

黄芪及其有效成分对上焦水饮内停大鼠的影响

陈倩^{1,2}, 季旭明¹, 阚东方¹, 韩晓春¹, 张亚楠¹, 王世军^{1*}

1. 山东中医药大学中医学院, 山东 济南 250355

2. 山东医药技师学院, 山东 泰安 271016

摘要: **目的** 探讨黄芪及其有效成分(黄芪多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷)对上焦水饮内停大鼠的影响。**方法** 将大鼠随机分为对照组(0.5%羧甲基纤维素钠)、模型组(0.5%羧甲基纤维素钠)、黄芪水煎液组(5.40 g/kg)、黄芪多糖组(1.41 g/kg)、黄芪甲苷组(50 mg/kg)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷组(30 mg/kg)及芪苈强心胶囊(1 g/kg)阳性对照组, 每组各10只, 除对照组外, 其他各组采用肩胛区sc异丙肾上腺素和气管置管复合干预因素制备上焦水饮内停大鼠模型; 各组ig给药2周后, 观察大鼠体质量、心脏指数、肺指数、左心室质量指数、左心室射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短分数(LVFS)、血浆肌酸激酶(CK)、心肺组织病理学、肺泡灌洗液回收率、肺通透指数和肺干湿比的变化。**结果** 与模型组相比, 黄芪水煎液组、各成分组均可不同程度地改善模型大鼠一般状况, 体质量明显升高($P<0.05$), 心脏指数、左心室质量指数、血浆CK均不同程度降低($P<0.05$ 、 0.01), 黄芪多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷组大鼠LVEF、LVFS、肺泡灌洗液回收率明显升高($P<0.05$), 肺指数、肺通透指数和肺干湿比明显降低($P<0.05$)。**结论** 黄芪及其有效成分可以改善上焦水饮内停大鼠的心肺损伤。

关键词: 黄芪; 黄芪多糖; 黄芪甲苷; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 上焦水饮内停模型

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)24-5186-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.24.020

Effect of *Astragali Radix* and its components on rats model of harmful fluid retention in upper jiao

CHEN Qian^{1,2}, JI Xu-ming¹, KAN Dong-fang¹, HAN Xiao-chun¹, ZHANG Ya-nan¹, WANG Shi-jun¹

1. College of Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. Shandong Medicine Technician College, Taian 271016, China

Abstract: Objective To study the effect of *Astragali Radix* and its components, which were astragalus polysaccharides, astragaloside IV and astragalus calycosin, on the rats model of harmful fluid retention in the upper warmer. **Methods** Rats were randomized into the blank group (0.5% CMC Na), the model group (0.5% CMC Na), the water decoction of *Astragali Radix* group (5.40 g/kg), the astragalus polysaccharides group (1.41 g/kg), the astragaloside IV group (50 mg/kg), the astragalus calycosin group (30 mg/kg), and the positive control group with Qili Qiangxin Capsule (1 g/kg), ten rats in each group. In addition to the control group, the harmful fluid retention in the upper warmer rats model were established in other groups which were induced by combined intervention factors of SC isoproterenol in the scapular region and tracheal intubation. After two weeks of gavage administration, the changes of body weight (BW), heart weight index (HWI), left ventricular mass index (LVWI), lung weight index (LWI), left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular fractional shortening (LVFS), plasma creatine kinase (CK), the lung permeability index, the pulmonary alveolus pumpback amount, and the pulmonary dry wet ratio (W/D) in rats model were detected. **Results** Compared with model group, the water decoction of *Astragali Radix* group and its components groups can improve the general condition of rats in varying degrees, BW increased significantly ($P<0.05$) and the levels of HWI, LVWI and CK were all decreased in different degrees ($P<0.05$ or <0.01). In the astragalus polysaccharides group, astragaloside IV group and astragalus calycosin group, the levels of LVEF, LVFS and the pulmonary alveolus pumpback amount in rats were significantly increased ($P<0.05$), and LWI, the lung permeability index and W/D were significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion** *Astragali Radix* and its components can improve the function of heart and lung in response to injury in rats model of harmful fluid retention in the upper warmer.

Key words: *Astragali Radix*; astragalus polysaccharides; astragaloside IV; astragalus calycosin; model of harmful fluid retention in the upper warmer

收稿日期: 2017-06-29

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)资助课题(2013CB531803); 山东省重点产业关键技术项目(2016CYJS08A01-4, 2016CYJS08A01-3)

作者简介: 陈倩(1984—), 在读博士, 主要研究方向为中药药性研究。Tel: 13854843837 E-mail: 13854843837@163.com

*通信作者 王世军(1963—), 博士生导师, 教授, 主要研究方向为中药药性研究。Tel: (0531)89628077 E-mail: pathology@163.com

水饮是由于体内津液布化失常,水湿停聚而成的病理产物,流窜于人体各处引发的病证。三焦升降诸气、通行水液,其中心、肺同居上焦,水饮凌于心则悸因,射于肺则咳。上焦水饮内停证为一典型的中医证候,临床多表现为呼吸困难、气短喘促、咳吐涎沫、痰量多、舌苔白润或灰腻、舌质胖大、脉沉细^[1],与《金匱要略》中“支饮”病证相似。随着中西医结合水平的不断提高,常会采用中药方剂治疗一些有上焦水饮内停证表现的疾病,诸如胸腔积液、心包积液、心力衰竭、肺瘀血、渗出性胸膜炎、肺水肿等。黄芪 *Astragali Radix* 始载于《神农本草经》,适用于脾气虚弱、体虚多汗、气血不足、气虚水肿等证,是常用的补气药之一。《汤液本草》中记载:“是上中外三焦之药”。目前研究发现黄芪含有包括多糖、皂苷、黄酮类化合物等 68 种有效化学成分。现代药理学研究明确了黄芪主要在心血管^[2-4]、物质代谢^[5-6]、抗衰老、抗癌^[7-8]、抗肿瘤^[9]及增强机体免疫力^[10]等方面应用广泛。但是在临床上常常以单味药或复方粗提物形式应用,仍缺乏有效成分和作用机制明确、药效显著、剂型先进的现代中药。

本课题组结合前期上焦水饮内停动物模型建立方法^[11](专利公开号 CN104523348A),采用 sc 异丙肾上腺素和气管置管复合干预因素建立上焦水饮内停大鼠模型,以芪蒴强心胶囊为阳性对照药,观察和比较黄芪及其组分(黄芪多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷)对上焦水饮内停大鼠的影响,为进一步探讨黄芪及其组分对上焦水饮内停模型大鼠的影响机制提供参考。

1 材料

1.1 动物

健康 SD 大鼠,体质量(260±20)g,雌雄各半,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物许可证号 SCXK(京)2012-0001。SPF 级环境饲养。

1.2 药物及试剂

异丙肾上腺素(济南凯恩医药科技有限公司,批号 160401,质量分数 97.0%~101.5%);黄芪生药材,购自山东百味堂中药饮片有限公司,经山东中医药大学中药教研室鉴定为正品,符合《中国药典》2015 年版规定;黄芪多糖(北京美迪克斯生物制品有限公司,批号 7105MC,质量分数 40%~50%);黄芪甲苷(上海诗丹德标准技术服务有限公司,批号 3510,质量分数 100%);毛蕊异黄酮葡萄糖

糖苷(上海诗丹德标准技术服务有限公司,批号 3672,质量分数 99.1%);芪蒴强心胶囊(石家庄以岭药业股份有限公司,批号 160301);TM-100 型医用超声耦合剂(天津市西苑寺制作所);蛋白浓度测定试剂盒(增强型)(碧云天生物技术有限公司,货号 P0010);肌酸激酶测试盒(南京建成生物工程研究所,批号 20161130);苏木素-伊红染液(HE,武汉谷歌生物科技,货号 G1005);Masson 染色试剂盒(武汉谷歌生物科技,货号 G1006)。

1.3 仪器

S-Sharp prospect 型小动物超声仪(台湾冷泉港生物科技股份有限公司);3K15 型全自动高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司);BSA124S 型电子天平(德国赛多利斯科学仪器公司);Infinite M200 Pro 型多功能全自动酶标仪(瑞士 TECAN 公司);JJ-12J 型脱水机(武汉俊杰电子有限公司);JB-P5 型包埋机(武汉俊杰电子有限公司);RM2016 型病理切片机(上海徕卡仪器有限公司);JB-L5 型冻台(武汉俊杰电子有限公司);KD-P 型组织摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司);DHG-9140A 型烤箱(上海慧泰仪器制造有限公司);NIKON ECLIPSE CI 型正置光学显微镜(日本 Nikon 公司);IVC 型独立通风系统及 DXL-10 型大鼠代谢笼装置(江苏苏州冯氏实验动物有限公司)。

2 方法

2.1 受试药物制备

按传统临床用药方法制备黄芪水煎液。称取定量黄芪,置入砂锅,加入 10 倍自来水,煎煮 1 h,滤过,重复 3 次,合并 3 次滤液,沸水浓缩,制成水煎液,生药质量浓度为 0.54 g/mL,4℃储存备用。黄芪多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷分别溶于 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液,制成质量浓度分别为 0.141、5.000、3.000 mg/mL 的混悬液,4℃储存备用。

2.2 模型制备

大鼠适应环境 3 d 后,肩胛区 sc 异丙肾上腺素 3 mg/kg,连续 10 d;给药后观察 2 周;第 34 天,使用新型气管插管装置(包括气管插管外套管、内管,内置管套于内管顶端)进行气管内置管的置入。大鼠仰卧固定,将插管弧度朝上,声门打开瞬间迅速将准备好的插管装置插入大鼠气管至标记部位,声门下 1 cm,将内管抽出,顶端的气管内置管受外套管阻挡后断开与装置连接,抽出外套管,置管保留 7 d;造模过程中,观察大鼠一般状况。

2.3 分组与给药

随机选取 10 只正常大鼠为对照组, 60 只造模成功大鼠随机分为模型组、芪蒯强心胶囊组、黄芪水煎液组、黄芪多糖组、黄芪甲苷组、毛蕊异黄酮葡萄糖苷组, 每组 10 只。芪蒯强心胶囊剂量为 1 g/kg, 黄芪水煎液以成人(体质量 70 kg)最高剂量的 2 倍(60 g 生药)给药, 根据等效剂量系数折算法, 按单位体质量计算大鼠等效剂量为 5.40 g/kg, 黄芪有效成分组分按其生药中的质量分数同等剂量给予, 黄芪多糖剂量为 1.41 g/kg, 黄芪甲苷剂量为 50 mg/kg、毛蕊异黄酮葡萄糖苷剂量为 30 mg/kg, 各组均 ig 给药, 每日 1 次, 连续 2 周, 对照组和模型组 ig 给予同体积 0.5% 羧甲基纤维素钠。记录大鼠体质量变化情况。

2.4 大鼠一般状况观察

实验期间, 每日观察各组大鼠神态、被毛光泽、活动度等大体指标, 记录体质量。

2.5 大鼠心、肺指数和左心室质量指数的测定

大鼠称定质量, 然后用 10% 水合氯醛(3 mL/kg) ip 麻醉, 固定, 腹主动脉取血后, 室温置于抗凝管中静置 2 h, 4 ℃、4 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 置于-80 ℃冰箱保存, 用于生化指标测定。开胸取心、肺, 剪去心、肺周围组织及血管, 0.9% 冰生理盐水洗净残血, 滤纸吸干后, 分析天平称心、肺质量。沿心脏冠状沟将左心房剪下, 沿室间沟将右心室游离去除, 称量左心室质量, 计算心脏指数(心脏质量/体质量)、肺指数(肺脏质量/体质量)、左心室质量指数(左心室质量/体质量)。

2.6 大鼠心脏超声检测

干预结束后, 各组大鼠均进行高频心脏超声检查, ip 戊巴比妥钠全身麻醉大鼠后, 胸部备皮, 仰卧位固定, 用 PB207 探头(探头频率 20 MHz)对大鼠进行超声检查。探头置于其左胸, 在取得满意的胸骨旁左心室短轴二维图像后, 在乳头肌水平将 M 型取样线垂直于室间隔和左心室后壁获得 M 型超声心动图。超声测量计算左心室射血分数(LVEF)及左心室短轴缩短分数(LVFS)等指标。

2.7 肺泡灌洗液回收率的测定

10% 水合氯醛(3 mL/kg) ip 麻醉大鼠, 打开并暴露腹腔, 腹主动脉取血, 打开胸腔, 于气管分叉处下方, 游离出右主支气管后结扎, 于颈部游离出气管, 在气管喉软骨下 0.5 cm 处切一倒“T”形口, 将 10 mL 注射器(去针头)置于气管腔内, 达 1 cm

处, 以 0 号缝合线固定, 接 2 mL 注射器(内含 4 ℃ 1 mL 生理盐水), 缓慢冲洗 4 次, 每次间隔 30 s 左右, 回收肺泡灌洗液(BALF)称量体积, 计算肺泡灌洗液回收率。

肺泡灌洗液回收率 = 抽回液体积 / 注入液体积

2.8 肺通透指数的测定

采用 BCA 法测定肺泡灌洗液和血浆中的蛋白浓度, 计算肺通透指数。

肺通透指数 = 肺泡灌洗液中蛋白浓度 / 血浆中蛋白浓度

2.9 肺脏湿质量与干质量比值测定

取大鼠右肺上叶, 称质量后置 80 ℃烤箱烘烤 48 h, 干燥至恒定质量, 计算湿质量与干质量比值(肺干湿比)。

肺干湿比 = 肺湿质量 / 肺干质量

2.10 大鼠心、肺组织病理学观察

取左心室心肌和右肺中叶肺组织, 10% 多聚甲醛固定 24 h 后, 石蜡包埋, 常规组织切片, 石蜡切片脱蜡至水, 心肌组织进行 HE 和 Masson 染色, 肺组织进行 HE 染色, 进行病理学观察, 对 Masson 染色的切片通过 IPP6.0 图像分析系统计算胶原纤维容积分数(CVF)。

2.11 血浆心肌酶肌酸激酶(CK)测定

采用酶联免疫检测试剂盒测定大鼠血浆中 CK 的水平。

2.12 统计学处理

用 SPSS 19.0 数据处理系统以 One-way ANOVA 方式进行分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 大鼠一般状态的观察

与对照组比较, 模型组大鼠出现皮毛干枯晦暗及活动量少现象, 伴有喘鸣音, 唇舌黏膜紫暗, 鼻部有少量血性分泌物等症状, 体质量明显减轻($P < 0.01$); 与模型组比较各给药组大鼠皮毛、唇舌黏膜色泽、活动量等一般状况有所改善, 黄芪水煎液组、黄芪多糖组、黄芪甲苷组、毛蕊异黄酮葡萄糖苷组和芪蒯强心胶囊组大鼠体质量明显升高($P < 0.05$), 见表 1。

3.2 对大鼠心、肺指数和左心室质量指数的影响

与对照组比较, 模型组大鼠心脏指数、肺指数和左心室质量指数明显增加($P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芪水煎液组、黄芪多糖组、黄芪甲苷组、毛蕊异黄酮葡萄糖苷组和芪蒯强心胶囊组大鼠心脏指数、肺指数和左心室质量指数明显降低($P <$

表 1 各组大鼠体质量、心脏指数、肺指数和左心室质量指数比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 1 Comparison on body weight, heart and lung index, and left ventricular mass index of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	体质量/g	心脏指数/(mg·g ⁻¹)	肺指数/(mg·g ⁻¹)	左心室质量指数/(mg·g ⁻¹)
对照	—	311.3 ± 15.7	2.87 ± 0.14	4.25 ± 1.18	2.35 ± 0.16
模型	—	266.8 ± 16.5**	3.93 ± 0.13**	7.67 ± 2.13**	3.37 ± 0.23**
黄芪水煎液	5 400	287.1 ± 31.3 [#]	3.47 ± 0.39 [#]	6.93 ± 1.09	2.94 ± 0.20 [#]
黄芪多糖	1 410	290.4 ± 11.1 [#]	3.36 ± 0.22 [#]	6.07 ± 0.97 [#]	2.86 ± 0.19 [#]
黄芪甲苷	50	295.8 ± 21.3 [#]	3.24 ± 0.19 ^{##}	5.91 ± 1.21 [#]	2.78 ± 0.13 ^{##}
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	30	297.2 ± 18.6 [#]	3.51 ± 0.81 [#]	5.03 ± 0.79 [#]	2.97 ± 0.07 [#]
芪苈强心胶囊	1 000	303.6 ± 19.8 [#]	3.05 ± 0.21 ^{##}	4.97 ± 1.21 ^{##}	2.58 ± 0.19 ^{##}

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$, 下表同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group, following tables are same

0.05、0.01), 见表 1。

3.3 对大鼠 LVEF 和 LVFS 变化的影响

与对照组比较, 模型组大鼠 LVEF、LVFS 明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芪多糖组、黄芪甲苷组、毛蕊异黄酮葡萄糖苷组和芪苈强心胶囊组大鼠 LVEF、LVFS 明显升高 ($P < 0.05$), 黄芪水煎液组有升高趋势, 见图 1 和表 2。

3.4 对大鼠心、肺组织病理学的影响

3.4.1 对大鼠心脏病理学的影响 与对照组比较, 模型组大鼠心肌 HE 染色显示心肌细胞增粗肥大、排列紊乱、细胞间质增多, 炎细胞浸润; 与模型组比较, 各给药组大鼠心肌细胞肥大程度明显减轻、排列尚整齐, 细胞间质增多不明显, 见图 2。对

Masson 染色切片(胶原纤维染成为蓝色, 心肌细胞染为暗红色) CVF 计算后发现, 与对照组比较, 模型组大鼠心肌 CVF 明显升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芪水煎液组、黄芪甲苷组及芪苈强心胶囊组大鼠心肌 CVF 明显下降 ($P < 0.05$), 黄芪多糖组和毛蕊异黄酮葡萄糖苷组大鼠心肌 CVF 有下降趋势, 见图 3 和表 3。

3.4.2 对大鼠肺脏病理学的影响 对照组大鼠肺组织结构清晰, 肺泡壁结构正常、肺泡大小及形态正常, 肺间质未见增生, 肺泡隔厚度正常, 无肺萎陷及血管壁增厚, 肺泡腔内未见炎性渗出物; 模型组大鼠肺组织结构紊乱, 肺泡壁结构异常、肺泡数量少, 多数肺泡腔内充满粉红色蛋白性液体, 呈均

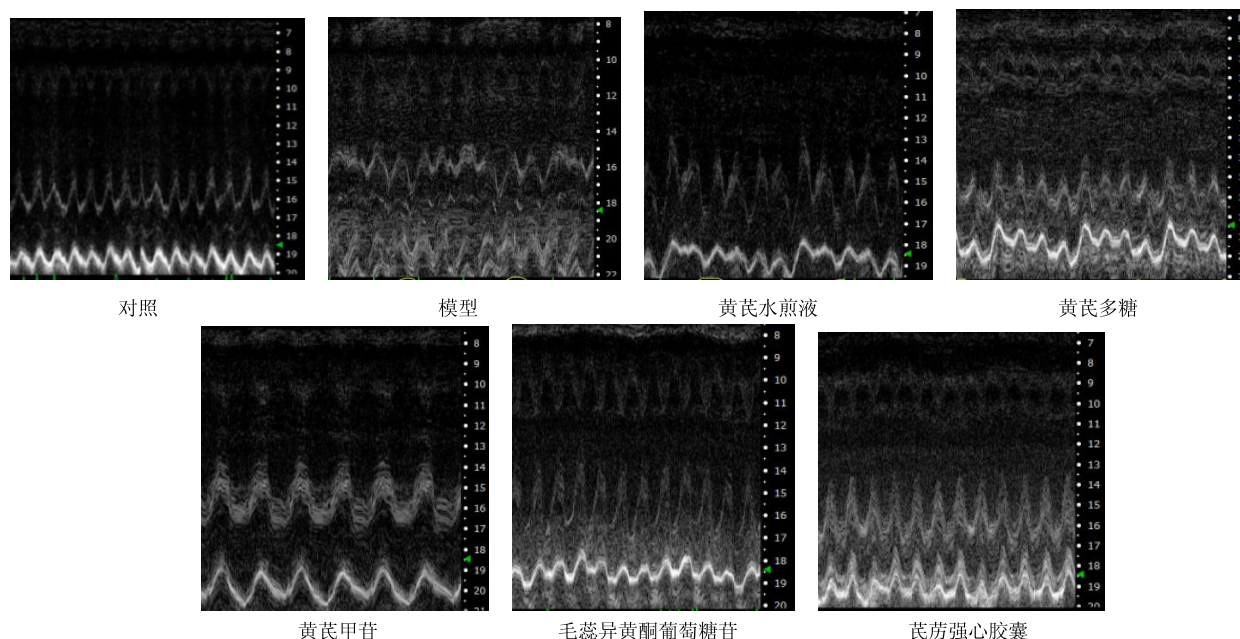


图 1 各组大鼠超声心动图的变化

Fig. 1 Echocardiographic changes of rats in each group

表2 各组大鼠超声心动图参数比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 2 Echocardiographic parameters of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(mg·kg ⁻¹)	LVEF/%	LVFS/%
对照	—	78.0 ± 5.1	47.7 ± 5.0
模型	—	55.9 ± 9.8**	32.2 ± 8.1**
黄芪水煎液	5 400	62.0 ± 17.2	35.3 ± 9.3
黄芪多糖	1 410	64.2 ± 11.0 [#]	37.2 ± 11.3 [#]
黄芪甲苷	50	67.5 ± 8.3 [#]	38.8 ± 6.6 [#]
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	30	63.9 ± 10.1 [#]	36.5 ± 7.3 [#]
芪苈强心胶囊	1 000	71.9 ± 10.4 ^{###}	40.3 ± 9.7 ^{###}

质状,肺泡形态异常,肺间质增生,肺泡隔厚度增加,肺泡壁纤维结缔组织增生;给药后,各组大鼠肺组织结构有所改善,其中以毛蕊异黄酮葡萄糖苷组和芪苈强心胶囊组大鼠肺组织病理学改善最明显,见图4。

3.5 对大鼠血浆心肌酶的影响

与对照组比较,模型组大鼠血浆CK水平明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,黄芪水煎液组、黄芪多糖组、黄芪甲苷组、毛蕊异黄酮葡萄糖苷组和芪苈强心胶囊组大鼠血浆CK水平明显降低($P < 0.05$),见表3。

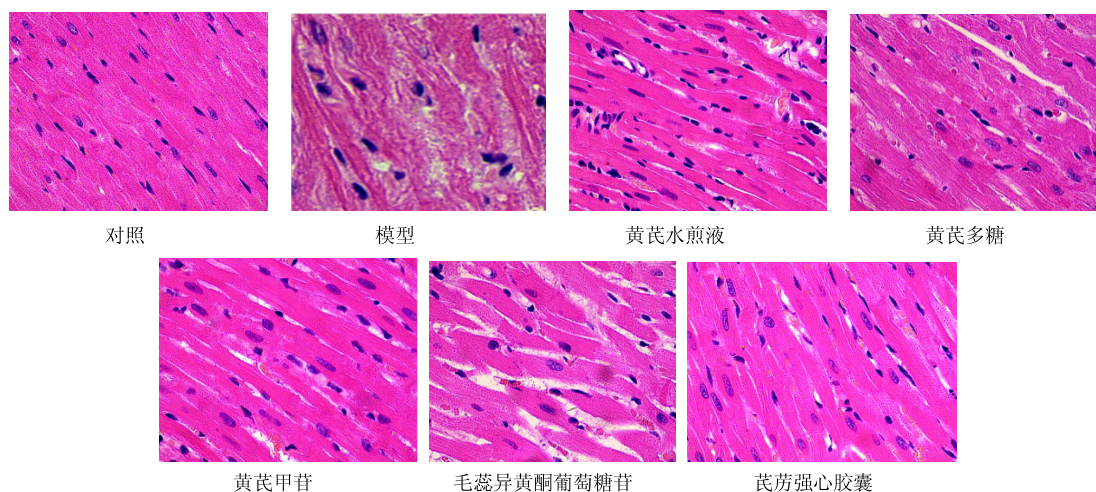


图2 各组大鼠心肌组织病理结构的改变 (×400, HE 染色)

Fig. 2 Changes of pathological structure in myocardium of rats in each group (×400, HE staining)

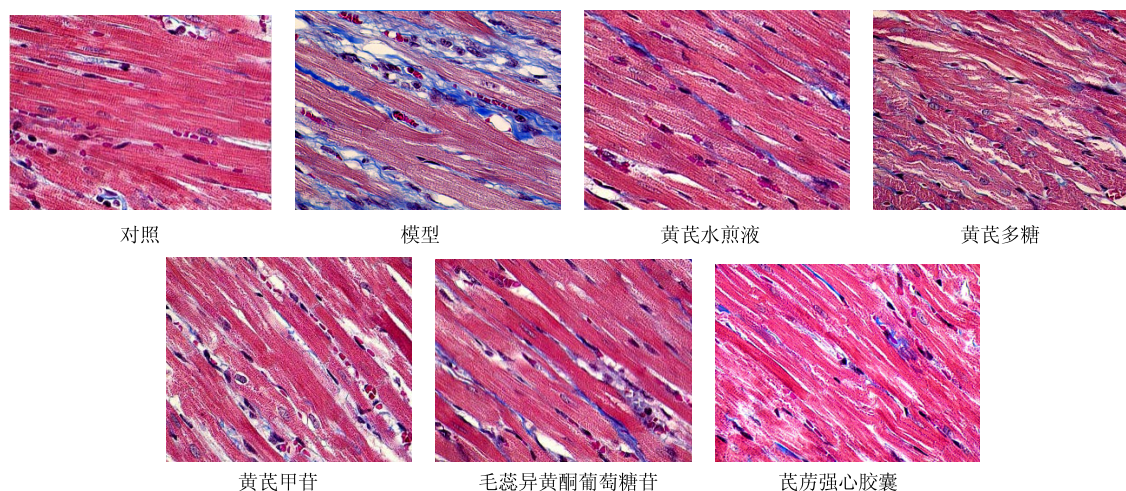


图3 各组大鼠心肌组织病理结构的改变 (×400, Masson 染色)

Fig. 3 Changes of pathological structure in myocardium of rats in each group (×400, Masson staining)

3.6 对大鼠肺泡灌洗液回抽率、肺通透指数和肺干湿比的影响

与对照组比较,模型组大鼠肺泡灌洗液回抽率明显降低($P < 0.05$),肺通透指数和肺干湿比明显

增高($P < 0.05, 0.01$);与模型组比较,黄芪多糖组、黄芪甲苷组、毛蕊异黄酮葡萄糖苷组和芪苈强心胶囊组大鼠肺泡灌洗液回抽率明显增加($P < 0.05$),肺通透指数和肺干湿比明显降低($P < 0.05$ 、

表 3 各组大鼠 Masson 染色心肌 CVF 和血浆 CK 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Comparison on myocardial CVF by Masson and plasma CK levels in rats of each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	CVF/%	CK/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	1.79±0.37	11.7±1.3
模型	—	7.73±0.52**	17.8±3.7*
黄芪水煎液	5 400	5.23±1.74 [#]	13.4±5.1 [#]
黄芪多糖	1 410	5.78±1.03	14.3±4.6 [#]
黄芪甲苷	50	4.93±0.94 [#]	12.7±3.1 [#]
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	30	5.68±1.07	12.9±2.8 [#]
芪苈强心胶囊	1 000	3.96±0.66 ^{###}	12.1±0.9 [#]

0.01), 黄芪水煎液组大鼠的肺泡灌洗液回抽率有升高的趋势, 肺通透指数和肺干湿比有降低的趋势, 见表 4。

4 讨论

中医理论认为, 气血津液密切相关, 气为血帅, 气虚则无力行血而成瘀; “气为水母”, 津液的生成、输布、排泄均赖气之升降出入, 气虚则气不化水, 水饮内停。本课题组在前期的实验研究中首次成功建立上焦水饮内停大鼠模型, 初步揭示了上焦水饮内停证主要与现代医学的机体水液代谢, 心、肺功能等方面有关^[1]。本研究以大鼠心、肺组织病理学, 超声心动图, 肺泡灌洗液回抽率, 肺通透指数作为

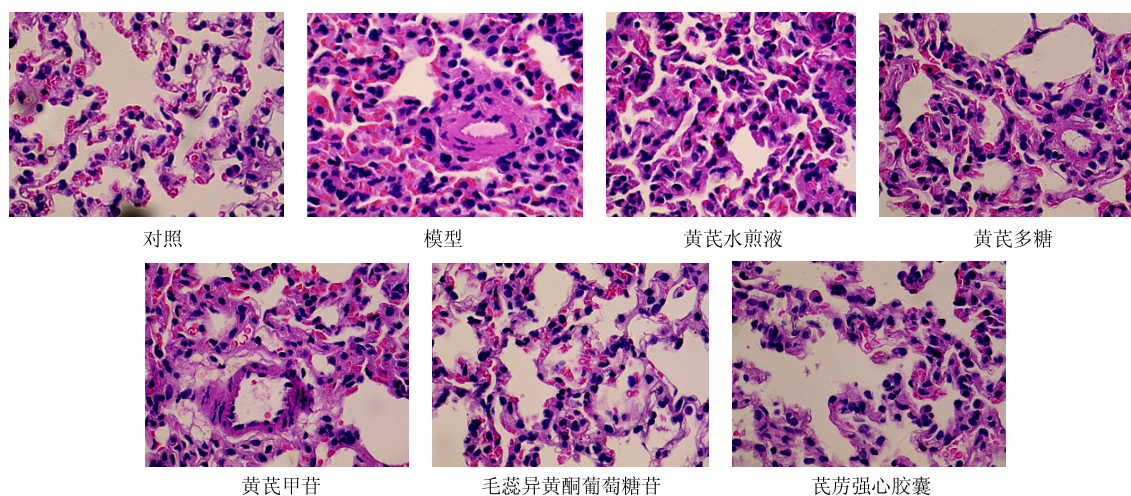


图 4 各组大鼠肺组织病理结构的改变 (×400, HE 染色)

Fig. 4 Pathological structure changes in lung tissue of rats in each group (×400, HE staining)

表 4 各组大鼠肺功能相关参数比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Comparison on parameters related to lung function in rats of each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	肺泡灌洗液回抽率/%	肺通透指数/(mg·g ⁻¹)	肺干湿比
对照	—	74.3±12.6	6.37±1.60	2.37±0.56
模型	—	58.1±18.7*	9.21±2.70*	4.81±1.22**
黄芪水煎液	5 400	60.4±21.1	8.29±1.90	4.07±0.88
黄芪多糖	1 410	65.9±15.1 [#]	7.27±1.60 [#]	3.52±0.61 [#]
黄芪甲苷	50	69.2±10.2 [#]	6.83±0.90 [#]	3.29±0.87 [#]
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	30	67.8±12.7 [#]	6.91±1.70 [#]	2.98±0.91 [#]
芪苈强心胶囊	1 000	70.3±17.1 [#]	6.52±1.30 [#]	2.85±0.51 ^{###}

评价心、肺损伤程度的客观指标, 结合其他心、肺损伤指标 (心脏指数、肺指数、CK、肺干湿比) 等来综合评价黄芪及其组分对上焦水饮内停大鼠的影响。

实验中模型大鼠因复合因素导致水饮内停、湿

阻上焦、运化失司, 出现不同程度的消瘦、皮毛枯槁等状况, 给予黄芪水煎液、黄芪多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷及芪苈强心胶囊后, 均可不同程度地改善模型大鼠消瘦等一般状况。脏器指数可以在一定程度上反映动物某些脏器的损伤程度^[12]。

本实验结果显示,与对照组比较,模型组大鼠心、肺脏器指数上升,说明采用肩胛区 sc 异丙肾上腺素,结合大鼠气管置管所构建的复合水饮模型中,导致心肺出现损伤,敷布水液功能失常,而出现上焦水饮内停证。给予黄芪水煎液、黄芪多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和芪苈强心胶囊干预后可明显降低大鼠心、肺脏器指数,说明黄芪及其组分可减轻上焦水饮内停大鼠的心肺损伤。

研究表明,心脏超声心动图检测的 LVEF 和 LVFS 值不仅能准确地反映正常大鼠的心脏功能,也能准确地反映病变心脏功能^[13]。本实验中模型组大鼠 LVEF 和 LVFS 明显降低,提示模型组大鼠心脏收缩和舒张功能明显减弱,存在心功能障碍,造模成功。与模型组相比,黄芪多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和芪苈强心胶囊组大鼠 LVEF 和 LVFS 明显增加,提示黄芪及其组分可以改善复合水饮内停大鼠心功能指标。

组织形态学是反映组织损伤程度最直观的指标^[4-15],实验中 HE 染色和 Masson 染色结果显示,给予黄芪水煎液、黄芪多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和芪苈强心胶囊干预可显著减轻大鼠心肌肌丝排列疏松、紊乱,心肌细胞肥大以及纤维化的现象,也可减轻肺泡形态异常,肺间质增生,肺泡隔厚度增加,肺泡壁纤维结缔组织增生的情况。

血浆中 CK 水平的升高,是心肌缺血的重要诊断标志之一^[16-17]。正常情况下,血浆中 CK 量比较低,注射异丙肾上腺素后随着血流的减少和心肌耗氧量的增加,心肌组织缺血、缺氧诱发心肌损伤,使细胞膜的通透性急剧增加,细胞内的酶释放,引起血浆中 CK 水平升高^[18]。本实验结果显示与对照组比较,模型组大鼠血浆 CK 水平明显上升,说明异丙肾上腺素造成模型组大鼠心肌细胞坏死,各给药组大鼠血浆中的 CK 水平明显降低,说明给予黄芪及其组分可减轻注射异丙肾上腺素引起的心肌细胞坏死。

正常肺功能依赖于肺泡腔和肺毛细血管腔建立和维持各自的相对独立的环境,而肺泡上皮细胞之间和肺毛细血管内皮细胞之间的紧密连接是保障肺发挥其正常生理功能的结构基础。肺泡灌洗液回抽率在一定程度上反映肺泡的结构与功能状况。本实验显示与对照组比较,模型组大鼠肺泡灌洗液回抽率明显降低,提示模型组肺泡结构可能遭到破坏,导致肺内有水液潴留,这与上焦水饮内停证症

状特点相符。肺通透指数主要反映的是肺泡上皮的通透性,当肺毛细血管内皮和肺泡上皮受到破坏时,肺通透指数会明显升高^[19]。本实验显示与对照组比较,模型组大鼠肺通透指数明显升高,说明肺泡的正常结构遭到破坏,反映肺的宣降功能障碍,影响上焦水液代谢过程,最终将会演变成为上焦水饮内停证内在的病理基础。肺干湿比可以反映大鼠肺脏的水液潴留情况。当肺的宣降功能失常时,肺行水的功能发生障碍,影响上焦的水液代谢,而出现上焦水饮内停证。本实验显示与对照组相比,模型组大鼠肺干湿比明显上升,表明肺内出现水液停留。因此肺泡灌洗液回抽率、肺通透指数、肺干湿比可以作为评价上焦水饮内停证大鼠肺功能的客观指标。本实验结果显示,模型大鼠给予黄芪多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷后,肺通透指数和肺干湿比明显降低,肺泡灌洗液回抽率明显增加,给予黄芪水煎液后,肺通透指数和肺干湿比有降低的趋势,肺泡灌洗液回抽率有升高的趋势,说明黄芪及其组分有改善上焦水饮内停大鼠肺功能的功效。本课题组前期研究重点关注功能和疗效的变化,后期将进一步对发病机制及药物作用机制和代谢通路进行深入挖掘。

参考文献

- [1] 赵淑平. 浅谈支饮证治 [J]. 基层医学论坛, 2013, 17(13): 1734-1735.
- [2] 刘艳霞, 刘在萍, 焦建杰. 黄芪苷 IV 对正常和心功能受抑制大鼠左心室心肌力学的影响 [J]. 中草药, 2001, 32(4): 332-334.
- [3] 郑培黎, 戴建亚, 陈红, 等. 黄芪甲苷对急性心衰犬心脏舒缩功能的影响 [J]. 中国药理学通报, 2005, 21(12): 1534-1535.
- [4] 尉希清, 刘帅, 牛珩, 等. 黄芪甲苷对大鼠平滑肌细胞及颈动脉内膜增生的影响及机制研究 [J]. 中草药, 2016, 47(19): 3432-3440.
- [5] Wang Y F, Yang X F, Cheng B, et al. Protective effect of Astragalus polysaccharides on ATP binding cassette transporter A1 in THP-1 derived foam cells exposed to tumor necrosis factor-alpha [J]. *Phytother Res*, 2010, 24(3): 393-397.
- [6] 刘阿娜, 崔宁, 赵文晓, 等. 黄芪皂苷干预脾虚水湿不化证大鼠的代谢组学研究 [J]. 中草药, 2016, 47(24): 4401-4407.
- [7] 党双锁, 张正国, 袁利超, 等. 大黄素和黄芪多糖对大鼠实验性肝癌的抑制作用 [J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2006, 27(3): 250-253.

- [8] 刘 阳, 刘 畅, 罗英花, 等. 黄芪中有效成分对人食道癌 HCE-4 细胞凋亡的影响 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(3): 377-381.
- [9] 任美萍, 刘明华, 李 蓉, 等. 黄芪多糖抗肿瘤活性研究 [J]. 中国新药杂志, 2010, 19(3): 221-224.
- [10] 董湘玉, 倪 倩. 黄芪对病毒性心肌炎患儿血硒及免疫功能影响 [J]. 实用儿科临床杂志, 2005, 20(5): 448-449.
- [11] 谢 伟, 季旭明, 庞张祥, 等. 上焦水饮内停大鼠模型的建立与评价 [J]. 世界中西医结合杂志, 2015, 10(6): 767-770.
- [12] 张军芳. 芪蒯强心胶囊对心力衰竭微血管损伤、心室重构及代谢重构的影响 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2013.
- [13] 贾玄慧, 史秀超, 田振军, 等. 应用超声心动图检测心肌梗死大鼠恢复期心脏结构与功能改变 [J]. 临床超声医学杂志, 2013, 15(9): 593-596.
- [14] 李雪萍. 丹芪保心方对慢性心力衰竭心室重塑的实验及临床研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2014.
- [15] 张素萍, 栾爱娜, 鲁美丽, 等. 黄芪甲苷对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌肥厚及过氧化物酶体增殖活化受体 γ 辅助活化因子 1 α 的影响 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(3): 65-69.
- [16] 汪 云, 李 欣, 张 曦, 等. 冠心苏合胶囊含药血清对乳鼠心肌细胞氧化损伤的保护作用 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(3): 28-30.
- [17] Herrmann J E, Heale J, Bieraugel M, *et al.* Isoproterenol effects evaluated in heart slices of human and rat in comparison to rat heart *in vivo* [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 274(2): 302-312.
- [18] Bogoyevitch M A, Ngoei K R, Zhao T T, *et al.* C-JunN-terminal kinase (JNK) signaling: recent Advances and challenges [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1804(3): 463-475.
- [19] 张 鸿. 异氟醚和异丙酚后处理对内毒素血症大鼠肺泡毛细血管屏障功能影响的实验研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2005.