

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.21.009

实验研究

理气化痰活血方对冠状动脉微循环障碍模型大鼠血管内皮功能的影响

王贤良, 苏立硕, 毛静远*, 王帅, 赵国元, 王聪

(天津中医药大学第一附属医院, 天津市西青区昌凌路 88 号, 300381)

摘要 目的 探讨理气化痰活血方对冠状动脉微循环障碍的影响及可能作用机制。方法 健康雄性 SD 大鼠 245 只随机分为理气化痰活血方组、缬沙坦组、模型组各 80 只, 空白组 5 只。除空白组外, 其余 3 组均采用经心尖部向左心室注射月桂酸钠的方法建立大鼠冠状动脉微循环障碍模型。理气化痰活血方组及缬沙坦组术前 1 天及术后 4 周分别给予理气化痰活血方药 (浓度 2.25 g/ml)、缬沙坦悬浊液 (浓度 8.89 mg/ml) 1 ml/100 g 灌胃, 模型组及空白组给予 1 ml/100 g 蒸馏水灌胃, 均每日 1 次。实验期间观察各组大鼠死亡情况; 理气化痰活血方组、缬沙坦组、模型组分别于术后 1 h、24 h、1 周、2 周、3 周、4 周各时间点随机处死 5 只大鼠, 空白组 4 周时处死, 检测各组大鼠血清内皮素 1 (ET-1)、一氧化氮 (NO)、血管性血友病因子 (vWF) 浓度及心肌组织纤维介素 (fgl 2) mRNA 表达。结果 模型组、理气化痰活血方组、缬沙坦组大鼠总计分别死亡 44 只、40 只、42 只, 3 组大鼠术中及术后死亡情况比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。术后 4 周时, 模型组大鼠较空白组血清 ET-1 浓度升高, vWF 浓度降低 ($P < 0.01$), 血清 NO 浓度和心肌组织 fgl 2 mRNA 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与模型组同时间比较, 理气化痰活血方组和缬沙坦组术后 1 h、24 h、1 周、2 周、3 周、4 周血清 ET-1 浓度降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组和缬沙坦组同时间比较, 术后 4 周理气化痰活血方组血清 NO 浓度升高, vWF 浓度降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。术后 2 周、3 周理气化痰活血方组心肌组织 fgl 2 mRNA 表达显著低于模型组 ($P < 0.01$)。结论 理气化痰活血方可能通过降低冠状动脉微循环障碍大鼠血清 ET-1、vWF 浓度及心肌组织 fgl 2 mRNA 表达, 升高血清 NO 浓度, 从而起到保护血管内皮功能的作用。

关键词 冠状动脉微循环障碍; 理气化痰活血方; 心脏 X 综合征; 内皮素 1; 一氧化氮; 血管性血友病因子; 纤维介素

冠状动脉微循环是指心脏中微动脉、毛细血管和微静脉共同构成的微循环系统, 对维持心肌组织和细胞正常代谢与功能起着重要作用^[1]。当冠状动脉微循环系统经受一些因素如高血压、高血糖、高血脂等刺激时, 可导致冠状动脉微循环障碍。其中, 与冠状动脉微循环障碍相关的心脏疾病中, 心脏 X 综合征 (cardiac syndrome X, CSX) 最具代表性。临床研究^[2]结果表明, 理气化痰活血方药可改善 CSX 患者的心绞痛症状, 保护血管内皮功能。

动物实验^[3]结果亦证实, 理气化痰活血方药能减少冠状动脉微循环障碍模型大鼠冠状动脉微血管血栓形成, 改善冠状动脉微血管血栓阻塞程度。另有研究^[4-6]认为, 炎症反应导致冠状动脉微血管内皮功能障碍是 CSX 的主要病理机制之一。而冠状动脉内皮功能障碍与血管内皮损伤导致血管收缩因子内皮素 1 (ET-1) 及舒张因子一氧化氮 (NO) 之间的失衡密切相关^[7]。此外, 血管性血友病因子 (vWF) 是一种由内皮细胞合成, 通过激活血小板参与形成血栓严重程度的标志物^[8]; 纤维介素 (fgl 2) 可通过催化凝血酶原形成有活性的凝血酶, 与内皮细胞诱导的血栓形成及凝血级联反应有

基金项目: 国家自然科学基金 (81202799); 天津市卫生计生行业高层次人才选拔培养工程; 教育部“创新团队发展计划” (IRT16R54)

* 通讯作者: jymao@126.com

关^[9-10]。本研究观察理气化痰活血方对冠状动脉微循环障碍模型大鼠血清 ET-1、NO、vWF 浓度及心肌组织中 fgl 2 mRNA 表达水平的影响,以探讨理气化痰活血方改善冠状动脉微血管内皮功能的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

清洁级健康雄性 SD 大鼠 245 只,8 周龄,体重 (300 ± 25) g,购自中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所动物实验中心,实验动物许可证号: SCXK (军) 2014-0001。饲养于天津中医药大学中医药研究院动物中心,相对恒温 21 ~ 24℃,湿度 45% ~ 55%,给予常规饲料适应性喂养 1 周。

1.2 药物

理气化痰活血方组成: 北柴胡 10 g,枳壳 12 g,瓜蒌皮 15 g,薤白 10 g,茯苓 12 g,白术 12 g,陈皮 12 g,川芎 10 g,当归 12 g,丹参 15 g,延胡索 15 g,红花 15 g。饮片购于天津中医药大学第一附属医院药剂科,由天津市石天药业有限责任公司加工成浓度为 2.25 g/ml 的浓缩剂。缬沙坦分散片 (海南皇隆制药股份有限公司,规格 80 mg/片,批号 20140813),用 5% 的甲基纤维素溶液配制成悬浊液,浓度为 8.89 mg/ml。

1.3 主要试剂及仪器

水合氯醛 (天津光复精细化工研究所,批号 201401318); 月桂酸钠粉剂 (国药集团化学试剂有限公司,批号 T20131015); 利多卡因注射液 (批号 20140110)、肝素钠注射液 (批号 20131220)、10% 氯化钾注射液 (批号 20131210),天津金耀药业有限公司; 注射用青霉素钠粉针剂 (石药集团中诺药业,批号 20140310); 10% 中性福尔马林溶液 (上海远慕生物科技有限公司,批号 20130628); ET-1 试剂盒 (批号 20140715A)、NO 试剂盒 (批号 20140601A),R&D SYSTEMS 公司; vWF 试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司,批号 801406); RNaseout (货号 10777019)、Super-Scrip III (货号 18080051),Invitrogen 公司。

小动物体重台称 (上海花潮电器有限公司,型号 ES461); 电子天平 (德国 Sartorius 公司,型号 BP310S); 小动物呼吸机 (上海奥尔科特生物科技有限公司,型号 ALC-V8); 光学显微镜及图

像观察系统 (日本 Olympus 仪器有限公司,型号 BX41); 实时荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司,型号 7900); 酶标仪 (Thermo 公司,型号 Multi-skan FC)。

1.4 冠状动脉微循环障碍模型建立

通过经心尖部向左室内注射月桂酸钠的方法,建立大鼠冠状动脉微血管血栓形成动物模型 (注射 1 h 后即可形成微血管血栓)^[11-12]。将 10% 水合氯醛 (3 ml/kg) 腹腔注射麻醉的大鼠仰卧位固定,常规颈部及胸部备皮消毒,颈部正中切开皮肤钝性分离暴露气管,直视下经气管插管,连接小动物呼吸机辅助通气,于左侧第二肋间水平靠近胸骨左缘纵向切开肌肉,依次剪断第二肋、第三肋、第四肋,寻找并暴露主动脉,用自制扩胸器向左右两侧扩张胸腔,使心尖部位暴露,使用一次性 0.1 ml 注射器由心尖部刺入左室腔内,迅速注入月桂酸钠粉剂 1 ml/kg (浓度 1 mg/ml),同时夹闭主动脉升部与主动脉弓连接处 10 s,以使注入的月桂酸钠试剂顺利进入冠状动脉。注射完成后迅速将心脏放入胸腔,待心跳平稳后缝合肋骨和胸骨,关闭胸腔并缝合,待呼吸平稳后拔除气管插管。术中或术后若出现心脏骤停或者呼吸停止,则给予胸外心脏按压。术后常规给予青霉素 80 万单位腹腔注射预防感染,连续注射 3 天,待大鼠完全苏醒后送回鼠笼饲养。

1.5 分组及给药

将健康 SD 大鼠采用抽签法随机分为理气化痰活血方组 80 只、缬沙坦组 80 只、模型组 80 只及空白组 5 只。除空白组外,其余 3 组均进行冠状动脉微循环障碍模型制备,理气化痰活血方组及缬沙坦组术前 1 天及术后分别给予理气化痰活血方药浓缩剂、缬沙坦悬浊液 1 ml/100 g 灌胃,每日 1 次;模型组及空白组术前 1 天及术后均给予等量蒸馏水 1 ml/100 g 灌胃,每日 1 次。各组均灌胃 4 周。

1.6 观察指标及方法

整个实验过程中观察模型组、理气化痰活血方组、缬沙坦组大鼠死亡情况并进行记录。除空白组外,其余各组分别于术后 1 h、24 h、1 周、2 周、3 周、4 周各时间点采用抽签法随机处死 5 只大鼠并留取血液、心肌组织标本。空白组于 4 周时处死并留取心肌组织、血液标本。

1.6.1 血清 ET-1、NO、vWF 浓度检测 各时间点留取大鼠血清放置于室温复融,2000 r/min,离心半径 10 cm,离心 10 min 后取上清液,采用酶标

仪检测血清 ET-1、NO、vWF 水平,按照试剂盒说明书操作步骤进行。

1.6.2 心脏组织 fgl 2 mRNA 表达 采用实时荧光定量 PCR 法检测,根据试剂盒说明书提取心脏组织 RNA,根据反转录试剂盒操作说明书进行反转录。引物由河北蓝梦生物医药科技有限公司合成,引物序列: fgl 2: 上游 GTCGCTCCAACTGGTAAAT-3,下游 5-AGGTCCCCTGCTTCTCTT-3,片段长度 299 bp; GAPDH: 上游 5-CAACTCCCTCAAGATT-GTCAGCAA-3,下游 5-GGCATGGACTGTGGTCAT-GA-3,片段长度 118 bp。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行基因表达的相对定量。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行数据处理,计量数据符合正态分布用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,方差齐用单因素方差分析,多重比较用 LSD 法,若方差不齐则用 Games-Howell 分析,组间两两比较用 t 检验。不符合正态分布数据则采用非参数检验;计数资料采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间死亡情况比较

模型组、理气化痰活血方组、缬沙坦组大鼠总计分别死亡 44 只、40 只、42 只,其中模型组术中、术后 1 h、24 h、1 周、2 周、3 周、4 周分别死亡 26、2、1、3、3、4、5 只,理气化痰活血方组分别死亡 28、2、2、3、3、1、1 只,缬沙坦组分别死亡 29、3、2、1、2、2、3 只,3 组大鼠术中

及术后死亡情况比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠不同时间 ET-1 浓度比较

表 1 示,与空白组同时间比较,术后 4 周模型组及缬沙坦组血清 ET-1 浓度显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组同时间比较,理气化痰活血方组及缬沙坦组各时间点均能降低血清 ET-1 的浓度 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与缬沙坦组同时间比较,术后 2 周理气化痰活血方组血清 ET-1 的浓度升高 ($P < 0.05$),术后 4 周理气化痰活血方组血清 ET-1 浓度降低 ($P < 0.01$)。

2.3 各组大鼠不同时间 NO 浓度比较

表 2 示,与模型组同时间比较,术后 4 周理气化痰活血方组血清 NO 浓度升高 ($P < 0.01$),其余各时间点血清 NO 浓度差异无统计学意义 ($P > 0.05$);而缬沙坦组术后 1 h、24 h、1 周、2 周、3 周血清 NO 浓度均升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),术后 4 周血清 NO 浓度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与缬沙坦组同时间比较,术后 1 h、1 周、2 周、4 周理气化痰活血方组血清 NO 浓度均升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.4 各组大鼠不同时间血清 vWF 浓度比较

表 3 示,与空白组同时间比较,术后 4 周模型组血清 vWF 浓度降低 ($P < 0.05$)。与模型组同时间比较,术后 2 周、3 周、4 周理气化痰活血方组血清 vWF 浓度均降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),术后 1 h、24 h、1 周时 vWF 浓度差异无统计学意义

表 1 各组大鼠术后不同时间血清 ET-1 浓度比较 ($\mu\text{mol/ml}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	1 h	24 h	1 周	2 周	3 周	4 周
空白组	5	—	—	—	—	—	2.40 ± 0.37
模型组	5	5.08 ± 0.52	5.08 ± 0.27	6.62 ± 0.34	6.95 ± 0.70	6.95 ± 0.44	5.89 ± 0.73*
缬沙坦组	5	3.65 ± 0.59 ^{△△}	4.04 ± 0.84 ^{△△}	4.42 ± 0.73 ^{△△}	4.14 ± 0.57 ^{△△}	3.96 ± 0.61 ^{△△}	3.62 ± 0.25 ^{*△△}
理气化痰活血方组	5	4.57 ± 0.21 [△]	3.95 ± 0.79 ^{△△}	4.97 ± 0.63 ^{△△}	5.01 ± 0.76 ^{△△▲}	4.67 ± 0.76 ^{△△}	2.49 ± 0.31 ^{△△▲▲}

注: ET-1, 内皮素 1; 与空白组同时间比较, * $P < 0.01$; 与模型组同时间比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与缬沙坦组同时间比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

表 2 各组大鼠术后不同时间血清 NO 浓度比较 (ng/ml , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	1 h	24 h	1 周	2 周	3 周	4 周
空白组	5	—	—	—	—	—	5.88 ± 0.34
模型组	5	3.94 ± 0.40	4.57 ± 0.41	4.28 ± 0.16	4.23 ± 0.54	5.48 ± 0.39	5.30 ± 0.51
缬沙坦组	5	5.14 ± 0.19 ^{**}	5.49 ± 0.53 ^{**}	6.09 ± 0.53 ^{**}	5.86 ± 0.58 ^{**}	6.16 ± 0.52 [*]	5.65 ± 0.47
理气化痰活血方组	5	4.09 ± 0.46 ^{△△}	5.21 ± 0.44	4.65 ± 0.84 ^{△△}	4.60 ± 1.02 ^{△△}	6.02 ± 0.38	6.38 ± 0.29 ^{**△}

注: NO, 一氧化氮; 与模型组同时间比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与缬沙坦组同时间比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

表 3 各组大鼠术后不同时间血清 vWF 浓度比较 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	1 h	24 h	1 周	2 周	3 周	4 周
空白组	5	—	—	—	—	—	5.88 ± 0.34
模型组	5	0.73 ± 0.11	0.71 ± 0.19	0.83 ± 0.16	0.87 ± 0.31	0.74 ± 0.15	0.73 ± 0.10*
缬沙坦组	5	0.56 ± 0.12	0.54 ± 0.24	0.70 ± 0.08	0.50 ± 0.13 ^{△△}	0.57 ± 0.20	0.64 ± 0.10
理气化痰活血方组	5	0.65 ± 0.08	0.57 ± 0.21	0.76 ± 0.14	0.59 ± 0.24 [△]	0.49 ± 0.29 [△]	0.41 ± 0.14 ^{△△▲}

注: vWF, 血管性血友病因子; 与空白组同时间比较, * $P < 0.01$; 与模型组同时间比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与缬沙坦组同时间比较, $\Delta P < 0.05$

表 4 各组大鼠术后不同时间心肌组织 fgl 2 mRNA 表达比较 ($2^{-\Delta\Delta CT}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	1 h	24 h	1 周	2 周	3 周	4 周
空白组	5	—	—	—	—	—	2.94 ± 1.55
模型组	5	4.27 ± 1.95	4.44 ± 1.78	4.95 ± 1.27	5.41 ± 0.81	5.24 ± 0.99	4.67 ± 1.56
缬沙坦组	5	3.74 ± 0.53	3.53 ± 0.91	4.97 ± 0.02	4.04 ± 1.38	4.88 ± 0.38	4.58 ± 0.09
理气化痰活血方组	5	5.01 ± 0.74	4.04 ± 0.39	5.08 ± 0.13	4.36 ± 1.05* [△]	3.98 ± 1.26*	4.29 ± 0.38

注: fgl 2, 纤维介素; 与模型组同时间比较, * $P < 0.01$; 与缬沙坦组同时间比较, $\Delta P < 0.05$

($P > 0.05$), 术后 2 周缬沙坦组血清 vWF 浓度降低($P < 0.01$)。与缬沙坦组同时间比较, 术后 4 周理气化痰活血方组血清 vWF 浓度降低($P < 0.01$), 其余各时间点理气化痰活血方组和缬沙坦组血清 vWF 浓度差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.5 各组大鼠不同时间心肌组织 fgl 2 mRNA 表达比较

表 4 示, 与模型组同时间比较, 术后 2 周、3 周理气化痰活血方组心肌组织 fgl 2 mRNA 表达降低($P < 0.01$), 其余时间点差异无统计学意义($P > 0.05$)。与缬沙坦组同时间比较, 术后 2 周理气化痰活血方组大鼠心肌组织 fgl 2 mRNA 表达升高($P < 0.05$), 其余时间点差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

本课题组临床观察^[3]发现, 气滞、痰阻、血瘀是 CSX 的关键因素, 且三者相互影响、相互促进。临床随机对照试验^[2]结果亦表明, 理气化痰活血方药能有效改善 CSX 患者临床症状。本研究所用理气化痰活血方中柴胡、枳壳、瓜蒌皮、薤白解郁理气宽胸, 为君药; 川芎、当归、丹参、延胡索、红花行气活血止痛, 为臣药; 佐以茯苓、白术、陈皮健脾化痰, 共奏理气宽胸、化痰通络、活血化瘀之功。

冠状动脉微血管疾病是由多种因素引起的冠状前小动脉及小动脉结构异常造成的劳力性心绞痛或心肌缺血客观证据的临床综合征^[4], 其发病机制有冠状动脉血流储备异常、微血管痉挛、自主神经功能异常等^[5]。目前, 血管内皮功能障碍在冠状

动脉微血管疾病的发病机制中处于至关重要的地位。血管内皮功能障碍可导致血管舒缩因子 NO/ET-1 分泌失衡, 且血管内皮损伤可引起 vWF、fgl 2 的生成, 并激活血小板参与形成血栓及凝血级联反应, 进而造成冠状动脉微血管功能障碍^[6]。ET-1/NO 是血管收缩/舒张的重要因子, ET-1 的分泌增加、NO 的生成减少不仅增强血管收缩、氧化应激作用, 且促进血管内皮增生及纤维化, 从而增加冠状动脉微血管阻塞程度^[7]。vWF、fgl 2 可参与促进凝血、血栓形成、黏附因子的合成及表达, 加速微血栓的形成, 微血管阻塞及微血栓则可引起冠状动脉微循环障碍, 促进 CSX 的发展^[8]。既往研究^[9-20]表明, 缬沙坦可以明显升高 NO 水平及 NO/ET-1 比值、降低 ET-1 及 vWF 水平, 从而保护冠状动脉微血管内皮功能及血管的完整性, 故本研究选其为对照药物。

本研究结果显示, 实验期间各组大鼠死亡情况差异无统计学意义, 说明理气化痰活血方对大鼠生存情况无明显影响。术后 4 周模型组大鼠血清 ET-1 浓度较空白组升高, 血清 vWF 浓度降低, 而血清 NO 浓度和心肌组织 fgl 2 mRNA 表达变化不明显。理气化痰活血方组和缬沙坦组在各时间点均可明显降低血清 ET-1 浓度; 缬沙坦组在术后 1 h、24 h、1 周、2 周、3 周可明显升高血清 NO 浓度; 理气化痰活血方组仅在术后 4 周血清 NO 浓度高于模型组和缬沙坦组, 在术后 4 周理气化痰活血方组血清 vWF 浓度亦明显低于模型组和缬沙坦组, 术后 2 周、3 周理气化痰活血方组 fgl 2 mRNA 表达亦明

显低于模型组。以上结果说明理气化痰活血方和缬沙坦均可影响血清 ET-1/NO 平衡,降低心肌组织中 fgl 2 mRNA 表达,从而改善冠状动脉微血管内皮功能,并且理气化痰活血方在术后 4 周时效果优于缬沙坦。

参考文献

- [1] RIM SJ, LEONG-POI H, LINDNER JR, et al. Decrease in coronary blood flow reserve during hyperlipidemia is secondary to an increase in blood viscosity [J]. Circulation, 2001, 104(22): 704-705.
- [2] 王贤良, 毛静远, 王恒和, 等. 理气宽胸活血法治疗心脏 X 综合征的临床研究 [J]. 上海中医药杂志, 2009, 43(1): 33-35.
- [3] 王贤良, 苏立硕, 毛静远, 等. 理气化痰活血方药对大鼠冠状动脉微血管血栓形成及阻塞的影响 [J]. 中国医学科学院学报, 2016, 38(3): 260-264.
- [4] RECIO-MAYORAL A, RIMOLDI OE, CAMICI PG, et al. Inflammation and microvascular dysfunction in cardiac syndrome X patients without conventional risk factors for coronary artery disease [J]. JACC Cardiovasc Imag, 2013, 6(6): 660-667.
- [5] TAQUETI VR, RIDKER PM. Inflammation, coronary flow reserve, and microvascular dysfunction: moving beyond cardiac syndrome X [J]. JACC Cardiovasc Imag, 2013, 6(6): 668-671.
- [6] DEMIRKOL S, BALTA S, CELIK T, et al. Assessment of the relationship between red cell distribution width and cardiac syndrome X [J]. Kardiologia Polska, 2013, 71(5): 480-484.
- [7] MONTI LD, PIATTI PM. Role of endothelial dysfunction and insulin resistance in angina pectoris and normal coronary angiogram [J]. Herz, 2005, 30(1): 48-54.
- [8] SHAHIDI M. Thrombosis and von willebrand factor [J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 906: 285-306. doi: 10.1007/5584_2016_122.
- [9] GHANEKAR A, MENDICINO M, LIU H, et al. Endothelial induction of fgl 2 contributes to thrombosis during acute vascular xenograft rejection [J]. J Immunol, 2004, 172(9): 5693-5701.
- [10] HU J, YAN J, RAO G, et al. The duality of fgl 2-secreted immune checkpoint regulator versus membrane-associated procoagulant: therapeutic potential and implications [J]. Int Rev Immunol, 2016, 35(4): 325-339.
- [11] 叶明芳, 陈良龙, 陈丹, 等. 大鼠冠状动脉微血栓模型 [J]. 福建医科大学学报, 2003, 37(1): 58-59, 128.
- [12] 沈成兴, 梁春, 陈良龙, 等. 经冠状动脉内注射月桂酸钠构建大鼠冠状动脉微栓塞模型 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2005, 13(4): 447-450.
- [13] 毛静远, 王恒和, 葛永彬. 心脏 X 综合征的中医治疗 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2007, 5(5): 377-379.
- [14] 张运, 陈韵岱, 傅向华, 等. 冠状动脉微血管疾病诊断和治疗的专家共识 [J]. 中国循环杂志, 2017, 32(5): 421-430.
- [15] PRIES AR, BADIMON L, BUGIARDINI R, et al. Coronary vascular regulation, remodelling, and collateralization: mechanisms and clinical implications on behalf of the working group on coronary pathophysiology and microcirculation [J]. Eur Heart J, 2015, 36(45): 3134-3146.
- [16] 陈佩儿, 钟剑锋, 程宇, 等. 基于内皮功能障碍靶向治疗冠状动脉微血管疾病 [J]. 实用医学杂志, 2018, 34(21): 3652-3654.
- [17] PINSKY DJ, NAKA Y, LIAO H, et al. Hypoxia-induced exocytosis of endothelial cell Weibel-Palade bodies. A mechanism for rapid neutrophil recruitment after cardiac preservation [J]. J Clin Invest, 1996, 97(2): 493-500.
- [18] 叶晓华, 陈坛纳, 杜勇, 等. fgl 2 参与重症急性胰腺炎大鼠微血栓形成 [J]. 医学研究杂志, 2012, 41(10): 138-141.
- [19] KARAMAN M, BALTA S, SEYIT AHMET AY, et al. The comparative effects of valsartan and amlodipine on vWf levels and N/L ratio in patients with newly diagnosed hypertension [J]. Clin Exp Hypertens, 2013, 35(7): 516-522.
- [20] LI Y, FU L, GAO Q, et al. Valsartan alleviates atherosclerotic lesions in pulmonary arteries of rabbits via an endothelium-dependent mechanism [J]. Acta Cardiol, 2010, 65(1): 23-29.

(下转第 1860 页)

respectively, the concentration of coenzyme Q10 was 1×10^{-4} mol/L, and the concentration of losartan potassium was 1×10^{-4} mol/L. The experiment of Ang II model was established with the concentration of 1×10^{-5} mol/L. Compared with the normal control group, myocardial cell activity, mitochondrial number, membrane potential, Bcl-2 gene expression decreased in the model group. ROS content, apoptosis rate and expression of Caspase-3, Caspase-8, Caspase-9 and Bax genes increased. The activities of Caspase-3, Caspase-8 and Caspase-9 also increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the cell activity, mitochondrial number and membrane potential of *Shenfu Yixin Formula* high-dose group, losartan group and coenzyme Q10 group increased, ROS content, apoptosis rate, gene expression of Caspase-3, Caspase-9, Bax were decreased, and the activities of Caspase-3 and Caspase-9 also decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** *Shenfu Yixin Formula* may reduce the mitochondrial function of cardiomyocytes and reduce the ROS content, thereby reducing the apoptosis of H9c2 cardiomyocytes induced by Ang II.

Keywords cardiac failure; H9c2 cardiomyocytes; *Shenfu Yixin Formula* (参附益心方); mitochondrion; Angiotensin II; apoptosis

(收稿日期: 2019-07-15; 修回日期: 2019-08-21)

编辑: 邓 媛

(上接第 1853 页)

Effect of *Liqi Huatan Huoxue Formula* (理气化痰活血方) on Vascular Endothelial Function in Coronary Artery Microcirculation Disorder Model Rats

WANG Xianliang, SU Lishuo, MAO Jingyuan, WANG Shuai, ZHAO Guoyuan, WANG Cong

(First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300381)

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of action of *Liqi Huatan Huoxue Formula* (理气化痰活血方) in improving coronary microcirculation disturbance. **Methods** A total of 245 healthy male SD rats were randomly divided into a *Liqi Huatan Huoxue Formula* group, a valsartan group and a model group, with 80 rats in each group. In addition, a blank group was set with 5 rats. Except for the blank group, the other 3 groups were established a model of coronary microcirculation disorder by injecting sodium laurate into the left ventricle. The *Liqi Huatan Huoxue Formula* group and the valsartan group were given *Liqi Huatan Huoxue Formula* (concentration 2.25 g/ml) and valsartan suspension (concentration 8.89 mg/ml) 1 ml/100 g 1 day before operation and 4 weeks after operation. The model group and the blank group were given 1 ml/100 g of distilled water for gavage, once a day. During the experiment, the deaths of the rats in each group were observed. Five rats were randomly sacrificed at the time points of 1 h, 24 h, 1 w, 2 w, 3 w and 4 w after the operation in the *Liqi Huatan Huoxue Formula* group, the valsartan group and the model group. The rats were sacrificed at 4 w in the blank group. The concentrations of serum endothelin-1 (ET-1), nitric oxide (NO), von Willebrand factor (vWF) and myocardial tissue fibrin (fgl 2) mRNA were detected. **Results** There were 44 deaths, 40 deaths, and 42 deaths respectively in the model group, *Liqi Huatan Huoxue Formula* group and the valsartan group. There was no statistically significant difference in the intraoperative and post-operative mortality among the 3 groups ($P > 0.05$). At 4 w after operation, the concentration of serum ET-1 in the model group was higher than that in the blank group, and the concentration of vWF was decreased ($P < 0.01$). There was no significant difference in serum NO concentration and fgl 2 mRNA expression between the 2 groups ($P > 0.05$). At the same time, compared with the model group, the serum ET-1 concentrations in the *Liqi Huatan Huoxue Formula* group and the valsartan group were decreased at 1 h, 24 h, 1 w, 2 w, 3 w, 4 w ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the model group and the valsartan group, the serum NO concentration increased and the vWF concentration decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The expression of fgl 2 mRNA in myocardial tissue at 2 w, 3 w in the *Liqi Huatan Huoxue Formula* group was significantly lower than that of the model group ($P < 0.01$). **Conclusion** *Liqi Huatan Huoxue Formula* may protect vascular endothelial function by reducing the concentration of ET-1 and vWF in serum and the expression of fgl 2 in myocardial tissue and increasing the concentration of NO in serum of rats with coronary microcirculation disturbance.

Keywords coronary artery microcirculation disorder; *Liqi Huatan Huoxue Formula* (理气化痰活血方); cardiac syndrome X; endothelin I; nitric oxide; von Willebrand factor; fibrobleukin

(收稿日期: 2019-07-15; 修回日期: 2019-08-26)

编辑: 邓 媛