

[文章编号] 1007-3949(2006)14-03-0205-03

·实验研究·

中药复方合剂减轻大鼠心肌梗死后心肌纤维化

吴伟, 王萌炜

(中国医科大学附属第一医院急诊科, 辽宁省沈阳市 110001)

[关键词] 内科学; 心肌梗死; 心肌纤维化; 复方中药; 大鼠; 冠状动脉前降支; 心肌胶原

[摘要] 目的 探讨中药复方合剂能否减轻心肌梗死后心肌纤维化。方法 通过结扎冠状动脉前降支制造大鼠心肌梗死模型。将 60 只 SD 大鼠分为六组: 14 天和 56 天非治疗组, 14 天和 56 天治疗组, 14 天和 56 天假手术组。模型制作 24 h 后, 14 天和 56 天治疗组开始灌胃给药。结果 假手术组、非治疗组、治疗组在第 14 天及第 56 天时, 体重差异无显著性 ($P > 0.05$)。14 天非治疗组全心重、左心室重量、全心重/体重、左心室重量/体重与 14 天假手术组差异均无显著性 ($P > 0.05$), 而 56 天非治疗组上述各项指标(分别为 $1\ 054 \pm 22$ mg, 850 ± 21 mg, 2.77 ± 0.08 , 2.23 ± 0.04) 均显著高于 56 天假手术组(分别为 990 ± 14 mg, 786 ± 14 mg, 2.58 ± 0.04 , 2.05 ± 0.03) ($P < 0.01$)。14 天治疗组上述各项指标(分别为 778 ± 13 mg, 607 ± 11 mg, 2.54 ± 0.04 , 1.98 ± 0.03) 显著低于 14 天非治疗组(分别为 802 ± 14 mg, 630 ± 16 mg, 2.69 ± 0.07 , 2.10 ± 0.06) ($P < 0.01$), 56 天治疗组上述各项指标(分别为 $1\ 031 \pm 14$ mg, 822 ± 14 mg, 2.65 ± 0.04 , 2.11 ± 0.02) 显著低于 56 天非治疗组 ($P < 0.01$), 但高于 56 天假手术组 ($P < 0.01$)。治疗组第 14 天及第 56 天心肌胶原含量(分别为 4.37 ± 0.57 mg/g, 6.04 ± 0.69 mg/g) 均显著低于非治疗组(分别为 5.22 ± 0.52 mg/g, 4.37 ± 0.57 mg/g) ($P < 0.01$), 但仍高于假手术组(分别为 3.65 ± 0.41 mg/g, 4.33 ± 0.51 mg/g) ($P < 0.01$)。心肌组织病理学检查发现治疗组心肌间质纤维化明显减少。结论 中药复方合剂有明显的抑制心肌胶原增生的作用, 可减轻心肌梗死后心肌纤维化程度。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Experiment Study of the Traditional Chinese Herbal Compound Reverse Myocardial Fibrosis after Acute Myocardial Infarction

WU Wei, and WANG Meng-Wei

(Emergency Department, the First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China)

[KEY WORDS] Myocardial Infarction; Myocardial Fibrosis; Traditional Chinese Herbal Compound; Rats; Left Anterior or Descending Coronary; Collagen

[ABSTRACT] **Aim** To study traditional Chinese herbal compound reverse myocardial fibrosis after acute myocardial infarction (AMI) in rats. **Methods** AMI model was established by ligation of left anterior descending coronary (LAD). All of the models were divided into 6 groups at random with ten in every group: group M_{14} (without any treatments, killed at the 14th day after infarction), group M_{56} (without any treatments, killed at the 56th day after infarction), group T_{14} (treated with herbal compound for 14 days before kill), group T_{56} (treated with herbal compound for 56 days before kill), S_{14} (sham operation, killed at the 14th day after surgery), and group S_{56} (sham operation, killed at the 56th day after surgery) in 60 male SD rats. 24 hours after operation, the herbal compound (10 mL/kg·day) was given for 14 days or 56 days. **Results** Body weight (BW) of all the rats had non-significant difference ($P > 0.05$). There were not significant differences in heart weight (HW), left ventricle weight (LVW), HW/BW, LVW/BW between group M_{14} and S_{14} ($P > 0.05$), but these indexes in group M_{56} (separate $1\ 054 \pm 22$ mg, 850 ± 21 mg, 2.77 ± 0.08 , 2.23 ± 0.04) were higher than those in group S_{56} (990 ± 14 mg, 786 ± 14 mg, 2.58 ± 0.04 , 2.05 ± 0.03) ($P < 0.01$). HW, LVW, HW/BW, LVW/BW in T groups were lower at the 14th and the 56th day (separate T_{14} 778 ± 13 mg, 607 ± 11 mg, 2.54 ± 0.04 , 1.98 ± 0.03 ; T_{56} $1\ 031 \pm 14$ mg, 822 ± 14 mg, 2.65 ± 0.04 , 2.11 ± 0.02) than those in M groups at corresponding time ($P < 0.01$). Collagen contents of T groups (separate T_{14} 4.37 ± 0.57 mg/g, T_{56} 6.04 ± 0.69 mg/g) were lower at the 14th and 56th day than those of M groups (separate M_{14} 5.22 ± 0.52 mg/g, M_{56} 4.37 ± 0.57 mg/g) ($P < 0.01$), but were still higher than those of S group (separate S_{14} 3.65 ± 0.41 mg/g, S_{56} 4.33 ± 0.51 mg/g) ($P < 0.01$). A great deal of collagen fibers deposit in infarct zone and non-infarct zone and collagen deposition declined obviously after treatment of herbal compound under histopathologic observation. **Conclusion** Herbal compound can reverse myocardial fibrosis to some extent.

[收稿日期] 2005-07-21 [修回日期] 2006-02-25

[基金项目] 辽宁省教育厅攻关计划(202013142)

[作者简介] 吴伟, 博士, 教授, 研究方向为缺血性心脏病和糖尿病发生机制, E-mail 为 wuwei196010@126.com。王萌炜, 硕士, 主治医师, 研究方向为缺血性心脏病发生机制。

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)发生左室重构的主要病理生理变化包括心肌肥厚、心肌成纤维细胞异常增生和胶原合成增加、沉积等,这是引起AMI后左室功能障碍导致心力衰竭的主要原因。抑制或减轻AMI后上述病理生理过程是目前研究的热点,已有研究表明,血管紧张素转化酶抑制剂、血管紧张素 α_1 受体阻滞剂、 β 受体阻滞剂、醛固酮拮抗剂等对上述病理生理过程有一定的治疗作用^[1]。但用本方剂治疗心肌纤维化目前尚无相关报道。本文探讨中药复方合剂(秘方)对心肌纤维化及胶原沉积的作用。

1 材料与方法

1.1 急性心肌梗死大鼠模型的制作

雄性SD大鼠(约250g)60只(购自中国医科大学实验动物中心)。用1.5%戊巴比妥钠135mg/kg腹腔注射麻醉,麻醉后固定,头部固定于呼吸机的头罩内,呼吸机辅助通气。心电监护下,经胸骨左缘第3~4肋间,剪开皮肤,钝性分离肌肉组织,用止血钳撑开肋间,挤出心脏,剪开心包,在右室流出道与左心耳之间,距主动脉根部2mm处用5-0丝线穿过左冠状动脉前降支,连同一小束心肌一起结扎。结扎后左室前壁变苍白并运动减弱,迅速将心脏放回胸腔,逐层关胸。术后心电图胸前导联V₁~V₆可见ST段明显抬高,证实结扎成功。手术后继续呼吸机通气30min,潮气量为10mL/kg体重。

1.2 动物分组

60只SD大鼠随机分为模型未治疗组(M组,不予任何治疗),模型治疗组(T组,予中药复方合剂秘方治疗),假手术组(S组,制模手术中只穿线绕过左冠状动脉而不结扎,其余步骤完全同模型组)。分别检测两个时间点(术后第14天和第56天)的指标。六组中每组动物数均为10只。

1.3 给药

以丹参、黄芪、鸡血藤为主药加丹参、黄芪、人工虫草等组方的复方中药经水煎,浓缩成每毫升含1g生药的提取液(秘方,东北制药总厂)。按10mL/kg体重(相当于生药10g/kg体重的参考计量)灌胃给药,每日一次^[2]。制模术后24h开始灌胃给药,直到大鼠被处死。每两周测体重一次,根据体重增长相应增加药物剂量。六组均给予标准鼠料和饮水。

1.4 大鼠体重、心脏重量及左心室重量的测定

各组大鼠分别于术后第14天和第56天处死。戊巴比妥钠麻醉后,称大鼠体重(body weight, BW),

然后打开胸腔,摘取心脏,剪除大血管残根,用生理盐水冲净后,滤纸吸干,称全心重量(heart weight, HW),再去除心房及右心室,称左心室重量(left ventricle weight, LVW)。然后将标本立即放入冻存管中,放入液氮中保存。

1.5 心肌胶原含量的测定

以心肌羟脯氨酸水平来代表心肌胶原含量^[3]。以氯胺T法^[4,5]测定羟脯氨酸含量。称取左心室非梗死区心肌组织100mg,匀浆后将组织粉末置于6mol/L的HCl液2mL中125℃酸解5h,然后用6mol/L的NaOH液滴定至pH为7.0,然后2000r/min离心10min,取上清液1mL加柠檬酸缓冲液0.5mL,再加0.05mol/L氯胺T1mL,混匀氧化6min;然后加3.15mol/L的过氧酸1mL,混匀放置5min;再加10%对二氨基苯甲醛1mL80℃水浴6min,取出后冰水浴30min;最后UV-1206型分光光度计560nm处比色测定。同时用1~10 μ g的羟脯氨酸含量,换算成每克心肌组织中羟脯氨酸含量,再乘以7.46即得心肌胶原含量。

1.6 光镜标本的制备

在新鲜心脏左心室中部冠状切面取材,10%福尔马林固定,石蜡包埋,切片厚4 μ m,做心肌胶原MASSON染色^[6]。

1.7 统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 t 检验, $P < 0.05$ 表明差异有显著性。

2 结果

2.1 六组各项心肌肥厚参数的变化

S组、M组、T组在第14天及第56天时,体重差异无显著性($P > 0.05$)。M₁₄组HW、LVW、HW/BW、LVW/BW与S₁₄组分别比较差异无显著性($P > 0.05$),而M₅₆组上述各项指标显著高于S₅₆组($P < 0.01$)。T₁₄组上述各项指标显著低于M₁₄组($P < 0.01$),T₅₆组显著低于M₅₆组($P < 0.01$),但高于S₅₆组($P < 0.01$)。见表1。

2.2 六组大鼠心肌羟脯氨酸及胶原含量的变化

T₁₄组和T₅₆组分别与M₁₄组和M₅₆组比较,心肌胶原含量显著降低($P < 0.01$),但仍高于S₁₄组和S₅₆组($P < 0.01$)。见表2。

2.3 心肌组织病理学改变

光镜下心肌染成黄色,间质胶原纤维染成蓝绿色。未治疗组(图1A)梗死区及非梗死区均可见大量胶原纤维分布,非梗死区普遍心肌纤维粗大,心肌

细胞束间隙增宽,粗大胶原纤维相互连接成网状,排列紊乱,分布不匀。治疗组(图 1B)心肌间质纤维化

明显减少,但并不能完全阻止其发生。

表 1. 六组各项心肌肥厚参数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	BW (g)	HW (mg)	LVW (mg)	HW/BW	LVW/BW
S ₁₄ 组	303 ± 8	802 ± 16	625 ± 15	2.64 ± 0.04	2.06 ± 0.03
S ₅₆ 组	384 ± 11	990 ± 14	786 ± 14	2.58 ± 0.04	2.05 ± 0.03
M ₁₄ 组	299 ± 10	802 ± 14	630 ± 16	2.69 ± 0.07	2.10 ± 0.06
M ₅₆ 组	381 ± 18	1 054 ± 22 ^a	850 ± 21 ^a	2.77 ± 0.08 ^a	2.23 ± 0.04 ^a
T ₁₄ 组	306 ± 9	778 ± 13 ^b	607 ± 11 ^b	2.54 ± 0.04 ^b	1.98 ± 0.03 ^b
T ₅₆ 组	389 ± 10	1 031 ± 14 ^{bc}	822 ± 14 ^{bc}	2.65 ± 0.04 ^{bc}	2.11 ± 0.02 ^{bc}

a 为 $P < 0.01$, 与 S₅₆组相比; b 为 $P < 0.01$, 与 M₁₄组相比; c 为 $P < 0.01$, 与 M₅₆组相比。

表 2. 六组大鼠心肌羟脯氨酸及胶原含量比较 ($\bar{x} \pm s$, mg/g)

组别	心肌羟脯氨酸含量	心肌胶原含量
S ₁₄ 组	0.49 ± 0.06	3.65 ± 0.41
S ₅₆ 组	0.58 ± 0.07	4.33 ± 0.51
M ₁₄ 组	0.70 ± 0.08 ^a	5.22 ± 0.52 ^a
M ₅₆ 组	0.96 ± 0.07 ^b	4.37 ± 0.57 ^b
T ₁₄ 组	0.59 ± 0.07 ^{bc}	4.37 ± 0.57 ^{bc}
T ₅₆ 组	0.81 ± 0.09 ^{bcd}	6.04 ± 0.69 ^{bcd}

a 为 $P < 0.01$, 与 S₁₄组相比; b 为 $P < 0.01$, 与 S₅₆组相比; c 为 $P < 0.01$, 与 M₁₄组相比; d 为 $P < 0.01$, 与 M₅₆组相比。

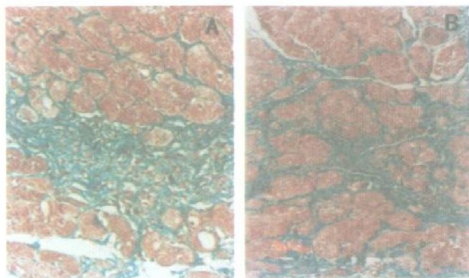


图 1. 非治疗组(A)与治疗组(B)心肌组织光镜照片($\times 100$)

3 讨论

急性心肌梗死(AMI)后非梗死区心肌细胞反应性肥大和间质纤维化可使心脏重量增加,故 HW/BW、LVW/BW 都是反映心肌纤维化和心肌肥厚的重要指标。本实验中,各组大鼠体重无明显变化,但 M₅₆组 HW、LVW、HW/BW、LVW/BW 明显高于 S₅₆组, M₁₄组上述指标与 S₁₄组相比,无明显变化,可能与梗死早期梗死区坏死吸收后左室重量减低有关。经过中药复方合剂治疗后, T₁₄组与 T₅₆组上述各项指标显著低于 M₁₄组与 M₅₆组,但仍高于假手术组,说明本中药复方合剂对大鼠 AMI 后心肌肥厚及心肌纤维化有减轻作用,但不能完全防止心室重构的发生。

急性心肌梗死(AMI)后心肌间质纤维化,胶原大量沉积,增加了室壁僵硬,降低了心室顺应性致

心室收缩及舒张功能不全。本实验中, M₁₄组与 M₅₆组心肌胶原含量均显著高于假手术组,表明 AMI 后早期就出现胶原增生。经中药复方合剂治疗后, T₁₄组与 T₅₆组心肌胶原含量较 M₁₄组与 M₅₆组显著下降,但仍高于假手术组。说明本中药复方合剂有明显抑制心肌胶原增生的作用,可减轻心肌纤维化,并且从 AMI 后早期即开始起作用,并维持较长时间,但不能完全抑制胶原的生成和不完全逆转心肌纤维化。

本中药复方合剂依据益气活血、养血柔肝治则,但其对心肌胶原代谢的具体作用机制尚不明了。有研究表明,中药活血化瘀可抑制血管平滑肌增生和迁移,减少细胞外基质合成和沉积^[7]。但其在抗肝纤维化方面的研究和动物实验及体外肝星状细胞培养的细胞分子生物学研究阐明了复方合剂阻断及逆转肝纤维化的机理^[8,9],将启示我们。

[参考文献]

- [1] McDonald KM, Rector MT, Carlyle PF, Francis GS, Cohn Jn. Angiotensin converting enzyme inhibition and beta-adrenoceptor blockade regress established ventricular remodeling in a canine model of discrete myocardial damage [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1994, 24 (7): 1762-768
- [2] 贾继东, 王宝恩, 董忠, 崔林, 朱家璇, 车建途. 复方 861 合剂对免疫损伤肝纤维化大鼠 iv、 α 型胶原 TGF- β mRNA 的影响[J]. *中华肝脏病杂志*, 1996, 4 (4): 214-216
- [3] Cleutjens JPM, Verluyten MJA, Smith JFM, Daemen MJ. Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart [J]. *Am J Pathol*, 1995, 147 (2): 325-328
- [4] Werber KT, Janicki JS, Shroff SG, Rick R. Collagen remodeling of the pressure overload, hypertrophied nonhuman primate myocardium [J]. *Circ Res*, 1989, 62 (4): 757
- [5] 郑少雄. 血、尿羟脯氨酸测定方法的改进[J]. *中华医学检验杂志*, 1983, 6 (4): 133
- [6] 凌启波. 实用病理特殊染色和组化技术[J]. 广州: 广东高等教育出版社, 1989: 4-9
- [7] 荆涛, 王绿娅, 王伟. 血管平滑肌细胞凋亡与动脉粥样硬化及其中药防治[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2003, 11: 271-273
- [8] 王惠吉, 王宝恩. 中药复方 861 合剂治疗肝纤维化远期疗效观察[J]. *中西医结合肝脏病杂志*, 1995, 5 (2): 4-5
- [9] 贾继东, 王宝恩. 中药复方 861 合剂对培养脂肪细胞 α 型胶原 mRNA 的影响[J]. *中华肝脏病杂志*, 1996, 4 (4): 142-144

(此文编辑 许雪梅)