

活心方对急性心肌梗死大鼠血流动力学及梗死面积的影响

张 超¹, 姚成增², 蒋梅先^{2*}, 关敬树¹

(1. 上海市宝山区中西医结合医院心内科, 上海 201999; 2. 上海中医药大学附属曙光医院心内科, 上海 200021)

摘要: **目的** 观察活心方对结扎冠状动脉前降支所致急性心梗大鼠血流动力学及梗死面积的影响。**方法** 采用结扎冠状动脉前降支的方法构建急性心梗模型, 大鼠随机分为假手术组、模型组、贝复济组、血竭小复方组和活心方组, 干预 8 周。检测大鼠血流动力学指标, HE 染色观察心肌组织形态改变, 计算梗死面积。**结果** 模型组大鼠心肌梗死面积与左室收缩压 (LVSP) 及左室内压最大变化速率 (+LVdp/dt_{max}) 呈负相关 ($P=0.001$), 与左室舒张末期压 (LV-EDP) 呈正相关 ($P=0.005$)。与模型组比较, 活心方组、血竭小复方组大鼠 LVSP 均升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), LV-EDP 降低 ($P<0.01$), +LVdp/dt_{max} 加大 ($P<0.01$), -LVdp/dt_{max} 加大 ($P<0.05$, $P<0.01$), 梗死面积缩小 ($P<0.01$); 与血竭小复方组比较, 活心方组大鼠 LVSP 增高 ($P<0.05$)、+LVdp/dt_{max} 加大 ($P<0.05$); 梗死面积更小 ($P<0.05$)。**结论** 心肌梗死大鼠梗死面积与血流动力学指标存在相关性。活心方干预能缩小心梗大鼠的梗死面积, 改善心梗后大鼠左室舒缩功能, 并优于血竭小复方。

关键词: 活心方; 急性心肌梗死; 血流动力学; 梗死面积; 大鼠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)04-0893-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.04.013

Effects of Huoxin Formula on hemodynamics and infarct area of acute myocardial infarction rats

ZHANG Chao¹, YAO Cheng-zeng², JIANG Mei-xian^{2*}, GUAN Jing-shu¹

(1. Department of Cardiology, Shanghai Baoshan Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai 201999, China; 2. Department of Cardiology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China)

KEY WORDS: Huoxin Formula; acute myocardial infarction; hemodynamics; infarct area; rats

活心方治疗冠心病心绞痛有确切的临床疗效, 并可显著提高左室射血分数 (LVEF), 改善血流动力学指标^[1]。本实验通过结扎冠状动脉前降支造成雄性 SD 大鼠急性心梗模型, 观察活心方对大鼠血流动力学、梗死面积的影响, 进一步探明该方治疗冠心病的作用机制。

1 材料

1.1 动物 雄性 SD 大鼠 76 只, 体质量 200~250 g, 购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 动物生

产许可证号 SCXK (沪) 2003-0002。

1.2 试剂与药物 血竭小复方由血竭、降香、三七按 1:1:2 的比例共研末, 加到由 0.9% 氯化钠溶液及羧甲基纤维素钠配成的 0.5% 羧甲基纤维素钠混悬剂中 (0.016 2 g/mL)。活心方由黄芪、桂枝、象贝母、血竭等 9 味药材组成, 其中血竭等 3 味研末后制成混悬剂 (0.032 4 g/mL), 其余制成 1.656 g 生药/mL 的水煎剂。将上述 2 种制剂等体积混合, 配制成 0.844 g 生药/mL, 药材均由上海

收稿日期: 2019-08-20

基金项目: 上海市卫生系统优秀青年人才培养计划 (XYQ2011064); 海派中医丁氏内科张伯史临床传承基地 (ZY3-CCCX-1-1001); 2017 年第六批全国老中医药专家学术经验继承项目 (2017)

作者简介: 张 超 (1981—), 男, 硕士, 主治医师, 从事中西医结合防治心血管疾病研究。Tel: (021) 56601100, E-mail: zhangchaotcm05@aliyun.com

* 通信作者: 蒋梅先, 女, 教授, 主任医师, 从事中医及中西医结合防治心血管疾病研究, Tel: (021) 53827256, E-mail: jmx591@126.com

中医药大学附属曙光医院药剂科提供,置于 4℃ 冰箱中保存备用。贝复济(珠海亿胜生物制药有限公司,批号 20070106);肝素钠注射液(上海市第一生化药业有限公司,批号 060601)。

1.3 仪器 DW2000 型小动物呼吸机(上海嘉鹏科技有限公司);ML740 型 PowerLab/4SP 生物信号处理和分析系统、MLT1050/D 型高精度压力换能器、Chart v 5.0 (PowerLab/4SP) 记录及分析软件(澳大利亚 ADI 公司);BH2、BX60 光学显微镜(日本 Olympus 公司);MIQS 医学图像分析系统、医学图像分析软件(上海求为生物科技有限公司);V 型超薄切片机(瑞典 LKB 公司);NIKON 4500 数码相机(日本 Nikon 公司)。

2 方法

2.1 分组与造模 大鼠实验前适应性饲养 1 周,随机分为假手术组、模型组、贝复济组、血竭小复方组和活心方组。参照文献[2-3],除假手术组外,其余各组大鼠用盐酸氯胺酮(80 mg/kg)腹腔麻醉,气管插管后接人工呼吸机辅助呼吸(呼吸频率为 90 次/min,潮气量为 4~6 mL)。术前 75% 酒精消毒后,在左胸第 4~5 肋骨间作横切口,从左侧第 4 肋间钝性分离打开胸腔,轻轻挤压胸腔,暴露心脏,剪开心包,在肺动脉圆锥与左心耳交界稍下 1~2 mm 处用无创性缝线结扎左侧冠状动脉前降支,开胸前后即时记录 II 导联心电图,以结扎部位以下心肌变白搏动减弱且心电图出现 ST 段弓背向上明显抬高为造模成功,逐层缝合胸壁,待其恢复自主呼吸后拔除插管(造模当天注射青霉素 3 d 以预防感染);假手术组开胸后不结扎左冠状动脉前降支,仅在相应部位用无线缝针空穿 1 次(即缝合胸壁),其余步骤与模型组相同。

2.2 给药 参照文献[4]折算,血竭小复方组大鼠给药剂量为 0.162 g/kg,活心方组大鼠给药剂量为 8.44 g/kg,2 组大鼠在心梗造模后第 2 天开始分别灌胃给予相应剂量药物,1 次/d,共 8 周;贝复济组大鼠于开胸结扎冠脉后,立即在结扎处周围予贝复济喷洒 3 次(125 IU/次),术后开始每日皮下注射肝素 1 次(1 250 U/kg),共 5 d;假手术组、模型组及贝复济组大鼠造模后第 2 天开始,每天用等体积生理盐水灌胃,共 8 周。

2.3 在体大鼠血流动力学指标检测 各组大鼠在末次给药 6 h 后,以 1 200 U/kg 肝素钠抗凝 20 min,用 45 mg/kg 2% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,仰卧于手术台上,在气管插管下分离右侧颈总

动脉,插入连接高精度压力换能器的 PE-50 型聚乙烯心导管,通过 PowerLab/4SP 型生物信号处理和分析系统记录血流动力学参数,包括动脉收缩压(SBP)、动脉舒张压(DBP)、平均动脉压(MAP),心导管在颈动脉中连续稳定 10 min 后进一步插入左心室,稳定 5 min 后记录左室收缩压(LVSP)、左室舒张末期压(LVEDP)、左室内压最大变化速率($\pm LVdp/dt_{max}$)。

2.4 梗死面积检测 各组大鼠作血流动力学检测后立即用生理盐水灌注,摘取心脏,剪去主动脉弓、右心室、心房、心耳等,在左心室乳头肌水平横切面切取心肌组织(包括梗死区、梗死边缘区、健存区),10% 福尔马林溶液固定,梯度乙醇脱水,二甲苯透明 2 次,常规浸蜡、包埋后切片,厚度 5 μm ,苏木精-伊红(HE)染色,MIQS 医学图像分析系统在 10 倍物镜下检测左室壁横切面梗死部分心肌面积、左室壁横切面总面积,计算梗死面积,公式为梗死面积=(左室壁横切面梗死部分心肌面积/左室壁横切面总面积) $\times 100\%$ 。

2.5 统计学分析 应用 SPSS 19.0 软件进行处理,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法,相关性分析采用 Pearson 相关系数法检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

实验共用大鼠 76 只,其中假手术组 8 只,造模组 68 只,造模后存活 34 只,随机分为模型组(8 只)、贝复济组(8 只)、血竭小复方组(9 只)和活心方组(9 只)。给药过程中,血竭小复方组和活心方组各死亡 1 只大鼠,故最后有 40 只进入后续实验。

3.1 大鼠血流动力学指标 (1)与假手术组相比,模型组大鼠 SBP、DBP 及 MAP 均降低($P < 0.01$),LVSP 降低($P < 0.05$),LVEDP 升高($P < 0.05$), $\pm LVdp/dt_{max}$ 减小($P < 0.05$)。(2)与模型组相比,各用药组大鼠 SBP 及 MAP 均升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),活心方组大鼠 DBP 亦升高($P < 0.05$);活心方组、血竭小复方组大鼠 LVSP 均升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),LVEDP 降低($P < 0.01$), $+LVdp/dt_{max}$ 、 $-LVdp/dt_{max}$ 加大($P < 0.05$, $P < 0.01$),而贝复济组仅 LVEDP 降低($P < 0.05$),LVSP 及 $LVdp/dt_{max}$ 均无明显变化。(3)与贝复济组相比,活心方组大鼠 LVSP 升高($P < 0.05$), $+LVdp/dt_{max}$ 加大($P < 0.01$),血竭小复方组大鼠

均无明显变化。(4)与血竭小复方组相比,活心方组大鼠 LVSP 更高 ($P<0.05$), +LVdp/dt_{max} 加大 ($P<0.05$)。见表 1~2。

表 1 活心方对心肌梗死大鼠血流动力学的影响 (I) ($\bar{x}\pm s$, $n=8$, 1 mmHg=0.133 kPa)

Tab.1 Effects of Huoxin Formula on hemodynamics of MI rats (I) ($\bar{x}\pm s$, $n=8$, 1 mmHg=0.133 kPa)

组别	SBP/mmHg	DBP/mmHg	MAP/mmHg
假手术组	140.98±5.74	114.34±7.11	125.49±6.95
模型组	116.98±6.77*	77.53±8.67*	95.77±9.14*
贝复济组	123.74±6.86 [#]	83.73±13.13	103.71±7.46 [#]
血竭小复方组	124.13±5.36 [#]	84.86±12.07	103.85±5.35 [#]
活心方组	128.55±6.67 ^{##}	91.70±13.20 [#]	109.56±8.72 ^{##}

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$ 。

3.2 大鼠梗死面积 假手术组大鼠心肌纤维排列

表 2 活心方对心肌梗死大鼠血流动力学的影响 (II) ($\bar{x}\pm s$, $n=8$, 1 mmHg=0.133 kPa)

Tab.2 Effects of Huoxin Formula on hemodynamics of MI rats (II) ($\bar{x}\pm s$, $n=8$, 1 mmHg=0.133 kPa)

组别	LVSP/mmHg	LVEDP/mmHg	(+LVdp/dt _{max})/ (mmHg·s ⁻¹)	(-LVdp/dt _{max})/ (mmHg·s ⁻¹)
			(mmHg·s ⁻¹)	(mmHg·s ⁻¹)
假手术组	156.22±14.38	10.14±3.11	9 865.73±995.17	-7 197.95±1 659.81
模型组	126.97±7.55*	20.53±3.54*	5 996.34±419.70*	-4 541.89±588.39*
贝复济组	135.21±8.69	17.14±3.93 [#]	6 994.70±1 400.36	-5 276.48±800.61
血竭小复方组	135.68±7.21 [#]	15.35±3.14 ^{##}	7 544.92±1 007.62 ^{##}	-5 521.71±699.17 [#]
活心方组	145.86±6.50 ^{##} ▲	13.95±2.83 ^{##}	8 748.12±1 265.97 ^{##} ▲	-5 912.53±1 282.32 ^{##}

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与贝复济组比较,▲ $P<0.05$,△ $P<0.01$;与血竭小复方组比较,▲ $P<0.05$ 。

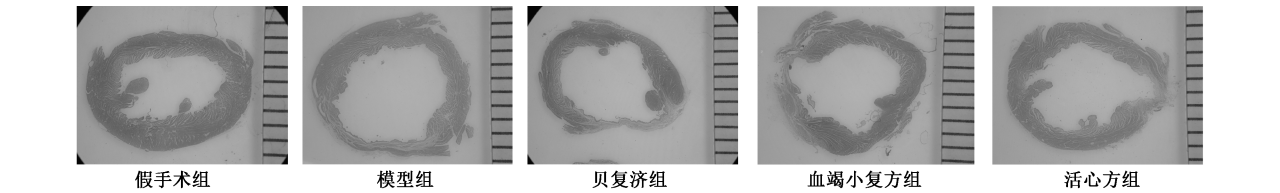


图 1 各组大鼠心肌 HE 染色 (×10)

Fig.1 Myocardial HE staining for rats in each group (×10)

表 3 活心方对心肌梗死大鼠梗死面积的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Tab.3 Effect of Huoxin Formula on infarct area of MI rats ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	梗死面积/%
假手术组	0.28±0.48
模型组	14.70±5.06*
贝复济组	11.40±2.02
血竭小复方组	9.44±1.83 ^{##}
活心方组	6.82±1.94 ^{##} ▲

注:与假手术组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,^{##} $P<0.01$;与贝复济组比较,▲ $P<0.01$;与血竭小复方组比较,▲ $P<0.05$ 。

表 4 心肌梗死大鼠梗死面积与血流动力学指标的相关性

Tab.4 Correlation between infarct area and hemodynamic indexes in MI rats

指标	LVSP		LVEDP		+LVdp/dt _{max}		-LVdp/dt _{max}	
	μ 值	P 值	μ 值	P 值	μ 值	P 值	μ 值	P 值
梗死面积	-0.544	0.001	0.484	0.005	-0.568	0.001	-0.261	0.149

规整,心肌细胞未见肿胀、变性、萎缩等情况发生;模型组大鼠梗死区心肌纤维排列紊乱,部分肌纤维断裂,大量心肌细胞肿胀、变性、坏死;贝复济组、血竭小复方组及活心方组大鼠梗死区出现不同程度心肌纤维排列不规则、断裂及心肌细胞变性、坏死,但较模型组好转,活心方组最为明显。见图 1。

模型组大鼠梗死面积大于假手术组大鼠 ($P<0.01$),活心方组和血竭小复方组大鼠梗死面积小于模型组大鼠 ($P<0.01$),活心方组大鼠梗死面积小于贝复济组 ($P<0.01$)及血竭小复方组大鼠 ($P<0.05$);与模型组相比,贝复济组大鼠梗死面积无变化明显差异 ($P>0.05$)。见表 3。

3.3 心肌梗死大鼠梗死面积与血流动力学指标相关性分析 将 32 只心肌梗死大鼠的梗死面积与血流动力学指标采用 Pearson 相关系数法进行相关性分析。结果显示, LVSP 及 +LVdp/dt_{max} 与梗死面积呈负相关; LVEDP 与梗死面积呈正相关; -LVdp/dt_{max} 与梗死面积有负相关趋势,但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 4。

4 讨论

4.1 梗死面积与心功能的关系 心肌梗死后,具

有收缩功能的心肌细胞数量减少，心室重构发生，导致心脏收缩和舒张功能严重受损，使心功能明显下降，即使在经皮冠状动脉介入治疗术后，早期患者的心功能仍出现恶化^[5-6]，并可引起左室节段运动异常及左室重塑扩张，同时梗死面积的大小与患者的LVEF和临床心功能的分级亦密切相关^[7]。血流动力学是心功能最主要的反映^[8-9]，LVSP、+LVdp/dt_{max}能定量评价心肌收缩能力，而LVEDP、-LVdp/dt_{max}则是反映心室舒张功能的重要指标，都能较好地反映心脏泵功能的变化情况^[10-12]。

本研究通过结扎冠状动脉前降支的方法构建大鼠急性心梗模型。贝复济能促进血管新生，大大增加侧支循环的建立，缩小梗死面积，故选为本研究的阳性对照药物^[13-14]，另外肝素能提高其活力。血流动力学指标检测提示，模型大鼠左室舒缩功能均受损，这与心肌梗死后左室部分心肌缺血、坏死，以及梗死区心肌间质纤维化或伴疤痕形成有关^[15]。进一步将梗死面积与血流动力学指标进行相关性分析，提示梗死面积与LVSP及+LVdp/dt_{max}呈负相关，与LVEDP呈正相关。

4.2 活心方对急性心肌梗死大鼠血流动力学的影响 与模型组大鼠比较，活心方组和血竭小复方组大鼠SBP及MAP显著升高，但仅活心方组大鼠DBP升高。由于冠状动脉大部分的分支深埋于心肌内，因此心脏收缩期冠脉分支内血流急剧减少，尤其是冠脉血流对心内膜下心肌的灌注主要在舒张期，主动脉内舒张压对心内膜下心肌血供尤其重要。主动脉内舒张压的提高直接增加冠状动脉灌注压，改善心肌血流灌注^[16]，而活心方可显著提高心梗模型大鼠的DBP。

活心方及血竭小复方干预后，均不同程度地提高了心梗大鼠的LVSP，降低LVEDP，加大±LVdp/dt_{max}，其中具有益气温阳、活血通脉功能的活心方升高LVSP、加大+LVdp/dt_{max}较单纯行气活血祛瘀的血竭小复方更明显。由此可知，益气通阳类药物在改善异常的血流动力学等方面可能有更强的效果。

4.3 活心方对急性心肌梗死大鼠梗死面积的影响 活心方及血竭小复方均能不同程度地缩小心梗大鼠的梗死面积，提示两者对心肌的缺血性、坏死性损伤均有保护作用，能在一定程度上挽救梗死边缘区濒死的心肌，减小梗死面积，并限制其扩展。相比之下，活心方作用更显著，与其改血流动力学指标的结果一致。

冠心病心绞痛属于中医“胸痹”范畴，其病机为本虚标实，本虚为阴阳气血的亏虚，以气虚阳虚者为多见；标实为痰浊、血瘀、寒凝、气滞交互为患。活心方为全国名老中医严世芸教授治疗冠心病心绞痛的经验方，该方以生黄芪、桂枝、象贝母

等益气通阳、化痰软坚，三七、血竭、降香等活血化瘀止痛，对冠心病心绞痛有着良好的临床疗效。本研究发现，活心方能显著改善急性心梗大鼠血流动力学指标、左室舒缩功能，与心肌梗死面积减小呈一致性变化，提示心功能改善可能与后者有关。同时拆方研究显示，兼有益气活血、化痰软坚功效的活心方无论在改善血流动力学指标方面，还是在缩小心肌梗死面积方面，均优于单纯活血化瘀的血竭小复方，表明益气活血、化痰软坚的治则更符合冠心病本虚标实病机。

参考文献：

[1] 张超,姚成增,蒋梅先,等.活心方对冠心病心绞痛患者临床疗效及血清VEGF水平的影响[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(16):180-183.

[2] 殷英,卫国,王艳华,等.丹红注射液促进心梗模型大鼠缺血心肌血管新生[J].中成药,2016,38(9):1893-1897.

[3] 汪菁峰,丁雪峰,朱凌侗,等.芪苈强心对心肌梗死后心力衰竭大鼠miRNA表达的调控作用[J].中国分子心脏病学杂志,2017,17(4):2174-2179.

[4] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,2006:31.

[5] Lewicki L, Fijalkowska M, Karwowski M, et al. The non-invasive evaluation of heart function in patients with an acute myocardial infarction; the role of impedance cardiography[J]. *Cardiol J*, 2019. doi: 10.5603/CJ. a2019.0098.

[6] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会.急性ST段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南[J].中华心血管病杂志,2010,38(8):675-690.

[7] 林果为,王吉耀,葛均波.实用内科学[M].15版.北京:人民卫生出版社,2017:982-988.

[8] Christopher C J, Barry A B. Hemodynamic assessment in heart failure[J]. *Catheter Cardio Int*, 2019. doi: org/10.1002/ccd. 28490.

[9] Mele D, Andrade A, Bettencourt P, et al. From left ventricular ejection fraction to cardiac hemodynamics: role of echocardiography in evaluating patients with heart failure[J]. *Heart Fail Rev*, 2019, 25(2): 217-230.

[10] 李云霞.心肌力学和心肌收缩性能的评定[J].生理科学进展,1980,11(3):212-219.

[11] 阮小芬,蒋梅先,徐裕亚,等.坎离颗粒对压力负荷超载大鼠心肌能量代谢及血流动力学的影响[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(10):198-202.

[12] 陈念,王建,樊亚梅,等.苏合香对大鼠心肌缺血的影响[J].中成药,2019,41(3):533-538.

[13] 王大英,李勇,范维琥.麝香保心丸对心肌梗死大鼠梗死面积和血管新生的作用[J].中成药,2004,26(11):54-57.

[14] Uchida Y, Yanagisawa-Miwa A, Nakamura F, et al. Angiogenic therapy of acute myocardial infarction by intrapericardial injection of basic fibroblast growth factor and heparin sulfate: an experimental study[J]. *Am Heart J*, 1995, 130(6): 1182-1188.

[15] Thygesen K, Alpert J S, Jaffe A S, et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018) [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(18): 2231-2264.

[16] 肖文颖,黄红漫,冯六六.冠状动脉微循环功能障碍研究新进展[J].心血管康复医学杂志,2019,28(2):247-251.