

苍艾挥发油对左心室重构大鼠的改善作用研究*

李亥辰¹, 黎梅², 张明星¹, 黄睿珏³, 温小娟³, 陈柏君⁴, 郅发宝³, 鄢颖华^{1△}

1. 成都中医药大学附属医院(成都 610075); 2. 重庆市荣昌区中医院 五官科(重庆 402460);
3. 四川大学华西医院 放射科(成都 610041); 4. 云南中医药大学基础医学院(昆明 650500)

【摘要】目的 采用7T心脏磁共振组织追踪成像(CMR-TT)评估苍艾挥发油(CAVO)对异丙肾上腺素(ISO)所诱导的左心室重构(LVR)模型大鼠的改善作用,并初步探讨其对LVR内皮功能障碍的影响。**方法** 将35只SD雄性大鼠随机分成两组,即正常对照组(8只)和实验组(27只),通过ISO 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹连续10 d皮下多点注射建立LVR大鼠模型。造模结束后将实验组存活大鼠(24只)再次随机分为空白实验组、苍艾挥发油组、麝香保心丸组(每组8只),各组连续给予相应药物或等量生理盐水灌胃28 d,分别在造模结束后和灌胃结束后行7T CMR电影序列扫描,并应用后处理软件CVI⁴²进行图像分析,对比各组大鼠用药前后左心室结构和功能参数的变化。磁共振扫描结束后处死大鼠,摘取心脏行病理学检查,ELISA检测血清生化指标。**结果** 苍艾挥发油可明显提高LVR大鼠的左心室射血分数和整体心肌应变参数,降低左心室容积、质量和血清中内皮功能指标水平,同时病理染色显示心肌细胞肥大、坏死以及间质纤维化也得到明显改善。**结论** CAVO通过对心肌血管内皮功能的调控,可明显改善LVR大鼠心功能,延缓心室重构进程,对大鼠心脏结构和功能具有一定的保护作用。

【关键词】 苍艾挥发油 7T心脏磁共振 组织追踪成像 左心室重构

Ameliorative Effects of Cang-ai Volatile Oil on Left Ventricular Remodeling in Rats LI Hai-chen¹, LI Mei², ZHANG Ming-xing¹, HUANG Rui-jue³, WEN Xiao-juan³, CHEN Bo-jun⁴, GAO Fa-bao³, WU Ying-hua^{1△}. 1. Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China; 2. Department of Otorhinolaryngology, Rongchang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 402460, China; 3. Department of Radiology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 4. College of Basic Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China

△ Corresponding author, E-mail: wuyinghua_1111@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate with 7T cardiac magnetic resonance tissue tracking imaging (CMR-TT) the ameliorative effect of Cang-ai volatile oil (CAVO) on left ventricular remodeling (LVR) in rats induced by isoproterenol (ISO), and to make preliminary investigation into CAVO's effects on endothelial dysfunction in LVR. **Methods** A total of 35 healthy male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly assigned to two groups, the experimental group ($n=27$) and the normal control group ($n=8$). The rat model of LVR was established by subcutaneous injection of ISO solution at 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ at multiple sites for 10 consecutive days. After modeling was completed, the surviving rats ($n=24$) in the experimental group were then randomly assigned to the blank experimental group, CAVO group, and Shexiang Baoxin pill (SXBXP) group ($n=8$ in each group). Rats in each group were given via gavage the corresponding intervention medicine or an equivalent amount of normal saline solution for 28 consecutive days. At the end of modeling and intragastric intervention, 7T CMR cine sequence scanning was conducted to collect data. Then, post-processing software CVI⁴² was used to analyze the images and to compare and contrast the changes in the parameters of left ventricular cardiac function and myocardial strain in each group before and after the administration of the medication. The rats were sacrificed after MRI scanning, and their hearts were harvested for pathological examination. The levels of serum biochemical indicators were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** CAVO significantly increased LV ejection fraction and overall myocardial strain parameters in LVR rats, while it decreased LV volume, mass, and serum levels of endothelial function indicators in LVR rats. In addition, pathological staining showed marked improvements in the hypertrophy, necrosis and interstitial fibrosis of cardiomyocytes. **Conclusion** Through the regulation of myocardial vascular endothelial function, CAVO can significantly improve cardiac functions in LVR rats, delay the process of ventricular remodeling, and have a certain amount of protective effect on cardiac structure and function in rats.

【Key words】 Cang-ai volatile oil 7T cardiac magnetic resonance Tissue tracking imaging Left ventricular remodeling

* 国家自然科学基金项目(No.81930046)资助

△ 通信作者, E-mail: wuyinghua_1111@163.com

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是多种心血管疾病进行性发展的严重阶段和终末期,左心室重构(left ventricular remodel, LVR)作为CHF发生发展的病理基础,会导致心脏舒缩功能的持续性降低直至失代偿,最终造成心源性猝死等严重心血管事件的发生^[1]。因此,在CHF患者心功能明显恶化之前,寻求有效的诊疗手段,及时延缓甚至终止心室重构的病程进展变得尤为关键。心脏磁共振(cardiovascular magnetic resonance, CMR)因其具有多参数、多序列、组织分辨率高、可重复性好等优势,已成为无创性评估心脏结构和功能的“金标准”^[2]。而通过磁共振组织追踪成像(magnetic resonance tissue tracking, MR-TT)后处理获取的心肌应变,近些年来在定量评估心功能障碍方面表现出良好的潜力^[3]。

相比于现有成药的单靶点治疗,中医药依靠其多成分、多靶点的特点,在疗效、毒副作用、复发率、生活质量等方面存在独特优势,因此越来越多的患者倾向于常规药物联合中药或中成药治疗,专家指南和共识中也将多种中成药作为二级预防的推荐药物^[4-5]。苍艾挥发油(Cang-ai volatile oil, CAVO)是基于中医传统熏香疗法,经现代萃取工艺提炼而成的中药挥发油复方制剂,主要由苍术、艾叶等多种芳香类中药挥发油成分组成^[6]。前期实验表明,CAVO能通过抑制炎症反应和吲哚胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-Dioxygenase, IDO)有效改善大鼠抑郁样行为,同时对脑缺血再灌注损伤模型也具有良好的神经保护作用^[7-9]。心肌保护方面,黄睿珏等^[10]研究显示能有效增强正常大鼠心肌收缩力。因此,本研究拟通过7T CMR检查和MR-TT后处理分析技术,比较用药前后各组大鼠心脏结构、功能及心肌应变参数的变化,探讨CAVO对LVR大鼠心脏结构和功能的保护作用,并初步探索其作用机制。

1 材料和方法

1.1 动物

35只SPF级雄性SD大鼠,6~8周龄,初始体质量180~200 g,购自成都达硕实验动物有限公司。本实验操作过程均按照我国《实验动物福利伦理审查指南(GB/T 35892-2018)》中的规定要求进行,由四川大学华西医院实验动物伦理委员会认证通过(伦理备案号:20211129A)。

1.2 药物与试剂

CAVO原油(云南中医药大学提供)、麝香保心丸(Shexiang Baoxin pills, SXBXP)(上海和黄药业有限公司,批准文号:国药准字Z31020068)、盐酸异丙肾上腺素(美

国Sigma公司,货号:I0600000)、5%吐温-80(美国Sigma公司,货号:59924)、异氟烷(深圳瑞沃德生命科技有限公司,货号:R510-22-10)、体积分数4%多聚甲醛固定液(biosharp公司,货号:BL539A)。

1.3 仪器

7T小动物磁共振扫描仪(德国Bruker公司);SNAII Model 1030磁共振兼容动物生理监护仪和门控系统(美国Small Animal Instruments公司);MATRX VIP3000小动物专用麻醉机(美国Midmark公司);Agilent 7890a-5975c气相-质谱联用仪(美国Agilent公司)。

1.4 方法

1.4.1 气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 测试条件^[6,11] 取CAVO原油按照如下实验条件进行测定,气相条件:Agilent DB-5MS石英毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),柱温40℃(保持1 min),以10℃·min⁻¹速率升至130℃(保持5 min),以8℃·min⁻¹速率升至250℃(保持5 min);进样口温度为280℃,载气为高纯氦气,柱流量1 mL·min⁻¹;分流比40:1,进样1 μL;总分离时间为35 min,溶剂延迟时间为4 min。质谱条件:电离方式EI,离子源温度230℃,电子能量70 eV,四级杆温度150℃,辅助加热温度250℃,扫描质量范围: m/z 50~600。

1.4.2 分组、造模与给药 将35只大鼠随机分成两组,即正常对照组(8只)和实验组(27只),实验组采用连续10 d大鼠皮下多点注射ISO溶液(5 mg·mL⁻¹) 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹制备LVR大鼠模型,正常对照组皮下注射生理盐水作为对照。ISO注射结束后(t₀),将实验组中造模后存活大鼠(24只)随机分为空白实验组、麝香保心丸组、苍艾挥发油组,每组8只。各组大鼠连续灌胃相应药物或生理盐水28 d后,结束灌胃(t₁),单次给药容积为0.3 mL·100 g⁻¹。其中,麝香保心丸的灌胃剂量参照《药理学试验方法学》中人和大鼠体表面积折算的等效剂量比值,换算为13.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹;苍艾挥发油灌胃剂量则选取约LD₅₀(3.86 mL·kg⁻¹·d⁻¹)的1/30,约为0.12 mL·kg⁻¹·d⁻¹,并且灌胃时需先用吐温-80助溶后,将原油稀释制成体积分数4%苍艾挥发油溶液^[12]。观察记录大鼠在灌胃给药期间外观形态的变化,如毛色、运动功能、代谢物是否正常以及有无异常分泌物等,评估大鼠一般情况变化,在灌胃结束后称取各组大鼠体质量(body mass, BM)。

1.4.3 心脏磁共振扫描 在t₀和t₁对各组大鼠均行一次心脏磁共振扫描,选用内径72 mm鸟笼射频信号发射线圈和56 mm列阵表面回波信号接收线圈。异氟烷混合氧气麻醉大鼠后,俯卧位放置磁共振线圈正中心,同时呼吸门

控的触发垫放于大鼠腹部呼吸最强处,心电监护电极针插入大鼠双前肢及左后肢并胶带固定。待大鼠心率及呼吸平稳后进床,行磁共振定位像序列和流动补偿快速小角度激发扰相梯度回拨电影序列(cine-FLASH-flc)扫描,具体参数如下:重复时间:8 ms,回波时间:2.5 ms,翻转角:15°,视野范围:50 mm×50 mm,矩阵大小:192×192,成像层厚:1.5 mm,激励次数:4,时相:20。

1.4.4 图像后处理 左心室结构和功能参数分析:将扫描所得图像以DICOM格式导入至CVI⁴²后处理软件的short 3D模块中进行分析,从心底部到心尖部手动逐层勾画出舒张末期和收缩末期时左心室的心内、外膜轮廓,标记室间隔插入点,乳头肌部分画入心腔中不纳入计算,软件自动计算后,获得左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室舒张末期容积(left ventricular end-diastolic volume, LVEDV)、左心室收缩末期容积(left ventricular end-systolic volume, LVESV)、左心室每搏输出量(left ventricular stroke volume, LVSV)、左心室心肌质量(left ventricular myocardial mass, LVM)和左心室舒张末期最大室壁厚度(left ventricular end-diastolic maximum wall thickness, LVEDTHmax)。

左心室心肌应变参数分析:将左心室短轴、两腔心及四腔心电影序列的DICOM数据导入CVI⁴²的组织追踪(tissue tracking, TT)模块,手动勾画出左心室舒张末期心内、外膜,软件自动追踪得到各项心肌应变参数,包括左心室整体环向应变(left ventricular global circumferential strain, LVGCS)、左心室整体径向应变(left ventricular global radial strain, LVGRS)、左心室整体纵向应变(left ventricular global longitudinal strain, LVGLS)。LVGRS表示心肌向心腔中心的径向增厚与变薄运动,用正值表示;LVGCS表示心肌沿着圆周方向上的缩短,用负值表示;LVGLS表示心肌从心底部到心尖的纵向缩短,用负值表示;±仅代表方向。其中,环向应变和径向应变的参数值

是通过左心室短轴位的图像获得的,而纵向应变参数值则是通过心脏两腔心、四腔心位图像获得。

为减少测量性偏倚的产生,由2名实验人员根据上述手动勾画原则同时进行后处理分析,其中一名实验人员在4周后再次进行分析后,将3次所得各参数的平均值作为结果输出。

1.4.5 心肌血清生化指标检测 在t0时,异氟烷吸入麻醉大鼠,采集正常对照组和实验组大鼠尾静脉血1 mL,分离血清,严格按照ELISA试剂盒厂家说明书的方法检测血清中心肌肌钙蛋白I(cardiac troponin I, cTn-I)及氨基末端脑钠肽前体(N-terminal B-type natriuretic peptide, NT-pro BNP)含量;待t1磁共振扫描结束后采集右心房静脉血3 mL并离心,同样采用ELISA检测血清中内皮素-1(endothelin-1, ET-1)和一氧化氮(nitric oxide, NO)水平。

1.4.6 病理学检查 t1采血完成后,处死32只大鼠,迅速摘取心脏,预冷的PBS液冲洗干净后,静置于多聚甲醛中固定24 h,行HE染色和Masson染色。在光学显微镜下观察各组大鼠左心室心肌组织结构的病理变化并采集图片,从心肌细胞坏死、肥大、心肌纤维化、炎性细胞浸润及异常血管新生等方面评估各组大鼠心肌损伤程度。

1.4.7 统计学方法 所有符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 来描述,方差齐性采用F检验。组间比较采用One-Way ANOVA检验,双独立样本t检验、Welch t检验或LSD-t检验。方差不齐采用Kruskal-Wallis检验、Games-Howell检验作组间比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GC-MS分析结果

结果见表1、图1。经测定分析本研究中所用到的CAVO原油共得到32个成分峰,经NIST11.L谱库匹配后鉴定出其中含量前十的化合物。

表 1 苍艾挥发油的主要化学成分鉴定表

Table 1 Analysis of the main chemical components of Cang-ai volatile oil

Number	Designation	Molecular formula	M_r	Retention time/min	Relative contents/%	Matching degree
1	Eugenol	$C_{10}H_{12}O_2$	164.08	14.07	46.46	98
2	Eucalyptol	$C_{10}H_{18}O$	154.14	7.98	21.05	95
3	beta-Caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	204.19	16.34	10.18	99
4	Terpinen-4-ol	$C_{10}H_{18}O$	154.14	9.01	2.08	97
5	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	$C_{10}H_{18}O$	154.14	10.34	1.97	96
6	L-alpha-Terpineol	$C_{10}H_{18}O$	154.14	10.56	1.56	96
7	D-Limonene	$C_{10}H_{16}$	136.13	21.93	1.55	99
8	Phenol,2-methoxy-4-(2-propenyl)-, acetate	$C_{12}H_{14}O_3$	206.09	17.33	1.48	97
9	Patchouli alcohol	$C_{15}H_{26}O$	222.20	21.70	1.32	99
10	beta-Pinene	$C_{10}H_{16}$	136.13	19.27	1.19	96

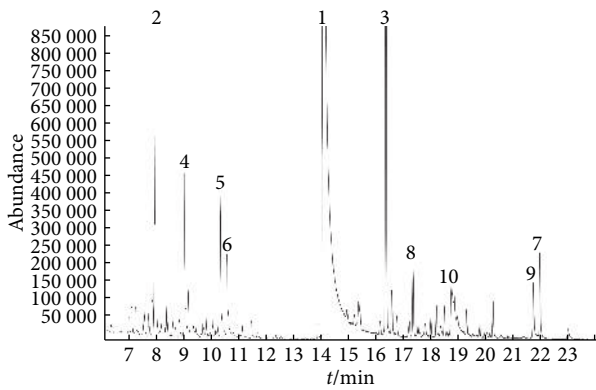


图 1 苍艾挥发油GC-MS分析的TIC图

Fig 1 Total ion chromatogram of Cang-ai volatile oil by GC-MS

1-10 denote the same as those in table 1.

2.2 一般情况

实验过程中, 正常对照组大鼠精神状态、毛发、活动情况及饮食饮水均正常; 实验组大鼠, 造模期间逐渐出现精神萎靡、喜欢抱团、食欲下降、活动减少、毛发晦暗疏松, 共死亡3只。在t1时, 空白实验组大鼠比正常对照组BM [(321.62±24.12)g vs. (405.33±15.06) g]减少($P<0.01$); 而

服用药物的大鼠精神状态、饮食、活动均有所恢复, 其中麝香保心丸组大鼠BM相比于空白实验组大鼠[(399.44±20.68) g vs. (321.62±24.12) g]有提升($P<0.01$); 但苍艾挥发油组在灌胃期间却出现了粪便增加、粘稠的情况, BM轻于正常对照组和麝香保心丸组[(361.58±13.41) g vs. (405.33±15.06) g vs. (399.44±20.68) g]($P<0.01$)。

2.3 常规心功能和整体心肌应变参数

t0时, 实验组大鼠较正常对照组LVEDV、LVESV、LVEDTHmax、LVRI、LVM均明显增大, LVEF、LVGRS、LVGCS、LVGLS降低, 差异有统计学意义($P<0.05$); LVSV差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

t1时, 空白实验组与正常对照组相比, LVESV、LVEDV、LVM增加($P<0.05$), 而LVEF、LVEDTHmax、LVGRS、LVGCS、LVGLS均降低($P<0.01$); 而苍艾挥发油组、麝香保心丸组相比于空白实验组LVEDV、LVESV、LVM降低($P<0.05$), LVEF、LVEDTHmax、LVGRS、LVGCS、LVGLS升高($P<0.01$), 苍艾挥发油组和麝香保心丸组之间的各指标差异无统计学意义($P>0.05$); 各组间的LVSV未见明显差异($P>0.05$)。见表3、图2。

表 2 t0时正常对照组和实验组左心室的常规心功能和整体心肌应变参数比较

Table 2 Comparison of left ventricular conventional cardiac function and global myocardial strain parameters between the control group and the experimental group at t0

Indicator	Normal control group (n=8)	Experimental group (n=24)	t	P
Cardiac function parameters				
LVEDV/mL	0.29±0.03	0.39±0.05	-3.14	<0.01
LVESV/mL	0.09±0.02	0.16±0.03	-3.86	<0.01
LVSV/mL	0.21±0.02	0.25±0.04	-1.03	0.16
LVEF/%	70.44±2.20	64.36±1.32	2.05	<0.05
LVEDTHmax/mm	1.78±0.17	2.43±0.15	-5.26	<0.01
LVM/g	0.42±0.07	0.63±0.07	-4.89	<0.01
Global myocardial strain parameters				
LVGRS/%	48.51±3.18	40.02±2.61	6.63	<0.01
LVGCS/%	-24.44±1.02	-19.21±1.10	-5.74	<0.01
LVGLS/%	-16.67±1.08	-13.68±1.20	-4.25	<0.01

LVEDV: left ventricular end-diastolic volume; LVESV: left ventricular end-systolic volume; LVSV: left ventricular stroke volume; LVEF: left ventricular ejection fraction; LVEDTHmax: left ventricular end-diastolic maximum wall thickness; LVM: left ventricular myocardial mass; LVGRS: left ventricular global radial strain; LVGCS: left ventricular global circumferential strain; LVGLS: left ventricular global longitudinal strain.

表 3 t1时各组左心室的常规心功能和整体心肌应变参数比较

Table 3 Comparison of left ventricular conventional cardiac function and global myocardial strain parameters in each group at t1

Indicator	Normal control group (n=8)	Blank experimental group (n=8)	CAVO group (n=8)	SXBCP group (n=8)
Cardiac function parameters				
LVEDV/mL	0.44±0.05	0.56±0.02*	0.44±0.06 [#]	0.46±0.03 [#]
LVESV/mL	0.11±0.03	0.28±0.05**	0.15±0.02 [#]	0.13±0.04 [#]
LVSV/mL	0.30±0.02	0.29±0.02	0.29±0.04	0.31±0.03
LVEF/%	72.72±2.80	51.78±4.67**	65.90±1.99 [#]	67.39±3.52 [#]
LVEDTHmax/mm	2.21±0.44	1.82±0.58**	2.16±0.25 [#]	2.18±0.11 [#]
LVM/g	0.54±0.02	0.66±0.07*	0.52±0.06 [#]	0.57±0.03 [#]
Global myocardial strain parameters				
LVGRS/%	48.33±3.24	36.01±5.34**	46.98±3.26 [#]	45.68±3.30 [#]
LVGCS/%	-23.54±0.21	-19.34±0.66**	-22.90±0.60 [#]	-22.65±0.83 [#]
LVGLS/%	-20.22±0.99	-14.62±1.01**	-19.87±1.35 [#]	-19.35±1.61 [#]

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, vs. normal control group; [#] $P<0.05$, [#] $P<0.01$, vs. blank experimental group.

2.4 血清生化指标

t0时, 正常对照组与实验组大鼠血清中NT-pro BNP $[(132.74 \pm 23.47) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ vs. } (284.56 \pm 34.13) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}]$ 、cTn-I $[(499.67 \pm 80.25) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ vs. } (803.11 \pm 106.78) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}]$ 水平差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

t1时, 与正常对照组相比, 空白实验组、麝香保心丸组血清中ET-1、NO水平增加($P < 0.05$), 而苍艾挥发油组仅有NO水平较正常对照组增加($P < 0.05$); 同时相比空白实验组, 麝香保心丸组、苍艾挥发油组均能降低大鼠血清中ET-1、NO水平($P < 0.01$), 且苍艾挥发油组ET-1水平比

于麝香保心丸组更低($P < 0.01$)。见表4。

2.5 左心室心肌组织病理学

见图3。t1染色后, 光镜下显示正常对照组大鼠左心室心肌细胞排列紧密、分界清楚、走行一致, 各层心肌组织均未见明显异常改变; 而空白实验组大鼠则见大量的心肌细胞坏死消失, 排列紊乱, 并被增生的结缔组织取代, 呈现弥漫性的纤维化, 分布于心内膜和心中层, 同时伴有多量的炎性细胞浸润; 苍艾挥发油和麝香保心丸则明显改善LVR大鼠的病理表现, 虽然局部仍可见少量面积的纤维化和炎性细胞浸润, 但心肌细胞肿胀、坏死程

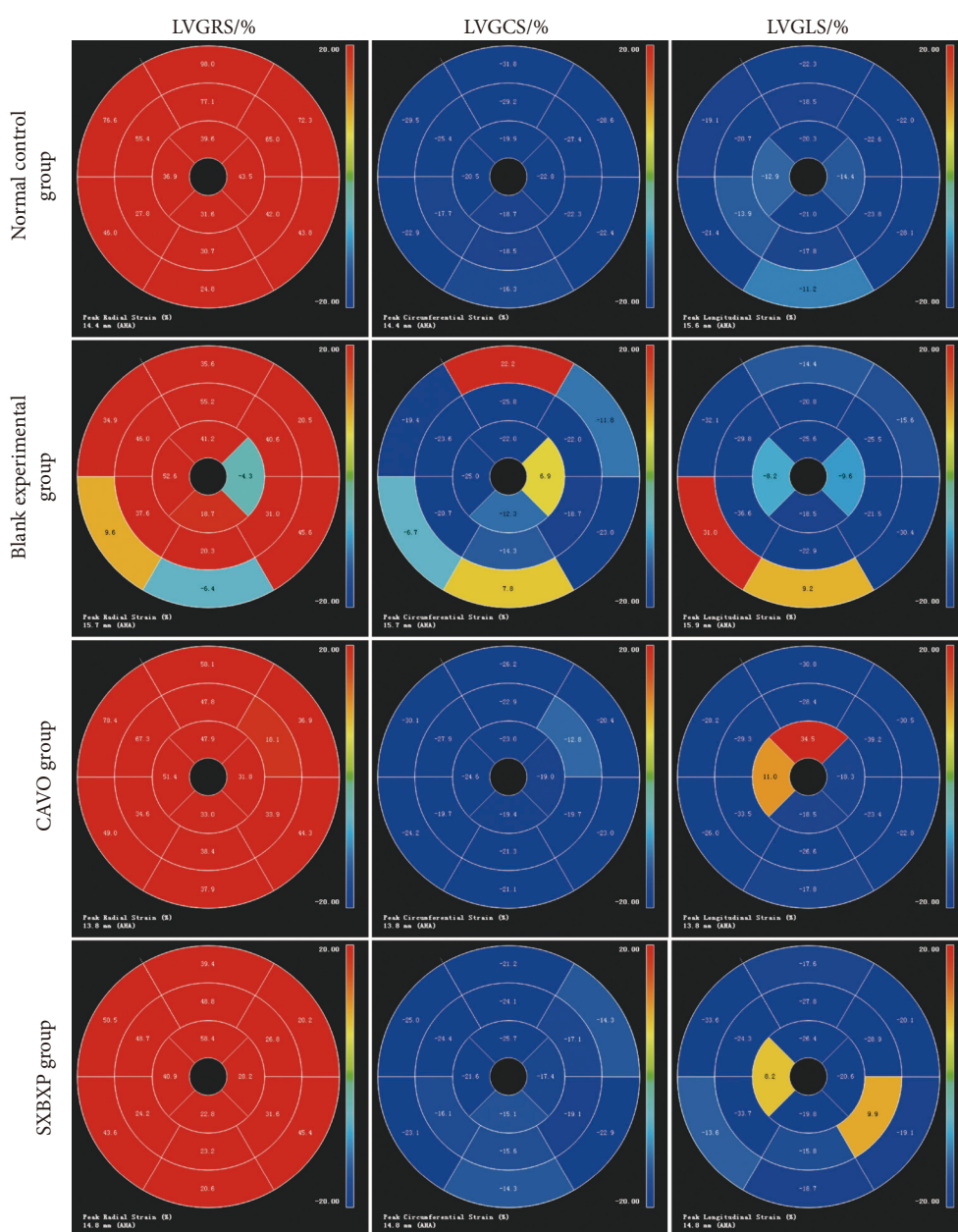


图 2 t1时各组大鼠心脏16节段心肌应变牛眼图

Fig 2 Bull's eye diagram of 16-segmental myocardial strain in each group at t1. The colors represent the strain between -20 (blue/green transition) and 20 (green/red transition)

表 4 t1时各组大鼠血清中ET-1、NO水平比较
Table 4 Comparison of serum ET-1 and NO levels in each group at t1

Indicators	Normal control group (n=8)	Blank experimental group (n=8)	CAVO group (n=8)	SXBXP group (n=8)
ET-1/(pg·mL ⁻¹)	0.33±0.25	2.89±0.39**	0.50±0.28 ^{#, △△}	1.34±0.24 ^{##, **}
NO/(μmol·L ⁻¹)	2.36±0.74	14.16±3.85**	4.44±1.87 ^{##, *}	4.58±0.78 ^{##, *}

* P<0.05, ** P<0.01, vs. normal control group; [#] P<0.05, ^{##} P<0.01, vs. blank experimental group; [△] P<0.05, ^{△△} P<0.01, vs. SXBXP group.

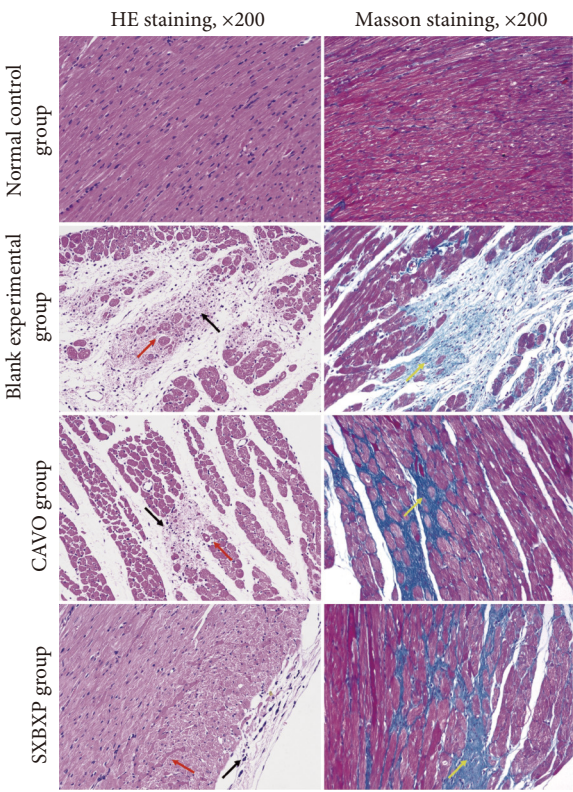


图 3 t1时各组大鼠心肌组织病理变化

Fig 3 Pathological changes of myocardial tissues in each group at t1

Necrosis of cardiac muscle cells (red arrows), inflammatory cell infiltration (black arrows) and interstitial fibrosis of cardiac myocytes (yellow arrows).

度却明显好于空白实验组。

3 讨论

心室重构的过程主要包括早期的局部梗塞膨胀和贯穿全过程的心室整体扩张,病理上以心肌细胞肥大、坏死及间质纤维化为主要特征,是影响CHF发病率和死亡率的决定性因素。影像学中,多数研究将左心室重构定义为LVEDV较前增加≥20%,同时也有研究指出LVEF及LVESV是预测左心室心室重构的可靠因子^[13]。NT-proBNP、cTn-I具有高度的心肌损伤特异性和灵敏度,是临床上评估CHF患者心功能的常用指标,并且二者血清水平的升高幅度与患者心肌损伤的严重程度及预后情况密切相关,随着心脏舒缩功能的不断下降在较长时间内持续升高^[14-15]。在本研究中,实验组大鼠在t0时,相较于

正常对照组LVEDV、LVESV、LVEDTHmax、LVM均明显增大,LVEF降低,血清中NT-pro BNP、cTn-I水平明显上升,光镜下心肌细胞肥大坏死、炎性细胞浸润、局部间质纤维化,均提示左心室重构模型制备成功。同时,实验组与正常对照组之间的LVSV无明显差异,提示此时实验组大鼠左心室重构尚处于代偿期。

中医上多将LVR归属于“胸痹”“水肿”进行诊治,根据其本虚标实的病机特点,主张以通为补,通补结合。芳香温通法,即以性温芳香辛散、温经通脉之方药治疗“胸痹”“心痛”,近些年来大量研究证实了其良好的疗效,其中麝香保心丸便是代表中成药^[16]。同时现代药理学研究证实,芳香类中药大多有挥发油成分,尤其是挥发油中所含的单萜类化合物能通过抑制氧化应激、保护血管内皮和缓解血管痉挛等机制,有效纠正心肌舒缩功能障碍,延缓心室重构^[17-18]。CAVO是通过现代工艺提取苍术、艾叶、丁香等多种芳香类中药的挥发油成分制成的,经GC-MS分析发现其含量最高的成分是丁香酚(eugenol, EUG),与之前研究一致^[6, 11]。有文献报道,EUG通过抗炎、抗血栓和抑制血管紧张素转换酶活性,能有效改善ISO所致左心室重构大鼠的心功能和心脏重塑^[19]。本研究结果显示,各组给药大鼠LVEDV、LVESV、LVM均降低,LVEF升高,镜下染色观察心肌组织病理表现相较于空白实验组均有显著改善,与曹芳芳等人的结果^[20]相一致,证实了CAVO和麝香保心丸能有效提高大鼠心功能,延缓心室重构进程。同时,本研究结果还发现,CAVO和麝香保心丸能明显提升LVR大鼠的LVGRS、LVGCS、LVGLS。常规心功能参数LVEF、LVSV虽然能有效反应左心室整体心肌舒缩功能障碍,但其受左心室容积和心率的变化影响较大,并且无法及时且准确地评估到心肌局部功能障碍^[21-22]。而CMR-TT所测得的心肌应变,可通过评估心动周期过程中各层心肌的形变能力直接客观反映心肌舒缩功能状况,相较于心室容积、LVEF、LVSV,不仅对左心室心功能障碍具有更高的灵敏度,同时还能反映各层心肌纤维的共同运动情况^[23-24]。因此,CAVO组大鼠左心室整体心肌应变参数的明显升高,提示其能增强各层心肌纤维的舒缩功能,从而最终表现出心室容积、射血分数、心室肥厚等指标的改善。

心衰时, 心肌血管内皮功能障碍是导致心室重构失代偿、心功能症状加剧的重要原因, 其中尤以ET-1、NO的平衡失调与二者的关系最为密切^[25]。在心室重构发展过程中, 血清ET-1水平的显著升高可促使冠状动脉强烈收缩痉挛、心肌耗氧量增加, 同时大量的ET-1会拮抗内源性NO的生理性舒血管效应; 而NO则主要由诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)在白介素及肿瘤坏死因子等细胞因子的诱导下, 过量表达, 由此产生的NO除了能部分改善因原生型一氧化氮合酶(constitutive nitric oxide synthase, cNOS)减少导致的内皮舒张功能降低外, 更多是起到对心脏持续的负性肌力作用, 从而进一步加重了心室重构的进度^[26-27]。因此, CHF时降低血清中ET-1、NO水平, 恢复ET-1及NO的平衡, 改善心肌血管内皮细胞受损及功能紊乱, 对抑制心室重构、改善心功能大有裨益。本研究结果显示CAVO能够明显降低LVR大鼠血清中ET-1和NO水平, 纠正NO/ET-1失衡, 提示CAVO可以通过抑制心肌损伤时ET-1和NO的过度产生, 同时部分保留了NO的舒血管效应, 使心肌肥厚、心肌纤维化进程得以延缓。

本研究的不足之处在于未引入T1 Mapping、T1ρ Mapping、LGE等序列以对各组大鼠的心肌纤维化进行定量对比, 同时整个实验中模型组大鼠的LVSV与对照组均无明显差异, 提示左心室重构尚处于代偿期, 未来考虑增加观察时间以进一步明确CAVO对LVR的保护作用。此外, 本研究仅初步探讨了CAVO对LVR大鼠心肌血管内皮功能障碍的改善作用, 而且通过本实验还发现灌胃CAVO对于大鼠胃肠道刺激性较大, 对于其具体机制和新剂型的开发还需深入研究。

综上所述, CAVO通过对心肌血管内皮功能的调控, 可明显改善LVR大鼠心功能, 延缓心室重构进程, 对大鼠心脏结构和功能具有一定的保护作用。

* * *

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] AUNE D, SCHLESINGER S, LEITZMANN M F, *et al*. Physical activity and the risk of heart failure: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Eur J Epidemiol*, 2021, 36(4): 367-381. doi: 10.1007/s10654-020-00693-6.
- [2] PATEL M R, WHITE R D, ABBARA S, *et al*. 2013 ACCF/ACR/ASE/ASNC/SCCT/SCMR appropriate utilization of cardiovascular imaging in heart failure: a joint report of the American College of Radiology Appropriateness Criteria Committee and the American College of Cardiology Foundation Appropriate Use Criteria Task Force. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 61(21): 2207-2231. doi: 10.1016/j.jacc.2013.02.005.
- [3] 郑娇凤, 王磊, 胡英, 等. 磁共振组织追踪成像对早期左心室心肌肥厚大鼠模型的评估. *中国医学影像学杂志*, 2021, 29(8): 763-769. doi: 10.3969/j.issn.1005-5185.2021.08.002.
- [4] 国家卫生计生委合理用药专家委员会. 心力衰竭合理用药指南(第2版). *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2019, 11(7): 1-78. doi: 10.12037/YXQY.2019.07-01.
- [5] 王永霞, 毋领娟, 李彬, 等. 中医药治疗慢性心力衰竭系统评价现状分析. *中华中医药杂志*, 2017, 32(2): 687-689. doi: CNKI:SUN:BXYY.0.2017-02-077.
- [6] CHEN B, LI J, XIE Y, *et al*. Cang-ai volatile oil improves depressive-like behaviors and regulates DA and 5-HT metabolism in the brains of CUMS-induced rats. *J Ethnopharmacol*, 2019, 244: 112088. doi: 10.1016/j.jep.2019.112088.
- [7] ZHANG K, LEI N, LI M, *et al*. Cang-Ai Volatile Oil Ameliorates Depressive Behavior Induced by Chronic Stress Through IDO-Mediated Tryptophan Degradation Pathway. *Front Psychiatry*, 2021, 12: 791991. doi: 10.3389/fpsy.2021.791991.
- [8] 李若阳, 朱静, 李彦橙, 等. 基于扩散张量成像初探苍艾挥发油对大鼠脑缺血再灌注损伤的神经保护作用. *四川大学学报(医学版)*, 2020, 51(5): 636-642. doi: 10.12182/20200960103.
- [9] 王维, 王玉莲, 张凯玲, 等. 苍艾挥发油对大鼠抑郁样行为的影响及机制研究. *南京中医药大学学报*, 2019, 35(4): 421-425. doi: 10.14148/j.issn.1672-0482.2019.0421.
- [10] 黄睿珏, 温小娟, 李若阳, 等. 基于7.0T心脏磁共振成像探讨苍艾挥发油对正常大鼠心功能的影响. *中成药*, 2022, 44(3): 746-752. doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.03.011.
- [11] 高家菊, 梅佳华, 普娟, 等. 不同产地苍艾挥发油的GC-MS指纹图谱研究. *中国医院药学杂志*, 2022, 42(3): 269-273. doi: 10.13286/j.1001-5213.2022.03.08.
- [12] 解宇环, 莫愁, 李刚, 等. 苍艾挥发油对肺气虚大鼠肺组织病理形态和T细胞亚群的影响. *时珍国医国药*, 2015, 26(8): 1845-1847. doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2015.08.01814.
- [13] AGUIAR M O D, TAVARES B G, TSUTSUI J M, *et al*. Sonothrombolysis Improves Myocardial Dynamics and Microvascular Obstruction Preventing Left Ventricular Remodeling in Patients With ST Elevation Myocardial Infarction. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2020, 13(4): e009536. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.119.009536.
- [14] 周茂松, 孙晓玫, 李莉. 麝香保心丸联合美托洛尔治疗老年慢性心力衰竭的疗效及对NT-proBNP和cTn I水平影响. *中华中医药学刊*, 2021, 39(7): 196-200. doi: 10.13193/j.issn.1673-7717.2021.07.049.
- [15] 袁清茹, 刘莉娟, 王晋华, 等. 慢性心力衰竭患者血清心肌钙蛋白与心脏结构功能的关系及对预后的影响. *中国老年学杂志*, 2016, 36(14): 3421-3423. doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2016.14.031.
- [16] 李亥辰, 陈柏君, 熊磊, 等. 芳香温通方药防治冠心病心绞痛的研究进展. *中华中医药学刊*, 2021, 39(1): 202-205. doi: 10.13193/j.issn.1673-7717.2021.01.049.
- [17] 罗晶, 田鑫, 刘波, 等. 芳香中药精油成分在心血管疾病中的应用. *中*

- 草药, 2020, 51(1): 245–255. doi: [10.7501/j.issn.0253-2670.2020.01.032](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2020.01.032).
- [18] 张建红, 刘琬菁, 罗红梅. 药用植物萜类化合物活性研究进展. *世界科学技术-中医药现代化*, 2018, 20(3): 419–430. doi: [10.11842/wst.2018.03.015](https://doi.org/10.11842/wst.2018.03.015).
- [19] MNAFGUI K, HAJJI R, DERBALI F, *et al.* Anti-inflammatory, antithrombotic and cardiac remodeling preventive effects of eugenol in isoproterenol-induced myocardial infarction in Wistar rat. *Cardiovasc Toxicol*, 2016, 16(4): 336–344. doi: [10.1007/s12012-015-9343-x](https://doi.org/10.1007/s12012-015-9343-x).
- [20] 曹芳芳, 李艳芳, 刘飞, 等. 麝香保心丸对心肌梗死后心力衰竭大鼠心脏 α_1 及 β 肾上腺素能受体表达的影响. *首都医科大学学报*, 2010, 31(6): 777–783. doi: [10.3969/j.issn.1006-7795.2010.06.018](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-7795.2010.06.018).
- [21] 王笑男, 侯阳. 磁共振特征追踪技术评估心肌应变的应用进展. *磁共振成像*, 2019, 10(11): 869–872. doi: [10.12015/issn.1674-8034.2019.11.017](https://doi.org/10.12015/issn.1674-8034.2019.11.017).
- [22] DEVOREA D, MCNULTY S, ALENEZI F, *et al.* Impaired left ventricular global longitudinal strain in patients with heart failure with preserved ejection fraction: insights from the RELAX trial. *Eur J Heart Fail*, 2017, 19(7): 893–900. doi: [10.1002/ehf.754](https://doi.org/10.1002/ehf.754).
- [23] ONISHI T, SAHA S K, DELGADO M A, *et al.* Global longitudinal strain and global circumferential strain by speckle-tracking echocardiography and feature-tracking cardiac magnetic resonance imaging: comparison with left ventricular ejection fraction. *J Am Soc Echocardiogr*, 2015, 28(5): 587–596. doi: [10.1016/j.echo.2014.11.018](https://doi.org/10.1016/j.echo.2014.11.018).
- [24] DOERNER J, BUNCK A C, MICHELS G, *et al.* Incremental value of cardiovascular magnetic resonance feature tracking derived atrial and ventricular strain parameters in a comprehensive approach for the diagnosis of acute myocarditis. *Eur J Radiol*, 2018, 104: 120–128. doi: [10.1016/j.ejrad.2018.05.012](https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2018.05.012).
- [25] 徐清斌, 袁娅妮, 王洋, 等. 氧化苦参碱抑制异丙肾上腺素诱导心衰大鼠心肌肥厚及对血清ET-1及NO的影响. *中成药*, 2014, 36(11): 2390–2393. doi: [10.3969/j.issn.1001-1528.2014.11.038](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1528.2014.11.038).
- [26] UMAR S, VAN D L A. Nitric oxide and nitric oxide synthase isoforms in the normal, hypertrophic, and failing heart. *Mol Cell Biochem*, 2010, 333(1/2): 191–201. doi: [10.1007/s11010-009-0219-x](https://doi.org/10.1007/s11010-009-0219-x).
- [27] LEE J, BAE E H, MA S K, *et al.* Altered Nitric Oxide System in Cardiovascular and Renal Diseases. *Chonnam Med J*, 2016, 52(2): 81–90. doi: [10.4068/cmj.2016.52.2.81](https://doi.org/10.4068/cmj.2016.52.2.81).
- (2022 – 03 – 19收稿, 2022 – 12 – 06修回)
- 编辑 吕 熙

