

·方药研究·

本文引用:王瑾茜,胡国恒,蔺晓源,刘侃.益气活血方对气虚血瘀型冠心病模型大鼠的影响研究[J].湖南中医药大学学报,2020,40(5):529-534.

益气活血方对气虚血瘀型冠心病模型大鼠的影响研究

王瑾茜^{1,2},胡国恒^{2*},蔺晓源¹,刘侃¹

(1.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙410007;2.湖南中医药大学,湖南长沙410208)

[摘要] **目的** 探讨益气活血方对气虚血瘀型冠心病模型大鼠的影响。**方法** 32只SD大鼠随机分为空白组、模型组、益气活血方组和芪参益气滴丸组,每组8只。除空白组外,各组均采用“游泳力竭+控制饮食+结扎冠状动脉左前降支”制备病证结合气虚血瘀型冠心病动物模型,时间均为11d。造模结束后,分别灌胃予以相应干预14d。采集大鼠心电图,进行Morris水迷宫、旷场实验并HE染色、Masson染色,并采用ELISA检测血浆纤溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor-1,PAI-1)、血管性假血友病因子(von Willebrand factor,vWF)、组织型纤溶酶原激活剂(tissue-type plasminogen activator,t-PA)的含量。**结果** 与空白组比较,模型组心电图ST段抬高;Morris水迷宫实验潜伏期延长($P<0.01$),穿台次数显著减少($P<0.01$);旷场实验水平得分、垂直得分减少($P<0.05$),中心活动时间延长($P<0.05$),角落活动时间、周边活动时间均减少,焦虑程度降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);心肌细胞排列较紊乱,在梗死灶周围出现核破裂,血浆中PAI-1、vWF水平明显增高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),t-PA水平明显降低($P<0.05$)。与模型组比较,益气活血方组心电图ST段恢复正常;Morris水迷宫潜伏期显著缩短($P<0.01$),穿台次数显著增加($P<0.01$);旷场实验中心活动时间减少($P<0.05$),角落活动时间延长($P<0.05$),焦虑程度增高($P<0.05$);梗死灶周围心肌细胞排列整齐,心肌细胞凋亡指数降低($P<0.05$);血浆中PAI-1、vWF水平均降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),t-PA水平增高($P<0.05$)。**结论** 病证结合动物模型更能满足中西医结合研究的需要;益气活血方能有效修复气虚血瘀型冠心病模型大鼠心肌细胞损伤并改善记忆力减退、健忘、疲劳及反应迟钝的症状,且改善高凝状态的机制与调节vWF、PAI-1、t-PA水平有关。

[关键词] 益气活血方;气虚血瘀;冠心病;记忆能力;血浆纤溶酶原激活物抑制剂;血管性假血友病因子;组织型纤溶酶原激活剂

[中图分类号]R285.5;R256.22

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.05.004

Effects of Yiqi Huoxue Formula on Coronary Heart Disease Rats with Qi Deficiency and Blood Stasis Syndrome

WANG Jinxi^{1,2}, HU Guoheng^{2*}, LIN Xiaoyuan¹, LIU Kan¹

(1. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effects of Yiqi Huoxue Formula on the model rats of coronary heart disease with Qi deficiency and blood stasis. **Methods** A total of 32 SD rats were randomly divided into a blank group, a model group, a Yiqi Huoxue Formula group and a Qishen Yiqi dropping pill group, with 8 rats in each group. Except for the blank group, each group used "swimming exhaustion + diet control + ligation of left anterior descending branch of coronary artery" to prepare the animal model of coronary heart disease combined with Qi deficiency and blood stasis syndrome, and the duration was 11 days. At

[收稿日期]2019-09-25

[基金项目]国家自然科学基金项目(81573941);湖南中医药大学校级科研基金项目(2018XJJJ33);湖南中医药大学中医学国内一流建设学科开放基金项目(2018ZYX45)。

[作者简介]王瑾茜,女,在读博士研究生,研究实习生,主要从事心脑血管疾病的中医药防治研究。

[通讯作者]*胡国恒,男,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:hugh9198@163.com。

the end of modeling, the drugs were given by gavage for 14 days. ECG of rats were obtained. Morris water maze, open field test, HE staining and Masson staining were performed. The contents of plasminogen activator inhibitor (PAI-1), von Willebrand factor (vWF), tissue plasminogen activator (t-PA) were measured by ELISA. **Results** Compared with the blank group, ST segment of ECG in the model group was elevated; in the Morris water maze experiment, the latency was prolonged ($P<0.01$), and the number of platform penetration was significantly shortened ($P<0.01$); For the open field experiment, the horizontal score and vertical score were decreased ($P<0.05$), and the central activity time was prolonged ($P<0.05$). The corner activity time, the peripheral activity time, and the degree of anxiety were decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$); the arrangement of myocardial cells was more disordered, with nuclear rupture around the infarct. In the plasma, the expression of PAI-1, vWF were significantly increased ($P<0.05$ or $P<0.01$) and t-PA was decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, ST segment of ECG in Yiqi Huoxue Formula group returned to normal, and the latency of Morris water maze was significantly shortened ($P<0.01$). The times of platform penetration was significantly prolonged ($P<0.01$), and the central activity time of open field experiment was decreased ($P<0.05$). The activity time of corner was prolonged ($P<0.05$), and the anxiety degree was increased ($P<0.05$). The arrangement of myocardial cells around the infarct was orderly, and the apoptosis index of myocardial cells was decreased ($P<0.05$). The PAI-1 and vWF levels in plasma were decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$). The level of t-PA increased ($P<0.05$). **Conclusion** The animal model of the combination of disease and syndrome can better meet the needs of the study of the combination of traditional Chinese and western medicine. Yiqi Huoxue Formula can effectively repair the myocardial cell injury of the model of coronary heart disease of Qi deficiency and blood stasis, improve the symptoms of memory loss, forgetfulness, fatigue and slow response, and the mechanism of improving the hypercoagulable state is related to the regulation of vWF, PAI-1 and t-PA levels.

[**Keywords**] Yiqi Huoxue Formula; Qi deficiency and blood stasis; coronary heart disease; memory ability; plasminogen activator inhibitor; von Willebrand factor; tissue plasminogen activator

冠心病(coronary artery heart disease, CHD)是指因冠状动脉阻塞等原因导致心脏的血液灌注减少,从而引起心肌缺血缺氧、能量代谢失常的一种病理状态^[1]。世界卫生组织 WHO 最新报道,因心血管疾病引发的死亡率占全球死亡人数的 30%^[2],CHD 在中医学归属“胸痹”“心痛”“真心痛”等的范畴,气虚血瘀证为 CHD 最常见证型^[3]。益气活血方是湖南省名老中医胡国恒教授的经验方,临床治疗 CHD 疗效显著^[4]。本研究中,我们采用“游泳力竭+控制饮食+结扎冠状动脉左前降支”制备气虚血瘀型 CHD 病证结合动物模型,观察了益气活血方对模型大鼠行为学、心电图、病理形态学、血浆纤溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor-1,PAI-1)、血管性假血友病因子(von Willebrand factor,vWF)、组织型纤溶酶原激活剂(tissue-type plasminogen activator,t-PA)水平的影响,以期对益气活血方治疗气虚血瘀型 CHD 提供一定的实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选用 SPF 级健康雄性 SD 大鼠,8 周龄,体质量(280±20) g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物许可证号:SYXK(湘)2016-0003,饲养于湖

南中医药大学第一附属医院 SPF 级动物房,使用许可证号为 SYXK(湘)2015-0003。

1.2 药物与主要试剂

益气活血方由黄芪 30 g,当归 12 g,川芎 15 g,丹参 15 g 组成,中药饮片购自湖南中医药大学第一附属医院。取益气活血方加入处方剂量 10 倍水,浸泡 30 min 后,沸水文火慢煎 2 次,每次 40 min,合并 2 次药液,过滤,浓缩至 1.6 g/mL,4 ℃冰箱保存;芪参益气滴丸(天津天力士制药集团股份有限公司,批号:150208)。

水合氯醛(上海联硕生物科技有限公司,批号:032819);DAB 显色液(美国 Sigma 技术有限公司,批号:46658);注射用青霉素钠(华北制药股份有限公司,批号:869037);PAI-1 ELISA 测定试剂盒(货号:ab142349),vWF ELISA 测定试剂盒(货号:ab108918)、t-PA ELISA 测定试剂盒(货号:ab192151)均购自于上海艾博抗科技有限公司,苏木素伊红(HE)染色试剂盒(批号:20150420)、Masson 三色法染色试剂盒(批号:20150424)均购自于上海歌凡生物科技有限公司。

1.3 主要仪器

酶标仪(普天新桥技术有限公司,北京);ALC-V10 型呼吸机(奥尔科特生物技术有限公司,上海);

TP-2200B 型电子天平(湘仪实验仪器开发有限公司,长沙);Z32HK 型台式冷冻离心机(Microsystems 有限公司,美国);XG1D 型脉冲真空管灭菌锅(新华技术有限公司,山东);101 型电热鼓风干燥箱(永光明医疗仪器有限公司,北京);BL-420 型心电图、Morris 水迷宫(泰盟机械有限公司,成都);荧光显微镜、RM2125RTS 型手动轮转式切片机、BOND-MAX 型全自动免疫组化染色机(徕卡生物有限公司,德国)。

1.4 模型制作与分组干预

大鼠适应性喂养 1 周后,根据体质量按完全随机数字表法随机分为 4 组:空白组、模型组、益气活血方组、芪参益气滴丸组,每组 8 只。其中模型组、益气活血方组、芪参益气滴丸组参照文献[5]方法制备气虚血瘀型冠心病动物模型:在实验第 1~10 天进行力竭游泳造模,每次以大鼠沉入水中 10 s,以头不能露出水平面为准。频率为 1 次/d,游泳后捞出,室温放置让其水分自然蒸发。力竭游泳造模同时开始控制摄食量,大鼠每日摄入正常食量的 1/2 饲料,连续 10 d。实验第 11 天,模型组、益气活血方组、芪参益气滴丸组进行高位结扎左冠状动脉前降支手术。具体方法如下:左前胸去毛,顺肋间隙方向于胸骨左旁第 3~4 肋间切开皮肤,长约 1 cm,切开心包,在左心耳前下方用零号医用缝合线结扎血管缝针,记录标准 II 导联心电图。造模成功标志:以心电图 ST 段弓背向抬高的改变及左室前壁向外膨胀发绀、搏动减弱为结扎成功标志。术后每只腹腔注射青霉素 8 万 U,连续 3 d 以抗感染,手术 1 d 后,益气活血方组给予益气活血方 6.48 g/kg 灌胃(以 70 kg 成人药剂量 72 g/kg 换算),芪参益气滴丸组给予芪参益气滴丸灌胃 0.14 g/kg(以 70 kg 成人药剂量 1.5 g/kg 换算),空白组、模型组予以等体积蒸馏水灌胃。1 次/d,连续灌胃 14 d。

1.5 指标检测

1.5.1 心电图采集 以冠状动脉左前降支结扎术后第 3 天上午 8:00 为统一观察时间点,观察各组大鼠心电图变化。

1.5.2 Morris 水迷宫实验 给药第 10 天开始,将各组大鼠从平台正对象限处头朝池壁放入水中,自由寻找平台,若 90 s 后不能找到平台,引导至平台停留 15 s。连续训练 4 d,每天 1 次,训练完成后,第 5 天上午于采集心电图前开始正式实验。自动摄像系统和计算机分析处理系统记录每只动物进入隐藏平台所在象限的时间(潜伏期)及穿台次数。整个测

试过程保持绝对安静。

1.5.3 旷场分析 在大鼠末次给药 1 h 后进行观察,箱内共有 5×5 大格,规定中间 9 格为中心区域,角落的 4 格为角落区域,其余 12 格为周边区域。记录 5 min 之内各组大鼠在不同区域的活动时间。计算水平得分:以大鼠后肢跨入 1 格为评判标准,记录大鼠水平穿越格子的次数;垂直得分:以大鼠双前肢离地为评判标准,记录大鼠站立的次数。并计算焦虑程度。

焦虑程度=(角落活动时间+周边活动时间)/中心活动时间

1.5.4 HE 染色 各组大鼠在旷场实验完成后,用 10%水合氯醛(3 mL/kg)腹腔注射麻醉,腹主动脉取血后迅速剖开胸腔,取心肌梗死灶组织块,直径约 0.3 cm 左右,4%多聚甲醛中固定,以不同浓度的酒精脱水,二甲苯透明,将已透明的组织块置于已溶化的石蜡中,浸蜡,包埋,切成 5 μm 厚薄片,以二甲苯脱蜡,入 100%、95%、85%、70%酒精,经蒸馏水转入染液,苏木精染液染色,水洗玻片上多余染液,伊红染液染色 5 min。以树胶封片。在荧光显微镜高倍(×40)视野下拍摄,每组随机选择 5 张,每张切片随机选择 5 个视野。

1.5.5 Masson 染色 各组大鼠取心肌梗死灶组织块,脱水透明,浸蜡包埋,切成 5 μm 厚薄片,在每一个标本中各取已制备的薄片 1 张,应用末端脱氧核苷酸转移酶所介导 dUTP 缺口末端标记法进行标记心肌凋亡细胞核中 DNA3-OH 的末端,并采用原位荧光法对凋亡细胞进行标记与显示。在荧光显微镜高倍(×40)视野下观察每张切片标本,每组随机选择 5 张,每张切片随机选择 5 个视野,并计算凋亡指数。

凋亡指数=凋亡心肌细胞核数/正常心肌细胞核数

1.5.6 ELISA 法检测血浆 PAI-1、vWF、t-PA 水平 各组大鼠腹主动脉取血,3 mL/只,按 1:1 比例加入等体积 0.05 mol 的 HCL,将 PAI-1、vWF、t-PA 抗原用包被液稀释至 0.5~20 μg/mL,37 °C 恒温箱孵育 4 h,洗板后用 5%小牛血清封闭 40 min,洗涤后按顺序加入稀释好的标准液处理过的待检样品及阴性对照、阳性对照,37 °C 恒温箱孵育 1 h,洗涤后加入 TMB 底物溶液避光孵育 5 min,终止液终止反应后,于 20 min 内放入酶标仪检测各组光密度(OD)值。

1.6 统计方法

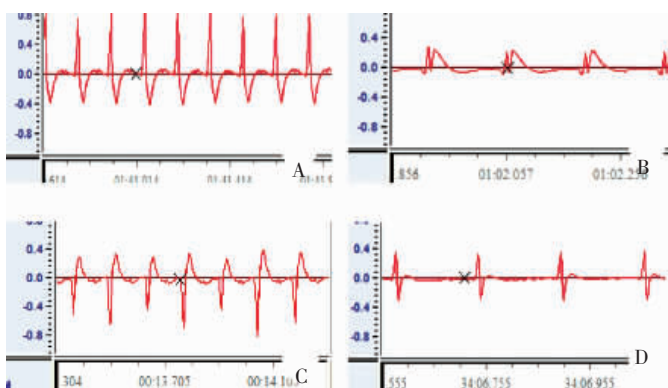
采用统计学软件 SPSS 22.0 分析实验数据,计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,两组比较,如果满足正态及方差齐性,采用成组 *t* 检验,不满足者采用秩和检验。

$P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 益气活血方对模型大鼠心电图的影响

空白组心电图正常,模型组出现 ST 段抬高,呈“弓背向上”抬高,为心肌梗死特异性指标之一,且 QRS 波抬高、增宽。益气活血方组呈 T 波低平改变,芪参益气滴丸组呈现 T 波倒置而 ST-T 无明显抬高的心电图。见图 1。



注:A.空白组;B.模型组;C.益气活血方组;D.芪参益气滴丸组

图 1 各组大鼠心电图采集

2.2 Morris 水迷宫

与空白组比较,模型组潜伏期延长($P < 0.01$),穿台次数显著减少($P < 0.01$);与模型组比较,益气活血方组、芪参益气滴丸组潜伏期显著缩短($P < 0.01$),穿台次数显著增加($P < 0.01$);而益气活血方组与芪参益气滴丸组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1,图 2。

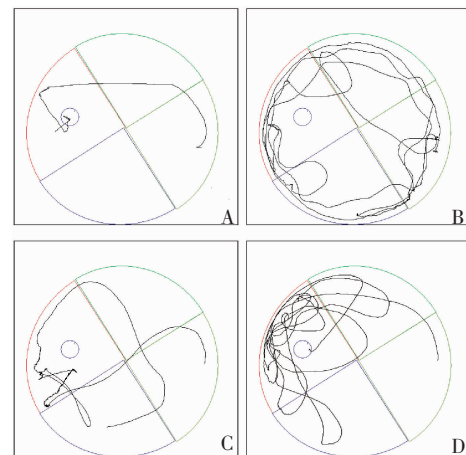
2.3 旷场分析

与空白组比较,模型组水平得分、垂直得分减少($P < 0.05$),中心活动时间延长($P < 0.05$),角落活动时间、周边活动时间减少,焦虑程度降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与模型组比较,益气活血方组、芪参益气滴丸组中心活动时间减少($P < 0.05$),角落活动时间延长($P < 0.05$),焦虑程度增高($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 各组大鼠 Morris 水迷宫比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	潜伏期/s	穿台次数/次
空白组	68.26±9.10	2.12±1.05
模型组	92.62±11.16 ^{▲▲}	0.62±0.52 ^{▲▲}
益气活血方组	72.23±13.04 ^{##}	1.89±1.63 ^{##}
芪参益气滴丸组	73.34±11.68 ^{##}	1.90±0.68 ^{##}
F 值	23.58	23.47
P 值	0.002	0.000

注:与空白组比较,▲▲ $P < 0.01$;与模型组比较,## $P < 0.01$



注:A.空白组;B.模型组;C.益气活血方组;D.芪参益气滴丸组

图 2 各组大鼠 Morris 水迷宫图像采集

2.4 各组大鼠心肌 HE 染色比较

空白组 HE 染色可见心肌细胞整齐、致密、均匀排列,无核固缩甚至碎裂溶解。模型组心肌细胞排列较紊乱,在梗死灶周围出现核破裂;心肌细胞肥大且间隙不清,心肌纤维走行较为紊乱,间质可见大量炎性细胞浸润,心肌间质出现。益气活血方组心肌细胞排列整齐,在纤维组织中出现核固缩,周围血管有明显的蓝色胶原纤维替代心肌组织且排列整齐;芪参益气滴丸组可见少许炎性细胞浸润,间质无充血。见图 3。

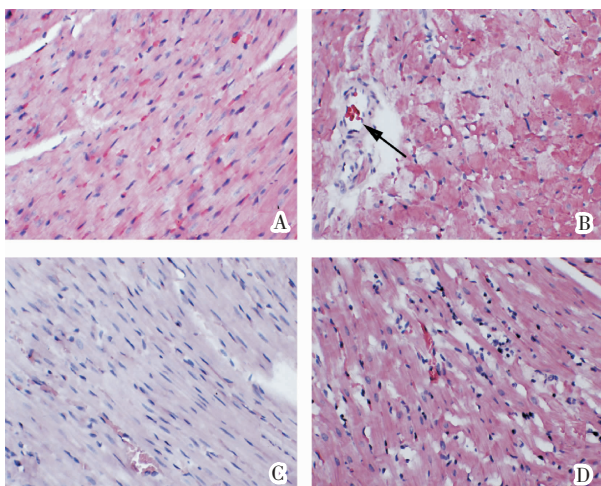
2.5 各组大鼠心肌 Masson 染色比较

Masson 染色正常细胞核染色呈蓝色,肌纤维呈红色,胶原纤维染色蓝色或绿色。染色涂片可发现空

表 2 各组旷场分析比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	水平得分	垂直得分	中心活动时间/s	角落活动时间/s	周边活动时间/s	焦虑程度
空白组	90.24±20.33	25.53±10.51	12.69±5.60	158.38±24.87	129.12±5.68	22.81±2.66
模型组	70.63±2.34 [▲]	18.58±14.52 [▲]	40.60±2.37 [▲]	136.46±26.45 [▲]	123.00±4.20 [▲]	6.39±4.50 ^{▲▲}
益气活血方组	72.52±5.90	23.62±10.24	32.56±5.97 ^{##}	143.23±29.24 ^{##}	124.31±5.90	8.23±1.56 ^{##}
芪参益气滴丸组	75.34±6.35	22.25±9.52	35.33±6.32 ^{##}	140.67±30.54 ^{##}	124.12±1.25	7.50±3.91 ^{##}
F 值	22.54	23.46	21.55	22.87	21.85	23.10
P 值	0.013	0.025	0.000	0.016	0.024	0.000

注:与空白组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与模型组比较,## $P < 0.05$



注:A.空白组;B.模型组;C.益气活血方组;D.芪参益气滴丸组
图 3 心肌组织染色病理切片显微图(HE,×40)

白组细胞核分布均匀、轮廓清楚,肌纤维呈红色且排列整齐;模型组细胞核排列紊乱、分布不均,肌纤维染色呈深浅不一的黄褐色,已坏死心肌结构模糊不清,可见梗死区心肌组织胶原细胞增多;益气活血方组细胞核分布均匀,肌纤维呈深褐色且密集排列;芪参益气滴丸组细胞核排列整齐,可见梗死区心肌组织胶原细胞降解痕迹。见图 4。

与空白组相比,模型组心肌细胞凋亡指数增大($P<0.05$);与模型组相比,益气活血方组、芪参益气滴丸组细胞凋亡指数显著减小($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。益气活血方组与芪参益气滴丸组相比,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

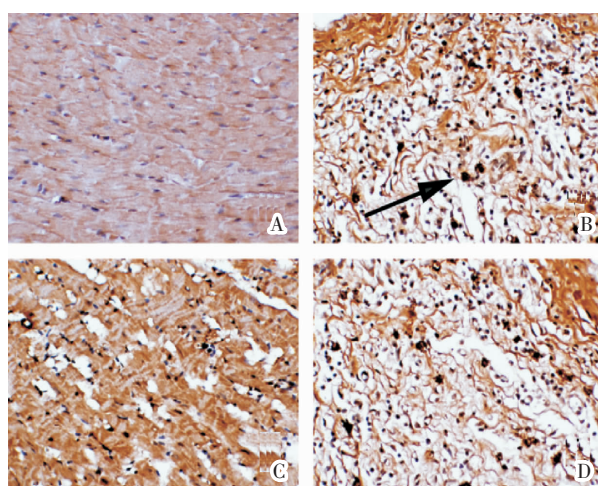
表 3 各组大鼠心肌细胞凋亡指数比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	凋亡指数
空白组	3.89±2.03
模型组	14.11±3.55 ^{▲▲}
益气活血方组	6.44±4.23 ^{##}
芪参益气滴丸组	8.78±4.60 [#]
F 值	21.25
P 值	0.038

注:与空白组比较,▲▲ $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.05$,### $P<0.01$

2.6 益气活血方对模型大鼠血浆 PAI-1、vWF、t-PA 水平的影响

模型组与空白组比较,血浆中 PAI-1、vWF 表达明显增高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)、t-PA 表达明显降低($P<0.05$)。经过给药后,益气活血方组、芪参益气滴丸组 PAI-1、vWF 表达水平降低,而 t-PA 表达水平升高,与模型组比较差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。而益气活血方组与芪参益气滴丸组比较差异不显著($P>0.05$)。见表 4。



注:A.空白组;B.模型组;C.益气活血方组;D.芪参益气滴丸组
图 4 心肌组织染色病理切片显微图(Masson,×40)

表 4 各组大鼠血浆 PAI-1、vWF、t-PA 水平比较($\bar{x}\pm s, n=8, \mu\text{g/L}$)

组别	PAI-1	vWF	t-PA
空白组	38.12±5.67	33.23±4.88	34.45±4.36
模型组	46.21±4.37 [▲]	48.13±5.57 ^{▲▲}	21.25±3.26 [▲]
益气活血方组	30.21±2.87 ^{##}	36.25±4.84 [#]	42.25±5.05 ^{##}
芪参益气滴丸组	35.25±6.79 [#]	38.45±3.56 [#]	41.47±3.67 ^{##}
F 值	28.24	23.52	21.32
P 值	0.032	0.006	0.024

注:与空白组比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.05$,### $P<0.01$

3 讨论

CHD 气虚血瘀证的发病率呈逐年上升趋势,西医主要采用冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)或冠状动脉旁路移植术(coronary artery bypass grafting, CABG),但在六个月的周期之内仍有 30% 的狭窄率^[6]。导师胡国恒教授临床使用益气活血方疗效显著。益气活血方全方由黄芪、当归、丹参、川芎四药组成,方中重用黄芪,温阳补气,气盛则血行,为君药;当归“破恶血,养新血”,为臣药;丹参“破宿血,补新生血”;川芎“血闭者能通,为血中气药”。诸药相互为用,以奏补气活血之效。课题组前期研究发现,运用益气活血方可促进心肌梗死模型大鼠肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、胰岛素生长因子(insulin-like growth factor, IGF)等的表达,并可提高内皮祖细胞动员、增殖、迁移及黏附能力,从而达到促进心肌缺血区心肌血管新生的目的,进而阐明了益气活血方促血管新生的作用机制^[7-11]。本实验在前期研究的基础上,沿用廖慧玲课题组造模方法(游泳力竭+

控制饮食+结扎冠状动脉左前降支)复制气虚血瘀型 CHD 病证结合模型,通过观察心电图、动物行为学、心肌病理形态学改变以及血浆中 PAI-1、t-PA 和 vWF 表达水平,进一步探讨益气活血方对气虚血瘀型 CHD 模型大鼠的影响。

本研究结果表明,模型组出现 ST 段抬高,呈“弓背向上”抬高,为心肌梗死特异性指标之一。益气活血方干预后,心电图由 T 波低平取代 ST 段抬高表现,提示进入恢复期。Morris 水迷宫实验是检测动物记忆水平的重要工具^[12],Morris 水迷宫实验发现模型组潜伏期均延长,穿台次数均显著减少,说明气虚血瘀型 CHD 病证结合模型大鼠可有记忆力减退、健忘表现;与模型组比较,益气活血方组潜伏期显著缩短,穿台次数显著增加,说明益气活血方能改善记忆力减退、健忘症状。旷场分析检测则主要反映动物对新环境的探索以及伴随的情绪变化^[13],在旷场实验中发现模型组中央格时间延长、角落活动时间减少、探索行为减少,反映了模型组大鼠对新环境的认知能力差,对未知危险的感知能力下降。益气活血方干预后大鼠中心活动时间减少,焦虑程度增高,说明益气活血方可改善大鼠体力疲劳,反应迟钝。HE 染色观察益气活血方干预后心肌细胞排列整齐,Masson 染色观察发现益气活血方组细胞核分布均匀,肌纤维呈深褐色且密集排列。

vWF 被视为内皮损伤的标记,当血液黏度升高或凝血酶异常时,vWF 释放入血导致血液中 vWF 异常增高^[14];t-PA 是体内纤溶系统的生理性激动剂,PAI-1 是 t-PA 的抑制剂,是纤溶系统主要的活性抑制物,具有清除纤维蛋白以及溶解血栓的作用^[15]。实验结果表明益气活血方能提高 t-PA 的表达,并降低 PAI-1 和 vWF 的表达,提示益气活血方能改善血液高凝状态。

综上所述,我们采用廖慧玲课题组造模方法复制气虚血瘀型 CHD 病证结合模型,造模后通过观察心电图、动物行为学、心肌病理形态学改变以及血浆中 PAI-1、t-PA 和 vWF 表达水平来评价模型,从结果看,采用这种病因结合病理多因素复制作气虚血瘀型 CHD 动物模型确实可行,同时具备中医的证

候特征和西医的病理学改变,更能满足辨证论治原则下开展中医药研究的需要。益气活血方能使气虚血瘀型 CHD 模型大鼠急性期心电图结果好转,改善心肌细胞损伤,记忆力减退、健忘及疲劳、反应迟钝的症状,并改善血液高凝状态,其机制可能与抑制 vWF、PAI-1 及促进 t-PA 释放有关。

参考文献

- [1] 耿 亚,马月香.冠心病中医证候动物模型研究进展[J].中国中医药信息杂志,2016,23(8):129-132.
- [2] LEMASTER K A, FARID Z, BROCK R W, et al. Altered post-capillary and collecting venular reactivity in skeletal muscle with metabolic syndrome[J]. Journal of Physiological Anthropology, 2017,595(15):5159-5174.
- [3] 高武霖,戴国华,史晓静,等.中医药干预冠心病不稳定性心绞痛患者的队列研究[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(6):228-234.
- [4] 胡国恒,王瑾茜,刘 侃.益气活血方治疗冠心病心肌缺血的临床观察[J].中国中医急症,2016,25(10):1940-1942.
- [5] 廖慧玲,尹思源,杨思进,等.从血液流变学看多因素复制作气虚血瘀脑缺血动物模型[J].陕西中医,2007,28(6):750-751.
- [6] 黄华力.参芪四物汤治疗冠心病 PCI 术后再发心绞痛气虚血瘀证的临床疗效观察[D].长沙:湖南中医药大学,2014.
- [7] 胡国恒,盛 望,李旭华.益气活血方对大鼠缺血心肌血管新生因子 Ang-1/Ang-2 表达的影响[J].中医药导报,2013,19(8):71-74.
- [8] 胡国恒,胡 哲,盛 望.益气活血方对大鼠缺血心肌血管新生及 HGF 影响的研究[J].中国中医急症,2013,22(9):1478-1479.
- [9] 胡国恒,王瑾茜,刘 侃.益气活血方治疗冠心病心肌缺血的临床观察[J].中国中医急症,2016,25(10):1894-1899.
- [10] 胡国恒,朱荣华,肖 青.益气活血方对大鼠缺血心肌血管新生作用及对血管内皮生长因子和碱性成纤维生长因子的影响[J].世界中医药,2017,12(10):2419-2422.
- [11] 胡国恒,龚 纯,王瑾茜,等.益气活血方对急性缺血性心肌大鼠 PDGF 表达的影响[J].中国中医急症,2017,26(9):1529-1532.
- [12] 赵洪庆,杜 青,柳 卓,等.不同抑郁模型大鼠行为学及神经营养因子表达的对比研究[J].湖南中医药大学学报,2019,39(7):822-826.
- [13] 刘文俊,高宇婷,窦 智,等.探讨旷场实验评价脾气虚和脾阳虚大鼠“神疲”的可能性及初步机制[J].中国当代医药,2017,24(21):4-6,10.
- [14] 徐 丹.复元胶囊对气虚血瘀证大鼠 t-PA、PAI 及 vWF 的影响[D].重庆:重庆医科大学,2012.
- [15] 曹 敏,周 端,王佑华,等.三七花对高血压患者血压及血浆 t-PA、PAI、vWF 的影响[J].上海中医药杂志,2012,46(3):47-48,58.

(本文编辑 杨 瑛)