



同一药物不同剂量足三里穴位注射对 心气虚证的效应对比研究

赵兴梅¹, 王 燕², 陈华德¹

(浙江中医药大学, 杭州 310053)

【摘要】 **目的** 研究参芪扶正注射液足三里穴位注射对心气虚证的效应与用药剂量的关系。**方法** 通过负重游泳及灌服大剂量心得安法获得心气虚证大鼠模型, 对各治疗组分别进行不同剂量参芪扶正注射液的足三里穴注射。连续治疗 10 d 后, 观察并记录大鼠的一般状况和症状; 通过 ELISA 法检测各组血清心钠素 (ANP) 及环磷酸腺苷 (cAMP) 含量; 通过比色法检测各组血清超氧化物歧化酶 (SOD) 活性; 通过 HE 染色法检测各组心肌组织病理改变。**结果** 和正常对照组相比, 模型对照组出现疲软无力, 舌质发紫, 呼吸急促等明显的心气虚症状; 血清 ANP 浓度升高, cAMP 浓度降低, SOD 活性降低, 均具有极其显著性意义 ($P < 0.001$); 心肌组织病理示: 炎细胞浸润明显, 心肌细胞严重水肿, 排列紊乱。和模型组相比, 各治疗组症状缓解, 血清 ANP 浓度降低, cAMP 浓度升高, SOD 活性增强, 差异均具有显著性意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 其中参芪 0.05 mL 组变化最小 ($P < 0.05$), 参芪 0.20 mL 组变化最大 ($P < 0.001$); 心肌组织病理改变减轻, 其中参芪 0.20 mL 组最接近正常。**结论** 参芪扶正注射液足三里穴位注射能有效治疗心气虚证, 且其疗效与用药剂量在一定剂量范围 (0.05 ~ 0.20) mL 内成正相关。

【关键词】 穴位注射; 足三里穴; 心气虚证; 参芪扶正注射液; 给药剂量; 效应; 对比研究

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 02-0038-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.002.009

Comparative study on the effects of a Chinese medicine Shenqi-fuzheng injection in different doses injected into Zusanli acupoint (ST36) on the treatment for heart-qi deficiency syndrome in rats

ZHAO Xing-mei¹, WANG Yan², CHEN Hua-de¹

(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

【Abstract】 **Objective** To study the effects of Shenqi-fuzheng injection (SQ) in different doses injected into Zusanli acupoint in treating heart-qi deficiency syndrome and explore its dose-to-effect relationship. **Methods** The rat model of heart-qi deficiency syndrome was established by forced burden swimming and gavage of large doses of propranolol. Seven groups of rats were set up with 8 rats in each group; the blank control group, the model group and 5 treatment groups which received a Chinese medicine Shenqi-fuzheng injection (SQ) in different doses (0.05 mL, 0.10 mL, 0.15 mL, 0.20 mL and 0.25 mL per rat, respectively) at ST36 acupoints. The treatment was administered for consecutive 10 days. The general conditions and symptoms of the rats were observed and recorded. The serum concentrations of atrial natriuretic

[基金项目] 浙江省自然科学基金资助项目 (No: Y211118)。

[作者简介] 赵兴梅 (1985 -), 女, 浙江中医药大学在读博士, 专业: 中医内科学, E-mail: 87738431@qq.com。

[通讯作者] 陈华德 (1957 -), 男, 医学博士, 教授、博士生导师、主任中医师, E-mail: docchd@sina.com。

peptide (ANP) and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) were assayed by ELISA. The activity of serum superoxide dismutase (SOD) was detected by colorimetry. The pathological changes of myocardial tissue were observed using HE staining. **Results** Compared with the blank control group, the model group showed obvious heart failure symptoms such as fatigue, purple tongue, short and rapid breath, the concentration of ANP was increased while cAMP decreased, and SOD activity was declined ($P < 0.001$ for all). The pathology of myocardial tissue showed inflammatory cell infiltration and seriously swollen cardiomyocytes in disordered arrangement. Compared with the model group, all treatment groups showed that symptoms were relieved, ANP concentration was decreased, and cAMP concentration and SOD activity were increased. Among them, the changes of indicators in the SQ-0.05 mL group were mildest ($P < 0.05$) while strongest in the SQ-0.20 mL group ($P < 0.001$). The pathological changes of myocardial tissue in the SQ-0.20 mL group were mildest and close to normal. **Conclusions** ST36 acupoint injection with the Chinese medicine Shenqi-fuzheng injection is an effective therapy for heart-qi deficiency syndrome in rats. The treatment effects are positively correlated with the doses of drug in the range of from 0.05 mL to 0.20 mL per rat.

【Key words】 Acupoint injection; Zusanli acupoint, ST36; Heart-qi deficiency syndrom; Chinese medicine Shenqi-fuzheng injection; administration doses; Therapeutic effect; Wistar rats; Comparative study

心气虚证为临床常见证型, 出现于多种疾病(如心脏病、肿瘤、高血压、糖尿病、肾病等)的病程中, 如不及时治疗, 将会进一步出现心血虚、心阳虚, 甚至气虚血瘀、水湿内停、阴阳两虚、心脉痹阻等, 导致心脏出现不可逆的损害, 严重威胁生命。穴位注射以经络学说为指导, 将经络、腧穴、药物效应有有机结合起来, 疗效显著, 常常治疗疾病起到事半功倍的效果。大量临床和实验研究证实, 穴位注射产生的药效优于口服、肌注, 甚至接近或超过静脉给药^[1]。但目前对穴位注射治疗心气虚证的效应相关影响因素尚缺乏系统的研究和梳理。因此, 设计本实验来探讨穴位注射法对心气虚证的疗效与用药剂量之间的量效关系, 为心气虚证的临床治疗提供新的方法指导和实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验动物: Wistar 大鼠 60 只, 雄性, 体重为(200 ± 20)g, 6 周龄。由浙江中医药大学实验动物中心提供(购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 生产许可证号: SCXK(沪): 2008-0016)。实验用药: 心得安片剂(江苏常州康普药业有限公司生产, 批号: 1202004) 参芪扶正注射液(丽珠集团利民制药厂生产, 批号: 1202096)。实验工具: 1 mL 注射器(4.5 号针头)。购自浙江中医药大学附属第三医院。试剂盒: 超氧化物歧化酶(SOD)测试盒(南京凯基生物科技发展有限公司生产, 批号: KGT001100)。大鼠环磷酸腺苷(cAMP)酶联免疫分析试剂盒(武汉华美生物工程有限公司生产, 编号: CSB-E07298r)。大鼠心钠肽(ANP)酶联免疫分析

试剂盒。(武汉华美生物工程有限公司生产, 编号: CSB-E12982r)。

主要仪器: MR-4100 型酶标仪, 美国 Dynatech 公司。HM 335E 型轮转切片机(德国 MICROM); AP280 组织包埋机(德国 Microm); ST5010 染色机(德国 Leica); STP120 组织脱水机(德国 Microm); 80I 相差显微镜(德国 Nikon)。

1.2 实验方法

1.2.1 造模: 实验前先进行动物游泳适应能力的筛选: 雄性 Wistar 大鼠 60 只, 每天在游泳缸里强迫负重游泳 2 次, 每次游至力竭(翻正反射消失)。连续 3 d 后淘汰无法适应游泳的大鼠(淘汰率约 3%), 从剩余大鼠中随机选出 8 只大鼠作为正常对照组。其余大鼠继续造模, 实验 20 d 后, 随机选出 48 只, 第 21 天起每日灌服心得安溶液 2.4 mg/100 g 体重, 连续 4 d。通过指标检测验证造模成功(参照王硕仁等提出的心气虚证动物模型评价方法^[2])后, 随机分为 6 组(每组 8 只): 分别为 5 个治疗组(0.05 mL 组、0.10 mL 组、0.15 mL 组、0.20 mL 组、0.25 mL 组), 模型对照组。

1.2.2 造模成功后, 各组处理如下: 治疗组: 穴位: 选取双侧足三里穴。穴位定位参考李忠仁主编的《实验针灸学》^[3]。手法: 补法, 即顺着经络循行的方向缓慢注射, 注射时间为 1 min。药物: 参芪扶正注射液。给药剂量: 分别为每只大鼠每穴 0.05 mL、0.10 mL、0.15 mL、0.20 mL、0.25 mL(根据人与动物之剂量换算公式算出: 一般控制在每 100 g 体重注射药液 0.1 mL 左右, 且穴位对药物的吸收较为敏感, 故设置了以上不同给药剂量)。

模型对照组: 造模后不做任何处理。

正常对照组:常规饲料饲养,自由饮水,不予任何处理。

各组按如上处理,1 次/d,连续 10 d 后,抽血检测相关指标并取大鼠心肌组织进行病理切片检测。

1.3 指标检测

1.3.1 行为学指标:观察并记录各组大鼠的行为学变化。

1.3.2 用 ELISA 法测定各组血清(EDTA 抗凝) ANP 和 cAMP 的浓度。具体操作分别按大鼠心钠肽(ANP)酶联免疫分析试剂盒和大鼠环磷酸腺苷(cAMP)酶联免疫分析试剂盒说明书进行。

1.3.3 通过比色法检测各组血清 SOD 活性;具体操作按超氧化物歧化酶(SOD)测试盒说明书进行。

1.3.4 用 HE 染色法检测各组大鼠心肌组织病理改变。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件包对相关数据进行处理。所有数据以平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组组间差异采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。

2 结果

2.1 一般情况和症状(表 1)

2.2 各组血清 ANP 和 cAMP 浓度以及 SOD 活性

通过 ELISA 实验测得各组血清 ANP、cAMP 浓度以及 SOD 活力(表 2)所示;模型组与正常组对比, $P < 0.001$,表示差异有极其显著性,说明造模成功。与模型对照组相比,①各治疗组血清 ANP 浓度均降低。0.05 mL 组差异有显著性($P < 0.05$),0.10 mL 组、0.15 mL 组、0.25 mL 组差异有非常显著性($P < 0.01$),0.20 mL 组差异有极其显著性($P < 0.001$)。说明通过穴位注射参芪扶正注射液可降低血清 ANP 浓度,且在 0.05 mL ~ 0.20 mL 的剂量范围内存在量效关系。②各治疗组 cAMP 浓度均升高,0.05 mL 组的 cAMP 浓度升高,但无统计学意义($P > 0.05$),其余各给药组的 cAMP 浓度均明显升高,0.10 mL 组和 0.15 mL 组差异有显著性($P < 0.05$),0.20 mL 组和 0.25 mL 组差异有非常显著性($P < 0.01$)。说明通过穴位注射参芪扶正注射液可提高血清 cAMP 浓度,且在 0.05 mL ~ 0.20 mL 的剂量范围内存在量效关系。③各治疗组 SOD 活力均增加。0.05 mL 组和 0.10 mL 组差异有显著性($P < 0.05$),0.15 mL 组和 0.25 mL 组差异有非常显著性($P < 0.01$),0.20 mL 组差异有极其显著性($P < 0.001$)。说明通过穴位注射参芪扶正注射液可增强血清 SOD 活性,且在 0.05 mL ~ 0.20 mL 的给药范围内存在量效关系。

表 1 治疗前后大鼠一般状况观察

Tab. 1 Comparison of general conditions and symptoms in each group before and after treatment

组别	活动	精神	舌质	毛发	呼吸	体重	尾色	抓起时情况
Groups	Activity	Spirit	Tongue	Hair	Breath	Weight	Tail-color	Reation to snatch
正常组	多	活泼	浅红	光滑有光泽	平稳	正常	红	反抗较剧、咬人
模型组	少	萎靡	暗紫	干枯	急促鼻翼煽动	减轻	青紫	反抗轻,不咬人
治疗组	增多	有活力	变红	光滑有光泽	变得平稳	增加	变红	反抗、咬人
Treatment	Increase	Energetic	Turn to red	Smooth and glossy	Became steady	Gain	Turn to red	Rresist and bite

注:**表示差异极显著性,*表示差异显著性。

Note:**Very significant difference,*Significant difference.

表 2 治疗后各组血清 ANP 和 cAMP 浓度以及 SOD 活力的对比($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 2 Comparison of the concentrations of serum ANP and cAMP as well as the activity of SOD in each group after treatment ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	血清心钠素浓度(pg/mL)	环磷酸腺苷浓度(pmol/mL)	总超氧化物歧化酶活力(U/mL)
Groups	Concentration of ANP(pg/mL)	Concentration of cAMP (pmol/mL)	T-SOD activity (U/mL)
0.05 mL 组	274.595 ± 29.350 *	0.879 ± 0.219	179.912 ± 16.343 *
0.10 mL 组	262.107 ± 27.922 **	0.996 ± 0.250 *	181.008 ± 21.738 *
0.15 mL 组	260.341 ± 20.715 **	1.084 ± 0.336 *	192.281 ± 27.752 **
0.20 mL 组	230.040 ± 17.772 ***	1.183 ± 0.264 **	206.740 ± 30.129 ***
0.25 mL 组	242.600 ± 32.696 **	1.141 ± 0.329 **	200.759 ± 30.839 **
模型对照组	Model 290.972 ± 13.675 ▲▲▲	0.628 ± 0.304 ▲▲▲	145.649 ± 18.762 ▲▲▲
正常对照组	Control 199.365 ± 31.333	1.389 ± 0.382	220.192 ± 25.725

注:与正常对照组比较▲▲▲ $P < 0.001$;与模型对照组比较* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。

Note:▲▲▲ $P < 0.001$ vs. control;* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ vs. model.

2.3 各组病理切片

采用 HE 染色法检测各组心肌病理切片,结果所示:模型对照组与正常组相比:肌细胞水肿、排列紊乱,有炎细胞浸润,说明造模成功。和模型对照组相比,0.05 mL 组和 0.10 mL 组肌细胞水肿明显、排列紊乱;0.15 mL 组和 0.25 mL 组肌细胞水肿减轻,排列趋于整齐,但有少量炎细胞浸润;0.20 mL 组肌细胞排列整齐,肌细胞水肿明显减轻,无炎细胞浸润(图 1,见彩插)。

3 讨论

心气虚证由心气亏虚所致,临床以心悸、自汗、口唇发绀、气短、胸闷、动则加重为主要临床表现。其病机在于心主血脉,心气虚则推动无力,导致全身气血瘀滞,进而对全身各脏器产生不同程度的损害。目前中医临床除了通过益气活血、养阴安神、温阳利水的中药配方进行治疗外^[4],穴位注射作为兼具中西医治疗优势的一种特殊疗法,也被广泛应用于心气虚证的治疗。本实验研究发现,穴位注射参芪扶正注射液能显著改善心功能且其疗效与用药剂量密切相关。

心钠素即心房利钠尿肽(ANP),由心房合成、贮存、分泌的一种多肽类激素,当右房压升高时,心房肌张力增加,引起 ANP 的分泌增加。而慢性心力衰竭(CHF)是引起心房压增高的主要原因。目前,普遍认为 ANP 的血浆浓度可在一定程度上反映 CHF 的严重程度。李莉等^[5]通过测定 40 例正常人和 6 例心功能不全患者血浆 ANP 含量的变化,发现血浆 ANP 的浓度随心功能分级的递增而升高,与左室射血分数呈负相关。因而,认为血浆 ANP 含量可作为反映心功能状态的指标之一,而且具有一定的定量意义。蒋梅先等^[6]则进一步证明 ANP 血浆浓度的上升是 CHF 的标志。cAMP 被称为细胞内的第二信使,可调节细胞的物质代谢和生理活动,心肌细胞受损时,血浆 cAMP 浓度降低,而血浆 cAMP 浓度的增加可反映心肌代谢能力的改善。程志清等^[7]认为 ANP 和 cAMP 均是评价 CHF 的可信指标。SOD 是一种超氧化物歧化酶,又称为超氧自由基清除因子和垃圾清道夫,它可以抗氧化抗衰老^[8],当心肌受损时常可导致 SOD 活性降低^[9]。SOD 活性增加可反映心肌受损程度减轻。心气虚时,导致气虚型血瘀,气虚水停^[10],进而引起心输出量减少,冠脉血流量减少,心肌缺血缺氧,出现心肌细胞肿胀坏死,肌细胞排列紊乱,大量炎症细胞浸润等病理改变。另外可能与 SOD 活性降低导致自

由基堆积,引起的过氧化损伤有关。心肌病理改变逆转是心功能恢复的基础和前提。

本实验研究显示:和正常对照组相比,模型对照组大鼠出现疲软无力,舌质发紫,呼吸急促等明显的心气虚症状;血清 ANP 浓度升高, cAMP 浓度降低, SOD 活性降低,均具有极其显著性意义($P < 0.001$);心肌组织病理显示:炎细胞浸润明显,心肌细胞严重水肿,排列紊乱。说明本实验造模是成功的。和模型对照组相比,各治疗组大鼠活力增加,舌质变红,毛发光滑,呼吸平稳,心气虚症状已得以缓解;血浆 ANP 浓度降低, cAMP 浓度升高, SOD 活性增强,其中 0.05 mL 组改变最小($P > 0.05$ 或 $P < 0.05$), 0.20 组改变最大($P < 0.001$);心肌组织病理改变减轻,其中参芪 0.20 mL 组最接近正常。说明参芪扶正注射液足三里穴位注射对心气虚证的效应与给药剂量有关,用药剂量不同,其疗效不同。

综上所述:参芪扶正注射液足三里穴位注射可有效治疗心气虚证。给药剂量不同,其疗效不同,且在一定的剂量范围(0.05 mL ~ 0.20 mL)内,其疗效与给药剂量成正相关。因此,我们认为在运用穴位注射法治疗心气虚证时,一定要根据病情,选取药物的最佳剂量,方能取得最佳治疗效果。

参考文献:

- [1] 徐伟辉, 阳仁达, 李锐. 不同途径注射西地兰对急性心衰家兔血流动力学影响的比较研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2010, 16(6):487-489.
- [2] 王硕仁, 王振涛, 赵明镜, 李敏. 心气虚证动物模型及其评价体系的构建 [J]. 中国实验动物学报, 2002, 10(1):33-38.
- [3] 李忠仁. 实验针灸学 [M]. 北京:中国中医药出版社, 2007: 327-328.
- [4] 李俊兰. 中医辨证论治慢性心力衰竭的研究进展 [J]. 医学综述, 2009, 15(20):3160-3163.
- [5] 李莉. 心功能不全与血浆心钠素水平的关系 [J]. 华西医学, 2000, 15(2): 239-240.
- [6] 蒋梅先. 心肾同病等病机与充血性心力衰竭循环激素的关系 [J]. 上海中医药大学学报, 2000, 14(1): 27-29.
- [7] 程志清, 姚立, 唐烨霞, 等. 心气虚证复合因素造模法对 Wistar 大鼠基因表达的影响 [J]. 浙江中医药大学学报, 2006, 30(20):165-173.
- [8] 艾秀峰, 陈民利, 潘永明, 等. D-半乳糖致衰老模型大鼠肝肾功能 and 自由基代谢与中药的干预作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(5):41-45.
- [9] 唐烨霞. 心气虚大鼠自由基损伤及心肌超微结构观察 [J]. 包头医学院学报, 2009, 25(2):122-123.
- [10] 范素勤. 养心活血法配合综合调理治疗心力衰竭 68 例 [J]. 陕西中医, 2011, 32(10):1281-1282.