

本文引用:李 雅,郭志华,郭慧芳,孙 涛,唐 云.心痛泰对冠心病大鼠肾素-血管紧张素-醛固酮系统及血管重塑的调控作用[J].湖南中医药大学学报,2017,37(9):943-946.

心痛泰对冠心病大鼠肾素-血管紧张素-醛固酮系统及血管重塑的调控作用

李 雅¹,郭志华^{1*},郭慧芳²,孙 涛³,唐 云³

(1.湖南中医药大学,湖南 长沙 410208;2.湖南中医药大学第二附属医院,湖南 长沙 410005;

3.湖南中医药大学第一附属医院,湖南 长沙 410007)

[摘要] **目的** 从肾素-血管紧张素-醛固酮系统切入,探讨心痛泰对冠心病血管重塑的调控作用。**方法** 将95只SD大鼠随机抽取17只为正常组,其余78只采用喂饲高脂饲料并腹腔注射垂体后叶素的方法制备冠心病大鼠模型。将造模成功的大鼠随机分为模型组,心痛泰低、中、高剂量组和卡托普利组。各组分别予相应的药物灌胃,正常组和模型组以同等体积的蒸馏水灌胃,每日1次,连续28 d。采用HE染色观察大鼠冠状动脉病理变化,ELISA法检测大鼠血浆肾素(PRA)、血管紧张素II(Ang II)、醛固酮(ALD)的含量。**结果** 治疗4周后,与冠心病模型组比较,心痛泰低、中、高剂量组和卡托普利组心脏指数、左心室质量指数、右心室质量指数降低,冠状动脉管壁变薄,管壁厚度/管腔直径、管壁面积/管腔面积降低,血浆PRA、Ang II、ALD水平下降($P<0.05$)。心痛泰中、高剂量组和卡托普利组各项指标组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 心痛泰可调节肾素-血管紧张素-醛固酮系统,延缓甚至逆转心血管重构,从而改善冠心病大鼠心肌供血和心功能,且心痛泰中、高剂量组疗效优于低剂量组。

[关键词] 心痛泰;冠心病;心血管重构;肾素-血管紧张素-醛固酮系统

[中图分类号]R285.5;R256.22

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.09.006

Effect of Xintongtai on Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Cardiovascular Remodeling in Rats with Coronary Heart Disease

LI Ya¹, GUO Zhihua^{1*}, GUO Huifang², SUN Tao³, TANG Yun³

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China; 3. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effects of Xintongtai on cardiovascular remodeling in rats with coronary heart disease and illustrate the therapeutic mechanisms from renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS). **Methods** 17 rats as the normal group were randomly selected from 95 SD rats, and the rest, 78 rats were used for coronary heart disease rat models which were established by high fat diets and intraperitoneal injection of Pituitrin. Then the successful model rats were randomly divided into five groups: the model group, low, middle, high dosages of Xintongtai groups and Catopril group. Rats in medication groups were given drug once daily for 28 d, and the normal group and model group were supplied equally volume of distilled water. The pathological changes of rats were measured by HE staining method. The contents of plasma renin activity (PRA), angiotensin (Ang II), aldosterone (ALD) in rats were determined. **Results** After treatment for 4 weeks, the cardiac index, left ventricular mass index and right ventricular mass index in the medication groups were lower than those in the model group; the walls of the coronary arteries in medication groups were thinner than the model group, and the wall thickness/lumen diameter, wall area/ lumen area of the coronary arteries reduced; the levels of PRA, Ang II, ALD reduced (all $P<0.05$). The all above mentioned indicators in middle-dose, high-dose of Xintongtai groups and Catopril group were not statistically different ($P>0.05$). **Conclusion** Xintongtai could adjust renin-angiotensin-aldosterone system and display or reverse the cardiovascular remodeling, which improve myocardial blood flow and cardiac function of the rats with coronary heart disease. The effect of middle and high dose of Xintongtai groups is better than the low dose group.

[Keywords] Xintongtai; coronary heart disease; cardiovascular remodeling; renin-angiotensin-aldosterone system

[收稿日期]2016-11-29

[基金项目]湖南省教育厅科学研究项目(16A158)。

[作者简介]李 雅,女,博士,副教授,研究方向:中药新药研究与开发。

[通讯作者]*郭志华,男,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:guozhihua112@163.com。

冠心病是最常见的死亡原因,随着我国人口老龄化和生活方式的改变,冠心病有可能跃升为我国疾病死亡的首位原因^[1]。研究认为心血管重构是冠心病重要的病理改变及发生发展的主要原因^[2]。现有大量研究已证明肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)的激活是冠心病心血管重构的重要机制^[3-4]。笔者在长期的临床实践中发现气滞血瘀贯穿于本病的始终,针对该病气滞血瘀的主要病机,辨证立法,处方配伍,研制活血化瘀、理气止痛的心痛泰颗粒,经前期研究疗效显著。基于前期研究基础,通过实验研究,观察心痛泰对冠心病大鼠心脏指数、左心室质量指数、右心室质量指数、冠状动脉管壁厚度、管壁厚度/管腔直径、管壁面积/管腔面积和血浆肾素(PRA)、血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)、醛固酮(ALD)水平的影响,深入探讨心痛泰对冠心病心血管重构的作用机制,同时探讨心痛泰低、中、高剂量组的差异,为心痛泰的临床推广应用提供实验依据。

1 实验材料

1.1 实验动物

SPF级健康雄性SD大鼠95只,体质量(200±20)g,由湖南中医药大学动物实验中心提供。动物许可证号:SCXK(湘)2013-0004。

1.2 动物饲料

普通动物饲料由湖南中医药大学实验动物中心供应。高脂饲料配方:2%胆固醇、10%猪油、0.2%丙硫氧嘧啶、0.5%胆酸钠、87.3%普通饲料,由湖南中医药大学实验动物中心调配。

1.3 主要药物及试剂

心痛泰处方组成:丹参15g,川芎10g,葛根10g,三七3g,郁金10g,山楂15g,枳壳10g,木香5g,炙甘草5g,由湖南中医药大学第一附属医院药剂科提供。卡托普利片由华中药业有限公司提供,规格:25mg/片,批号:131016。胆固醇由上海生物化学试剂公司提供,批号130912。丙基硫氧嘧啶由上海朝晖药业有限公司提供,批号140214。胆酸钠由上海久福药业有限公司提供,批号140328。垂体后叶素注射液由安徽宏业药业有限公司提供,规格:6单位/mL,批号130918。大鼠PRA、AngⅡ、ALD酶联免疫Elisa盒由武汉贝茵莱生物科技有限公提供。

2 实验方法

2.1 动物造模方法

95只健康SPF级雄性SD大鼠适应性喂养7d

后称质量,根据体质量,从小到大编号,随机抽取17只为正常组,其余78只参考相关文献^[5-7],采用喂饲高脂饲料并腹腔注射垂体后叶素的方法复制冠心病大鼠模型。具体操作:造模组大鼠每天喂饲高脂饲料30g,连续12周,实验期间自由饮水。在最后一次喂食前72h,给各组大鼠注射垂体后叶素30μg/kg,每日1次,连续3d。然后禁食不禁水12h,检测正常组和模型组大鼠冠状动脉与心脏病理,确认造模是否成功。

2.2 动物分组及给药方法

75只大鼠成功造模,按体质量随机分为5组:模型组,心痛泰低、中、高剂量组和卡托普利组,每组15只。另加正常组15只,共6组。分组后开始灌胃,每次灌胃量为10mL/kg。根据人(60kg)与大鼠的体表面积换算公式,换算出剂量为心痛泰中剂量组给药量,低、中、高剂量组按1:2:4比例给药,计算出心痛泰低、中、高剂量组给药量分别为4.3、8.6、17.2g/(kg·d)。卡托普利成人给药剂量为75mg/d,换算成大鼠剂量为7.8mg/(kg·d)。正常组和模型组以同等体积的蒸馏水灌胃。大鼠每日不间断灌胃,连续4周,每7天定时称体质量,并依据体质量调整药量。

2.3 观察指标及方法

2.3.1 一般情况 体质量、精神状态、活动度、进食饮水量及大小便情况等。

2.3.2 心室重构指标 灌胃治疗4周后,称量大鼠体质量,用10%水合氯醛(3mL/kg)腹腔注射进行麻醉,待大鼠完全进入睡眠状态后将其四肢及门牙固定于动物操作平台上,逐层剪开皮肤,钝性分离,剪断肋骨,迅速取出心脏,用冰生理盐水洗涤3次,滤纸吸干心脏表面液体,称取全心质量。再沿房室交界处剪去心房,沿室间隔分离左心室及室间隔、右心室游离壁,用滤纸吸干液体后,称取左心室质量(含室间隔)、右心室质量。计算心脏指数、左心室质量指数、右心室质量指数。计算公式:心脏指数=大鼠心脏质量(mg)/大鼠体质量(g),左心室质量指数=大鼠左心室质量(mg)/大鼠体质量(g),右心室质量指数=大鼠右心室质量(mg)/大鼠体质量(g)。

2.3.3 血管重构指标 将心脏取出后,用4%多聚甲醛固定48~72h,冲水后梯度乙醇脱水,二甲苯透明4h,浸蜡,浸蜡后石蜡包埋,自然冷却后修整蜡块置低温保存备用。每间隔0.3mm取厚4~5μm切片一张,共取3张,铺片后,60℃温箱中烤片,常规HE染色后使用二甲苯透明中性树胶封片,干后在激光共聚焦显微镜下选取横断面为圆形的冠状

动脉,应用数彩图像显微分析系统测量冠状动脉壁厚、冠状动脉管腔直径、冠状动脉管壁面积和冠状动脉管腔面积,并计算冠状动脉壁的厚度与冠状动脉管腔直径的比值,冠状动脉管壁面积和冠状动脉管腔面积比。

2.3.4 PRA、Ang II、ALD测定 治疗4周后,大鼠经10%水合氯醛(3 ml/kg)麻醉后,沿大鼠腹正中中线剪开腹腔,于腹主动脉取血4 mL,并迅速将标本置于冷水浴冷却的酶抑制抗凝管(含EDTA 20 μL、二巯基丙醇 10 μL、羟基喹啉硫酸盐 20 μL)中,混合10-20 min后,置于TG16-WS台式高速离心机中以2000 r/min的离心速度对标本进行离心,离心20 min后,仔细收集上清。采用Elisa法检测血浆PRA、Ang II、ALD水平,具体步骤严格按照说明书操作。

2.4 统计学方法

采用SPSS 17.0统计软件进行处理分析。所有统计检验均采用双侧检验, $P<0.05$ 差异有统计学意义, $P<0.01$ 差异有高度统计学意义。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,所有数据均进行正态性和方差齐性检验。采用方差分析进行多样本间均数的比较,方差齐时采用LSD法、Dunnett法;当方差不齐时选用Tamhane's T2法。

3 结果

3.1 大鼠一般情况

大鼠造模后逐渐出现掉毛,精神萎靡,饮食活动减少,爪趾端与口唇发绀,灌胃治疗4周后,模型组大鼠未见明显变化,心痛泰低、中、高剂量组和卡托普利组大鼠上述症状明显改善。

3.2 大鼠心脏指数、左心室质量指数、右心室质量指数变化情况比较

治疗4周后,与正常组相比,模型组心脏指数、左心室质量指数、右心室质量指数增加,表明心室重构的发生,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,心痛泰低、中、高剂量组和卡托普利组心脏指数、左心室质量指数和右心室质量指数明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。与心痛泰低剂量组比较,心痛泰中、高剂量组和卡托普利组心脏指数、左心室质量指数和右心室质量指数均降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。心痛泰中、高剂量组和卡托普利组各项指标组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

3.3 大鼠血管重构指标变化情况

与正常组比较,模型组冠状动脉壁厚、管壁厚度/管腔直径、管壁面积/管腔面积增大,提示发生了血管重构,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比

表1 各组大鼠心室重构指标比较 ($\bar{x}\pm s, n=15$)

组别	心脏指数/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	左心室质量指数	右心室质量指数
正常组	2.839±0.019	1.621±0.016	0.421±0.018
模型组	3.368±0.031 [#]	2.179±0.019 [#]	0.677±0.023 [#]
低剂量组	2.975±0.034 [*]	1.873±0.020 [*]	0.509±0.020 [*]
中剂量组	2.941±0.030 ^{**}	1.786±0.015 ^{**}	0.464±0.016 ^{**}
高剂量组	2.941±0.027 ^{**}	1.783±0.022 ^{**}	0.472±0.016 ^{**}
卡托普利组	2.945±0.025 ^{**}	1.791±0.022 ^{**}	0.470±0.016 ^{**}
F值	650.9	1 401.2	364.7
P值	0.000	0.003	0.000

注:与正常组比较,[#] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$;与心痛泰低剂量组比较,[★] $P<0.05$ 。

较,心痛泰低、中、高剂量组和卡托普利组冠状动脉壁厚、管壁厚度/管腔直径、管壁面积/管腔面积降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与心痛泰低剂量组比较,心痛泰中、高剂量组和卡托普利组冠状动脉壁厚、管壁厚度/管腔直径、管壁面积/管腔面积减小,差异有统计学意义($P<0.05$)。心痛泰中、高剂量组和卡托普利组各项指标进行组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表2 各组大鼠血管重构指标比较 ($\bar{x}\pm s, n=15$)

组别	冠状动脉壁厚/ μm	管壁厚度/管腔直径	管壁面积/管腔面积
正常组	9.841±0.514	0.121±0.012	0.303±0.011
模型组	12.767±0.489 [#]	0.335±0.014 [#]	0.539±0.010 [#]
低剂量组	11.904±0.246 [*]	0.247±0.008 [*]	0.463±0.011 [*]
中剂量组	10.314±0.541 ^{**}	0.212±0.010 ^{**}	0.412±0.014 ^{**}
高剂量组	10.508±0.621 ^{**}	0.212±0.013 ^{**}	0.412±0.013 ^{**}
卡托普利组	10.444±0.573 ^{**}	0.215±0.010 ^{**}	0.419±0.013 ^{**}
F值	72.20	528.7	599.5
P值	0.000	0.02	0.000

注:与正常组比较,[#] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$;与心痛泰低剂量组比较,[★] $P<0.05$ 。

3.4 血浆中PRA、Ang II、ALD含量变化情况

治疗4周后,模型组血浆PRA、Ang II、ALD含量较正常组增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组相比,心痛泰低、中、高剂量组和卡托普利组血浆PRA、Ang II、ALD水平明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与心痛泰低剂量组比较,心痛泰中、高剂量组和卡托普利组血浆PRA、Ang II、ALD含量降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。心痛泰中、高剂量组和卡托普利组各项指标组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

4 讨论

冠心病是由于长期高脂饮食、吸烟等使冠状动

表3 各组大鼠血浆PRA、Ang II、ALD比较 ($\bar{x}\pm s, n=15$)

组别	PRA/ng·mL ⁻¹	Ang II/pg·mL ⁻¹	ALD/pg·mL ⁻¹
正常组	107.4±2.37	267.8±10.39	219.8±5.25
模型组	170.4±4.60 [#]	483.7±18.02 [#]	290.9±4.13 [#]
低剂量组	125.0±4.11*	365.9±9.31*	236.5±5.23*
中剂量组	118.4±4.58**	320.3±10.00**	229.0±4.41**
高剂量组	117.1±4.57**	315.3±10.13**	228.1±3.52**
卡托普利组	118.9±4.25**	323.7±10.35**	227.7±3.91**
F值	435.6	598.8	515.9
P值	0.008	0.003	0.000

注:与正常组比较, # $P<0.05$;与模型组比较, * $P<0.05$;与心痛泰低剂量组比较, ★ $P<0.05$ 。

脉发生粥样硬化致血管腔狭窄甚至阻塞,或(和)因冠状动脉痉挛引起心肌供血不足的心脏病^[8]。心血管重构是冠心病最重要的病理改变之一,又是冠心病进行性发展、恶化的主要原因。现有大量研究显示,各型冠心病患者均存在心血管重构,无论冠状动脉是发生严重急性缺血还是长期慢性缺血都会引起心血管重构,且多种心血管危险因素及发病机制均与冠心病心血管重构密切相关^[9-10],其中肾素-血管紧张素-醛固酮系统的激活是促发冠心病心血管重构的主要因素。冠状动脉灌注不足,致心肌缺血缺氧,一方面直接激活心血管局部肾素-血管紧张素-醛固酮系统,另一方面,通过心输出量降低,肾血流量减少,激活循环肾素-血管紧张素-醛固酮系统和交感神经系统,且交感神经系统进一步促进肾素-血管紧张素-醛固酮系统的激活。肾素-血管紧张素-醛固酮系统激活后一方面使血管收缩,水钠潴留,增加心脏前后负荷,改变血流动力学,另一方面直接促使血管平滑肌细胞和心肌细胞增生、肥大,间质和血管周围纤维化,引起血管壁增厚,管腔狭窄,心脏肥厚,使冠状动脉灌流量进一步减少,心肌缺血加重,对肾素-血管紧张素-醛固酮系统进一步激活,不断形成恶性循环的模式,最终演变成难治性心衰和死亡。因此,探索研究心血管重构的相关机制可为冠心病的临床诊疗提供新的干预治疗靶点。

冠心病可归属于中医学“胸痹”“心痛”“真心痛”等范畴。现代中医学认为冠心病属本虚标实之证,气滞血瘀贯穿于本病的始终^[8]。《医碥》云:“须知胸为清阳之分,其病也,气滞为多”。《素问·痹论》曰:“心痹者,脉不通”。又云“痹在于脉则血凝而不流”。《继志堂医案·痹气门》言:“胸痛彻背,是名胸痹……且有瘀血,交阻隔间”。《医林改错》指出:“运血者,气也”“血不自行,随气而行”。人体气血一阴一阳,气为血之帅,血为气之母,气不行则血不畅,从而瘀血

内生,瘀阻脉络,更碍气机,形成气滞,血瘀的病理,瘀血阻塞,络脉不通,不通则痛,或瘀血内阻,新血不生,不荣则痛。明确提出气滞、血瘀是本病的基本病机。笔者根据中医理论,辨病与辨证相结合,根据冠心病气滞血瘀的病机,立行气活血法,研制活血化瘀、理气止痛的心痛泰颗粒,该药主要由丹参、川芎、郁金、木香、三七、山楂、枳壳、葛根等组成。方中以丹参活血化瘀止痛,川芎活血行气止痛共为君药,三七、郁金、木香、山楂助君药调畅气机、化瘀止痛共为臣,佐以葛根、枳壳,一升一降共调气机。诸药配伍,使胸阳振,瘀血散,气机畅,共奏活血化瘀、理气止痛之功。

本实验研究结果表明,心痛泰降低了冠心病大鼠的心脏指数、左心室质量指数、右心室质量指数,减小了冠状动脉管壁厚度、管壁厚度与管腔直径比值、管壁面积与管腔面积比值,说明心痛泰在一定程度上干预了冠心病心血管重构。心痛泰降低了血浆中肾素、血管紧张素Ⅱ、醛固酮含量,说明心痛泰能抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统活性,提示心痛泰通过调节肾素-血管紧张素-醛固酮系统而改善冠心病心血管重构,其具体机制有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部.中国卫生统计年鉴 2012[M].北京:中国协和医科大学出版社,2012.
- [2] Pant R, Marok R, Klein LW. et al. Pathophysiology of coronary vascular remodeling: Relationship with traditional risk factors for coronary artery disease [J]. *Cardiology in Review*, 2014,22 (1):13-16.
- [3] Clarke C, Flores-Muñoz M, McKinney CA. et al. Regulation of cardiovascular remodeling by the counter-regulatory axis of the renin-angiotensin system[J]. *Future cardiology*, 2013,9(1):23-38.
- [4] Ocaranza MP, Moya J, Barrientos V. et al. Angiotensin-(1-9) reverses experimental hypertension and cardiovascular damage by inhibition of the angiotensin converting enzyme/Ang II axis [J]. *Journal of Hypertension*, 2014, 32(4):771-783.
- [5] 赵淑明,张文立,李 昌,等.益气化痰祛瘀方对冠心病大鼠一氧化氮和内皮素的影响[J].*中国老年学杂志*,2011,31(5):814-815.
- [6] 郭丽蓉,孙常青.厄贝沙坦联合瑞舒伐他汀影响冠心病大鼠心肌及主动脉s分泌型磷脂酶表达的实验研究[J].*中国医药导报*,2012,9(35):36-37.
- [7] 徐 明.银杏叶提取物 EGB761 对冠心病合并高血脂模型大鼠的血脂及同型半胱氨酸的影响 [J]. *临床医药文献电子杂志*,2014,1(8):1300-1301.
- [8] 陆再英,钟南山.内科学[M].北京:人民卫生出版社,2012:274.
- [9] Rademakers F, Engvall J, Edvardsen T. et al. Determining optimal noninvasive parameters for the prediction of left ventricular remodeling in chronic ischemic patients[J]. *Scandinavian Cardiovascular Journal: SCJ*, 2013, 47(6): 329-334.
- [10] 周仲瑛.中医内科学[M].北京:中国中医药出版社,2012:136.

(本文编辑 杨 瑛)