

心得宁口服液对大鼠慢性心衰模型的影响

赵京生, 郭长升, 易伟国, 张玲昂, 张正臣^{*} (解放军第152中心医院, 河南 平顶山 467000)

摘要: 目的 探讨心得宁口服液对大鼠慢性心衰模型血清中血管紧张素 II (Ang- II)、B 型脑钠肽(BNP)、心肌肌钙蛋白 I (cTn I)、C-反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子(TNF- α)、磷酸腺苷(ATP)和白介素-6(IL-6)水平的影响。方法 采用每周腹腔注射盐酸多柔比星($2\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射, 每周 1 次, 共 6 周, 累积总量 $24\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)建立大鼠慢性心衰模型, 观察 20, 10, 5 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 心得宁口服液对慢性心衰模型大鼠血清 Ang- II、BNP、cTn I、CRP、TNF- α 、ATP 和 IL-6 水平的影响。结果 大鼠慢性心衰模型造模成功。与模型组相比, 20, 10, 5 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 心得宁口服液能显著降低血清 Ang- II、BNP、cTn I、CRP、TNF- α 水平($P<0.01$); 显著升高 ATP 水平($P<0.01$), 20, 10 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 心得宁口服液能显著降低血清 IL-6 水平($P<0.01$), 5 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 心得宁口服液能明显降低血清 IL-6 水平($P<0.05$)。结论 心得宁口服液可明显改善大鼠慢性心衰模型的作用。

关键词: 心得宁口服液; 大鼠; 慢性心衰模型; 芪苈强心胶囊

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2017)03-0337-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.03.008

Effect of Propranolol Oral Liquid on Chronic Heart Failure Model of Rats

ZHAO Jingsheng, GUO Changsheng, YI Weiguo, ZHANG Ling'ang, ZHANG Zhengchen^{*} (The 152st Central Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Pingdingshan 467000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of propranolol oral liquid on serum levels of angiotensin II (Ang- II), B-type brain natriuretic peptide(BNP), cardiac troponin I (cTn I), C-reactive protein(CRP), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), adenosine monophosphate(ATP) and interleukin 6(IL-6) on rats with chronic heart failure. **METHODS** The rat model of chronic heart failure were established by weekly intraperitoneal injection of doxorubicin hydrochloride. And the levels of Ang- II, BNP, cTn I, CRP, TNF- α , ATP and IL-6 influenced by propranolol oral liquid were observed in chronic heart failure rats. **RESULTS** The rat model of chronic heart failure rats was succeeded. Compared with the model group, the high, middle and low dose of propranolol oral liquid can significantly reduce the serum Ang- II, BNP and cTn I, CRP, TNF- α level ($P<0.01$); high, middle and low doses of propranolol oral liquid can significantly increase the ATP level ($P<0.01$). High, middle dose propranolol oral liquid can significantly decrease the serum IL-6 levels ($P<0.01$), low dose of propranolol oral liquid group can significantly decrease the serum IL-6 levels ($P<0.05$). **CONCLUSION** The effect of the chronic heart failure model of rats can be improved obviously by the oral administration of propranolol.

KEY WORDS: propranolol oral liquid; rat model; chronic heart failure; Qiliqiangxin capsule

心得宁口服液, 由人参、丹参、薤白、葶苈子、茯苓等中药组成, 具有补气活血, 祛湿、健脾利水之功, 用于冠心病、高血压性心脏病、风湿性心脏病、肺原性心脏病及心肌病等引起的心功能不全、慢性心力衰竭等。前期研究已经表明心得宁合剂对慢性心衰有一定的影响^[1], 可明显改善慢性心衰模型大鼠心脏动力学指标与血清生化指标^[2], 有显著改善急性心衰的作用^[3-4], 为进一步探究其对慢性心衰的疗效原理, 本研究观察心得宁口服液对大鼠慢性心衰模型血清血管紧张素 II (Ang- II)、B 型脑钠肽(BNP)、心肌肌钙蛋白 I (cTn I)、C-反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子(TNF- α)、磷酸腺苷(ATP)和

白介素-6(IL-6)水平的影响。

1 材料

1.1 动物

清洁级 SD 大鼠 72 只, 体质量 180~220 g, δ , 由山东省实验动物中心提供, 动物合格证号: 37009200000907, 许可证号: SCXK(鲁)20140007。

1.2 药品及试剂

心得宁口服液, 由人参、丹参、葶苈子、薤白、茯苓组成, 由解放军 152 中心医院生产, 批号: 150910; 芪苈强心胶囊(石家庄以岭药业股份有限公司, 批号: A1505008); 注射用盐酸多柔比星(山西普德药业股份有限公司, 批号: 02150401);

基金项目: 河南省科技发展计划项目(132102310408)

作者简介: 赵京生, 男, 主任医师 Tel: (0431)343663 E-mail: zjs2012@126.com *通信作者: 张正臣, 男, 副主任药师 Tel: (0373)3541018 E-mail: xxzcc2010@126.com

氯化钠注射液(河南科伦药业有限公司, 批号: A15081702-2); 甲醛(烟台市双双化工有限公司, 批号: 20140701); 水合氯醛(天津市华夏精细化工研究所, 批号: 20151014); 大鼠 BNP ELISA 检测试剂盒、大鼠 cTn I ELISA 检测试剂盒、大鼠 ATP ELISA 检测试剂盒、大鼠 IL-6 ELISA 检测试剂盒、大鼠 CRP ELISA 检测试剂盒、大鼠 Ang-II ELISA 检测试剂盒、大鼠 TNF- α ELISA 检测试剂盒均由美国 R&D 公司生产, 批号均为 20160101A。

1.3 仪器

FA2204B 电子天平(上海精密科学仪器有限公司); YP1201N 电子称(上海精密科学仪器有限公司); HWS12 电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司); 可调式移液器(上海雷勃分析仪器有限公司); 680 型酶标仪(美国 BIO-RAD 公司)。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

72 只大鼠, 按体质量随机分为空白组、模型组、心得宁口服液 20, 10, 5 mL·kg⁻¹ 组、芪苈强心胶囊组。除空白组外大鼠进行造模, 造模大鼠分别灌服 20, 10, 5 mL·kg⁻¹ 心得宁口服液(取心得宁合剂 500, 250, 125 mL 定容到 500 mL 量瓶, 灌胃体积为 20 mL·kg⁻¹, 分别相当于临床用量的 20, 10, 5 倍)、芪苈强心胶囊混悬液(0.6 g·kg⁻¹, 灌胃体积为 20 mL·kg⁻¹, 相当于临床用量的 10 倍), 模型组均灌服同体积生理盐水(20 mL·kg⁻¹), 每周注射盐酸多柔比星 1 次, 将注射用盐酸多柔比星用生理盐水配制成 2 mg·mL⁻¹ 溶液, 按 4 mg·kg⁻¹ 体质量, 即 2 mL·kg⁻¹ 剂量腹腔注射, 每周 1 次, 共 6 周, 累积总量 24 mg·kg⁻¹, 正常组注射相同体积的生理盐水^[5], 每天给药 1 次, 连续给药 8 周。

各组大鼠均每天上午给药、下午喂饲料。

2.2 指标的测定

于最后 1 次灌胃后 1 h 后(禁食不禁水 12 h), 大鼠用 10% 水合氯醛(0.3 mL·kg⁻¹)腹腔注射麻醉, 颈总动脉取血, 离心分离血清, 冷冻保存, 测血清 Ang-II、BNP、cTn I、ATP、IL-6、CRP、及 TNF- α 水平。

2.3 统计学处理

数据分析用 SPSS 17.0 医用统计包进行数据的统计学处理, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组间比较采用单因素方差分析, 方差检验齐者用 LSD 法, 方差不齐者用 Games-Howell 法检验。

3 结果

3.1 心得宁口服液对慢性心衰血清 Ang-II、BNP、cTn I、ATP 水平的影响

与空白组比, 模型组血清 Ang-II、BNP、cTn I 水平均显著升高($P < 0.01$), ATP 水平均显著降低($P < 0.01$), 说明造慢性心衰模型成功。与模型组相比, 各剂量心得宁口服液与芪苈强心胶囊组均能显著降低血清 Ang-II、BNP、cTn I 水平($P < 0.01$), 显著升高 ATP 水平($P < 0.01$)。结果见表 1。

3.2 心得宁口服液对慢性心衰血清 IL-6、CRP、TNF- α 水平的影响

与空白组相比, 模型组血清 IL-6、CRP、TNF- α 水平显著升高($P < 0.01$), 说明造慢性心衰模型成功。与模型组相比, 20, 10, 5 mL·kg⁻¹ 的心得宁口服液与芪苈强心胶囊组均能显著降低血清 CRP、TNF- α 水平($P < 0.01$); 20, 10 mL·kg⁻¹ 心得宁口服液与芪苈强心胶囊组均能显著降低血清 IL-6 水平($P < 0.01$), 5 mL·kg⁻¹ 心得宁口服液组能明显降低血清 IL-6 水平($P < 0.05$)。结果见表 2。

表 1 心得宁口服液对大鼠慢性心衰模型血清 Ang-II、BNP、cTn I、ATP 水平的影响($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effect of practolol oral liquid on serum Ang-II, BNP, cTn I, ATP levels in rats with chronic heart failure($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

组别	Ang-II /pg·mL ⁻¹	BNP/pg·mL ⁻¹	cTn I /ng·mL ⁻¹	ATP/ng·mL ⁻¹
空白组	326.35±17.12	335.37±12.87	2.76±0.19	495.20±28.37
模型组	410.26±22.14 ¹⁾	452.62±15.01 ¹⁾	4.31±0.19 ¹⁾	375.21±21.52 ¹⁾
芪苈强心胶囊组	328.21±20.63 ²⁾	345.78±23.52 ²⁾	2.73±0.24 ²⁾	491.58±20.14 ²⁾
心得宁口服液				
20 mL·kg ⁻¹	330.05±22.35 ²⁾	353.14±15.91 ²⁾	2.82±0.34 ²⁾	491.03±22.06 ²⁾
10 mL·kg ⁻¹	325.55±12.07 ²⁾	359.11±19.82 ²⁾	2.93±0.27 ²⁾	482.13±17.26 ²⁾
5 mL·kg ⁻¹	333.29±20.43 ²⁾	360.02±10.56 ²⁾	3.54±0.26 ²⁾	436.27±41.09 ²⁾

注: 与空白组比较, ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.01$ 。

Note: compared with control group, ¹⁾ $P < 0.01$; compared with model group, ²⁾ $P < 0.01$.

表 2 心得宁口服液对大鼠慢性心衰模型血清 IL-6、CRP、TNF- α 水平的影响($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effect of practolol oral liquid on serum IL-6, CRP, TNF- α levels in rats with chronic heart failure($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

组 别	IL-6/pg·mL ⁻¹	CRP/pg·mL ⁻¹	TNF- α /pg·mL ⁻¹
空白组	79.36 $\pm$ 11.27	238.91 $\pm$ 14.20	318.64 $\pm$ 13.16
模型组	109.91 $\pm$ 6.15 ¹⁾	340.94 $\pm$ 27.16 ¹⁾	370.82 $\pm$ 11.27 ¹⁾
芪苈强心胶囊组	86.48 $\pm$ 11.24 ²⁾	245.78 $\pm$ 17.85 ²⁾	325.76 $\pm$ 17.24 ²⁾
心得宁口服液			
20 mL·kg ⁻¹	87.95 $\pm$ 5.81 ²⁾	249.62 $\pm$ 29.31 ²⁾	326.41 $\pm$ 20.34 ²⁾
10 mL·kg ⁻¹	89.60 $\pm$ 12.06 ²⁾	240.35 $\pm$ 20.45 ²⁾	327.62 $\pm$ 18.29 ²⁾
5 mL·kg ⁻¹	93.83 $\pm$ 14.72 ³⁾	250.06 $\pm$ 24.16 ²⁾	342.57 $\pm$ 21.36 ²⁾

注: 与空白组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.05$ 。
Note: compared with control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.05$.

3.3 心得宁口服液对慢性心衰的影响

经 Ridit 检验, 与空白组相比, 模型组大鼠心脏出现显著病理变化($P<0.01$), 说明造大鼠心衰模型成功。与模型组相比, 20, 10 mL·kg⁻¹ 心得宁口服液组及芪苈强心胶囊组均可显著减轻大鼠心脏病理变化($P<0.01$), 5 mL·kg⁻¹ 心得宁口服液组及芪苈强心胶囊组均可明显减轻大鼠心脏病理变化($P<0.05$)。以 20 mL·kg⁻¹ 心得宁口服液组作用为优。结果见表 3。

3.4 心得宁口服液对慢性心力衰竭大鼠心肌细胞组织病理学的影响

空白组大鼠心脏心肌细胞排列整齐, 心肌细胞基本正常, 间质也基本正常; 模型组大鼠心脏心肌细胞排列不太整齐, 心肌细胞出现脂肪变性和局灶性心肌细胞坏死及炎细胞浸润, 细胞核增多, 间质出现水肿及炎细胞浸润; 芪苈强心胶囊

组大鼠心的心肌细胞排列不太整齐, 心肌细胞出现局灶性变性, 细胞核较为密集, 间质基本消失; 20 mL·kg⁻¹ 心得宁合剂组大鼠心脏的心肌细胞排列较为整齐, 心肌细胞基本正常, 间质也基本正常; 10 mL·kg⁻¹ 心得宁合剂组大鼠心肌细胞排列较为整齐, 少数心肌细胞出现变性, 细胞核较为密集, 间质基本消失; 5 mL·kg⁻¹ 心得宁合剂组大鼠心肌细胞排列较为整齐, 少数心肌细胞出现变性, 细胞核较为密集, 间质可见少量炎细胞浸润。结果见图 1。

表 3 心得宁口服液对慢性心力衰竭的影响

Tab. 3 Effect of practolol oral liquid on rats with chronic heart failure($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

组 别	-	+	++	+++
空白组	12	0	0	0
模型组	0	1	2	9
芪苈强心胶囊组	7	3	1	1
心得宁口服液				
20 mL·kg ⁻¹	8	2	2	0
10 mL·kg ⁻¹	5	4	2	1
5 mL·kg ⁻¹	2	3	5	2

注: “-”正常, 心肌细胞排列整齐, 横纹清晰; “+”心肌细胞排列整齐, 横纹清晰, 细胞间水肿; “++”心肌细胞排列略紊乱, 横纹较清晰, 细胞间水肿充血, 空泡变性; “+++”心肌细胞排列紊乱, 大部分横纹可见, 细胞间水肿充血, 心肌断裂, 可见个别心肌细胞坏死并横纹消失, 黏液变性。

Note: “-” normal, myocardial cells arranged neatly, stripes clear; “+” cardiomyocytes arranged neatly, horizontal clear lines, intercellular edema; “++” cardiomyocytes arranged slightly disorder, stripes clearer, cells between the edema congestion, vacuolar degeneration; “+++” myocardial cell disorder, most of the stripes visible, intercellular edema congestion, myocardial rupture, showing that individual myocardial cell necrosis and stripes disappear, stick liquidity.

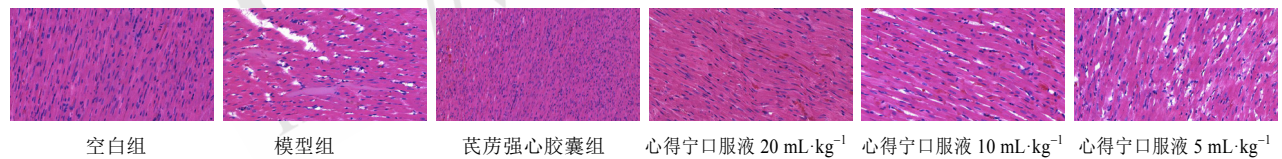


图 1 心得宁口服液对心肌细胞组织病理学的影响(HE, 200 $\times$)

Fig. 1 Effect of practolol oral liquid on histopathology of cardiac(HE, 200 $\times$)

4 讨论

随着老年人比例的逐渐增加, 心脑血管疾病的发病率和死亡率也随之上升。心力衰竭是风湿性心脏病、心肌病、冠心病等多种心血管疾病的终末阶段, 其发生发展的病理生理基础是心肌重构^[6], 以心脏供血不足、不能满足机体需求为其特征^[7]。多柔比星是一种临床上应用广泛的广谱抗肿

瘤化疗药物, 除抗肿瘤的作用外, 对机体正常的其他组织器官也有较大的损伤作用, 尤其是对心脏组织, 可造成剂量依赖性不可逆的慢性心肌损害和慢性心力衰竭, 其作用机制可能与自由基释放、增加损伤器官有关^[8]。因此单次或多次给药后长期观察, 可建立多柔比星慢性心肌毒性的模型, 动物出现心肌病后, 损伤会进一步加重, 进而可

演变成为心力衰竭；多柔比星心脏损害的发生率及程度与其在体内的蓄积量有直接关系，具有时间累积效应^[9]。

本研究选择的指标中，Ang II 是造成心肌肥厚、心室重构，诱导心肌细胞凋亡，最终导致慢性心力衰竭重要且相对独立、特异的指标^[10]；BNP 是利钠肽类的一种肽类激素，在左右心房的含量最多，BNP 的合成分泌受心室容量负荷和室壁张力的影响，故血 BNP 含量可直接反映心室功能；血清 IL-6、TNF- α 的水平与心血管危险因素患者病情严重程度密切相关^[11-13]；CRP 的检测可进一步发现慢性心衰患者早期的微弱炎症状态。

实验结果表明，20, 10, 5 mL·kg⁻¹ 的心得宁口服液能显著降低血清 Ang-II、BNP、cTn I、CRP、TNF- α 水平($P<0.01$)；20, 10, 5 mL·kg⁻¹ 的心得宁口服液均能显著升高 ATP 水平($P<0.01$)，20, 10 mL·kg⁻¹ 心得宁口服液均能显著降低血清 IL-6 水平($P<0.01$)，5 mL·kg⁻¹ 心得宁口服液组能明显降低血清 IL-6 水平($P<0.05$)。实验提示，心得宁口服液对盐酸多柔比星所致慢性心衰大鼠模型具有一定的治疗作用。本实验为心得宁口服液治疗慢性心衰提供了实验依据，也为临床治疗慢性心力衰竭奠定了一定的基础。

致谢：本实验在河南中医药大学苗明三教授指导下完成，特此致谢！

REFERENCES

- [1] ZHAO J S, YI W G, LIU H. Effect of practolol oral liquid on chronic heart failure rat model [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(4): 412-416.
- [2] LIU H, ZHAO J S, YANG J, et al. Effects of practolol oral solution on cardiac dynamics and serum levels of BNP, cTn I and LDH in rats with chronic heart failure [J]. J China Pharm(中国药房), 2015, 26(1): 59-61.
- [3] YI W G, ZHAO J S, YANG J, et al. Influence of practolol oral liquid on left ventricular internal pressure maximum rising and falling rate of acute heart failure rat [J]. China J Chin Med(中医学报), 2013, 28(10): 1499-1501.
- [4] ZHAO J S, YI W G, LIU H, et al. Effect of practolol oral liquid on acute heart failure model of heart rate and the serum cTn I level [J]. China J Chin Med(中医学报), 2013, 28(9): 1326-1327.
- [5] 耿阳, 刘学刚. 建立动物心衰模型的方法及意义[J]. 中华全科医学, 2014, 12(2): 282-285.
- [6] DENG Y J, LIANG W X, LIU W Y, et al. Effect of Shengmai capsules on MMP-3 & TIMP-1 of cardiac muscle in rats with chronic congestive heart failure [J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2008, 11(23): 1005-1008.
- [7] LI X M, WU H J, REN J X, et al. Effects of Shenfu Formula on cardiac function and BNP in heart failure rats of myocardial infarction [J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2011, 8(26): 1859-1860.
- [8] HE K L, DICKSTEIN M, SABBAH H N, et al. Mechanisms of heart failure with well preserved ejection fraction in dogs following limited coronary micro-embolization [J]. Cardiovasc Res, 2004, 64(1): 72-83.
- [9] WU Y X, ZHANG Y, XIE C L, et al. Establishment and evaluation of adriamycin-induced chronic heart failure model in SD rats [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2011, 27(8): 1170-1173.
- [10] FANG J W, TENG X M, ZHANG Z Q, et al. Effect of gynura segetum merr. on the counts of white blood cell, its classification and the content of ET, NO, TNF- α and IL-1 β in rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(9): 1051-1055.
- [11] MEYER T, STANSKE B, KOCHEN M M, et al. Elevated serum levels of interleukin-10 and tumor necrosis factor- α are both associated with vital exhaustion in patients with cardiovascular risk factors [J]. Psychosomatics, 2010, 51(3): 248-256.
- [12] LIN H B, YAN J, CHANG X R, et al. Manufacturing operation and analysis of rabbit model of myocardial ischemic reperfusion injur *in vivo* [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2014, 32(1): 35-36.
- [13] GUAN L, YANG G L, ZHANG Z, et al. study on main pharmacodynamics related to function of Hexue Tongmai particles [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2014, 32(1): 47-50.

收稿日期：2016-05-09
(本文责编：蔡珊珊)