

川芎嗪对心室快速起搏心力衰竭实验犬心房颤动及心房纤维化的影响

林亚洲¹, 许春萱¹, 邓玉莲¹, 陈林¹, 黄海², 杜建²

(1. 福建省立医院福建省心血管病研究所心内科, 福建 福州 350001; 2. 福建中医学院中医系, 福建 福州 350001)

[摘要] 目的: 观察川芎嗪(tetramethylpyrazine, TMP)对心室快速起搏致充血性心力衰竭(congestive heart failure, CHF)实验犬心房颤动及心房纤维化的影响。方法: 选择健康成年杂种犬 21 只, 随机分为正常对照组、CHF 模型组和 TMP 治疗组。采用右心室快速起搏建立实验犬 CHF 模型。Burst 刺激诱发心房颤动(atrial fibrillation, AF)。超声心动图仪检测实验犬左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)。Mallory's 三色法染色检测心房组织纤维化程度。采用放射免疫法测定血浆血管紧张素和醛固酮的浓度, 测定血清型前胶原氨基末端肽(amino-terminal peptide of type procollagen, P NP)、层粘连蛋白(laminin, LN)和透明质酸(hyaluronic acid, HA)的水平。结果: CHF 模型组 LVEF 较正常对照组明显下降($P < 0.01$); AF 发生率、持续性 AF 发生率及 AF 持续时间较正常对照组均明显增加($P < 0.01$); 左右心房纤维化程度较正常对照组亦有明显增加($P < 0.01$); AF 持续时间与左心房纤维化程度呈密切正相关($r = 0.84$, $P = 0.018$); 血浆血管紧张素、醛固酮以及血清 P NP、HA 水平较正常对照组均有明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$); LN 比较则无统计学差异; 血浆血管紧张素水平与醛固酮水平呈密切正相关($r = 0.759$, $P = 0.048$)。TMP 治疗组 LVEF 较 CHF 模型组有明显改善($P < 0.05$); 持续性 AF 发生率较 CHF 模型组有明显降低($P < 0.05$); 左右心房纤维化程度较 CHF 模型组有明显减轻($P < 0.01$)。结论: TMP 可减轻 CHF 时心房纤维化的程度, 这可能是其减少 CHF 时 AF 发生率及持续时间的机制之一。

[关键词] 川芎嗪; 心力衰竭, 充血性; 心房颤动; 动物实验

[中图分类号] R286.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-1977(2006)01-0035-04

Effects of tetramethylpyrazine on fibrosis of atrial tissue and atrial fibrillation in a canine model of congestive heart failure induced by ventricular tachypacing

Ya-Zhou LIN¹, Chun-Xuan XU¹, Yu-Lian DENG¹, Lin CHEN¹, Hai HUANG², Jian DU²

(1. Department of Cardiology, Fujian Provincial Research Institute for Cardiovascular Diseases, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou, Fujian Province 350001, China; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Fujian College of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian Province 350001, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effects of tetramethylpyrazine (TMP) on fibrosis of atrial tissue and atrial fibrillation in a canine model of congestive heart failure (CHF) induced by ventricular tachypacing. Methods: Twenty-one healthy mongrel dogs were randomly divided into three groups, which were normal control group, untreated group and TMP-treated group. Atrial fibrillation (AF) was induced by burst of atrial pacing, after the canine model of CHF was established. The atrial tissues were sampled and stained with Mallory's trichromic stains, then the fibrosis in the atrial tissues was analyzed. The left ventricular ejection fraction (LVEF) was evaluated by echocardiography. The levels of angiotensin (Ang), aldosterone (ALD), amino-terminal peptide of type procollagen (P NP), laminin (LN) and hyaluronic acid (HA) in peripheral blood were examined by radioimmunoassay. Results: The LVEF was significantly decreased in the

untreated group as compared with that in the normal control group ($P < 0.01$), while the frequencies of AF and sustaining AF were significantly increased and the AF duration was obviously prolonged in the untreated group as compared with those in the normal control group ($P < 0.01$). The fibrosis degree in the left or right atrial tissue in the untreated group was more serious than that in the normal control group ($P < 0.01$). The AF duration was positively correlated with the fibrosis degree in the left atrial tissue ($r = 0.84$, $P = 0.018$). The levels of Ang II, ALD, P-ANP and HA in peripheral blood were significantly higher in the untreated group than those in the normal control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The level of Ang II was positively correlated with the level of ALD in peripheral blood ($r = 0.759$, $P = 0.048$). The LVEF and the frequency of sustaining AF were both significantly improved in the TMP-treated group as compared with those in the untreated group ($P < 0.05$). The fibrosis in the left or right atrial tissue in the untreated group was more serious than that in the untreated group ($P < 0.01$). The levels of Ang II and P-ANP in peripheral blood were also markedly higher in the TMP-treated group than those in the untreated group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Conclusion: Tetramethylpyrazine has the effect of reducing the fibrosis degree of atrial tissue in dogs with CHF, and this efficacy may be related to the mechanism of decreasing the frequency of AF and shortening the AF duration.

KEY WORDS tetramethylpyrazine; heart failure, congestive; atrial fibrillation; animal experimentation

Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao/ J Chin Integr Med, 2006, 4(1):35-38 www.jcimjournal.com

充血性心力衰竭 (congestive heart failure, CHF) 常伴发心房颤动 (atrial fibrillation, AF)。研究表明, 心房纤维化为 AF 的发生和维持提供了病理基础^[1,2], 而肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS) 的激活在心肌纤维化中起着重要的作用, 如血管紧张素 II 和醛固酮均具有较强的致心肌纤维化的作用。中药制剂川芎嗪的化学结构为四甲基吡嗪 (tetramethylpyrazine, TMP), 临床上广泛用于 CHF 和器官组织纤维化的治疗^[3,4]。川芎嗪干预 AF 及心房纤维化的研究目前尚未见报道。本研究旨在通过右心室快速起搏建立实验犬 CHF 模型, 探讨 TMP 对 CHF 时心房纤维化和 AF 的影响及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物分组 健康杂种犬 21 只, 雌雄不拘, 犬龄 (3.2 ± 1.0) 岁, 体质量 (16 ± 4) kg。随机分为 3 组: 正常对照组、CHF 模型组和 TMP 治疗组, 每组 7 只。

1.2 CHF 实验犬模型建立及药物处理 CHF 模型组和 TMP 治疗组实验犬用氯胺酮 1 mg/kg 诱导麻醉后固定于手术台上, 用万可松 0.1 mg/kg 抑制自主呼吸, 气管内插管行辅助呼吸, 异丙酚 $200 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 维持麻醉。行无菌手术, 于右侧第四肋间进胸, 打开心包, 暴露心脏, 在右心室及皮下分别缝合起搏电极。关胸后, 连接 YKE 201 体外脉冲发生器 (起搏模式为 VOO, 起搏频率 240 次/min)。术后动物穿特制外套以保护手术切口、脉冲发生器及电极导线, 连续起搏 5 周。TMP 治疗组实验犬于起搏开始, 即给予 TMP (无锡市第七制药有限公司生产, 国药准字 H32023383)

$10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 肌肉注射, 1 次/d, 连续 5 周。

1.3 AF 的诱发 心室起搏 5 周后, 3 组实验犬均采用 Burst 刺激 (100 ms 起搏周长, 4 倍起搏阈值, $1 \sim 10 \text{ s}$) 诱发 AF, 每只实验犬诱发 5 次。AF 持续时间取其平均值, $> 15 \text{ min}$ 定义为持续性 AF。

1.4 左心室射血分数的检测 心室起搏 5 周后, 采用 HP-2500 型超声心动图仪检测 3 组实验犬左心室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF)。

1.5 心房标本采集及组织学鉴定 Burst 刺激诱发 AF 后, 取各组实验犬左、右心房游离壁, 用生理盐水迅速漂洗干净后, 以 10% 福尔马林固定, 石蜡包埋, 切片。Mallory's 三色法染色, 胶原纤维呈深蓝色, 肌组织呈鲜橘黄色。采用 SigmaScan Pro 4.0 图像分析系统计算心房纤维化百分比。

1.6 血液标本指标的检测 采集各组实验犬肘静脉血, 采用放射免疫法检测血浆血管紧张素 II 和醛固酮的浓度, 检测血清 I 型前胶原氨基末端肽 (amino-terminal peptide of type I procollagen, P-ANP)、层粘连蛋白 (laminin, LN) 和透明质酸 (hyaluronic acid, HA) 的水平。试剂均由北京北方生物技术研究所提供。

1.7 统计学方法 所有数据均采用 SPSS 10.0 软件进行统计学处理。CHF 模型组和 TMP 治疗组在模型建立之前所测得的血液标本指标, 均归入正常对照组进行统计学分析。计量资料数据均数用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 进行配对 t 检验和直线相关分析。

2 结果

2.1 左心室射血分数及心房颤动诱发情况的比较

CHF 模型组和 TMP 治疗组 LVEF 较正常对照组明显下降 ($P < 0.01$); TMP 治疗组 LVEF 较 CHF 模型组有明显改善 ($P < 0.05$)。CHF 模型组和 TMP 治疗组的 AF 发生率、持续性 AF 发生率及

AF 持续时间较正常对照组均明显增加 ($P < 0.01$); TMP 治疗组的持续性 AF 发生率较 CHF 模型组有明显降低 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组实验犬 AF 发生率、持续性 AF 发生率、AF 持续时间及 LVEF

Tab 1 Frequency of AF, frequency of SAF, AF duration and LVEF of dogs in three groups

Group	n	Frequency of AF	Frequency of sustaining AF	AF duration ($\bar{x} \pm s, s$)	LVEF ($\bar{x} \pm s, \%$)
Normal control	7	2/7	0/7	0.6 ± 0.6	67.4 ± 6.0
Untreated	7	7/7**	5/7**	462.1 ± 181.4**	29.2 ± 7.8**
TMP-treated	7	6/7**	3/7**	340.6 ± 162.6**	40.7 ± 7.5**

** $P < 0.01$, vs normal control group; * $P < 0.05$, vs untreated group.

2.2 心房纤维化程度的比较 CHF 模型组和 TMP 治疗组左右心房纤维化程度较正常对照组均有明显增加 ($P < 0.01$); TMP 治疗组左右心房纤维化程度较 CHF 模型组有明显减轻 ($P < 0.01$)。Mallory's 三色法染色显示:正常对照组心肌未见纤维化;CHF 模型组心房肌纤维被多层厚纤维组织分隔,细胞间连接组织明显增加(主要由增生的成纤维细胞、大量的胶原成分及脂肪细胞等组成);TMP 治疗组心房肌间质纤维组织增生较 CHF 模型组明显减少。CHF 模型组 AF 持续时间与左心房纤维化程度呈密切正相关 ($r = 0.84, P = 0.018$)。见表 2、图 1。

型组血浆血管紧张素 水平与醛固酮水平呈密切正相关 ($r = 0.759, P = 0.048$)。TMP 治疗组血浆血管紧张素 及血清 P NP 水平较 CHF 模型组均有明显下降 ($P < 0.05, P < 0.01$);其余指标比较则无统计学差异。见表 3。

2.3 血液标本指标的比较 CHF 模型组血浆血管紧张素、醛固酮以及血清 P NP、HA 水平较正常对照组均有明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);LN 比较则无统计学差异。TMP 治疗组血液标本各项指标与对照组比较,均无统计学差异;CHF 模

表 2 各组实验犬左右心房纤维化程度

Tab 2 Fibrosis degree of atrial tissue of dogs in three groups

Group	n	Fibrosis degree of atrial tissue ($\bar{x} \pm s, \%$)	
		right atrial tissue	left atrial tissue
Normal control	7	2.88 ± 0.45	3.05 ± 0.46
Untreated	7	8.36 ± 1.46**	11.25 ± 1.76**
TMP-treated	7	5.64 ± 0.99**	5.46 ± 1.14**

** $P < 0.01$, vs normal control group; * $P < 0.01$, vs untreated group.

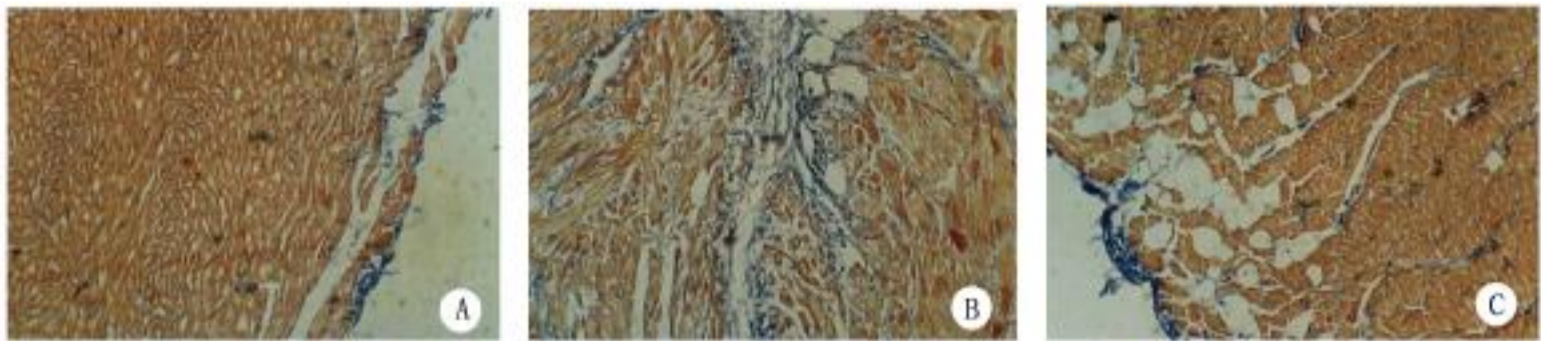


图 1 各组实验犬心房纤维化程度(Mallory 氏三色法染色, × 20)

Fig 1 Fibrosis degree in atrial tissue of dogs in three groups (Mallory's trichromic staining, × 20)

A: Normal control group; B: Untreated group; C: TMP-treated group.

表 3 各组实验犬血浆血管紧张素、醛固酮以及血清 P NP、LN 和 HA

Tab 3 Blood levels of angiotensin, aldosterone, P NP LN and HA of dogs in three groups

Group	n	Blood levels of angiotensin, aldosterone, P NP LN and HA ($\bar{x} \pm s, ng/L$)				
		Angiotensin	Aldosterone	P NP	LN	HA
Normal control	7	66.5 ± 22.8	68.6 ± 19.8	14.7 ± 3.0	58.6 ± 12.5	85.1 ± 16.6
Untreated	7	96.3 ± 20.1**	88.8 ± 20.3*	19.3 ± 3.8**	56.5 ± 8.4	103.2 ± 19.1*
TMP-treated	7	77.5 ± 10.2	82.5 ± 24.9	13.4 ± 3.6	56.5 ± 8.4	99.6 ± 24.9

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs normal control group; * $P < 0.05$, * $P < 0.01$, vs untreated group.

3 讨 论

川芎嗪是从中药川芎总生物碱中分离得到的一种活性生物碱,临床上被大量用于治疗 CHF,具有改善心功能的作用^[3]。有研究表明,CHF 是 AF 的独立危险因素,改善 CHF 患者的心功能可减少 AF 的发作^[5]。本研究结果显示:TMP 治疗组 LVEF 较 CHF 模型组有明显改善($P < 0.05$);持续性 AF 发生率明显降低($P < 0.05$);AF 持续时间亦有一定程度的降低,但无统计学差异;AF 发生率则未见明显差异。提示 TMP 可在一定程度上改善心功能,减少持续性 AF 发生率及 AF 持续时间。

本实验结果显示:CHF 模型组左右心房纤维化程度较正常对照组有明显增高($P < 0.01$);光镜下 CHF 模型组实验犬左右心房均呈广泛的间质纤维化,以左心房更为明显;纤维化指标血清 P-NP 及 HA 水平均有明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),提示心肌组织发生纤维化。直线相关分析显示,AF 持续时间与左心房纤维化程度呈密切正相关。近年来的研究表明,与心房快速起搏引起电重构不同,心室快速起搏致实验犬 CHF 并引起心房纤维化是 AF 发生与维持的主要机制^[6~8]。

TMP 被认为具有改善心室重构的作用,除了用于治疗 CHF 外,还广泛应用于抗纤维化的治疗,具有预防和逆转器官、组织纤维化的功能^[3,4]。本实验结果显示, TMP 治疗组左右心房纤维化程度较 CHF 模型组有明显下降($P < 0.01$);血清 P-NP 水平较 CHF 模型组亦有明显下降($P < 0.01$)。提示 TMP 可以减轻心房纤维化,最终减少持续性 AF 发生率及 AF 持续时间。

本实验结果显示,CHF 模型组血浆血管紧张素、醛固酮水平较正常对照组均有明显升高($P < 0.01$, $P < 0.05$);循环血中 P-NP 和 HA 等纤维化指标水平以及左右心房纤维化程度均明显增加,初步提示 CHF 时 RAAS 的激活参与了心房纤维化的形成过程。血管紧张素和醛固酮可能共同参与或协同参与了 CHF 时的心房纤维化以及 AF 的发生与维持。有研究表明,血管紧张素和醛固酮相互影响,共同促进心肌胶原的沉积,循环或组织中血管紧张素和醛固酮水平升高时发生一系列与纤维化相关的生化反应,其中血管紧张素占据了核心地位^[9]。本研究发现, TMP 可以显著降低 CHF 时循环血中血管紧张素及 P-NP 的水平,提示 TMP 可以通过降低 CHF 时血中血管紧张素的浓度,从而减轻心肌纤维化的形成。TMP 作用的具体机制可能与以下三点有关:(1)郭自强等^[10]发现,在体外培养的心肌细胞中, TMP 能够抑制血管紧张素引起的心脏成纤维细胞的增殖,其效应与血管紧张素受体 1 阻

滞剂 losartan 相似,而血管紧张素受体 1 阻滞剂已被证实可以减轻心房纤维化以及减少 AF 的发作^[11];(2)TMP 具有典型的钙离子拮抗剂的作用,钙离子介导了血管紧张素致成纤维细胞合成胶原的过程,降低心肌组织内的钙离子浓度可以减少胶原的合成;(3)商庆新等^[12]发现, TMP 能够抑制成纤维细胞 DNA 的合成、复制及有丝分裂。

本实验初步探讨了 TMP 对 CHF 时心房纤维化和 AF 发生及维持的影响,其具体机制有待进一步研究。

[参考文献]

- 1 Nattel S. New ideas about atrial fibrillation 50 years on. *Nature*, 2002, 415(6868): 219-226.
- 2 Allessie MA, Boyden PA, Camm AJ, *et al*. Pathophysiology and prevention of atrial fibrillation. *Circulation*, 2001, 103(5): 769-777.
- 3 侯建平. 黄芪注射液与川芎嗪注射液联用治疗慢性充血性心力衰竭 43 例疗效分析. *实用心脑血管病杂志*, 2000, 8(1): 49-50.
- 4 黄焱, 陈少强, 张更, 等. 川芎嗪联合氨基胍对糖尿病大鼠肾脏血管内皮细胞生长因子表达的影响. *中西医结合学报*, 2004, 2(1): 39-41.
- 5 Gronefeld GC, Hohnloser SH. Heart failure complicated by atrial fibrillation: mechanistic, prognostic, and therapeutic implications. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2003, 8(2): 107-113.
- 6 Verheule S, Wilson E, Everett T 4th, *et al*. Alterations in atrial electrophysiology and tissue structure in a canine model of chronic atrial dilatation due to mitral regurgitation. *Circulation*, 2003, 107(20): 2615-2622.
- 7 张建成, 黄从新, 邓玉莲, 等. 心房颤动患者 L 型钙通道电流改变的分子基础. *中华心血管病杂志*, 2002, 30(8): 460-463.
- 8 张建成, 黄从新, 邓玉莲, 等. 心房颤动患者离子通道蛋白质重构的研究. *中国循环杂志*, 2002, 17(4): 297-300.
- 9 Gonzalez A, Lopez B, Diez J. Fibrosis in hypertensive heart disease: role of the renin-angiotensin-aldosterone system. *Med Clin North Am*, 2004, 88(1): 83-97.
- 10 郭自强, 牛福玲, 朱陵群, 等. 川芎嗪对血管紧张素致心肌细胞肥大的影响. *北京中医药大学学报*, 2001, 24(3): 32-34.
- 11 Kumagai K, Nakashima H, Urata H, *et al*. Effects of angiotensin type 1 receptor antagonist on electrical and structural remodeling in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41(12): 2197-2204.
- 12 商庆新, 张涤生, 关文祥, 等. 丹参和川芎嗪对瘢痕成纤维细胞 DNA 含量及细胞周期进程的影响. *中国修复重建外科杂志*, 1998, 12(6): 325-328.

[收稿日期] 2005-03-30