振心方对压力负荷性心力衰竭大鼠心功能、心室重构及能量代谢的影响

李淑淳[1#]，周 莉[2#]，朱灵妍[3]，吴 琼[1]，刘晨阳[1]，曹 敏[1*]
（1. 上海中医药大学附属龙华医院急诊科，上海 200032；2.上海市嘉定区南翔医院中医科，上海 201802；
3. 上海市徐汇区中心医院中医科，上海 200031）

摘要：目的 探讨振心方对腹主动脉缩窄心力衰竭（heart failure，HF）大鼠心功能的影响。**方法** 将 40 只 Wistar 大鼠随机分为假手术组、模型组、振心方组以及比索洛尔组，每组 10 只。除假手术组外，其余各组采用腹主动脉缩窄法建立 HF 大鼠模型，振心方组予振心方混悬液 5.6 g/kg/d 灌胃，比索洛尔组给予富马酸比索洛尔混悬液 1 mg/kg/d 灌胃，假手术组与模型组给予等量生理盐水灌胃，连续 12 周。比较各组大鼠超声心动图、左心室重量指数（left ventricular mass index，LVMI）、脑利钠肽（brain natriuretic peptide，BNP）、醛固酮（aldosterone，ALD）、血管紧张素（angiotensin，Ang）Ⅱ、乳酸、丙酮酸以及游离脂肪酸含量。**结果** 与假手术组相比，模型组血清 BNP、ALD、Ang Ⅱ、乳酸、丙酮酸以及游离脂肪酸含量显著上升（$P < 0.01$）。与模型组比较，振心方能升高左室射血分数，改善心肌组织病变、心肌纤维化和 LVMI，同时使血清 BNP、ALD、Ang Ⅱ、丙酮酸以及游离脂肪酸含量明显下降（$P < 0.01$）。**结论** 振心方能有效干预 HF 大鼠心功能，改善心室重构，推测可能与减少血清代谢产物堆积有关。

关键词：振心方；压力负荷性心力衰竭；心功能；心室重构；能量代谢
中图分类号：R-33；R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188(2024)06-0597-06
DOI：10.13683/j.wph.2024.06.005

Effects of Zhenxin prescription on cardiac function, ventricular remodeling and energy metabolism in rats with pressure-load heart failure

LI Shuchun[1#], ZHOU Li[2#], ZHU Lingyan[3], WU Qiong[1], LIU Chenyang[1], CAO Min[1*]
(*1. Department of Emergency, Longhua Hospital Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China;*
2. Department of Traditional Chinese Medicine, Nanxiang Hospital, Jiading District, Shanghai 201802, China;
3. Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Xuhui District Central Hospital, Shanghai 200031, China)

Abstract: ***Objective*** To investigate the effect of Zhenxin prescription on cardiac function in rats with abdominal aortic coarctation and heart failure(HF). ***Method*** Forty Wistar rats were randomly divided into sham operation group, model group, Zhenxin prescription group and bisoprolol group, with 10 rats in each group. Except the sham operation group, the other groups of rats were treated with abdominal aortic coarctation to establish the HF rat model. Zhenxin prescription group was given 5.6 g/kg/d of Zhenxin prescription suspension, bisoprolol group was given 1 mg/kg/d of bisoprolol fumarate suspension, sham operation group and model group were given the same amount of normal saline intragastric administration for 12 weeks. The contents of echocardiography, left ventricular mass index(LVMI), brain natriuretic peptide(BNP), aldosterone(ALD), angiotensin(Ang) Ⅱ, lactic acid, pyruvic and free fatty acid in all groups were compared. ***Results*** Compared with sham operation group, the serum contents of BNP, ALD, Ang Ⅱ, lactic acid,

收稿日期：2023-04-06；**修回日期：**2024-01-08
作者简介：李淑淳，硕士，研究方向：中医药防治心血管疾病。
周莉，主治医师，研究方向：中医药防治心血管疾病。
通信作者：曹敏，主任医师，研究方向：中医药防治心血管疾病的临床及基础研究。
基金项目：国家自然科学基金(82374397)；第五批全国中医临床优秀人才研修项目[国中医药人教函(2022)1号]；2020年度上海市中西医结合专项(ZHYY-ZXY JHZX-202012)；上海中医药大学医养结合高水平科创项目(602075D)

pyruvate and free fatty acid in model group were significantly increased ($P<0.01$). Compared with model group, Zhenxin prescription could increase left ventricular ejection fraction, improve myocardial tissue lesion, myocardial fibrosis and LVMI, and significantly decrease serum BNP, ALD, AngⅡ, pyruvate and free fatty acid ($P<0.01$). ***Conclusion*** Zhenxin prescription can effectively regulate heart function and improve ventricular remodeling in rats with HF, which may be related to reducing the accumulation of serum metabolites.

Key words: Zhenxin prescription; pressure-load heart failure; cardiac function; ventricular remodeling; energy metabolism

心力衰竭（heart failure，HF）是由各种心脏结构或功能性疾病导致心功能不全伴有相应症状和（或）体征的临床综合征[1]。至2021年，我国HF患者约有890万人，并呈持续上升趋势；2018至2020年，HF出院人次数年均增速为15.28%，位居心血管疾病首位；至2022年，HF的住院总费用高达144.61亿元，住院费用年均增长率为16.14%[2]。HF占用大量医疗资源，已成为当前我国乃至全球医学的一个严峻挑战。近年来提出的HF指南导向药物治疗（guidelines-directed medical therapy，GDMT）在临床实践中的效果不尽人意，而传统中医药在治疗HF方面具有独特的优势[3]。前期临床研究显示，振心方能有效干预慢性HF，提高患者心排量、左室射血分数（left ventricular ejection fraction，LVEF）及6 min步行试验分数[4]。本研究拟采用腹主动脉不完全结扎造成压力超负荷性HF模型，运用振心方对其干预，观察振心方对HF大鼠心功能、心肌组织病理结构以及血清脑利钠肽（brain natriuretic peptide，BNP）、醛固酮（aldosterone，ALD）、血管紧张素（angiotensin，Ang）Ⅱ、乳酸、丙酮酸以及游离脂肪酸的影响，初步探讨振心方的作用机制，为临床研究与应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级健康雄性Wistar大鼠40只，体质量（20020）g，购自北京维通利华有限公司，动物使用许可证号：SYXK（京）2012-0036，动物生产许可证号：SCXK（京）2012-0001。室温22～24 ℃，相对湿度50%～60%，12 h明暗交替，常规饲料喂养。

1.2 药物

富马酸比索洛尔（5 mg，184092）购自德国默克公司，溶于双蒸水制成0.3 mg/ml混悬液；戊巴比妥钠（57330）购自Merck公司；青霉素（43220306）购自山东鲁抗医药；振心方药物（XD10092112）购自上海雷允上连锁总店，组方为山茱萸、白芍、制附子、鹿角霜以及桂枝等。

1.3 分组与造模

将40只大鼠随机分为假手术组、模型组、振心方组及比索洛尔组，每组10只。根据课题组已建立大鼠模型制备方法[5]，建立腹主动脉缩窄致HF大鼠模型，模型鼠舒张功能障碍、心室肥厚会在12周内进行性加重，所有大鼠术后腹腔注射青霉素钠（40 000 U）抗感染，一日1次，连续注射3 d后，超声心动图检测大鼠室壁厚度及LVEF判定造模成功。

1.4 方法

自造模术后D5，振心方组予振心方混悬液每次5.6 g/kg灌胃，用蒸馏水配成1 g/ml的溶液；比索洛尔组给予富马酸比索洛尔混悬液每次1 mg/kg灌胃，假手术组与模型组给予等量生理盐水灌胃，一日1次，连续12周。

1.5 观察指标

1.5.1 超声心动图检测

治疗12周后，大鼠禁食不禁水12 h，采用3%戊巴比妥钠3 ml/kg麻醉后胸部剃毛，涂耦合剂，采用GEViVid7型超声仪及12 L高频浅表探头（美

国通用电气公司），至左室长轴切面，M 型模式下行超声心动图检测收缩期室间隔（interventricular septum，IVS）厚度、收缩期左室后壁厚度（left ventricular posterior wall thickness，LVPWT）、LVEF、左室短轴缩短率（fractional shortening，FS）和每搏输出量（stroke volume，SV），每只大鼠均取 3 个心动周期求平均值。

1.5.2 左心室重量指数（left ventricular mass index，LVMI）及心脏病理切片

治疗 12 周后，于大鼠腹主动脉采血后，迅速摘取整心脏，滤纸吸干水分，去除心房组织，沿室壁剪开，分离左右心室，称量左心室重量，计算 LVMI，观察心肌肥厚情况。乙醇梯度脱水，石蜡包埋，切片，厚度 5 μm，常规苏木精 - 伊红（hematoxylin-eosin，HE）、masson 染色，光学显微镜分别观察心肌纤维及胶原组织变化。

1.5.3 BNP、ALD 及 Ang Ⅱ测定

治疗 12 周后，于大鼠腹主动脉取血后，分离血清。大鼠 BNP、ALD 及 Ang Ⅱ酶联免疫吸附试验试剂盒（H166、H188 及 H185）购自南京建成生物技术公司，操作按照试剂盒说明书。

1.5.4 大鼠血清乳酸、丙酮酸试剂及游离脂肪酸测定

超声心动图检测结束后，采大鼠腹主动脉血，分离血清。大鼠血清乳酸（A019-2）、丙酮酸试剂盒（A081）购自南京建成生物工程研究所，操作根据乳酸、丙酮酸检测试剂盒说明书，在相应纳米波长出检测乳酸及丙酮酸的含量。大鼠血清游离脂肪酸的测定委托上海中医药大学附属龙华医院检验科完成。

1.6 统计学方法

应用 SPSS22.0 统计软件进行统计分析，计量资料以（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间采用单因素方差分析，$P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 超声心动图

与假手术组比较，各组 LVEF、FS 以及 SV 均降低（$P < 0.05$）；与模型组比较，比索洛尔组和振心方组 LVEF、FS 值更高（$P < 0.01$）；各组 IVS 厚度、LVPWT 无明显差异（$P > 0.05$），见表 1。

2.2 LVMI

与假手术组比较，其他各组 LVMI 明显升高（$P < 0.05$）；与模型组比较，比索洛尔组、振心方组 LVMI 均明显下降（$P < 0.01$），两组无明显差异（$P > 0.05$），见表 2。

2.3 心肌组织病理学改变

HE 染色光镜下显示，假手术组心肌纤维排列规则，心肌纤维无明显断裂；模型组心肌纤维排列紊乱、增粗；振心方组、比索洛尔组心肌组织形态接近假手术组。

Masson 染色显示，假手术组心肌细胞周围有少量胶原组织；模型组及各治疗组部分心肌已被胶原

表 1 各组大鼠超声心动图

Table 1 Echocardiogram of rats in each group

组别	LVEF/%	FS/%	SV/μl	IVS厚度/mm	LVPWT/mm
假手术组（n=10）	86.46±5.31	61.32±7.92	252.43±30.41	2.32±0.36	2.13±0.37
模型组（n=10）	74.39±4.86**	48.33±5.24**	192.55±22.36**	2.46±0.39	2.27±0.36
比索洛尔组（n=10）	81.45±4.65*$^{\triangle\triangle}$	53.18±6.32**$^{\triangle\triangle}$	223.86±25.16**$^{\triangle\triangle}$	2.38±0.35	2.19±0.38
振心方组（n=10）	80.44±1.13*$^{\triangle\triangle}$	52.47±6.19**$^{\triangle\triangle}$	228.72±23.53**$^{\triangle\triangle}$	2.39±0.32	2.16±0.38
F值	40.455	114.114	358.420	25.137	11.452
P值	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001

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

Note: *vs* sham operation group, *P＜0.05, **P＜0.01; *vs* model group, $^{\triangle\triangle}P$＜0.01.

表 2 各组大鼠 LVMI

Table 2 LVMI of rats in each group

组别	LVMI/mg·g^{-1}
假手术组（n=10）	1.92±0.22
模型组（n=10）	3.33±0.31**
比索洛尔组（n=10）	2.38±0.23*$^{\triangle\triangle}$
振心方组（n=10）	2.45±0.26**$^{\triangle\triangle}$
F值	112.792
P值	<0.001

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

Note: *vs* sham operation group, *P<0.05, **P<0.01; *vs* model group, $^{\triangle\triangle}P$<0.01.

组织取代；模型组心肌细胞周围胶原组织明显增多，各治疗组介于假手术组和模型组之间，见图 1、2。

2.4 血清 BNP、ALD、Ang Ⅱ含量

与假手术组相比，各组大鼠血清 BNP、ALD 以及 Ang Ⅱ值均上升，差异明显（P < 0.01）。振心方组、比索洛尔组 BNP、ALD、Ang Ⅱ值低于模型组（P < 0.05），振心方组 BNP、Ang Ⅱ低于比索洛尔组（P < 0.05），但 ALD 无明显差异（P > 0.05），见表 3。

2.5 各组大鼠血清乳酸、丙酮酸、游离脂肪酸含量

与假手术组比较，模型组血清乳酸、丙酮酸、游离脂肪酸含量显著上升（P < 0.01）；与模型组比较，比索洛尔组、振心方组大鼠血清丙酮酸、游离脂肪酸含量明显下降，且振心方组游离脂肪酸含量低于比索洛尔组（P < 0.05）；振心方组和比索洛尔组血清乳酸、丙酮酸含量比较，差异无统计学意义（P > 0.05），见表 4。

3 讨论

HF 病理机制复杂，其发病与肾素 - 血管紧张素 - 醛固酮系统激活、交感神经系统兴奋及内分泌功能失调等因素相关[6]。近年来学者发现 HF 与心脏能量代谢密切相关。心脏为高能耗器官，细胞内三磷酸腺苷（adenosine triphosphate，ATP）是维持心脏收缩功能的主要能量来源。正常情况下，心肌细胞中的线粒体通过 β- 氧化作用利用多种能量底物，包括脂肪酸、酮体以及氨基酸等以产生大量 ATP 维持心

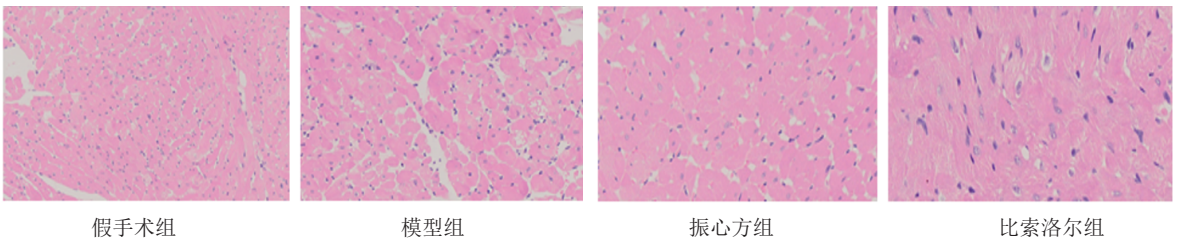


图 1 各组大鼠心肌组织 HE 染色图（×400）

Figure 1 HE staining of myocardial tissue of rats in each group（×400）

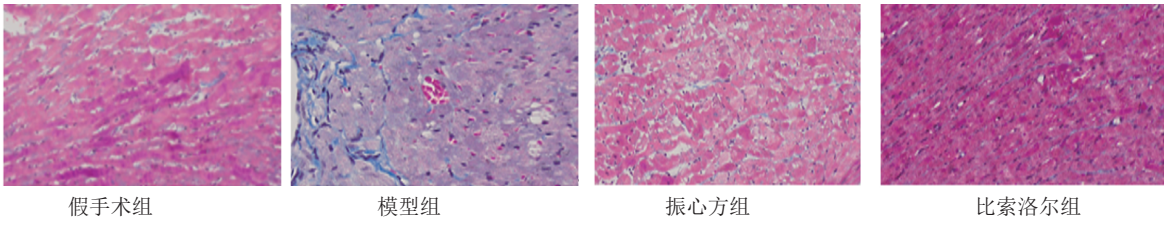


图 2 各组大鼠心肌组织 masson 染色图（×200）

Figure 2 Masson staining of myocardial tissue of rats in each group（×200）

表 3 各组大鼠血清 BNP、ALD、Ang Ⅱ

Table 3 Serum BNP, ALD, Ang Ⅱ of rats in each group

组别	BNP/ng·L^{-1}	ALD/ng·L^{-1}	AngII/ng·L^{-1}
假手术组(n=10)	156.38±12.33	189.42±22.53	238.76±25.49
模型组(n=10)	432.65±41.38**	386.54±36.28**	517.33±49.73**
比索洛尔组(n=10)	385.72±40.46**$^{\triangle}$	315.47±28.66**$^{\triangle\triangle}$	352.94±36.45**$^{\triangle\triangle}$
振心方组(n=10)	332.69±34.52**$^{\triangle\triangle\blacktriangle}$	322.46±30.15**$^{\triangle\triangle}$	306.75±34.44**$^{\triangle\triangle\blacktriangle}$
F值	2 097.054	123.229	4 002.982
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注：与假手术组比，**P<0.01；与模型组比，$^{\triangle}P$<0.05，$^{\triangle\triangle}P$<0.01；与比索洛尔组比，$^{\blacktriangle}P$<0.05。

Note: *vs* sham operation group, **P<0.01; *vs* model group, $^{\triangle}P$<0.05, $^{\triangle\triangle}P$<0.01; *vs* bisoprolol group, $^{\blacktriangle}P$<0.05.

表 4 各组大鼠血清乳酸、丙酮酸、游离脂肪酸含量

Table 4 Serum lactic acid, pyruvic acid and free fatty acid content of rats in each group

组别	乳酸/mmol·L^{-1}	丙酮酸/μmol·L^{-1}	游离脂肪酸/mmol·L^{-1}
假手术组(n=10)	1.23±0.32	67.43±9.76	0.69±0.16
模型组(n=10)	2.02±0.49**	109.57±25.48**	1.18±0.19**
比索洛尔组(n=10)	1.58±0.23$^{\triangle}$	86.29±15.86**$^{\triangle}$	0.92±0.13**$^{\triangle}$
振心方组(n=10)	1.41±0.21$^{\triangle}$	79.35±10.72*$^{\triangle}$	0.76±0.12$^{\triangle\triangle\blacktriangle}$
F值	145.216	427.512	35.580
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注：与假手术组比，*P<0.05，**P<0.01；与模型组比，$^{\triangle}P$<0.05，$^{\triangle\triangle}P$<0.01；与比索洛尔组比，$^{\blacktriangle}P$<0.05。

Note: *vs* sham operation group, *P<0.05, **P<0.01; *vs* model group, $^{\triangle}P$<0.05, $^{\triangle\triangle}P$<0.01; *vs* bisoprolol group, $^{\blacktriangle}P$<0.05.

脏舒缩功能[7]。其中，由脂肪酸氧化产生的 ATP 占心肌细胞 ATP 总量的 60% ～ 90%，少部分 ATP 则来自葡萄糖以及少量酮体和某些氨基酸氧化[8—11]，因此，脂肪酸的氧化对于维持心肌细胞正常的能量代谢至关重要。

心肌细胞内的 ATP 浓度较低，且水解较快，不能满足心肌长时间能量需求，因此需不断合成 ATP 以维持基本的舒缩功能。线粒体是合成 ATP 的场所，其功能异常会导致细胞能量代谢障碍，从而影响细胞生存[12]。HF 早期细胞核及线粒体代偿性增大、增多，失代偿之后，心肌细胞受损，线粒体对脂肪酸等底物的利用率大大降低，脂肪酸氧化受抑制，葡萄糖氧化酵解明显增加，导致心肌细胞能量生成不足，继而引发心脏结构及功能受损，从而出现心脏超声及生化指标改变[12]。并且，由于脂肪酸和糖酵解产物乳酸在心肌细胞积蓄，加重心功能恶化，最终加重 HF。因此，改善线粒体功能，增加线粒体对脂肪酸、乳酸以及丙酮酸等底物的摄取，可调节心肌细胞能量代谢，有效遏制 HF 的进展[13—17]。

HF 属于中医学的“心悸”“喘证”“水肿”“痰饮”“胸痹”等范畴，其早期以心气亏虚为主，中期以气阴两虚为主，晚期多见阳虚，各证型之中，常兼有淤血、痰饮病理之邪[18—19]。HF 为阳气不振之证，阳气亏损，浮越于上，肾阳为全身阳气之根本，肾中阳气尚存，故温肾补阳之时，常需收敛元阳，引火归元。振心方由山茱萸、白芍、制附子、鹿角霜、桂枝等组成，其中山茱萸能收敛元气，固涩滑脱，其敛正气而不敛邪气，挽五脏元气之脱失；制附子能培育元阳，引火归元；鹿角霜温补肾阳；桂枝振奋心阳。且方中制附子、鹿角霜、桂枝温补阳气，白芍与之相合，有“善补阳者，必阴中求阳”之功，亦制约诸药燥烈之性。

本研究结果显示，振心方能有效改善 HF 大鼠心功能以及 LVMI。通过 HE 及 masson 染色发现，振心方能减少心肌组织病变，减轻心肌纤维化，改善心室重构。HF 大鼠血清乳酸、丙酮酸增多，游离脂肪酸的利用率下降，代谢产物堆积，导致线粒体结构功能受损，加重能量代谢异常，而振心方组血清乳酸、丙酮酸、游离脂肪酸含量较模型组均有不同程度下降，说明振心方可减少血清代谢产物的堆积，进而保护 HF 大鼠心脏线粒体功能，改善代谢重构，但其具体机制尚需进一步研究。

4 结论

振心方能有效干预 HF 大鼠心功能，改善心室重构，亦可减少大鼠心肌细胞能量代谢产物堆积。笔者推测振心方改善 HF 的作用机制与减少能量代谢产物的堆积、保护心脏线粒体功能相关。然而，HF 的发病机制复杂，本研究对于具体机制并未行进一步探索，未来还需进一步验证。

参考文献：

[1] Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, *et al*. Heart disease and stroke statistics－2017 update: a report from the American Heart Association[J]. Circulation, 2017, 135(10): e146-e603.

[2] 《中国心血管健康与疾病报告2022》编写组.《中国心血管健康与疾病报告2022》要点解读[J]. 中国心血管杂志, 2023, 28(4): 297-312.

[3] 《中成药治疗优势病种临床应用指南》标准化项目组. 中成药治疗心力衰竭临床应用指南(2021年)[J]. 中国中西医结合杂志, 2022, 42(3): 261-275.

[4] 曹敏, 王佑华, 杨爱玲, 等. 振心方治疗慢性心力衰竭的临床观察[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(23): 3662-3665.

[5] 周莉, 周端, 曹敏. 参蛤散对压力负荷性心室重构大鼠心肌组织AT1R的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(5): 1042-1043.

[6] 曹敏, 王佑华. 中西医治疗心力衰竭: 理论与实践[M]. 上海: 科学出版社, 2017: 16-28.

[7] 赵惠奇, 张青海, 郑昭芬. 从心肌能量代谢角度探讨射血分数保留的心力衰竭的治疗进展[J]. 实用心脑肺血管病杂志, 2023, 31(2): 1-7.

[8] Karwi QG, Jörg AR, Lopaschuk GD. Allosteric, transcriptional and post-translational control of mitochondrial energymetabolism[J]. Biochem J, 2019, 476(12): 1695-1712.

[9] 成文堃, 赵明镜, 王蕾, 等. 心力衰竭底物代谢重构模式及其机制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(5): 210-219.

[10] Lopaschuk GD, Karwi QG, Tian R, *et al*. Cardiac energy metabolism in heart failure[J]. Circ Res, 2021, 128(10): 1487-1513.

[11] Chen L, Song J, Hu S. Metabolic remodeling of substrate utilization during heart failure progression[J]. Heart Fail Rev, 2019, 24(1): 143-154.

[12] 谢许峰, 谭颖颖, 黄星星, 等. 中医药调控心力衰竭分子机制研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(22): 4115-4119.

[13] Di Lorenzo A, Iannuzzo G, Parlato A, *et al*. Clinical evidence for Q10 coenzyme supplementation in heart failure: from energetics to functional improvement[J]. J Clin Med, 2020, 9(5): 1266.

[14] Schwarzer M, Osterholt M, Lunkenbein A, *et al*. Mitochondrial reactive oxygen species production and respiratory complex activity in rats with pressure overload-induced heart failure[J]. J Physiol, 2014, 592(17): 3767-3782.

[15] Heggermont WA, Papageorgiou AP, Heymans S, *et al*. Metabolic support for the heart: complementary therapy for heart failure?[J]. Eur J Heart Fail, 2016, 18(12): 1420-1429.

[16] Springett R, King MS, Crichton PG, *et al*. Modelling the free energy profile of the mitochondrial ADP/ATP carrier[J]. Biochim Biophys Acta Bioenerg, 2017, 1858(11): 906-914.

[17] Ardehali H, Sabbah HN, Burke MA, *et al*. Targeting myocardial substrate metabolism in heart failure: potential for new therapies[J]. Eur J Heart Fail, 2012, 14(2): 120-129.

[18] 张文群, 周端. 周端辨治慢性心功能不全的临床经验[J]. 上海中医药杂志, 2007, 41(6): 26-27.

[19] 魏易洪, 曹敏, 苑素云, 等. 周端教授膏方治疗慢性心衰经验拾零[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(5): 1222-1223.

(编辑：沈佳婕)