷等,这些物质在抗炎、抗氧化、减少心肌细胞凋亡、改善心肌能量代谢等方面的药效可能优于参附注射液中主成分次乌头碱等^[11, 12]。

另外,使用普通针头单点皮下注射法建立 CHF 小鼠模型时,皮下组织虽比较疏松,但其可容纳的药液非常有限,常易出现药液外溢、注射点局部红肿、疼痛、硬结等不良现象和反应,甚至出现局部坏死而引发功能障碍。应用连续腹腔注射法建模时,小鼠容易产生大量腹水而死亡^[22]。本实验建模时间较短,单次给药量较大,为在保证成模率的同时成功建模,而采用交替(隔日)进行腹腔注射和颈部皮下多点小剂量皮下注射的方法,对真皮下组织的压迫和刺激较轻,局部反应小,疼痛不明显,且能加快机体对药液的吸收和应答,此法既缩短了建模时间,又保证了模型的质量和成活率。

本研究仅为初步的观察性研究,未能就生脉注射液、参附注射液及其联合用药药效差异性表现的机制进行深入探讨,未来课题组将进一步研究,探讨明确作用机制。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] 马丽媛,吴亚哲,王文,等.《中国心血管病报告 2017》要点解读[J].中国心血管杂志,2018,23(1):3-6.
- [2] Špinar J, Špinarová L, Vítovec J. Pathophysiology, causes and epidemiology of chronic heart failure[J]. Vnitr Lek, 2018, 64(9): 834-838.
- [3] 杨杰孚,王华,柴珂.2018 中国心力衰竭诊断和治疗指南亮点[J].中国心血管病研究,2018,16(12): 1057-1060.
- [4] 付婧婷,张明雪.冠心病合并慢性心衰的中医证候探析[J].中医药信息,2019,36(6): 49-51.
- [5] 姜淋洁,成忠煌,胡雪峰,等.生脉饮治疗慢性心衰大鼠不同提取工艺的比较[J].中国新药杂志,2012,21(9): 1054-1058.
- [6] 董桂琴,林楠.参附注射液治疗心衰 100 例[J].辽宁中医杂志,2005,32(1): 39.
- [7] 张鹤萍,钱海超,熊杰,等.阿托伐他汀对异丙肾上腺素诱导的心力衰竭小鼠胞浆内钙火花影响的研究[J].临床和实验医学杂志,2017,16(16): 1569-1574.
- [8] 党海舟,李明凯,徐明,等.主动脉弓缩窄术和腹腔注射 IPH 致小鼠慢性心衰两种模型的比较和评价[J].心脏杂志,2012,24(2): 168-172.
- [9] 王莉颖,姚涵,王文挺,等.五区域划分法在小鼠旷场行为分析中的应用[J].神经解剖学杂志,2019,3(6): 585-592.
- [10] 刘晓鸣,雷震,何刊,等.全卷积神经网络与全连接条件随机场中的左心室射血分数精准计算[J].计算机辅助设计与图形学学报,2019,31(3): 431-438.
- [11] 柴瑞平,路娟,吕欣锴,等.生脉注射液 UPLC 特征指纹图谱及 11 种成分定量分析[J].中国现代中药,2019,21(4): 498-503.
- [12] 张紫嫣,韦岳昆,傅永,等.参附注射液治疗急性心力衰竭的网络药理学研究[J].中国中医急症,2022,31(11): 1881-1885.
- [13] 杨春昆,姜春云,王雪娇,等.人参皂苷对血管的保护机制[J].世界中西医结合杂志,2022,17(8): 1685-1690.
- [14] 《中成药治疗优势病种临床应用指南》标准化项目组.中成药治疗心力衰竭临床应用指南(2021 年)[J].中国中西医结合杂志,2022,42(3): 261-275.
- [15] 王建枝,钱睿哲主编.病理生理学[M].北京:人民卫生出版社,2018: 7.
- [16] 曹静,吕吉元,张明升,等.橙皮素对异丙基肾上腺素诱导大鼠心衰的保护作用[J].中西医结合心脑血管病杂志,2017,15(18): 2241-2244.
- [17] 翟优,刘思远,陈善夫,等.4 种中药注射剂改善大鼠慢性心力衰竭的药效研究[J].中草药,2021,52(14): 4248-4254.
- [18] 张磊,苏小琴,李德坤,等.基于临床疗效的注射用益气复脉(冻干)质量标志物确证[J].中草药,2021,52(18): 5741-5750.
- [19] 刘淑红.生脉注射液治疗慢性心力衰竭 120 例疗效观察[A].全国第四届王清任学术思想研讨会论文集[C].河北,中华中医药学会:全国第四届王清任学术思想研讨会,2008: 157-159.
- [20] 王世华,李新龙,何丽云,等.基于古籍文献的生脉散适应病证可视化分析[J].中医杂志,2019,60(9): 745-749.
- [21] 李焕,贾妮.论生脉散研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2020,22(10): 190-193.
- [22] 张倩,卫晓红,陈洁,等.慢性心力衰竭常用动物模型的研究进展及其在中医药研究中的应用[J].中国中药杂志,2023,48(3): 614-624.

(收稿:2022-05-27 在线:2023-03-21)

责任编辑:邱禹