

安心颗粒对家兔实验性心肌损伤的影响

秦小慧¹, 方显明¹, 李兰芳², 杨 庆², 鹿燕敏², 郭淑英², 谭余庆^{2*}, 聂淑琴²

(1. 广西中医学院第二附属医院, 广西 南宁 530001; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 观察安心颗粒对家兔实验性心肌损伤的影响。方法: 58 只家兔随机分为正常对照组、模型组、安心颗粒小 ($0.45 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、中 ($0.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、大 ($1.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) 剂量组、心得安组; 第 1~3 d 各组预防性灌胃给药, 第 4~6 d 灌胃给药后 1 h 静脉滴注异丙肾上腺素 ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 1 次/d, 共 3 次, 第 7~9 天灌胃给药并于末次灌胃给药后 1 h 颈动脉放血处死动物, 取心脏置于 10% 福尔马林溶液中固定用于病理学观察。于灌胃给药前、末次静脉滴注异丙肾上腺素后 1.5 h、24 h 及 72 h 自耳缘静脉采血测定乳酸脱氢酶 (LDH) 及门冬氨酸氨基转移酶 (AST)。结果: 模型组 LDH 高于正常对照组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$) 安心颗粒大、中、小剂量组 LDH 含量显著低于模型组 ($P < 0.01$); 模型组心肌病理分级高于正常对照组 ($P < 0.01$), 各给药组分级均低于模型组 ($P < 0.01$)。结论: 安心颗粒对家兔由异丙肾上腺素引起的心肌损伤有保护作用。

[关键词] 安心颗粒; 心肌损伤; 兔

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)01-0057-04

Protective Effects of Anxin Granules on Experimental Myocardial Injury in Rabbits

QIN Xiao-hui¹, FANG Xian-ming¹, LI Lanfang², YANG Qing², LU Yan-min²,
GUO Shu-ying², TAN Yu-qing^{2*}, NIE Shu-qin²

(1. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China; 2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effects of Anxin Granules on the experimental myocardial injury in rabbits. **Methods:** Fifty-eight rabbits were randomly divided into 6 groups: the control group, the model group, Anxin Granules small ($0.45 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), middle ($0.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), big ($1.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) group and propranolol group. Each group was intragastric administration in the first three days, each group except the control group was drop with isoprenaline after one hour of intragastric administration in the middle three days, each group was intragastric administration in the last three days, the animals were sacrificed by bleeding from carotid artery at the end of the experiment. The blood was sampled from the ear artery. The lactic dehydrogenase (LDH) and aspartate aminotransferase (AST) in the plasma were detected; then the heart were solidified, embedded, sectioned, stained with HE and graded pathologically. **Result:** The plasmatic activities of LDH in the model group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.01$ or $P < 0.01$); the degree of myocardial pathological damage in the model group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.01$), while the degree of damage in the protection group was lower than that in the model group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Anxin granules can protect myocardial injury in the rabbits.

[Key words] Anxin Granules; myocardial injury; rabbit

[收稿日期] 2008-06-16

[基金项目] 广西科技攻关项目 (0235023-4)

[通讯作者] * 谭余庆, Tel: (010) 64011599; E-mail: tanyq@263.net

安心颗粒是我院附属瑞康医院临床应用多年的治疗冠心病心绞痛的中药制剂,具有益气通阳、化痰逐瘀之功效。为进一步研究该药的药效机制,本实验通过对家兔实验性心肌损伤指标的研究,探索该药的相关药理作用,为该药在冠心病防治中的应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 雄性家兔,体重(2.0~2.5)kg,由中国药品生物制品检定所提供,合格证号:SCXK(京)2005-0004。

1.2 药品与试剂 安心颗粒(由人参、桂枝、茯苓、水蛭、瓜蒌等组成)4.5g/包,每克颗粒含生药5g,广西中医学院附属瑞康医院提供(流水号:060106);心得安,10mg/片,天津力生制药股份有限公司生产(批号:0604007);盐酸异丙肾上腺素,酸度pH4.9,含量99.5%,山东济南诚汇双达化工有限公司生产(批号:060712);门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒,为北京北化康泰临床试剂有限公司生产(批号分别为060904、060711)。

1.3 仪器 ZS-3 半自动生化分析仪,北京中生生物工程高级技术公司;BP121S 电子天平,德国赛多利斯;SORVALL SUPER T21 高速冷冻离心机,美国杜邦公司;RM6240C 生物信号采集系统,成都仪器厂;蠕动泵 BT00-100M,兰格恒流泵有限公司;BS60 电热三用水箱,北京市医疗设备厂。

2 方法

2.1 动物分组及给药方法 雄性家兔 58 只,按体重随机分为 6 组,即正常对照组、模型组、安心颗粒小、中、大剂量组(分别为 0.45、0.9、1.8 g·kg⁻¹)和心得安组(12 mg·kg⁻¹),正常对照组 8 只,其余各组 10 只。各给药组按剂量灌胃给药,1 次/d,连续 9d。正常对照组和模型组予以等量清洁水灌胃。

2.2 造模及给药方法 实验方法参考文献^[1]并结合本实验室预试结果进行。选择心电图 ST-T 正常的家兔进行实验。第 1~3 天所有家兔预防性灌胃给药,第 4~6 天灌胃给药后 1 h 静滴异丙肾上腺素 20 mg·kg⁻¹(溶于 0.9% 生理盐水 2 mL·kg⁻¹,滴注速度为 0.51 mL·min⁻¹),正常组给予等体积的生理盐水,1 次/d,共静滴 3 d,第 7~9 天灌胃给药,末次灌胃给药后 1 h 颈动脉放血处死动物,取心脏置于 10% 福尔马林溶液中固定,统一送检进行病理学观察。并于进行实验前、末次静滴异丙肾上腺素后 1.5

h、24 h 及 72 h 自耳缘静脉取血进行血清 LDH、AST 测定。

2.3 观察指标

2.3.1 心脏病理组织学观察 家兔心脏经常规制片,HE 染色,封片,光学显微镜下观察,由专业病理学医师进行分级。组织学改变程度分 5 级:0 级无病变,正常心肌;I 级为心内膜下局灶性炎性浸润;II 级为心内膜下大范围灶性浸润,小片状肌纤维断裂;III 级为心肌大范围灶性浸润、肌细胞肿胀,片状肌纤维断裂。IV 级为心肌变性坏死。

2.3.2 血清 LDH、AST 测定 按试剂盒说明书进行。

2.4 统计学方法 计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,采用多个样本均数间比较的方差分析和两两比较的 q 检验;计数资料采用秩和检验,应用 SPSS10.0 软件进行统计学处理, $\alpha=0.05$ 为显著性检验水准。

3 结果

3.1 安心颗粒对心肌病理变化的影响 大体观察:正常对照组心脏组织结构清晰,心内、外膜光滑,无出血点,无肿胀,颜色正常。模型组心脏未见明显增大,多数心脏颜色变灰暗较明显,表面未见有明显斑块。切开后左心室及右心室交界处的心外膜表面见到灶状灰白色点状区,心外膜表面多有明显瘀血。安心颗粒各剂量组和心得安组心脏组织结构清晰,未见有明显的充血。

镜检:光镜下可见,正常对照组心肌纤维未见肿胀、断裂,未见有嗜酸性染色,心肌结构正常。模型对照组心脏主要病变为心肌纤维肿胀,间质有炎性细胞,以淋巴为主,少量单核细胞增生。部分心肌纤维有凝固性肌溶解,心肌细胞胞浆呈颗粒状,嗜酸性染色较强,有的坏死细胞胞浆溶解,仅留下细胞空架,细胞核浓染,溶解或消失。间质轻度增生,坏死灶内仅有少量单核细胞反应性增生,部分心肌呈小灶状坏死,个别坏死灶围绕着血管分布。心内膜下间质细胞增生活跃,增生细胞个体较大,核浓染。安心颗粒各剂量组及心得安组心脏间质炎性浸润、坏死灶的形成、心内膜下肌细胞增生等病变与模型组比较有明显减轻。镜下模型组心内膜下心肌细胞数(增生细胞包括炎症细胞)显著增多($P<0.01$);与模型组比较,各给药组心肌细胞数显著减少($P<0.01$)。结果见表 1。

心脏病损程度:正常对照组的心肌组织无明显变化,模型组心肌损伤明显,出现 I~IV 级病理损

表 1 镜下心内膜下心肌细胞数($\bar{x} \pm s$)			
组别	剂量($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	<i>n</i>	心肌细胞数
正常对照组	—	8	45.63 ± 4.72 ²⁾
模型组	—	10	172.36 ± 18.07
心得安组	0.012	10	66.90 ± 10.59 ²⁾
安心颗粒组	1.8	10	62.60 ± 10.68 ²⁾
	0.9	10	62.90 ± 7.98 ²⁾
	0.45	10	67.20 ± 11.06 ²⁾

表 2 家兔心脏病损程度							
组别	剂量($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	<i>n</i>	0 级	I 级	II 级	III 级	IV 级
正常对照组 ²⁾	—	8	8	0	0	0	0
模型组	—	10	0	1	4	3	2
心得安组 ²⁾	0.012	10	0	10	0	0	0
安心颗粒组 ²⁾	1.8	10	2	7	1	0	0
	0.9	10	1	8	1	0	0
	0.45	10	0	7	3	0	0

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)。

伤,病理损伤高于对照组($P < 0.01$)。安心颗粒大剂量组出现 0~ II 级病理损伤;中剂量组出现 0~ II 级病理损伤;小剂量组出现 I、II 级病理损伤;心得安组出现 I 级病理损伤,各给药组心肌损伤较模型组明显减轻,病理分级低于模型组($P < 0.01$)。结果见表 2 及图 1。

3.2 安心颗粒对血清 LDH 活性的影响 实验前各组无显著差异;与正常组比较,造模后 1.5 h 和 24 h 模型组 LDH 显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),而安心颗粒大,中,小剂量组 LDH 比模型组显著降低($P < 0.01$),心得安组 LDH 亦明显降低。造模后 72 h 各组与模型组比较无显著差异。结果见表 3。

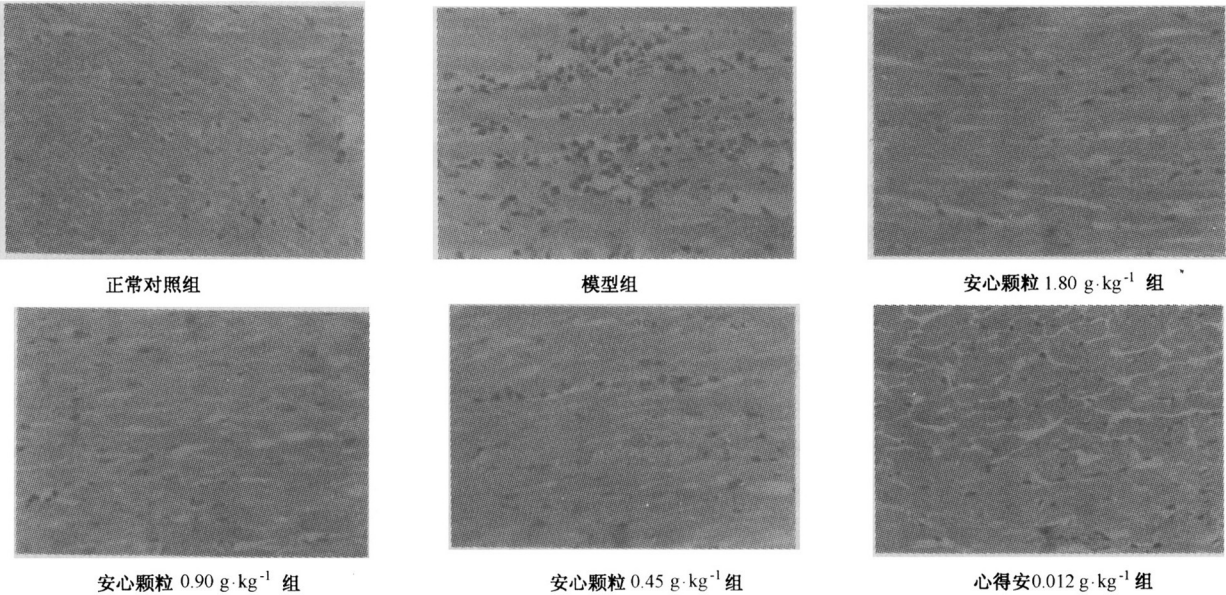


图 1 家兔心脏组织病理切片(HE 染色,10×40)

表 3 安心颗粒对心肌损伤家兔血清 LDH 活性的影响($\bar{x} \pm s$)						
组别	剂量($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	<i>n</i>	造模前($\text{U} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$)	造模后($\text{U} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$)		
				1.5 h	24 h	72 h
正常组	—	8	373.42 ± 114.73	209.28 ± 98.38 ²⁾	266.15 ± 100.08 ¹⁾	268.24 ± 112.65
模型组	—	10	362.57 ± 93.42	535.85 ± 101.49	506.31 ± 234.89	355.39 ± 151.25
心得安组	0.012	10	370.03 ± 124.88	361.16 ± 172.30 ¹⁾	304.34 ± 58.41 ¹⁾	337.21 ± 117.94
安心颗粒组	1.80	10	392.98 ± 113.79	278.51 ± 89.09 ²⁾	241.30 ± 75.70 ²⁾	320.79 ± 145.86
	0.90	10	334.75 ± 173.65	266.64 ± 76.40 ²⁾	197.03 ± 36.27 ²⁾	291.82 ± 90.32
	0.45	10	373.57 ± 100.39	225.92 ± 92.23 ²⁾	225.35 ± 72.96 ²⁾	262.14 ± 96.56

3.3 安心颗粒对血清 AST 活性的影响 实验前各组无显著差异;造模后 1.5 h 与正常组比较,模型组

显著升高($P < 0.01$)。造模后 1.5 h、24 h、72 h 各给药组与模型组比较无显著性差异。结果见表 4。

表 4 安心颗粒对心肌损伤家兔血浆 AST 活性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	n	造模前(U·L ⁻¹)	造模后(U·L ⁻¹)		
				1.5 h	24 h	72 h
正常组	—	8	32.86±10.55	29.6±9.60 ²⁾	35.7±11.1	24.1±3.92
模型组	—	10	31.33±11.33	58.3±28.23	26.3±7.21	21.6±9.00
心得安组	0.012	10	32.39±14.09	59.6±25.50	26.2±7.08	25.1±7.14
安心颗粒组	1.8	10	28.87±8.13	51.6±12.02	27.6±5.65	25.0±5.01
	0.9	10	26.18±9.86	59.7±13.76	21.5±5.45	24.2±6.29
	0.45	10	29.87±12.84	60.8±11.86	21.2±12.72	25.1±5.09

4 讨论

静脉滴注异丙肾上腺素可造成家兔实验性心肌损伤模型。血清中心肌酶活性、心肌病理损伤程度均是心肌损害程度的重要标志。本研究应用静脉滴注异丙肾上腺素复制家兔实验性心肌损伤模型,模型组血清 LDH 活性较正常对照组升高,病理组织检查心肌有不同程度的损伤,提示造模成功。在末次静脉给予异丙肾上腺素后,安心颗粒各剂量组血清 LDH 水平在 1.5 h 和 24 h 均明显降低($P < 0.01$),而 AST 含量各组均无明显的变化,其可能的原因需要进一步的实验进行验证。病理形态学检查发现,模型组心肌出现 I ~ IV 级的改变,病理损伤分级高于对照组($P < 0.01$);安心颗粒小、中、大剂量组心肌损伤较模型组明显减轻,病理分级低于模型组($P < 0.01$)。表明安心颗粒能减少心肌酶 LDH 的释放,减轻心肌损伤,有保护心肌的作用。

心肌缺血属于中医“胸痹”范畴,脏气亏虚是其内在病理基础,痰浊、瘀血是其主要病理产物。因此,益气通阳、化痰逐瘀是治疗本病的基本原则。安心颗粒正是基于这一认识,采用人参、桂枝、瓜蒌、水蛭、茯苓等中药制成。现代药理研究证实,人参总皂苷能抑制心肌细胞缺氧/复氧损伤导致的乳酸脱氢酶升高,有明显对抗犬急性心肌缺血的作用^[2,3]。桂枝及以桂枝为君药的复方具有较强的抗自由基的作

用^[4]。瓜蒌提取物对缺血心肌有一定的保护作用^[5]。故推测该药作用机制可能与下列因素有关^[6]:①提高自由基清除酶的活性,抑制脂质过氧化反应,减少自由基对心肌细胞的损害;②减少心肌酶 LDH 的释放,减轻心肌损伤;③保护心肌细胞线粒体膜结构的完整。

[参考文献]

[1] 苗明三. 实验动物和动物实验技术[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997: 33-35.

[2] 孙宇扬, 刘建勋, 吴晓洋, 等. 双参宁心方血清药物化学和抗心肌细胞缺氧/复氧损伤的实验研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2006(05): 39-40.

[3] 李欣志, 刘建勋, 尚晓泓, 等. 不同部位人参皂苷对犬急性心肌缺血保护作用的比较研究[J]. 中药新药与临床药理, 2000(02): 4-7.

[4] 杨澄, 仇熙, 孔令东. 炮制对桂枝抗氧化作用的影响[J]. 中成药, 2001, 23(3): 183-185.

[5] 吴波, 曹红, 陈思维, 等. 瓜蒌提取物对缺血缺氧及缺血后再灌注损伤心肌的保护作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(6): 62-63.

[6] 方显明, 杨建设, 肖柳华, 等. 益心脉颗粒对缺血再灌注损伤心肌超微结构保护作用的研究[J]. 中华实用中西医杂志, 2002, 15(7): 735.