

血脉通胶囊对急性心肌梗死大鼠心肌病理形态学的影响

叶兰¹, 张晴¹, 胡颖¹, 黄勇攀¹, 刘智^{2*}

(1. 贵阳医学院药理学教研室, 贵阳 550004; 2. 贵阳医学院附属医院药剂科, 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 研究血脉通胶囊(XMT)对大鼠急性心肌梗死(AMI)心肌病理形态学的影响。方法: 大鼠随机分为模型组、假手术组、血脉通胶囊低、中、高剂量组(105, 210, 420 mg·kg⁻¹)。血脉通胶囊各给药组连续灌胃给药 14 d 后, 除假手术组外, 其余各组均结扎大鼠冠状动脉建立 AMI 模型。记录结扎前及结扎后 15, 30, 60, 90, 120 min, 24 h 心电图变化; HE 染色观察心肌病理形态学改变。结果: 和模型组比较, 血脉通胶囊各剂量组可不同程度对抗 AMI 心电图 J 点的上抬; 模型组大鼠心肌内膜局部排列紊乱, 肌细胞显肿胀、坏死, 外膜灶状坏死, 间质水肿, 炎性细胞浸润, 血脉通胶囊高、XMT 中剂量组心肌总体病变较模型组轻, 心肌细胞变性、坏死不明显, 肌细胞轻度肿胀、坏死。通过半定量统计分析显示心肌组织血管扩张充血程度、心肌间质水肿程度、心肌变性、坏死程度、炎细胞浸润程度差异具有显著性($P < 0.05$)。结论: 血脉通胶囊对结扎大鼠冠状动脉致 AMI 有显著的保护作用。

[关键词] 急性心肌梗塞; 血脉通胶囊; 病理形态学

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)20-0195-05

[doi] 10.11653/syfy2013200195

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130808.1524.007.html>

[网络出版时间] 2013-08-08 15:24

Pathomorphological Change of Rats with Acute Myocardial Infarction and the Interfering Effects of Xuemaitong Capsule

YE Lan¹, ZHANG Qing¹, HU Ying¹, HUANG Yong-pan¹, LIU Zhi^{2*}

(1. Pharmacology Department, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China;
2. Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Guiyang, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the pathomorphological changes of myocardial of rats with acute myocardial infarction and the interfering effects of Xuemaitong capsule (XMT). **Method:** The Wistar rats were randomized into 5 groups, the model group, the sham operation group, the three difference dose groups of XMT preconditioning. The model rats were treated by continuous 14 days intragastric administration. After 14 days, except the sham operation, myocardial infarction of the other groups were established by ligation of coronary artery. Before and after ligation, electrocardiogram were recorded in 5, 30, 60, 90, 120 minutes, 24 hours; pathomorphological change were checked by HE staining. **Result:** Compared with the high dose, in middle dose and low dose group, the J point were decreased. Pathological alteration of myocardial infarction showed that myocardial endometrial focal disordered arrangement, muscle cells swelling or necrosis, adventitia focal necrosis, and infiltration of inflammatory cells. Compared high and middle groups to model group, the pathomorphological change were slightly among high and middle groups. By semi-quantitative, the pathomorphological changes proved to be true ($P < 0.05$). **Conclusion:** XMT has important protective function for acute myocardial infarction.

[Key words] acute myocardial infarction, Xuemaitong capsule; pathomorphology

[收稿日期] 20130220(009)

[基金项目] 贵州省中药现代化科技产业研究开发项目(黔科合中药专字[2007]5014号)

[第一作者] 叶兰, 医学博士, 副教授, 从事新药研究和神经药理研究, Tel: 0851-6908628, E-mail: frogyl266@163.com

[通讯作者] * 刘智, 主任药师, 从事新药研发, Tel: 0851-6771216, E-mail: liuzhigy@163.com

血脉通胶囊(XMT)是由鸡眼睛、栀子、丹参、葛根、泽泻等 7 味药材经提取、浓缩、干燥、制粒、分装等工序制备而成^[1]。其配方及工艺获得发明专利(ZL02133416.1),该品的质量标准收载于国家药品监督管理局标准 WS-10108(ZD-0108)-2002-2012Z。临床试验表明血脉通胶囊可以改善不稳定性心绞痛及心肌梗死患者临床症状^[2],可以保护心肌缺血及抗心肌缺血再灌注的作用,并抑制血小板活化,以及调节血清总胆固醇及甘油三酯的作用等等^[3]。而血脉通胶囊对心肌梗死病理学方面的影响尚未见报道,故本研究采用结扎冠状动脉诱发急性心肌梗死(AMI)大鼠模型,观察 XMT 对大鼠心肌组织病理形态学的影响,为其临床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠 40 只,雌、雄各半,体重(200±20)g,由贵阳医学院实验动物中心提供,合格证号 SCXK(黔)2004-0001。

1.2 药品及试剂 血脉通胶囊(贵州益康制药有限公司提供,批号 20080301),乌拉坦(北京化学试剂公司,批号 050125),苏木精及伊红(重庆川东化工)。

1.3 仪器 XH-300 型动物呼吸机与 BL-420 型生物机能实验系统(成都泰盟科技有限责任公司),灌流固定泵(保定兰格恒流水泵有限公司),常规石蜡切片机(成都仪器厂),光学显微镜(日本, Olympus)。

2 方法

2.1 动物分组、给药及模型的制作 试验大鼠随机分为 5 组:模型组、假手术组、血脉通胶囊低、中、高(105,210,420 mg·kg⁻¹)剂量组^[1],每组 8 只。各组动物均按给药剂量设计灌胃给药,模型组、假手术组给予等量生理盐水,连续灌胃 14 d,最后一次给药后 1 h,用 1.2 g·kg⁻¹ 浓度乌拉坦腹腔注射麻醉大鼠,仰卧位固定,接呼吸机进行辅助呼吸,连接多导生理记录仪标准 II 导联,记录大鼠心电图,经胸骨左缘三、四肋间逐层开胸,挤出心脏。在动脉圆锥与左心耳之间,距冠状动脉起点 1~2 mm 处结扎左冠状动脉前降支诱发 AMI 后,把心脏放回胸腔,迅速缝合胸壁。假手术组大鼠左冠状动脉前降支穿线但未进行结扎手术,其余操作同模型组^[4]。24 h 后处死大鼠,取心肌及血清检测相应指标。

2.2 检测指标

2.2.1 心电图观察 缝合胸壁后记录 II 导联心电图 ST 段以及观察 J 点(QRS 波群的终点与 T 波交

接处)的变化。用相邻两个 P 波的峰谷连线为基线,测量其与 J 点的距离(即 ΔJ)。实验前,实验后 15,30,60,90,120 min,24 h 观察大鼠心电图改变。

2.2.2 大鼠心肌组织病理形态学观察 颈总动脉取血后解剖大鼠,取左心室缺血区心肌组织,以 10% 中性福尔马林固定,常规石蜡包埋,切片,HE 染色,光学显微镜下观察心肌病理组织学改变^[5]。

2.2.3 大鼠心肌组织病理学检查指标半定量统计学分析 每例标本取 6 个部位,即左(近、中、远)和右(近、中、远)6 张切片进行半定量统计分析^[2]。

2.2.3.1 血管扩张充血 心肌血管管腔扩张,腔内充满大量红细胞。无该病变,“-”,记 1 分;出现该病变 ~ 占心肌 30% 以下“+”,记 2 分;占心肌 30%~50%“++”,记 3 分;占心肌 50% 以上“+++”,记 4 分。将每一标本 5 个部位得分相加,进行秩和检验。

2.2.3.2 心肌间质水肿 心肌间质结构疏松,细胞间距增宽,水肿液形成,染色浅淡。无该病变,“-”,记 1 分;出现该病变 ~ 占心肌间质 30% 以下“+”,记 2 分;占心肌间质 30%~50%“++”,记 3 分;占心肌间质 50% 以上“+++”,记 4 分。将每一标本 5 个部位得分相加,进行秩和检验。

2.2.3.3 心肌变性 心肌组织结构存在,细胞形态模糊,胞浆内出现空泡、脂滴等。无该病变,“-”,记 1 分;出现该病变 ~ 占心肌 30% 以下“+”,记 2 分;占心肌 30%~50%“++”,记 3 分;占心肌 50% 以上“+++”,记 4 分。将每一标本 5 个部位得分相加,进行秩和检验。

2.2.3.4 心肌坏死 心肌组织结构破坏消失,细胞形态模糊或破坏消失,胞浆染色加深,细胞核固缩、碎裂、溶解消失。无该病变,“-”,记 1 分;出现该病变 ~ 占心肌 30% 以下“+”,记 2 分;占心肌 30%~50%“++”,记 3 分;占心肌 50% 以上“+++”,记 4 分。将每一标本 5 个部位得分相加,进行秩和检验。

2.2.3.5 炎细胞浸润 心肌有淋巴细胞、浆细胞、巨嗜细胞、中性粒细胞等炎细胞弥漫、散在或灶性浸润。无该病变,“-”,记 1 分;散在的炎细胞浸润及占心肌 30% 以下“+”,记 2 分;较多的炎细胞浸润及占心肌 30%~50%“++”,记 3 分;大量的炎细胞浸润及占心肌 50% 以上“+++”,记 4 分。将每一标本 5 个部位得分相加,进行秩和检验。

2.3 统计学处理 所有数据均用 SPSS 10.0 软件包处理,试验结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,对心肌组织病理学检查各指标采用

非参数统计中的两样本比较的秩和检验进行半定量统计分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对 AMI 大鼠心电图的影响 和假手术组相比,模型组大鼠结扎左冠状动脉前降支后,心电图 J

点明显抬高,随着时间的延长,逐渐降低,表明模型组大鼠心肌梗死明显($P < 0.01$);血脉通胶囊高、中剂量组对大鼠结扎左冠状动脉前降支诱导的心电图 J 点升高具有明显的对抗作用, ΔJ 与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 1。

表 1 血脉通胶囊对 AMI 大鼠心电图(ΔJ)的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

mV

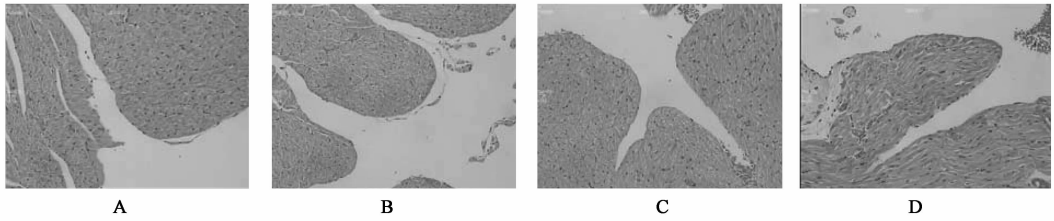
组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	手术前 ΔJ	手术后 ΔJ					
			15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	24 h
假手术	-	0.08 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.03	0.08 ± 0.03	0.09 ± 0.03
模型	-	0.11 ± 0.05	0.30 ± 0.08 ¹⁾	0.25 ± 0.08 ¹⁾	0.21 ± 0.05 ¹⁾	0.20 ± 0.06 ¹⁾	0.23 ± 0.05 ¹⁾	0.18 ± 0.05 ¹⁾
XMT	420	0.07 ± 0.04	0.17 ± 0.08 ²⁾	0.15 ± 0.04 ²⁾	0.13 ± 0.03 ²⁾	0.11 ± 0.03 ²⁾	0.10 ± 0.03 ³⁾	0.10 ± 0.02 ³⁾
	210	0.11 ± 0.04	0.25 ± 0.07	0.23 ± 0.04	0.21 ± 0.03	0.17 ± 0.01	0.13 ± 0.02 ³⁾	0.11 ± 0.02 ²⁾
	105	0.07 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.05	0.17 ± 0.06	0.18 ± 0.05	0.18 ± 0.06	0.16 ± 0.04

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 2,4~6 同)。

3.2 心肌组织病理学改变

3.2.1 光镜观察 HE 染色显示,假手术组:心肌纤维排列整齐,心肌间质未见明显水肿及血管扩张;模型组:肌纤维溶解破坏,肌小节排列紊乱不规律,

心外膜可见灶状坏死;血脉通胶囊高、中剂量组:心肌总体病变较模型组轻,仍可见部分心肌细胞变性,坏死不明显,心肌组织细胞核大小均匀,呈现轻度水肿及血管扩张(图 1~3)。



A. 假手术组;B. 模型组;C. XMT 420 mg·kg⁻¹组;D. XMT 210 mg·kg⁻¹组(图 2~3 同)

图 1 XMT 对 AMI 大鼠心内膜病理改变的影响(HE, ×100)

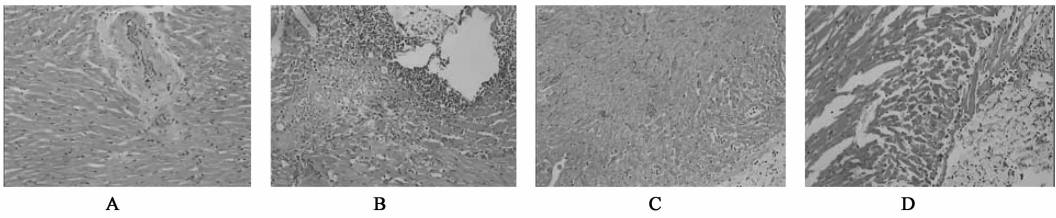


图 2 XMT 对大鼠 AMI 心肌病理改变的影响(HE, ×100)

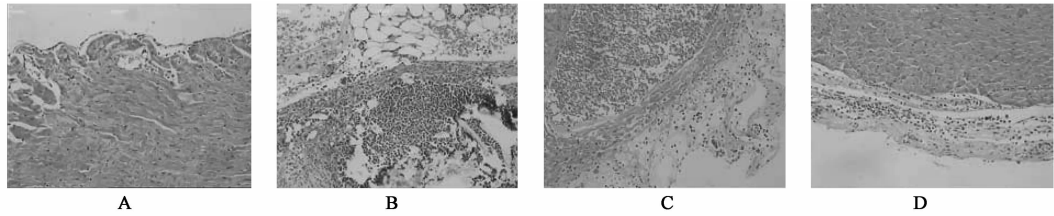


图 3 XMT 对 AMI 大鼠心外膜病理改变的影响(HE, ×100)

3.2.2 大鼠心肌组织病理学检查 试验结果表明,模型组大鼠心肌纤维肿胀,多处断裂,肌横纹消失,空泡变性明显;血管淤血,管壁扩张,管腔增大;内膜

细胞局部排列紊乱,核肿胀变圆甚至脱失;间质水肿,有较多炎细胞浸润,组织间隙明显增宽,与假手术组比较差异显著($P < 0.01$);血脉通胶囊高、中剂

量组以上形态学改变均有不同程度改善,与模型组比较差异显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 2~6。

表 2 XMT 对 AMI 大鼠心肌组织血管扩张充血程度的影响($n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	心肌组织血管扩张充血 动物分布/只								平均分
		9	10	11	12	13	14	15	16	
		假手术	-	7	1	0	0	0	0	
模型	-	0	0	0	0	0	0	0	8	16.00 ¹⁾
XMT	420	0	2	3	3	0	0	0	0	11.13 ²⁾
	210	0	0	3	3	2	0	0	0	13.13 ²⁾
	105	0	0	1	2	3	2	0	0	14.00

表 3 XMT 对 AMI 大鼠心肌间质水肿程度的影响($n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	心肌间质水肿动物分布/只								平均分
		9	10	11	12	13	14	15	16	
		假手术	-	6	1	1	0	0	0	
模型	-	0	0	0	0	0	0	0	8	16.00 ¹⁾
XMT	420	0	0	4	4	0	0	0	0	11.50 ²⁾
	210	0	0	2	3	3	0	0	0	12.13 ²⁾
	105	0	0	0	0	1	4	3	0	14.25

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

表 4 XMT 对 AMI 大鼠心肌变性程度的影响($n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	心肌变性动物分布/只								平均分
		9	10	11	12	13	14	15	16	
		假手术	-	8	0	0	0	0	0	
模型	-	0	0	0	0	0	0	1	7	15.88 ¹⁾
XMT	420	0	0	4	2	2	0	0	0	11.75 ²⁾
	210	0	0	1	4	3	0	0	0	12.25 ²⁾
	105	0	0	0	0	0	4	4	0	14.50

表 5 XMT 对 AMI 大鼠心肌坏死程度的影响($n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	心肌坏死动物分布/只								平均分
		9	10	11	12	13	14	15	16	
		假手术	-	8	0	0	0	0	0	
模型	-	0	0	0	0	0	1	1	6	15.63 ¹⁾
XMT	420	0	4	2	2	0	0	0	0	10.75 ³⁾
	210	0	0	2	2	3	1	0	0	12.38 ²⁾
	105	0	0	0	0	4	2	2	0	13.75

4 讨论

AMI 属中医“胸痹心痛、厥心痛和真心痛”的范畴,中医认为其病机多为心阳亏虚、痰瘀阻络,中医辨证施治,应以温通心阳、化痰通络为其基本治法^[6]。血脉通胶囊是在苗族常用并且有效的民族药经验方,是由鸡眼睛、丹参、川芎、粉葛、栀子、泽泻、桂枝等多味中药组成的复方制剂。具有温通心阳、化痰通络的功效^[1]。

本研究发现与假手术组相比,模型组大鼠结扎

表 6 XMT 对 AMI 大鼠心肌组织炎细胞浸润程度的影响($n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	心肌组织炎细胞浸润 动物分布/只								平均分
		9	10	11	12	13	14	15	16	
		假手术	-	8	0	0	0	0	0	
模型	-	0	0	0	0	0	0	7	1	15.13 ¹⁾
XMT	420	0	2	2	2	1	1	0	0	11.63 ²⁾
	210	0	0	1	2	3	2	0	0	12.75 ²⁾
	105	0	0	0	0	2	3	3	0	14.13

左冠状动脉前降支后,心电图 J 点明显抬高,随着时间的延长,逐渐降低,病理学方面明显可见模型组大鼠心肌纤维肿胀,多处断裂,肌横纹消失,空泡变性明显;血管瘀血,管壁扩张,管腔增大;内膜细胞局部排列紊乱,细胞核肿胀变圆甚至脱失;间质水肿,有较多炎细胞浸润,组织间隙明显增宽,该心电图特点及病理学特点与其他学者研究是相一致的^[7]。而在血脉通胶囊高、中剂量组,本研究发​​现结扎左冠状动脉前降支诱导的心电图 ΔJ 与模型组比较有显著性差异,且发现模型组而在中、高剂量组心肌组织血管扩张充血程度、心肌间质水肿程度、大鼠心肌变性、坏死程度、炎细胞浸润程度都有不同程度减轻。由此可见,血脉通胶囊有抗 AMI 作用,能保护心肌的功能。

在既往的研究中发现心肌梗死的发生与进行性加重与多方面因素有关^[8-9],目前发现基质金属蛋白酶家族^[10]、肿瘤坏死因子家族中的细胞因子^[11-12]、C 反应蛋白^[13-14]均参与了梗死后细胞凋亡、炎症的浸润、心肌细胞及间质的水肿。因此进一步探讨血脉通胶囊与基质金属蛋白酶家族、肿瘤坏死因子家族中的细胞因子、C 反应蛋白之间的相关性是进一步研究的方向,以期发现血脉通胶囊对抗急性心肌梗死的机制。

[参考文献]

- [1] 叶兰,张晴,胡颖,等. 血脉通胶囊对大鼠急性心肌缺血 MMP-9 和 NF- κ B 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(23): 3203.
- [2] 陈晓虎,杜斌,江磊磊,等. 血脉通胶囊对不稳定型心绞痛患者血小板表面 α 颗粒膜蛋白-140、D-二聚体的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 2(7): 788.
- [3] 汪电雷,戴敏,李后开. 血脉通胶囊对实验性动脉粥样硬化家兔血液流变性的影响[J]. 中国中医药科技, 2006, 9(1): 28.

苦参碱对豚鼠心室肌细胞钠离子通道电流的影响

韦祎¹, 唐汉庆^{2*}, 李晓华²

(1. 海南医学院, 海口 571199; 2. 右江民族医学院, 广西百色 533000)

[摘要] 目的: 观察苦参碱对豚鼠心室肌细胞钠离子通道电流(I_{Na})的影响, 探讨其抗心律失常的作用机制。方法: 豚鼠随机分为正常对照组、乌头碱组和苦参碱组。每组 8 只。乌头碱组以 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乌头碱灌流 10 min, 苦参碱组在乌头碱组基础上, 以 $10, 50, 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 苦参碱灌流 20 min。采用膜片钳全细胞记录技术记录豚鼠单个心肌细胞钠电流并绘制电流密度电流强度(PA)/细胞膜电容(pF)曲线。结果: $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乌头碱显著增大 I_{Na} (-92.62 ± 6.5) pA/pF [和对照组比较 (-66.24 ± 4.8) pA/pF, $P < 0.05$]。在乌头碱灌流基础上, $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 苦参碱对 I_{Na} 没有明显作用, $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 可使 I_{Na} 减小至 (-49.21 ± 5.1) pA/pF (和乌头碱组比较 $P < 0.05$), $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 又使 I_{Na} 稍微增大 (和对照组比较 $P > 0.05$)。结论: 苦参碱抑制 I_{Na} 电流, 呈浓度依赖性, 浓度较高时抑制 I_{Na} 电流作用减弱, 表现为双向调节的药理作用, 可能是苦参碱抗心律失常作用温和持久的机制之一。

[关键词] 苦参碱; 心律失常; 钠离子通道; 膜片钳

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)20-0199-04

[doi] 10.11653/syjf2013200199

Influence of Matrine on Sodium Channel Current of Ventricle Muscle Cells in Guinea Pigs

WEI Yi¹, TANG Han-qing^{2*}, LI Xiao-hua²

(1. Hainan Medical University, Haikou 571199, China;

[收稿日期] 20130201(007)

[通讯作者] * 唐汉庆, 副教授, 中西医结合基础研究, E-mail: iloveyouverymuch0000@yahoo.com.cn

- [4] 王靓, 侯晓燕, 黄金, 等. 苓桂术甘汤对急性心肌梗死后心室重构模型大鼠 NF- κ B 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(20): 176.
- [5] 杨雷, 毛秉豫, 徐国昌. 黄芪和丹参提取物配伍对大鼠心肌梗死后心肌组织病理变化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(8): 168.
- [6] 冷报浪. 《金匱要略》“胸痹”范畴的探讨[J]. 光明中医, 2000, 1(5): 3.
- [7] 陈世前, 龙维富, 吴文超, 等. 大鼠急性心肌梗死后心脏血流动力学参数、心肌组织病理学及 c-kit mRNA 表达的变化[J]. 生物医学工程学杂志, 2009, 23(3): 86.
- [8] 许波华, 许立. 中药抗心肌缺血作用机制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 275.
- [9] 地兰, 张晴, 黄勇攀, 等. 血脉通胶囊对大鼠急性心肌梗死 MMP-9 和 NF- κ B 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(23): 3203.
- [10] Cohn J N, Ferrari R, Sharpe N, et al. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications; consensus paper from an international forum on cardiac remodeling [J]. J Am Coll Cardiol, 2000, 35(3): 569.
- [11] Karpas M, Hsu Y M, Wang J H, et al. A crystal structure of an extracellular fragment of human CD40 ligand [J]. Structure, 1995, 3(10): 1031.
- [12] Mach F, Schonbeck U, Sukhova G K, et al. Functional ligand is expressed on human vascular endothelial cells, and macrophages; implications for CD40-CD40 ligand signaling in atherosclerosis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(3): 1931.
- [13] Habib S S, Kurdi M I, A L Aseri Z, et al. CRP levels are higher in patients with ST elevation than non-ST elevation acute [J]. Arq Bras Cardiol, 2011, 96(1): 13.
- [14] Nesar Hossein V, Yosef Nejad K, Abdollahian F. Short-term therapy with high dose atorvastatin in patients with coronary artery disease can reduce inflammatory process [J]. Acta Med Iran, 2010, 48(4): 218.

[责任编辑 聂淑琴]