

参附注射液联合西药治疗急性左心衰大鼠 NT-proBNP 变化的实验研究*

刘霖¹ 王智超¹ 朱梦莉¹ 韩瑞萍¹

[摘要] 目的:探索中药参附注射液治疗急性左心衰大鼠疗效对心力衰竭(心衰)指标 NT-proBNP 的影响。方法:采用急性左心衰大鼠模型,观察单用西药和参附注射液联合西药治疗前后 15 min、30 min、60 min 和 24 h 小时大鼠 NT-proBNP、左室收缩末期压(LVESP)、左室内压最大上升速率(dp/dtmax)的变化。结果:参附注射液联合西药治疗急性左心衰大鼠前后 30 min NT-proBNP 的变化具有统计学意义,联合治疗组优于单纯参附注射液组或单纯西药治疗组。结论:参附注射液对心肌细胞有正性肌力作用,NT-proBNP 作为临床中药疗效观察的敏感指标应广泛应用于急性心衰治疗。

[关键词] 参附注射液;急性左心衰;NT-proBNP

[中图分类号] R541.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1009-5918(2012)04-0276-03

The observation of NT-proBNP in acute left ventricular failure rats treated with Shenfu injection and medicine

LIU Lin WANG Zhichao ZHU Mengli HAN Ruiping

(Department of Emergency, Wuhan Traditional Chinese Medicine and Western Medicine Hospital, Wuhan, 430022, China)

Corresponding author: WANG Zhichao, E-mail: whdyyjzkw@sina.com

Abstract **Objective:** To explore the efficacy of NT-proBNP of acute left ventricular failure rats with the treatment of Chinese medicine Shenfu injection. **Method:** The group of rat model in acute left heart failure, observed the treatment indicators (NT-proBNP, LVESP, dp/dtmax) in sham operation group, separate Chinese medicine, separate Western medicine and combined group in 15 minutes, 30 minutes, 60 minutes and 24 hours. **Result:** NT-proBNP is statistically significant in the group of 30 minutes treatment of Shenfu injection combined Western medicine rates with acute left ventricular failures. The efficacy of combination therapy group is better than the separate Shenfu injection group and separate Western medicine group. **Conclusion:** The Shenfu injection has positive inotropic effect on myocardial cells. NT-proBNP as a sensitive indicator of the observation in the clinical traditional Chinese medicines and widely used in the observation the efficacy of acute heart failure.

Key words Chinese medicine Shenfu injection; acute left heart failure; NT-proBNP

急性心力衰竭是指由于急性心脏病变引起心排量显著、急骤降低导致的组织器官灌注不足和急性淤血综合征。临床上急性左心衰较为常见,以肺水肿或心源性休克为主要表现,是严重的急危重症,抢救是否及时合理与预后密切相关,目前急性左心衰被世界卫生组织公认为特殊疑难病症。参附注射液组方源自参附汤,临床上常用于急性左心衰的辅助治疗,其单独的强心作用和对急性左心衰的疗效以及对心脏内分泌系统、血流动力学方面的影响缺乏系统的定量依据。本实验拟观察参附注射液联合西药治疗急性左心衰大鼠前后心脏内分泌及血流动力学的定量改变,为临床参附注射液用于急性左心衰的治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物

雄性 SD 大鼠 SPF 50 只,体重(250±20) g,

由湖北省疾病预防控制中心实验动物中心提供。

1.2 药品及仪器

药品:参附注射液(雅安三九药业有限公司生产,批号 111232)、硝酸甘油(山东圣鲁制药有限公司生产,批号 11062311)、呋塞米针(天津药业集团新郑股份有限公司生产,批号 1012012)、普罗帕酮注射液(上海信谊金朱药业有限公司生产,批号 100501),临用前均用生理盐水配制成所需浓度。试剂盒:Elisa 大鼠 NT-proBNP 试剂盒(武汉市新启迪科技有限公司提供)。仪器:ALC-V8S12315 型动物呼吸机(上海奥尔科特生物科技有限公司生产)、生物机能实验系统多导仪 MP150 型(美国 BIOPAC 公司有限公司生产)。

1.3 实验方法

大鼠 50 只随机分为 5 组,每组 10 只,分别为 A 组:阴性对照组;B 组:假手术组即安慰剂治疗组(生理盐水 7 ml/kg);C 组:参附治疗组(7 ml/kg);D 组:西药治疗组(硝酸甘油 0.6 mg/kg 加呋塞米 0.4 mg/kg);E 组:参附联合西药治疗组(C 组加 D

* 基金项目:武汉市卫生局科研资助项目(No:WZ11C03)

¹ 湖北省武汉市中西医结合医院急诊科(武汉,430022)

通信作者:王智超, E-mail: Whdyyjzkw@sina.com

组)。心衰模型造模:用 20%戊巴比妥 3 ml/kg 做腹腔麻醉,仰卧手术台固定,分离气管及颈总动脉,分别行气管及颈总动脉插管,气管插管连接动物呼吸机行机械通气,颈总动脉插管连接压力传感器,将信号输入微机生物机能实验系统。心室导管插入左心室,连接压力传感器,记录心电图、测量心率(HR)、左室收缩末期压(LVESP)、左室舒张末期压(LVEDP)、+dp/dtmax。从尾静脉推注 35%普罗帕酮,3 ml/kg,3~5 min 推完,直至 LVESP 降至正常水平的 20%~40%,表明造模成功。继续分别从尾静脉给予治疗药物,分别观测给药前及给药后 15 min、30 min、60 min 各种心脏血流动力学参数变化,和给药前及 3 d 后 NT-proBNP 的变化。

1.4 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS11.0 统计软件采用重复测量数据的方差分析和非配对 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NT-proBNP 在实验各组的明显变化

NT-proBNP 在实验各组的明显变化见表 1。C、D、E 组随着给药时间延长,各组 NT-proBNP 浓度存在逐渐下降趋势;C、D、E 组在 30 min 时 NT-proBNP 浓度下降与给药前值相比,差异具有统计学意义($P < 0.05$);C、D 组在 60 min 是 NT-proBNP 浓度下降速率达到峰值,分别为 57.1% 和 45.1%,差异具有统计学意义($P < 0.05$);D、E 组在 24 h 治疗后进一步降低 NT-proBNP 浓度,与未治疗组 B 相比,具有统计学差异($P < 0.05$);E 组 24 h 内下降速率最高达 66.7%,具有显著统计学意义($P < 0.01$),但仍与 A 组存在差距。NT-proBNP 浓度在各组下降提示治疗组能明显改善实验大

鼠心脏功能,给药 30 min 后可检测到有效改善指标,参附注射液联合西药治疗组优于单纯参附注射液组和西药组。

2.2 +dp/dtmax 在实验各组的明显变化

+dp/dtmax 在实验各组的明显变化见表 2。与各组给药前值相比,C、E 组在给药 60 min 时最大速率值,差异具有统计学意义($P < 0.05$);D 组在给药 15 min 时数值即具有统计学意义($P < 0.05$);C、D、E 组 60 min 与 B 组相比,差异具有统计学意义($P < 0.05$);D、E 组 24 h 的最大值与 A 组相比,提示无论是西药组或参附注射液联合西药治疗组均可明显改善心肌收缩功能,联合治疗组优于单用参附注射液组。

2.3 LVSP 在实验各组的明显变化

LVSP 在实验各组的明显变化见表 3。与各组给药前值相比,C 组 60 min、D、E 组 24 h LVSP 变化值差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与未治疗左心衰 B 组相比,D 组 15 min、C 组 30 min 和 E 组 60 min LVSP 变化值差异具有统计学意义($P < 0.05$)。C、D、E 组随着治疗时间延长,改善获益趋势增加。

3 讨论

参附注射液是红参、黑附片之提取物,主要含人参皂甙、乌头碱类生物碱的纯中药制剂。具有回阳救逆之功效,主要表现在对心阳虚症的强心作用,益气固脱征候与大鼠急性心衰模型相近。有结果显示参附注射液明显改善慢性心力衰竭患者的心功能,减少室性心律失常的发生^[1]。单纯中药参附的正性心肌作用强,与西药组治疗大鼠急性心衰模型改善作用类似。参附注射液对心肌保护作用还可能与影响心肌细胞缺氧及复氧相关调亡基因

表 1 各组心衰模型观察时间点 NT-proBNP 变化

$\bar{x} \pm s$

观察指标	组别	样本量	给药前值	给药后值			
				15 min	30 min	60 min	24 h
NT-proBNP(pg/ml)	A	10	109.12±10.33	142.64±7.22	115.28±6.37	131.73±8.52	96.68±9.31
	B	10	824.91±21.37	789.75±14.69	763.13±12.81	702.38±11.58	613.67±18.23
	C	10	762.87±19.41	512.36±6.15	493.98±11.39 ¹⁾	327.64±14.79 ¹⁾	309.31±8.42
	D	10	845.21±10.62	588.71±9.12	501.84±9.17 ¹⁾	463.81±12.11 ¹⁾	322.94±6.25 ²⁾
	E	10	794.14±14.13	560.92±10.24	509.36±7.25 ¹⁾	308.64±10.57 ¹⁾	264.88±13.48 ²⁾

与 B 组比较,¹⁾ $P < 0.05$ 。与给药前比较,²⁾ $P < 0.01$ 。

表 2 各组心衰模型观察时间点 +dp/dtmax 变化

$\bar{x} \pm s$

观察指标	组别	样本量	给药前值	给药后值			
				15 min	30 min	60 min	24 h
+dp/dtmax(mmHg/s)	A	10	812.66±47.17	689.23±35.76	714.18±56.29	783.11±42.63	702.85±31.29
	B	10	458.23±26.92	346.72±17.21	418.45±13.76	385.43±23.96	407.14±21.57
	C	10	365.95±20.26	482.58±21.84	437.24±16.65	568.93±12.94 ¹⁾	584.87±18.49
	D	10	371.28±18.77	524.51±18.20 ¹⁾	549.26±12.42 ¹⁾	587.38±13.11	642.82±16.04 ²⁾
	E	10	412.86±22.32	449.06±17.63	526.32±16.39 ¹⁾	613.29±14.46 ¹⁾	650.01±23.78 ²⁾

与 B 组比较,¹⁾ $P < 0.05$ 。与给药前比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

表 3 各组心衰模型观察时间点 LVSP 变化

 $\bar{x} \pm s$

观察指标	组别	样本量	给药前值	给药后值			
				15 min	30 min	60 min	24 h
LVSP/mmHg	A	10	94.17±12.20	106.93±10.13	110.05±13.86	94.87±11.02	101.93±9.54
	B	10	70.39±15.37	63.28±8.26	58.44±11.34	52.18±7.23	60.61±11.48
	C	10	64.26±11.72	60.54±12.64	77.82±9.35 ²⁾	81.30±9.69 ¹⁾	84.93±6.85
	D	10	68.18±9.30	79.32±11.23 ²⁾	75.66±12.93	71.27±10.74	86.39±8.40 ¹⁾
	E	10	74.62±6.46	72.84±7.27	79.22±10.06	84.98±10.38 ²⁾	89.11±13.81 ¹⁾

与 B 组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与给药前比较, ²⁾ $P < 0.01$ 。

Fas/FasI 有关^[2]。

评价心肌收缩性能的常用指标 $+dp/dt_{max}$ 对各种变力性因素敏感性高、反映心肌收缩成分缩短的最大速度^[3]。当 $+dp/dt_{max}$ 下降到正常值的 1/3 左右, 形成严重心衰症状。参附注射液可以快速改善大鼠急性心衰模型的心功能, 并改善左心室重构和保护心肌细胞。

NT-proBNP 水平是一个准确诊断左心室功能障碍的生物标志物, 临床常用指标 LVSP、LVDP 在一定程度上反映心肌的收缩性能和心功能状态^[4-5]。在心衰的早期诊断中, 学者认为 NT-proBNP 是最有前途的心脏标志物, 并可以作为判断心衰患者或 ACS 患者的预后指标^[6]。国外研究将受试者的左室射血分数 (LVEF)、N-末端浓度 PRO-B-型利钠肽 (NT-proBNP 水平)、高敏 C-反应蛋白 (hsCRP)、Ⅲ型前胶原氨基端肽 (PIIINP)、基质金属蛋白酶 (MMP-2, MMP-9)、组织基质金属蛋白酶 (MMP-1) 作为观察指标发现, 心衰患者 NT-proBNP 水平灵敏度高, 特异性高的生物标志物与其清除机制有关。Mukoyama 研究组发现 CHF 患者血浆 BNP 浓度较正常升高, 且与心衰严重程度呈正比, 敏感性高^[7]。Selvais 研究组认为 BNP 在诊断 CHF 及其严重程度时优于 ANP^[8], 甚至比 CK-MB 的灵敏度更高, 作为急性冠脉综合征和心力衰竭临床指南的推荐^[9]。

在本研究中, 我们发现西药治疗组、参附注射液治疗组、参附注射液联合西药治疗组对左心衰大鼠的心脏泵血功能, 都有明显改善作用。均可以不同程度地降低 NT-proBNP、LESP, 增加 dp/dt_{max} 。参附注射液联合西药组与单用西药组或与单用参附注射液组比较, 联合治疗组作用较强, 心功能改善具有显著差异。其机制与参附联合硝酸甘油和利尿剂的正性心肌作用, 和抑制肾小管髓袢厚壁段对 Na^+ 和 Cl^- 的主动重吸收有关。NT-proBNP 值的明显改善, 提示参附注射液联合西药治疗可能通过影响细胞内钙浓度及钙调节的相关蛋白来发挥作用。

目前国外的研究发现, BNP 和 NT-proBNP 浓度增加不仅发生在心脏衰竭, 也发生在左心室肥厚

的高血压、肺动脉高压、急性或慢性肾功能衰竭、腹水型肝硬化、醛固酮增多症、肾上腺肿瘤和甲状腺功能亢进。这可能与心脏生物标志物病理释放入血或免疫引起的非典型抗体检测干扰有关。因此, 临床上常出现假阳性或假阴性的干扰。NT-proBNP 间接反应血流动力学压力变化, 其高灵敏度提示了心功能不全的早期识别与药品救治的疗效观察, 并具有临床前研究的价值。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则 [M]. 南京: 南京中医药大学出版社, 1993: 57-60.
- [2] 郑世营, 张晓膺, 李虹, 等. 参附注射液对心肌细胞缺氧及缺氧/复氧时 Fas/FasI 表达的影响 [J]. 中国急救医学, 2005, 12, 25(12): 893-895.
- [3] OUANES I, JALLOUL F, AYED S, et al. N-terminal proB-type natriuretic peptide levels aid the diagnosis of left ventricular dysfunction in patients with severe acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease and renal dysfunction [J]. J Respiratory, 2012, 2: 305-322.
- [4] WONG G C, AYAS N T. Clinical approaches to the diagnosis of acute heart failure [J]. J Curr Opin Cardiol, 2007, 22: 207-213.
- [5] DE DENUS S, LAVOIE J, DUCHARME A, et al. Differences in biomarkers in patients with heart failure with a reduced vs a preserved left ventricular ejection fraction [J]. J Can J Cardiol, 2012, 28: 62-68.
- [6] AMODIO G, ANTONELLI G, DI SERIO F. Cardiac biomarkers in acute coronary syndromes: a review [J]. J Curr Vasc Pharmacol, 2010, 8: 388-393.
- [7] TAMURA N, OGAWA Y, CHUSHO H. Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide [J]. J Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97: 4239-4244.
- [8] SELVAIS P L, DONCKIER J E, ROBERT A. Cardiac natriuretic peptides for diagnosis and risk stratification in heart failure: influences of left ventricular dysfunction and coronary artery disease on cardiac hormonal activation [J]. Eur J Clin Invest, 1998, 28: 636-642.
- [9] NACB Writing Group, WU A H, JAFFE A S, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: use of cardiac troponin and B-type natriuretic peptide or N-terminal proB-type natriuretic peptide for etiologies other than acute coronary syndromes and heart failure [J]. J Clin Chem, 2007, 53: 2086-2096.

(收稿日期: 2012-04-23)