

高^[10]；高胆固醇可激活血清补体系统产生 C5b-9 复合物，加速 LDL 氧化生成 OX-LDL，并对内皮细胞造成损伤，导致 AS 形成^[11]；血脂过高还可促使凝血因子活性增强，易诱发血小板聚集，微血栓形成^[12]。更重要的是血脂异常可通过影响红细胞的聚集性及变形能力，进而影响血液流变学的整体水平^[13]。 ηb （高、中、低切）是反映血流变的重要指标， ηb （低切）降低有利于改善红细胞的聚集性，而 ηb （高切）下降有利于提高红细胞的变形性，降低红细胞刚性指数^[14]。另外，HCT 也是一个重要的血流变指标，本指标上升时 ηb 各指标都可能上升。IEA 增高，多见于红细胞膜的性质结构异常性疾病，可导致低切变率下血液黏度增高，而 EET 延迟提示红细胞带电荷弱，血液黏度增高^[15]。实验结果显示，降脂合剂能够通过降低高脂血症大鼠的 TC 和 TG 等血生化指标，进而改善高脂血症大鼠高黏血症状态，并增加红细胞变形能力，降低 ηb 及 IEA，提示具有改善高脂血症大鼠血液黏、浓、聚、凝状态，表明降脂合剂在改善脂质代谢紊乱和血液流变学异常方面具有确切疗效。

参考文献：

- [1] 王庆博, 李进华. 不同负荷游泳对高脂血症大鼠血清部分炎症因子的影响[J]. 体育学刊, 2009, 16(9): 105-109.
- [2] 谢慧臣, 刘芬, 杨强. 降脂合剂联合非洛贝特等治疗高脂血症 80 例临床观察[J]. 湖北民族学院学报(医学版), 2011, 28(4): 8.
- [3] 杨强, 谢慧臣, 潘庆华. 自拟柔肝消脂煎治疗非酒精性脂肪性肝炎的疗效评价[J]. 吉林大学学报(医学版), 2011, 38(1): 142.
- [4] 张东, 武海军, 陈士萍. 大鼠实验性高脂血症五种造模方法的比较[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(9): 1254-1256.
- [5] 李大伟, 张玲, 夏作理. 建立高脂血症模型的动物选择与常用造模方法分析及改进[J]. 中国临床康复, 2006, 10(48): 145-147.
- [6] 尹学哲, 许惠仙, 金爱花, 等. 草苁蓉提取物对高脂血症家兔血浆脂蛋白脂质过氧化物的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(11): 132.
- [7] 唐春萍, 郭姣, 陈红红. 调脂灵对高脂血症大鼠降脂作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(5): 24-27.
- [8] 刘卫红, 张琪, 张蕾. 三仁汤对大鼠高脂血症模型血脂及代谢产物谱的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(1): 52-57.
- [9] 曹爱华, 孙丽珍, 贡瑞霞. 辛伐他汀对高脂血症患者早期氧化应激及循环中维生素 E 的影响[J]. 新医学, 2010, 41(1): 18-20.
- [10] 李志勇, 陈德智, 程昌琴. HbA1c 与血脂、血液流变学的相关性探讨[J]. 重庆医学, 2011, 40(20): 2041-2042.
- [11] 宋铁英. 高脂血症血液流变学结果分析[J]. 中国社区医师(医学专业), 2011, 13(2): 160.
- [12] 刘志峰, 李春梅, 高永林, 等. 海带多糖对实验性高脂血症鹌鹑血流变及微循环的影响[J]. 中国新药杂志, 2006, 15(8): 603-606.
- [13] 王加瑞. 血流变常测指标间关系及应用价值[J]. 中国血液流变学杂志, 2005, 15(2): 304-305.
- [14] 赵伟娥, 赵君平. 丹参川芎嗪注射液对 2 型糖尿病合并冠心病患者血脂血流变的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(11): 1215-1216.
- [15] 王占奎, 郭家奎, 赵淑华. “调神通络”针法对脑梗死患者临床症状及血流变影响的研究[J]. 针灸临床杂志, 2011, 27(12): 1-4.

(编辑: 梁进权)

制川乌与瓜蒌相反配伍对慢性心衰大鼠血流动力学及其机制研究

王楚盈¹, 张超¹, 张琦², 李玉梅¹, 张大方¹ (1. 长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130117; 2. 沈阳军区总医院药剂科, 辽宁 沈阳 110000)

摘要: **目的** 观察制川乌与瓜蒌配伍对慢性心衰大鼠血流动力学的影响, 为乌附类中药与瓜蒌配伍应用提供可靠的依据。 **方法** 建立大鼠慢性心衰模型, 测定川乌相反配伍瓜蒌对心衰大鼠血流动力学指标的影响, 并采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶(S-P)法检测心肌细胞 Bcl-2、Bax 蛋白表达。 **结果** 制川乌与瓜蒌配伍高、中、低剂量组均可改善慢性心衰大鼠血流动力学指标, 高剂量组上调 Bcl-2 抑制凋亡基因的表达, 提高 Bcl-2/Bax 比值。 **结论** 适当剂量的制川乌配伍全瓜蒌的共煎液对慢性心力衰竭大鼠心肌具有保护作用。

关键词: 制川乌; 瓜蒌; 慢性心衰; 血流动力学; Bcl-2; Bax

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)01-0059-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.016

收稿日期: 2012-09-16

作者简介: 王楚盈, 女, 讲师, 博士研究生。研究方向: 中药复方药效作用物质基础及机理研究。Email: chuying820713@126.com。通讯作者: 张大方, 教授, 博士生导师。研究方向: 中药复方药效作用物质基础及机理研究。Email: zdf0431@126.com。

基金项目: 教育部博士点基金(20102227110002); 吉林省自然科学基金(201015104)。

Effect of Combination of Antagonism Herbs of Radix Aconiti Preparata and Fructus Trichosanthes on Hemodynamics of Chronic Heart Failure Rats

WANG Chuying¹, ZHANG Chao¹, ZHANG Qi², LI Yumei¹, ZHANG Dafang¹ (1. Pharmacy College, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 2. Department of Pharmacy, General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang 110000, China)

Abstract: Objective To study the effect of the combination of antagonism herbs of Radix Aconiti Preparata and Fructus Trichosanthes on the hemodynamics of chronic heart failure rats, thus to provide evidence for its clinical application. **Methods** We established the rat model of chronic heart failure, observed the changes of hemodynamic parameters, and detected the protein expression of Bcl-2 and Bax in myocardial cells by streptavidin-peroxidase (S-P) immunohistochemical method. **Results** High-, middle-, and low-dosage combinations of Radix Aconiti Preparata and Fructus Trichosanthes improved the hemodynamic indexes of chronic heart failure in rats. High-dose combination also increased Bcl-2 gene expression, reduced expression of pro-apoptotic gene Bax, and increased Bcl-2/Bax ratio. **Conclusion** The combined decoction of antagonism herbs of Radix Aconiti Preparata and Fructus Trichosanthes at appropriate combination proportion has myocardial protective effect in chronic heart failure rats.

Keywords: Radix Aconiti Preparata; Fructus Trichosanthes; Chronic heart failure; Hemodynamics; Bcl-2; Bax

“半蒺藜及攻乌”为中药配伍禁忌“十八反”的内容。但汉代“医圣”张仲景曾云：“药以治病，因毒为能”。当代名医张伯臾教授行医 60 余载，擅长于乌附伍瓜蒌为主救治阳虚痰湿型胸痹，疗效卓著，深受病家信仰^[1]。乌附类与瓜蒌配伍为“十八反”，但临床不乏有应用者，其药效如何？本实验在前期毒理学研究^[2]基础上，开展制川乌与瓜蒌配伍抗心力衰竭的药效研究，为乌附类与瓜蒌临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物 Wistar 大鼠，雌雄各半，体质量 80~100 g，吉林大学白求恩医科大学实验动物中心，许可证号：SCXK(吉)2010-0005。饲养条件：温度(22±2)℃，湿度 50%~60%，自由进食及饮水，自然昼夜节律。

1.2 药品及试剂 制川乌购自四川江油饮片厂，全瓜蒌购自长春市吉林大药房。受试药由中国科学院长春应用化学研究所制备，将制川乌、全瓜蒌粉碎为粗颗粒，分别精密称取 30 g，加 8 倍量水浸泡 30 min，煮沸提取 20 min，过滤，再加 5 倍量水煮沸提取 10 min，过滤，合并滤液，加乙醇至终浓度为 50%，静置过夜，醇沉溶液过滤，50℃旋转蒸发浓缩，冻干成粉。参附注射液，雅安三九药业有限公司，批号：100513；戊巴比妥钠，上海爱紫特生物科技有限公司，批号：060719；乌拉坦，国药集团化学试剂有限公司，批号：T20090811。Bax 兔抗人多克隆抗体、Bcl-2 兔抗人多克隆抗体、DAB 显色试剂盒，

武汉博士德生物技术公司；SP 试剂盒，福州迈新生物技术有限公司。

1.3 仪器 MP-150 十六导生物信号采集系统，美国 Biopac 公司；多功能显微镜及图象处理系统，德国 Leica 公司。

1.4 分组与慢性心衰动物模型的建立 取 Wistar 大鼠 72 只，雌雄各半，随机分为 6 组：假手术组，模型组，参附注射液组(6.67 mL·kg⁻¹)，制川乌+瓜蒌高、中、低剂量组(5, 2.5, 1.25 g·kg⁻¹，分别相当于成人临床用量的 10, 5, 2.5 倍)，每组 12 只。除假手术组外，其余各组动物采用腹主动脉缩窄法制备慢性心衰大鼠模型^[3-4]。大鼠用 1%戊巴比妥钠 3.5 mL·kg⁻¹腹腔注射麻醉，将麻醉的大鼠固定在鼠台上，剑突下腹正中开 2~3 cm，分层打开腹腔，将脏器挤压在大鼠的右侧以便找寻腹主动脉，在肾动脉分支以上钝性游离腹主动脉，4 号手术线穿过腹主动脉并系一活扣，将 7 号注射器针头平行置于腹主动脉上，用 4 号手术线将腹主动脉和注射器一同结扎，松紧适度，然后缓慢将注射器撤出，逐层缝合肌肉及皮肤。术后每鼠注射青霉素 10 万 U，连续 3 d。假手术组开腹后将手术丝线穿过腹主动脉，除不缩窄腹主动脉以外，其他操作与模型组完全相同。4 周后测定血流动力学指标，以确定慢性心衰模型是否成功。从造模后第 3 天开始给药，假手术组、模型组给予等量蒸馏水，制川乌与瓜蒌配伍高、中、低剂量组于每天 9~11 时按上述剂量灌胃给药，每天给药 1 次，给药容

积为 10 mL·kg⁻¹，连续 30 d。整个实验期间，大鼠均自由摄食、饮水。

1.5 血流动力学检测 大鼠称取体质量后给予 20 % 乌拉坦 6 mL·mg⁻¹ 腹腔注射麻醉，将动物固定在手术台上，仰卧位固定四肢，于颈部腹侧偏右纵向切开皮肤，在胸锁乳突肌内侧分离右颈总动脉 1.5 cm，动脉夹夹住近心端，经颈动脉朝远心端方向注入肝素钠生理盐水，结扎远心端后再经颈动脉插入已准备好的充满肝素的左室导管，松紧度应以切口处不漏血，导管又能自由进出为度。左手用镊子夹住颈总动脉及导管，右手将导管插入左室腔，感到导管随心脏搏动而明显抖动时，则应减慢插进速度（这时通常已插入 4 cm 左右）。另一端连接十六道换能器，稳定后，测定血流动力学指标：左室内压(LVSP)、左室舒张末期压(LVEDP)、左室最大上升速率(+dp/dt_{max})、左室最大下降速率(-dp/dt_{min})、心率(HR)。

1.6 心肌细胞 Bcl-2、Bax 蛋白表达的检测 取大鼠心脏组织块，制作组织切片。按照 S-P 法免疫组化试剂盒的说明进行操作，检测 Bax、Bcl-2 蛋白表达

情况，以棕褐色颗粒为阳性结果，采用计算机图像分析系统进行半定量分析，测定各组图像的平均灰度值，每张切片于阳性区选择 5 个无重叠视野，以灰度值大小作为待测蛋白的阳性表达指数，并计算 Bcl-2/Bax 比值。

1.7 统计学处理方法 采用 SPSS 18.0 统计学软件，采用单因素方差分析方法，数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

2 结果

2.1 对大鼠血流动力学的影响 与假手术组比较，模型组大鼠 LVSP 降低、LVEDP 升高、±dp/dt_{max} 降低、HR 加快，差异均有统计学意义 ($P < 0.001$)，说明心力衰竭模型复制成功。参附注射液组、制川乌+瓜蒌高剂量组与模型组比较，LVSP、±dp/dt_{max} 均升高($P < 0.01$, $P < 0.001$)、HR 减缓($P < 0.01$)。制川乌+瓜蒌中、低剂量组也可不同程度的升高 LVSP 和±dp/dt_{min}，减缓 HR ($P < 0.05$)，见表 1。

2.2 对大鼠心肌细胞 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响

表 1 各组对大鼠血流动力学的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$)
Table 1 Comparison of hemodynamic parameters in rats of each group

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	LVSP/mmHg	LVEDP/mmHg	+dp/dt _{max} /mmHg·s ⁻¹	-dp/dt _{min} /mmHg·s ⁻¹	HR/次·min ⁻¹
假手术组	-	167.12 ± 10.35	1.56 ± 1.10	4147.71 ± 280.64	3987.86 ± 257.38	416.41 ± 38.55
模型组	-	82.78 ± 8.23 ^{△△△}	19.98 ± 2.91 ^{△△△}	1727.07 ± 182.31 ^{△△△}	1520.55 ± 140.07 ^{△△△}	469.99 ± 33.08 ^{△△△}
参附注射液组	6.67 mL·kg ⁻¹	109.45 ± 9.53 ^{**}	12.81 ± 1.14	2965.82 ± 376.64 ^{***}	2297.94 ± 257.29 ^{***}	383.92 ± 19.38 ^{**}
制川乌 + 瓜蒌高剂量组	5	96.83 ± 8.25 ^{**}	14.90 ± 2.48	2283.33 ± 333.58 ^{**}	1964.38 ± 262.15 ^{**}	419.67 ± 22.01 ^{**}
制川乌 + 瓜蒌中剂量组	2.5	90.67 ± 7.87 ^{**}	15.01 ± 1.93	2219.34 ± 300.21 ^{**}	1909.10 ± 197.98 ^{**}	434.21 ± 20.54 [*]
制川乌 + 瓜蒌低剂量组	1.25	88.28 ± 8.13 [*]	15.80 ± 1.67	2023.47 ± 284.19 [*]	1780.81 ± 180.50 ^{**}	431.56 ± 22.87 [*]

注：与假手术组比较，^{△△△} $P < 0.001$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ ，^{***} $P < 0.001$ 。

模型组 Bcl-2 蛋白表达量明显低于假手术组($P < 0.01$)；与模型组比较，制川乌+瓜蒌高剂量组 Bcl-2 蛋白表达明显升高($P < 0.05$)。模型组 Bax 蛋白表达量明显高于假手术组 ($P < 0.01$)，Bcl-2/Bax 明显低于假手术组 ($P < 0.01$)；与模型组比较，参附注射液组和制川乌+瓜蒌高剂量组 Bcl-2/Bax 比值明显升高($P < 0.05$)，见表 2、图 1~2。

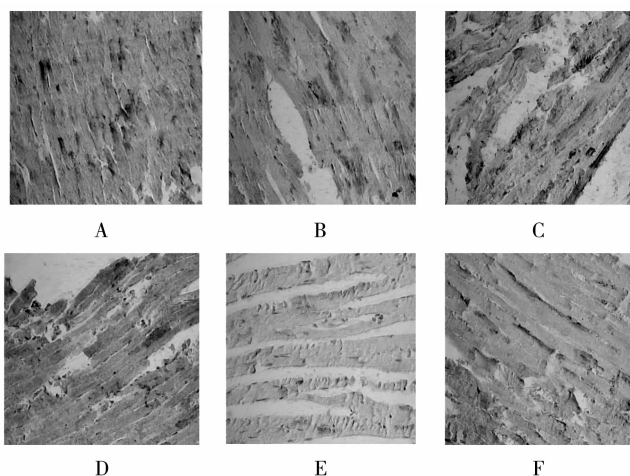
3 讨论

本实验以有毒中药制川乌与瓜蒌配伍为研究对象，根据其临床功效与主治，建立慢性心衰动物模型，研究制川乌与瓜蒌配伍抗心力衰竭的药效作用。本研究采用腹主动脉缩窄法致压力超负荷型大

表 2 对大鼠心肌细胞 Bcl-2、Bax 蛋白表达灰度值的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$)
Table 2 Comparison of average gray value of Bcl-2 and Bax in protein expression in rats of each group

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Bcl-2	Bax	Bcl-2/Bax
假手术组	-	52.02 ± 1.37	31.06 ± 1.55	1.68 ± 0.09
模型组	-	33.11 ± 2.16 ^{△△}	72.25 ± 3.09 ^{△△}	0.46 ± 0.04 ^{△△}
参附注射液组	6.67 mL·kg ⁻¹	37.84 ± 3.04 ^{**}	65.71 ± 1.84	0.67 ± 0.03 [*]
制川乌 + 瓜蒌高剂量组	5	35.69 ± 2.47 [*]	70.38 ± 2.11	0.51 ± 0.02 [*]
制川乌 + 瓜蒌中剂量组	2.5	35.10 ± 2.45	71.08 ± 1.96	0.49 ± 0.03
制川乌 + 瓜蒌低剂量组	1.25	34.11 ± 2.10	71.28 ± 2.94	0.47 ± 0.02

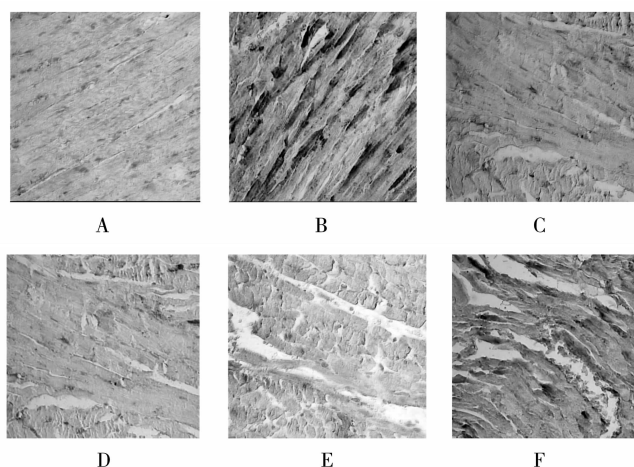
注：与假手术组比较，^{△△} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ 。



A. 假手术组; B. 模型组; C. 参附注射液组; D. 制川乌+瓜蒌高剂量组; E. 制川乌+瓜蒌中剂量组; F. 制川乌+瓜蒌低剂量组

图1 各组大鼠心肌组织 Bcl-2 蛋白的表达(S-P, ×200)

Figure 1 Comparison of Bcl-2 protein expression in rats of each group(S-P, ×200)



A. 假手术组; B. 模型组; C. 参附注射液组; D. 制川乌+瓜蒌高剂量组; E. 制川乌+瓜蒌中剂量组; F. 制川乌+瓜蒌低剂量组

图2 各组大鼠心肌组织 Bax 蛋白的表达(S-P, ×200)

Figure 2 Comparison of average gray scale of Bax protein expression in rats of each group(SP, ×200)

鼠心衰模型。该模型直接增加心脏后负荷,与临床相关性好,是研究心衰病理改变、血流动力学改变较为理想的动物模型^[5-6]。血流动力学研究显示,所有心衰模型大鼠的血流动力学指标均较假手术组有不同程度改变,HR、LVEDP 显著升高($P < 0.001$), $\pm dp/dt_{\max}$ 、LVSP 明显降低($P < 0.001$),证实心衰模型复制成功。制川乌与瓜蒌配伍能改善相关血流动力学指标,说明其具有加强心肌收缩力,缓解慢性心衰的作用。

心肌细胞凋亡与慢性心衰的发生、发展密切相关^[7]。Bax、Bcl-2 是调控心肌细胞的关键凋亡基因。Bax 上调具有促进凋亡作用, Bcl-2 上调有抑制凋亡

的作用, Bcl-2/Bax 两者的比值下降,促进细胞凋亡,导致心肌细胞肥大、纤维化增生,导致心室重构^[8]。本研究结果显示,制川乌+瓜蒌高剂量组能上调 Bcl-2 抑制凋亡基因的表达、提高 Bcl-2/Bax 比值,提示适当剂量的制川乌配伍全瓜蒌共煎液对慢性心力衰竭大鼠心肌具有保护作用。

川乌配伍瓜蒌被列为十八反的内容,《神农本草经》记载:“乌头、乌喙,反半夏、栝蒌、贝母、白蔹、白芨。”并且明确指出“勿用相恶、相反者。”但今人确有用其入药治疗病症的例子^[9-10]。前期急性毒性研究结果表明^[2],生川乌毒性大于制川乌,生川乌配伍全瓜蒌后毒性较生川乌大,但制川乌配伍全瓜蒌后毒性较制川乌小。所以本实验选择制川乌与全瓜蒌配伍进行其药效学研究。结果显示制川乌配伍瓜蒌高、中、低剂量有明显的缓解或控制慢性心衰时心肌细胞凋亡的发生、发展,改善血流动力学异常,提示二药配伍具有良好的改善慢性心力衰竭的作用,这可能与川乌炮制、配伍、辨证有关。所以,在考察相反药对配伍毒性同时,兼顾探讨其对病证动物模型的药效作用,有助于我们更全面、科学的认识中药的炮制、配伍对中药毒性的影响。

参考文献:

- [1] 史广宇, 单书健. 当代名医临证精华·冠心病专辑[M]. 北京: 中医古籍出版社, 1988: 190-194.
- [2] 张琦. 十八反“半蒌贝蔹芩攻乌”物质基础及毒性研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2010: 42-44.
- [3] 徐叔云, 卞如镰, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989: 978-980.
- [4] 洪创雄, 李南夷, 邓秀娟, 等. 养心方对慢性心衰血流动力学的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2007, 18(4): 298-300.
- [5] Howard JS, Aidan N. Experimental models of heart failure[J]. Cardiovas Res, 1988, 19(5): 181.
- [6] 姚成增, 蒋梅先. 坎离颗粒对慢性心衰大鼠血流动力学和耐力型运动能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(1): 21-24.
- [7] 孙婷, 史红霞, 孙秀菊, 等. Bcl-2, Bax, Bcl-XS, Bcl-XL 在心衰大鼠心肌的变化及意义[J]. 潍坊医学院学报, 2007, 29(2): 131-133.
- [8] 付春景, 郭龙辉, 申琦, 等. 心肌肥大和心力衰竭大鼠心肌细胞凋亡及 Bax 和 Bcl-2 的表达[J]. 郑州大学学报(医学版), 2005, 40(3): 500-502.
- [9] 徐太生, 金东明. 金东明教授伍用乌附蒌治疗顽固性痛经经验案[J]. 吉林中医药, 2011, 31(7): 673.
- [10] 于大猛, 瞿融, 范欣生, 等. 中药“十八反”基层医院应用现状调查[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 267-270.

(编辑: 梁进权)