

本文引用:胡思远,殷宏亮,李欣春,龚德良,刘磊,胡志希.运动康复联合参附注射液对心肌病心衰大鼠血流动力学的影响[J].湖南中医药大学学报,2017,37(7):715-718.

运动康复联合参附注射液对心肌病心衰大鼠血流动力学的影响

胡思远,殷宏亮,李欣春,龚德良,刘磊,胡志希*
(湖南中医药大学,湖南长沙410208)

[摘要] **目的** 观察运动康复联合参附注射液对心肌病所致心力衰竭大鼠血流动力学的影响。**方法** 将50只SD雄性大鼠随机分为安静对照组(10只)与造模组(40只),造模组大鼠采用盐酸多柔比星腹腔注射7周造模,造模成功后的36只大鼠,按随机数字表法,分为模型组、参附组、运动康复组、运动康复参附组,每组9只。分别用生理盐水、参附注射液、运动康复、运动康复联合参附注射液干预4周,检测大鼠左室收缩压峰值(LVSP)、左舒张末压力(LVEDP)、左室等容收缩末期压力上升最大速度(+dp/dtmax)、左室压力下降最大速度(-dp/dtmax)等血流动力学指标。**结果** 与模型组比较,参附组、运动康复组、运动康复参附组在LVSP、LVEDP、+dp/dtmax、-dp/dtmax差异有统计学意义($P<0.05$);与运动康复参附组比较,参附组、运动康复组在LVSP、+dp/dtmax、-dp/dtmax差异有统计学意义($P<0.05$);与运动康复参附组比较,参附组在LVEDP差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 运动康复、参附注射液、运动康复联合参附注射液都能改善心衰大鼠血流动力学指标,提高心衰大鼠心脏功能,而运动康复联合参附注射液效果最好。

[关键词] 心力衰竭;运动康复;参附注射液;血流动力学

[中图分类号]R54;R28 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.07.005

Effects of Exercise Rehabilitation and Shenfu Injection on Hemodynamics in Rats with Cardiomyopathy Heart Failure

HU Siyuan, YIN Hongliang, LI Xinchun, GONG Deliang, LIU Lei, HU Zhixi*
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of exercise rehabilitation combined with Shenfu injection on hemodynamics in rats with heart failure induced by cardiomyopathy. **Methods** 50 SD rats were randomly divided into the control group and model group, model group rats was injected doxorubicin hydrochloride intraperitoneally for 7 weeks. After successful modeling, the rats were divided into model group, Shenfu group, exercise group, exercise and Shenfu group according to the random number table method, 6 in each group. They will be treated with saline, Shenfu injection, exercise rehabilitation, exercise rehabilitation combined with Shenfu injection for 4 weeks. The hemodynamics parameters such as LVSP, LVEDP, +dp/dtmax, -dp/dtmax were measured. **Results** Compared with model group, there were significant differences in LVSP, LVEDP, +dp/dtmax and -dp/dtmax between Shenfu group, exercise group and exercise and Shenfu group ($P<0.05$). Compared with exercise and Shenfu group, there were significant differences in LVSP, +dp/dtmax and -dp/dtmax between Shenfu group and exercise group ($P<0.05$). Compared Shenfu group with exercise and Shenfu group, there was significant differences in LVEDP ($P<0.05$). **Conclusion** Exercise rehabilitation, Shenfu injection, exercise rehabilitation combined with Shenfu injection could improve the hemodynamic parameters and heart function of heart failure rats, but exercise rehabilitation combined with Shenfu injection is the best.

[Keywords] heart failure; exercise rehabilitation; Shenfu injection; hemodynamics

[收稿日期]2016-12-29

[基金项目]国家自然科学基金项目(81373550);湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目(2016-298);湖南中医药大学青年教师科研基金(2015-32)。

[作者简介]胡思远,男,助教,硕士,研究方向:运动与心脏康复。

[通讯作者]*胡志希,男,教授,博士研究生导师,E-mail:zhixihu@qq.com。

心力衰竭是各种心脏疾病的终末期,由于心脏功能减退或心脏结构异常导致射血分数低下、心排血量减少、心脏收缩和舒张功能减弱,使回心血量无法正常排出,各组织器官无法得到充分的血液灌注,出现循环系统淤血。最新流行病学研究发现:欧洲心衰患病率为2%~3%^[1],美国心衰患病率为1.5%至2.0%^[2],我国35至74岁患病率为0.9%,5年生存率仅为50%^[3]。随着年龄增大,患病率显著上升,心衰的高患病率、高住院率、高死亡率给患者带来了沉重的经济负担。本文通过腹腔注射盐酸多柔比星成功制备心肌病心衰大鼠模型,运动康复联合参附注射液干预,观察血流动力学指标,从而探讨运动康复干预心肌病心衰的效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级健康雄性Sprague-Dawley (SD)大鼠50只,6~8周龄,体质量180~240 g,购买于湖南斯莱克景达实验动物有限公司(许可证编号:SYXK(湘)2013-0005),饲养于SPF级动物实验室,室温20℃,相对湿度50%~60%,昼夜交替照明时间为1:1,每笼3只,在实验期间均常规喂食,清洁水喂养,符合《中华人民共和国卫生部实验动物环境设施标准》二级标准。

1.2 药品与试剂

参附注射液,10 mg/瓶,批号:140205010,雅安三九药业有限公司;盐酸多柔比星,10 mg/支,批号:130704,浙江海正药业股份有限公司;肝素钠注射液,2 mL:12 500 u,批号:1404115,万邦医药股份有限公司;NT-proBNP试剂盒,8×12TEST,批号:14052001,上海拜沃生物科技有限公司;水合氯醛,250 g/瓶,批号:20130831,科密欧化学试剂有限公司。

1.3 主要仪器

超低温冰箱,美国Thermo公司;5417R小型高速冷冻离心机,德国Eppendorf公司;YJ-E111静水池,江苏羽佳塑业有限公司;MP150多导生理记录仪,美国BIOPAC公司;SonoScape-S2N彩色多普勒超声诊断仪,深圳开立开机有限公司。

1.4 模型建立^[4]

参考Migrino Raymond Q等的《Early detection of doxorubicin cardiomyopathy using two-dimensional strain echocardiography》与成忠煌等的《阿霉素诱导大鼠慢性心力衰竭模型给药剂量和频率的优化》,将50只SD大鼠采用盲法分为安静对照组10只与造模组40只,造模组腹腔注射盐酸多柔比星注射液,用生理盐水配制成2 mg/mL液体,按0.75 mL/kg剂量腹腔注射,每周注射2次,总共7

周,累积盐酸多柔比星总量约为21 mg/kg^[5]。安静对照组的SD大鼠以同样方式腹腔注射等量的生理盐水。

1.5 成模标准及评价^[6]

外表及行为体征:造模完成后观察发现,大鼠精神不振,萎靡少动;毛发枯燥无光泽,步履蹒跚;体质量相对于安静对照组明显减轻;部分大鼠腹部水肿严重,呈现“身子瘦肚子大”的特征,腹水以暗红色为主,少数为淡黄色。

NT-proBNP检测:造模后2周,检测外周血液中血清NT-proBNP的含量,均大于350 pg/mL,显示造模成功,根据纽约心脏病协会的分级标准,模型为Ⅱ级以上心衰。

病理形态学检测:选取死亡大鼠心肌组织进行病理切片并显微镜观察,显示心肌细胞部分出现水肿,变性和溶解坏死。

1.6 分组与给药

使用随机数字表法将36只造模成功的SD大鼠分为模型组、参附组、运动康复组、运动康复参附组,每组9只,安静对照组10只,参附组和运动康复参附组在运动前5 h腹腔注射参附注射液2 mg/kg,其他大鼠注射等量生理盐水,每日1次,共4周。

1.7 运动康复方案

根据运动康复学对心脑血管康复运动的设计,采用有氧游泳运动方式,运动设备为圆柱形游泳水桶,水桶规格直径60 cm,高120 cm,水深70 cm,水温控制在31~36℃,每天游泳运动1次,每周运动6 d,休息1 d,共4周。第1周的单次训练时间从10 min逐渐增至60 min,直至第4周末;大鼠在运动过程中,如发现力量衰竭反应或连续5 s无法正常上浮到水面换气,则立即用木棍或渔网捞出,休息5 min后继续放入水中进行游泳训练,到训练时间完成为止^[7]。4周后,检测相关指标。

1.8 指标检测

根据实验设计,使用多导生理记录仪检测大鼠血流动力学指标。操作流程:使SD大鼠仰卧位于鼠板上,于颈部偏右5 mm处切口,分离右颈总动脉,结扎远心端,近心端使用动脉夹夹住闭阻血流,用手术剪在血管中间部位剪一小口,同时迅速插入充满肝素钠的导管,延血管壁缓慢行走,松开动脉夹,将压力导管缓慢送至左室,用手术线固定导管和动脉,通过压力感受器,将信号输入至多导生理记录仪。密切关注图形变化,待图形稳定后分别采集5、10、20、30 min的左室收缩压峰值(LVSP)、左室舒张末压力(LVEDP)、左室等容收缩末期压力上升最大速度(+dp/dtmax)、左室压力下降最大速度(-dp/dtmax),共采集30 min,取各段数据做平均值^[8]。各项数据均由生理记录系统软件处理后获得。

1.9 统计方法

采用 SPSS 22.0 统计软件分析数据, 计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示, 经正态性检验, 多组间比较采用方差分析; 方差不齐时采用秩和检验; 不服从正态分布时, 对数据采用 BLOM 法转换为正态化数据再进行分析。以 $P<0.05$ 作为差异有统计学意义的判断标准。

2 实验结果

2.1 大鼠死亡情况

由于盐酸多柔比星是一种抗肿瘤抗生素, 具有一定毒副作用, 腹腔注射易导致部分内脏器官损伤, 在造模过程中, 模型组死亡 5 只, 参附组死亡 3 只, 运动康复组死亡 4 只, 运动康复参附组死亡 1 只。从数据可以得知, 大鼠死亡率模型组最高, 安静对照组最低, 运动康复参附组次之, 说明运动康复联合参附注射液对恢复心功能与降低心衰大鼠死亡率效果明显。

所有动物都是选用体质量 180~240 g 的 SD 大鼠, 在造模的起始阶段, 体质量增长各组无明显区别, 在造模后期, 模型组大鼠相较安静对照组出现了明显差异, 如饮食量和饮水量减少, 活动量降低, 造成体质量增长缓慢而腹水明显出现等表现。

2.2 各组大鼠左心室收缩压与舒张末压检测结果

与安静对照组比较, 模型组 LVSP 明显下降 ($P<0.05$); LVEDP 明显上升 ($P<0.05$); 与模型组比较, 参附组、运动康复组、运动康复参附组 LVSP、LVEDP 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 与参附组比较, 运动康复参附组 LVSP、LVEDP 差异均有统计学意义 ($P<0.05$), 运动康复组 LVSP 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 运动康复组 LVEDP 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 与运动康复组比较, 运动康复参附组 LVSP 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 运动康复参附组 LVEDP 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠 LVSP 与 LVEDP 检测结果 ($\bar{x}\pm s$, mmHg)

组别	<i>n</i>	LVSP	LVEDP
安静对照组	10	105.56±4.28	6.06±0.91
模型组	4	65.88±3.25*	12.44±0.79*
参附组	6	81.03±2.76* Δ	9.76±1.70* Δ
运动康复组	5	73.88±1.49* Δ *	9.54±2.43* Δ *
运动康复参附组	8	86.34±2.98* Δ * \blacklozenge	8.24±1.22* Δ * \blacklozenge
<i>F</i>		113.252	27.481
<i>P</i>		0.000	0.000

注: 与安静对照组比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, $\Delta P<0.05$; 与参附组比较, $\blacklozenge P<0.05$; 与运动康复组比较, $\blacklozenge P<0.05$ 。

2.3 各组大鼠左室内压最大变化速率检测结果

与安静对照组比较, 模型组 +dp/dtmax 与 -dp/dtmax 均明显下降 ($P<0.05$); 与模型组比较, 参附组、运动康复组、运动康复参附组差异有统计学意义 ($P<0.05$); 与参附组比较, 运动康复组、运动康复参附组差异有统计学意义 ($P<0.05$); 与运动康复组比较, 运动康复参附组差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠 +dp/dtmax 与 -dp/dtmax 检测结果 ($\bar{x}\pm s$, mmHg/s)

组别	<i>n</i>	+dp/dtmax	-dp/dtmax
安静对照组	10	6656.83±54.40	4236.10±154.80
模型组	4	864.30±85.96*	950.84±64.79*
参附组	6	2604.40±61.92* Δ	3044.07±43.94* Δ
运动康复组	5	2409.87±58.31* Δ *	3178.45±56.85* Δ *
运动康复参附组	8	3454.77±62.38* Δ * \blacklozenge	3431.75±78.87* Δ * \blacklozenge
<i>F</i>		64.234	61.778
<i>P</i>		0.000	0.000

注: 与安静对照组比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, $\Delta P<0.05$; 与参附组比较, $\blacklozenge P<0.05$; 与运动康复组比较, $\blacklozenge P<0.05$ 。

3 讨论

3.1 盐酸多柔比星诱导的心肌病心衰模型特点

目前对于心力衰竭的动物模型建立主要有主动脉缩窄法、二尖瓣反流法、同型半胱氨酸饮食法、冠脉结扎法、心肌毒性药物法(如异丙肾上腺素、盐酸多柔比星等)、高血压法(自发性、盐敏感型)等。本实验选用盐酸多柔比星诱导的心肌病型心力衰竭模型, 优点是非侵入性造模, 成模周期短, 缺点是死亡率高。由于盐酸多柔比星是一种有效的抗肿瘤抗生素, 其不良反应之一就是造成心脏毒性, 其与心肌组织有强大的亲和力, 易造成心肌组织的损伤。盐酸多柔比星造模的注射方案很多, 通过查找文献数据, 分析对比, 我们采用每次 2 mg/kg 的剂量腹腔注射, 每周 2 次, 共注射 7 周, 累积盐酸多柔比星总量约为 21 mg/kg。2 周后检测, 发现模型组与安静对照组比较, 存在显著性差异 ($P<0.05$), 说明造模成功, 造模方法有效, 且均达到 NYHA II 级。

但盐酸多柔比星对肝、肾、肺、膀胱、血液、营养与代谢系统等都有不同程度的毒性作用, 所以极易造成其他内脏器官及组织的损伤, 也对施加运动与药物干预产生了不同程度的影响。造模与成模检测期间死亡大鼠 4 只, 施加影响因素期间死亡大鼠 13 只, 死亡率 34%。如何降低死亡率, 保证成模率值得进一步探讨。

3.2 运动康复联合参附注射液对心衰的影响

美国心脏协会已承认运动康复在心力衰竭中的治疗作用^[9], 德国研究人员在美国佛罗里达州奥兰

多举行的美国心脏协会大会上说,由于心脏衰竭导致没有足够的血液输送到人体的各个器官,因此经常造成患者的肌肉萎缩,而运动康复能够改善这个问题,从而使患者从长期卧床休息到运动的转变^[10]。根据运动康复学理论,对于心脑血管疾病一般采用有氧耐力性运动,50%VO_{2max}至70%VO_{2max}为适宜且高效的运动强度。小于70%VO_{2max}的持续运动是最合适的运动强度范围,对心脏的功能有促进作用。对于心力衰竭病情稳定的患者,推荐慢性的低至中等强度运动^[11]。此强度的持续运动血液中乳酸不增高,血液中的肾上腺素和去甲肾上腺素保持在较低水平。因此,对于慢性稳定型心衰的患者,运动康复对其心室的舒张功能有着良好的恢复作用^[12]。由于运动使心脏顺应性增加,心肌内线粒体的密度和体积密度增大,心肌内毛细血管增生,氧化代谢酶活性增强,内源性保护因子浓度增加,这些结构上的变化促进了心脏功能的提高。根据现有设备,采取了有氧游泳运动的方式,结果显示,运动康复的干预能有效提高心衰大鼠血流动力学水平。

参附注射液来源于《圣济总录》卷五十九的参附汤,由人参和附子所组成,具有益气、回阳、救脱的功效,是治疗心衰的经典用药。水肿、血瘀是心力衰竭患者或实验动物出现的典型症状,如果再辅以汤剂灌胃,会直接加重患者或实验动物的心脏负担,带来负面影响。所以本实验采用参附注射液,直接进行腹腔注射,减轻胃肠道及心脏的负担,从而达到温阳强心的功效。

实验结果显示,运动康复、参附注射液、运动康复联合参附注射液均能改善LVSP、LVEDP、+dp/dt-max、-dp/dtmax等指标,联合治疗方式较单独治疗方式在LVSP、+dp/dtmax、-dp/dtmax上有显著性差异($P<0.05$),联合治疗方法在LVEDP上较参附组有显著性差异($P<0.05$),但与运动康复组无显著性差异($P>0.05$),运动康复组与参附组在LVEDP亦无显著性差异。结果表明运动康复联合参附注射液在提高心衰大鼠的心脏功能效果最佳。采取温阳利水后再运动,既能稳定病情,又能达到预定的运动强度,也可以起到治疗作用,从而实现心力衰竭的康复效果。另外,心衰大鼠心功能低下,常伴有腹部严重水肿,外周阻力增强,心脏负担加重,而选用有氧游泳康复运动,既符合大鼠习水的特性,又能通过新环境刺激利尿,加速排泄毒素,消除水肿症状,减轻心脏负担^[8]。实验发现,先用参附注射液温阳强心利水,再辅以康复运动,能提高疗效,改善心脏功能,提升射血分数,

值得进一步研究和探讨。

参考文献:

- [1] Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ES-ICM)[J]. Eur J Heart Fail, 2008, 10(10): 933-989.
- [2] Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, et al. ACC/AHA 2005 Guideline Update for the Diagnosis and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure) :developed in collaboration with the American College of Chest Physicians and the International Society for Heart and Lung Transplantation: endorsed by the Heart Rhythm Society [J]. Circulation, 2005, 112(12): e154-e235.
- [3] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2015》概要[J]. 中国循环杂志,2016,31(6):521-528.
- [4] Migrino Raymond Q, Aggarwal Deepika, Konorev Eugene, Brahmbhatt Tejas, Bright Megan, Kalyanaraman Balaraman. Early detection of doxorubicin cardiomyopathy using two-dimensional strain echocardiography[J]. Ultrasound in Medicine & Biology, 2008, 34(2): 208-214.
- [5] 成忠煌,胡雪峰,彭敏,等.盐酸多柔比星诱导大鼠慢性心力衰竭模型给药剂量和频率的优化[J].湖北中医杂志.2011,33(4):9-11.
- [6] Schwarz ER, Pollick C, Dow J, et al. A small animal model of non-ischemic cardiomyopathy and its evaluation by transthoracic echocardiography [J]. Cardiovascular Res, 1998, 39 (1): 216-223.
- [7] 吕远远,孙 颀,马继政.不同强度游泳训练对大鼠心脏形态和功能的影响[J].南京体育学院学报(自然科学版),2007,6(1):1-5.
- [8] 胡思远.有氧运动联合参附注射液对心衰大鼠血流动力学及NT-proBNP的影响[D].长沙:湖南师范大学,2015.
- [9] Wenger NK, Froelicher ES, Smith LK, et al. Cardiac rehabilitation as secondary prevention [J]. Clinical Practice Guideline, 2004(17): 063-064.
- [10] 胡思远,董文波,吴 涛,等.有氧运动联合呋塞米对心衰大鼠NT-proBNP及TNF- α 的影响[J].湖南中医药大学学报,2014,34(10): 11-14.
- [11] Fletcher GF, Balady GJ, Amsterdam EA. Exercise standards for testing and training: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association[J]. Circulation, 2001, 104: 1694-1740.
- [12] 胡思远.基于运动与药物治疗慢性心衰的思考[J].体育世界,2014(4):125-127.

(本文编辑 匡静之)