

心脑宁片对结扎冠状动脉所致大鼠心肌缺血模型的影响

吕宏迪 郝少君 王希东 李文俊 张正臣 (解放军第371中心医院 河南新乡 453000)

摘要 目的:观察心脑宁片对结扎冠状动脉所致大鼠心肌缺血模型的影响。**方法:**大鼠70只,分为7组,分别为空白对照组,模型组,硝苯地平组,脑心痛组,心脑宁高、中、低剂量组,各组分别灌服相应药物,每天给药1次,连续7d;于最后1次给药后结扎冠状动脉左前降支(LAD),造大鼠心肌缺血模型。缺血2h后,腹主动脉取血,测血清CK、LDH、MDA、SOD水平;处死大鼠,取心脏,10%甲醛固定,HE染色、切片。**结果:**与模型组比,心脑宁片组可显著降低血CK、LDH、MDA水平($P<0.01$),可显著升高血SOD活力($P<0.01$),可显著降低减轻缺血所致心肌的损伤($P<0.01$)。**结论:**心脑宁片对结扎冠状动脉所致大鼠心肌缺血有好的改善作用。

关键词 心脑宁片;大鼠;结扎冠状动脉;心肌缺血模型;脑心痛胶囊;硝苯地平片
中图分类号:R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1008-049X(2014)07-1073-03

Effect of Xinnaoning Tablets on Myocardial Ischemia Rat Model Induced by Coronary Artery Ligation
Lv Hongdi, Hao Shaojun, Wang Xidong, Li Wenjun, Zhang Zhengchen (PLA the 371st Hospital, Henan Xinxiang 453000, China)
ABSTRACT Objective: To observe the effect of Xinnaoning tablets on myocardial ischemia rat model induced by coronary artery ligation. **Methods:** Totally 70 rats were divided into 7 groups, including the blank control group, model group, nifedipine group, Naoxintong group, Xinnaoning group respectively with high, medium and low dosage. The dosage regimen was one time per day for 7 days. After the last administration, the left anterior descending (LAD) of coronary artery was ligatured to make the myocardial ischemia rat model. After 2 hours of the ligation, blood from abdominal aorta was collected and then the level of CK, LDH, MDA and SOD was assayed. Then the rats were sacrificed, the heart was withdrawn, fixed by 10% formalin, stained by HE and cut into slices. **Results:** Compared with the model group, Xinnaoning tablets could reduce the level of CK, LDH and MDA significantly ($P<0.01$), increase the level of SOD significantly ($P<0.01$), and reduce myocardial injury induced by ischemia significantly ($P<0.01$). **Conclusion:** Xinnaoning tablets have good effect on myocardial ischemia rat model induced by coronary artery ligation.
KEY WORDS Xinnaoning tablets; Rat; Coronary artery ligation; Myocardial ischemia; Naoxintong capsules; Nifedipine tablets

心脑宁片由人参、当归、川芎、黄芪等组成的中药片剂,该方剂是由古方四君子汤和补阳还五汤化

基金项目:河南省科学技术厅2009年科技发展计划(编号:092102310202)
通讯作者:张正臣 Tel:13903730299 E-mail: xxzcc2010@126.com

裁而来的经验方,具有活血化瘀,益气安神,用于脑血栓形成,冠心病等,亦可用于记忆力减退,抗衰老等,临床应用收到满意效果^[1,2],为探究其疗效原理,本课题进行了心脑宁片对结扎冠状动脉所致大鼠心肌缺血模型影响的实验研究。

1 材料与方法

1.1 试药

心脑宁片由解放军第 371 医院制剂室提供,制法:取人参、黄芪各 120 g,粉碎成 100 目细粉备用。剩余人参、黄芪及其余各味药粉碎成 10 目粗粉,加水(8 倍)煎煮 2 次,第 1 次 2 h,第 2 次 2 h,合并煎液,过滤,滤液浓缩成相对密度 1.15 ~ 1.30,质量约 3 kg(80℃)。加入上述细粉、淀粉适量,混匀,干燥成干膏,粉碎,用稀糖浆经 14 ~ 16 目筛制粒,50 ~ 60℃烘干,14 目筛整粒,加入 1% 硬脂酸镁混匀,压片(每片 0.3 g),包衣,制成 1 000 片即得(每片含相当生药 1.75 g);批号 20110606;脑心通胶囊,陕西步长制药有限公司,批号 20111106;硝苯地平片,常州四药制药有限公司,批号 20110721;生理盐水,河南太龙药业股份有限公司,批号 11052562;羧甲基纤维素钠(CMC-Na),天津市福晨化学试剂厂,批号 20090826;MDA 试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号 20120329;LDH,南京建成生物工程研究所,批号 20120329;SOD 试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号 20120328;CK 试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号 20111201B。

1.2 动物

大鼠,清洁级,Wistar,雄性,体质量 240 ~ 280 g,河北省动物实验中心提供,合格证号 1203134。

1.3 仪器

JM 1000 电子称,余姚记铭称重校验设备有限公司;离心机:上海安亭科学仪器厂,型号:TDL-40B;电子天平,河南中良科学仪器有限公司,型号 JA1103N;UV-2000 紫外可见分光光度计。

1.4 实验方法

取 Wistar 大鼠,体质量 240 ~ 280 g,雄性,实验前先用心电图分析系统 SP2006 筛选出心电图正常的大鼠 70 只,随机均匀分为 7 组,其中 1 组为空白对照组,6 组造心肌缺血模型。造模型 6 组大鼠分别灌服高、中、低剂量的心脑宁片混悬液(1.5, 0.75, 0.375 g · kg⁻¹,用 0.5% CMC 配成 75, 37.5, 18.8 mg · ml⁻¹, 2 ml/100 g)、硝苯地平混悬液组(30 mg · kg⁻¹,用 0.5% CMC 配成 1.5 mg · ml⁻¹, 2 ml/100 g)、脑心通胶囊混悬液组(0.8 g · kg⁻¹,用 0.5% CMC 配成 40 mg · ml⁻¹, 2 ml/100 g)和同体积

的 0.5% CMC,空白对照组灌同体积的 0.5% CMC。每天给药 1 次,连续给药 7 d;于最后 1 此给药后 1 h,每鼠用水合氯醛麻醉,自左侧(3 ~ 4)肋间开胸,用开腔器固定,暴露心脏,于肺动脉圆锥及左房间找出冠状动脉左前降支(LAD),在距起点(2 ~ 3) mm 处穿一“0”号线结扎,看到心脏颜色变为灰白色视为结扎成功,将心脏送回胸腔,挤出胸腔内血液和气体,立即缝合胸壁;整个手术在 1 min 内完成^[1,2]。缺血 2 h 后,进行腹主动脉取血,3 000 r · min⁻¹离心 10 min,取血清,备用;处死大鼠,取心脏,10% 甲醛固定,切片、HE 染色^[3]。

1.5 试验指标的测定

血清肌酸激酶(CK)测定(按说明书操作)。计算公式:

$$\text{血清中 CK 活力}(\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}) = \frac{\text{测定管 A 值} - \text{测定空白管 A 值}}{\text{标准管 A 值} - \text{标准空白管 A 值}} \times \text{标准品活力}(4 \times 35 \text{ U} \cdot \text{ml}^{-1})。$$

血清乳酸脱氢酶(LDH)测定(按说明书操作)。血清中乳酸脱氢酶活力计算公式:

$$\text{血清中的 LDH 活力}(\text{U} \cdot \text{L}^{-1}) = \frac{\text{测定管 A 值} - \text{测定空白管 A 值}}{\text{标准管 A 值} - \text{标准空白管 A 值}} \times \text{标准管浓度}(2 \mu \text{mol} \cdot \text{ml}^{-1}) \times 1000 \text{ ml} \times \text{测试前样品稀释倍数}。$$

血清丙二醛(MDA)测定(按说明书操作)。血清(浆)中 MDA 含量计算公式:

$$\text{血清(浆)中 MDA 含量}(\text{nmol} \cdot \text{ml}^{-1}) = \frac{\text{测定管 A} - \text{测定空白管 A}}{\text{标准管 A} - \text{标准空白管 A}} \times \text{标准管浓度}(10 \text{ nmol} \cdot \text{ml}^{-1}) \times \text{样本测试前稀释倍数}。$$

血清超氧化物歧化酶(SOD)测定(按说明书操作)。

1.6 数据处理

数据分析用 SPSS 17.0 统计软件包进行数据资料的统计学处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用单因素方差分析,方差检验齐者用最小显著差数(LSD)法,方差不齐者用 Games-Howell 法检验,等级资料用 Radit 检验。

2 结果

结果见表 1 ~ 3。

从表 1 可看出,与空白对照组比,模型组出现显著心肌缺血病变($P < 0.01$);与模型组比,心脑宁片高、中、低剂量组和脑心通胶囊组均可显著降低减轻缺血所致心肌的损伤($P < 0.01$);硝苯地平组可明显减轻缺血所致心肌损伤($P < 0.05$)。

从表 2 可看出,与空白对照组比,模型组血 CK 水平、LDH 水平均显著升高($P < 0.01$),说明造大鼠

表 1 心脑宁片对结扎冠状动脉所致大鼠心肌缺血模型心肌组织形态的影响(*n*)

组别	-	+	++	+++
空白对照组	10	0	0	0
模型组	0	0	1	9
硝苯地平组	0	0	7	3
脑心通组	0	8	2	0
心脑宁片高剂量组	4	6	0	0
心脑宁片中剂量组	0	6	4	0
心脑宁片低剂量组	0	5	5	0

注：“-”心肌细胞和细胞核均未有异常改变；“+”心肌细胞胞浆基本正常，细胞核少数固缩；“++”心肌细胞胞浆减少而萎缩，细胞核稍有缩小而不透明；“+++”心肌细胞胞浆明显减少萎缩，细胞核核明显变细小固缩。

表 2 心脑宁片对结扎冠状动脉所致大鼠心肌缺血模型血清 CK、LDH 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量($g \cdot kg^{-1}$)	CK($U \cdot ml^{-1}$)	LDH($U \cdot L^{-1}$)
空白对照组		0.392 ± 0.059 ^b	6321 ± 508 ^b
模型组		0.900 ± 0.295	9384 ± 1189
硝苯地平片组	0.03	0.420 ± 0.150 ^b	6624 ± 304 ^b
脑心通胶囊组	0.8	0.471 ± 0.096 ^b	6881 ± 539 ^b
心脑宁片高剂量组	1.5	0.451 ± 0.101 ^b	69791 ± 505 ^b
心脑宁片中剂量组	0.75	0.512 ± 0.131 ^b	7862 ± 1232 ^a
心脑宁片低剂量组	0.375	0.809 ± 0.186	9003 ± 1074

注：与模型组比较，^a*P* < 0.05；^b*P* < 0.01。

心肌缺血模型成功。与模型组比，心脑宁片高、中剂量组、脑心通胶囊组和硝苯地平片组均可显著降低血 CK 水平、LDH 水平(*P* < 0.01)，心脑宁低剂量片组可明显降低血 LDH 活力(*P* < 0.05)。

从表 3 可看出，与空白对照组比，模型组血 MDA 水平显著升高(*P* < 0.01)、SOD 活力显著降低(*P* < 0.01)，说明造大鼠心肌缺血模型成功。与模型组比，心脑宁片高、中、低剂量组、脑心通胶囊组和硝苯地平片组均可显著降低血 MDA 水平(*P* < 0.01)，均可显著升高血 SOD 活力(*P* < 0.01)；以心脑宁片高剂量组对血 MDA 降低作用、SOD 升高作用为好。

表 3 心脑宁片对结扎冠状动脉所致大鼠心肌缺血模型 MDA、SOD 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量($g \cdot kg^{-1}$)	MDA($nmol \cdot ml^{-1}$)	SOD($U \cdot ml^{-1}$)
空白对照组		7.098 ± 1.892 ^b	183.8 ± 5.9 ^b
模型组		11.658 ± 1.459	155.8 ± 7.1
硝苯地平片组	0.03	8.829 ± 2.011 ^b	171.3 ± 9.0 ^b
脑心通胶囊组	0.8	8.220 ± 2.762 ^b	168.1 ± 8.5 ^b
心脑宁片高剂量组	1.5	8.122 ± 1.801 ^b	180.2 ± 8.8 ^b
心脑宁片中剂量组	0.75	8.829 ± 0.948 ^b	178.8 ± 9.8 ^b
心脑宁片低剂量组	0.375	9.908 ± 0.879 ^b	172.4 ± 13.2 ^b

注：与模型组比较，^b*P* < 0.01。

3 讨论

心脑宁片是根据中医理论和现代药理研究成果拟定的院内协定处方。方中以人参为君药，调中、止消渴、通血脉、破坚疾、令人不忘，以其主补五脏、安精神、定魂魄；当归，活血养血为臣药；川芎，其性善降结气，以走肝经，气中之血药，通行十二经，具有理气、活血化瘀的作用为佐药；黄芪，补中益气为使药。四药合用，集活血化瘀、抗血栓、益气之功于一体，既重视疏通脉管，以改善脏器供血，又注意改善人体整体功能及代谢，达到扶正祛邪之目的。本制剂扩张冠状动脉、改善心肌供血和心肌代谢及缩小梗死面积的作用^[4]，而且还具有增强心肌收缩力和改善微循环产生抗血栓和溶血栓作用^[5-7]。为进一步探讨该药药理作用，本实验进行了心脑宁片对结扎冠状动脉所致大鼠心肌缺血模型影响的实验研究。造模成功，结果显示：高、中剂量心脑宁片组、脑心通胶囊组和硝苯地平片组均可显著降低血 CK 水平、LDH 水平(*P* < 0.01)，低剂量心脑宁片组可明显降低血 LDH 活力(*P* < 0.05)。高、中、低剂量心脑宁片组、脑心通胶囊组和硝苯地平片组均可显著降低血 MDA 水平(*P* < 0.01)，均可显著升高血 SOD 活力(*P* < 0.01)；以高剂量心脑宁片组对血 MDA 降低作用、SOD 升高作用为好。高、中、低剂量心脑宁片组和脑心通胶囊组均可显著降低减轻缺血所致心肌的损伤(*P* < 0.01)；硝苯地平组可明显减轻缺血所致心肌损伤(*P* < 0.05)。

心脑宁片组连续 7 d 给大鼠灌服，可显著减轻结扎冠状动脉所致大鼠心肌缺血模型心肌的病理变化，可显著血清 CK、LDH、MDA 水平，显著升高血清 SOD 水平。本实验为临床提供了应用依据。

参 考 文 献

1 程晓莉,颜学滔,涂自良,等.冠心宁注射液对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].中国药师,2008,11(4):380-382

2 董淑英,童旭辉,刘浩,等.石榴多酚对大鼠心肌缺血-再灌注损伤后心肌细胞凋亡的影响[J].中药材,2012,35(11):1824-1828

3 刘洋,王东风,黄娜.照山白醇提物对大鼠缺血心肌的保护作用[J].中国药师,2012,15(1):12-14

4 吕宏迪,郝少君,李文俊,等.心脑宁片对大鼠心肌缺血模型心电图的影响[J].中医学报,2013,28(2):219-220

5 孙建华,吕宏迪,郝少君.心脑宁片对肾上腺致大鼠血瘀模型的改善作用[J].中国药业,2012,21(24):25-26

6 张中华,吕宏迪,郝少君,等.心脑宁片对大鼠血栓形成的影响[J].实用医药杂志,2013,30(1):55-56

7 郝少君,吕宏迪,李文俊,等.心脑宁片对血浆黏度、血沉、红细胞压积和凝血时间全血黏度的影响[J].河北医药,2013,35(24):3802-3803

(2014-02-17 收稿 2014-03-25 修回)