养心氏片对大鼠冠脉结扎致心肌缺血模型的影响

姜作玲[1]　高　莉[1]　王　辉[1]　赵俊梅[1]　梅　颖[2]

（1 上海医药集团青岛国风药业股份有限公司，青岛，266071；2 南京市市级机关医院中医科，南京，210018）

摘要　目的：研究养心氏片对冠脉结扎致心肌缺血大鼠的影响作用。方法：将 90 只健康 SD 大鼠随机分为 6 组，分别为假手术组、模型组、硝苯地平对照组、养心氏片高、中、低剂量组，连续给药 10 d 后，行冠脉左前降支结扎术制备大鼠心肌缺血模型，检测心肌力学变化，测定各组血清中肌酸激酶（CK）、乳酸脱氢酶（LDH）、超氧化物歧化酶（SOD）活力和丙二醛（MDA）、一氧化氮（NO）含量变化，并用氯化三苯基四氮唑（TTC）染色法测定心肌梗死面积。结果：养心氏片能明显减少心肌梗死范围，同时可以改善心肌缺血大鼠 CK、LDH 等血清心肌酶学及心电图状况等指标的异常（$P<0.05$）。结论：养心氏片对冠脉结扎致大鼠心肌缺血有保护作用。

关键词　养心氏片；心肌缺血；保护

The Effects of Yangxinshi Tablet on Myocardial Ischemia in Rats

Jiang Zuoling[1], Gao Li[1], Wang Hui[1], Zhao Junmei[1], Mei Ying[2]

(1 *Shanghai Pharmaceutical Group Qingdao Growful Pharmaceutical Co. Ltd*, *Qingdao* 266071, *China*;
2 *Nanjing Governmental Hospital*, *Nanjing* 210018, *China*)

Abstract　**Objective**: To study the effects of Yangxinshi tablet on myocardial ischemia induced by ligation of the coronary artery in rats. **Methods**: Ninety rats were randomly divided into six groups: sham group, model group, Yangxinshi tablet high dose group, medial dose group, low dose group and Nifedipine group. After 10 days of continuous administration, rat myocardial ischemia model was induced by ligation of the left anterior descending branch of the coronary artery, then the changes in myocardial mechanics were detected. The activities of creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), superoxide dismutase (SOD), malonaldehyde (MDA), nitric oxide (NO) were determined in each groups. Myocardial infarction sizes were measured after triphenyl tetrazolium chloride (TTC) staining. **Results**: Yangxinshi tablet significantly reduced myocardial infarction size, obviously decreased activities of CK, LDH and other Serum Myocardial Enzyme and improved abnormalities of ECG ($P<0.05$). **Conclusion**: Yangxinshi tablet shows protective effects on myocardial ischemia.

Key Words　Yangxinshi tablet; Myocardial ischemia; Protective effects

中图分类号：R285.5　　**文献标识码**：A　　**doi**：10.3969/j.issn.1673－7202.2015.04.021

养心氏片是由黄芪、党参、丹参、葛根、淫羊藿、人参、甘草等十三味药材组成，采用现代先进工艺制成的中药制剂。其功能主治为益气活血，化瘀止痛。用于气虚血瘀所致的胸痹，症见心悸气短、胸闷、心前区刺痛；冠心病心绞痛见于上述证候者。

本研究通过观察养心氏片对大鼠冠脉结扎致心肌缺血前后心肌梗死范围、心肌力学、心电图状况、血清生化等指标的影响，探讨了养心氏片对抗大鼠心肌缺血的影响作用。实验采用手术开胸结扎冠脉左前降支导致大鼠急性心肌缺血模型，通过观察心肌缺血前后心电图、心肌力学、心肌梗死范围、血清酶学等指标，来评价养心氏片对心肌梗死、心绞痛、冠心病等疾病的治疗作用。

1　材料与方法

1.1　试验动物　SD 大鼠，雌雄各半，体重 180～200 g，90 只，由吉林大学实验动物中心提供，许可证号：SCXK-（吉）2007-0015。

1.2　药品及试剂　养心氏片，由青岛国风药业股份有限公司提供，批号：080501；该药成人日拟用剂量为 10～15 丸/次，3 次/d，0.05 g/丸，即成人每日每千克体重用量为 0.037 5 g（成人均以 60 kg 体重计算），实验时用蒸馏水配制。硝苯地平片：由山西云鹏制药有限公司生产，批准文号：国药准字 H4020798，产品批号：C080502。成人日用量为 30 mg。红四氮唑（TTC）$C_{19}H_{15}N_4Cl$ = 334.81，中国惠世生化试剂有限公司，上海，批号：070708（避光保存）。CK 检测试剂盒；LDH 检测试剂盒；SOD 黄嘌呤氧化酶法检测试剂盒；MDA 硫代巴比妥酸法检测试剂盒；NO 硝酸还原酶法检测试剂盒（以上试剂盒均来自南京建成生物工程研究所，批号：20091002）。

基金项目：“十一五”国家科技支撑计划项目（编号：2006BA106A18-12）

通信作者：梅颖（1960.12—），女，主任中医师，研究方向：老年病，E-mail：meiyingy1@163.com

1.3 仪器 医用台式离心机(TDL80-2B 型,Anke,上海安亭科学仪器厂生产);BP121S 型电子天平(SARTORIUS,上海良平仪器仪表有限公司);WH-2 微型旋涡混合仪(上海泸西分析仪器厂),HX-300 动物呼吸机(成都泰盟科技有限公司);BL-420E + 生物功能实验系统及其配套软件(成都泰盟科技有限公司)。

1.4 试验方法 按性别、体重和手术时间将大鼠随机分为以下 6 组,每组 15 只动物,雌雄各半,分组及剂量见表 1。

表 1 大鼠实验分组和剂量设计一览表

组别	剂量(mg/kg)	浓度(mg/mL)	给药途径	给药体积(mL/kg)	相当于临床用量倍数
假手术	—	—	灌胃给药	10	—
模型	—	—			—
硝苯地平	5	0.5			10
养心氏片高剂量	375	37.5			10
养心氏片中剂量	188	18.8			5
养心氏片低剂量	94	9.4			2.5

注:药物经蒸馏水配制成适宜浓度后,按 10 mL/kg(体重)的给药体积灌胃给药。

健康 SD 大鼠,按"表 1 实验动物与分组"项下相关内容进行分组,各组动物实验顺序按时间交叉进行,连续给药 10 d(假手术组、模型对照组给予等容积溶媒),末次给药后 1 h,ip 40 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉,将动物仰卧位固定,行气管插管术[1],接人工呼吸器(频率为 55 次/min,调节潮气量 16,吸∶呼 =1∶2),稳定 5 min,记录一段正常Ⅱ导联心电图(ECG)。于第 3、4 肋间打开胸腔,剪破心包膜,于左冠状动脉前降支下穿线以备结扎[2]。稳定 10 min 记录一段 ECG,剔除稳定后 ECG 仍不正常者。行冠脉结扎术,阻断血流 30 min,迅速关闭胸腔,记录结扎后 5 min、10 min、15 min、30 min、45 min、60 min 的Ⅱ导联心电图(并读出 ST 段(J 点)、T 波值)及 10 min、30 min、45 min、60 min、90 min 心率(HR)值,最后一次 ECG 记录完后,即刻取血、取心脏,测定 CK、LDH、SOD 活力和 MDA、NO 含量等生化指标及心肌缺血与梗死范围等形态学指标[3-4]。假手术组大鼠手术过程中除不结扎外,其余同上[5-8]。

1.5 数据处理 各生化检测指标及心肌坏死% 结果采用($\bar{x} \pm s$)表示,统计软件 SPSS 15.0,用 oneway ANOVA 进行分析,$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义;$P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。心电图分析以 T 波高度的变化百分率为指标,即以结扎后各时间点、各时间点与结扎前 T 波高度的变化百分率进行分析,统计方法同上。

2 结果

2.1 对心肌梗死范围影响 梗死范围用 TTC 染色法。处死动物,立即取出心脏,用生理盐水冲洗干净心脏内余血,用滤纸吸去水分,称重,顺房室沟将心肌平行切成厚度约 1 mm 的片状,置 1% TTC 缓冲溶液中 37 ℃水浴中充分反应 7 min,正常心肌染成为红色,梗死区心肌不着色。将未染色部分心肌切下称重,计算梗死区心肌重量占左心室重量的百分比[10-15]。

$$心肌梗死范围(\%) = \frac{梗死区心肌重量}{全心重} \times 100\%$$

结果表明,与假手术组比较,模型组大鼠心肌出现显著的缺血梗死区域($P < 0.01$)。与模型组比较,硝苯地平组、养心氏片高、中剂量组梗死区域明显减少($P < 0.05$)。养心氏片低剂量组心肌梗死区域的减少与模型组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与硝苯地平组比较,养心氏片高、中剂量组降低心肌梗死面积的强度与之差异无统计学意义($P > 0.05$),其中以养心氏片高剂量组作用最强。各组对心肌缺血大鼠心肌梗死范围的影响见表 2。

表 2 养心氏片对冠脉结扎致心肌缺血大鼠心肌梗死范围的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(mg/kg)	动物只数	梗死区重量/全心重量(%)
假手术	—	10	0.67 ± 1.15**
模型	—	10	22.28 ± 3.20
硝苯地平	5	10	18.35 ± 3.08**
养心氏片高剂量	375	10	18.97 ± 2.32**
养心氏片中剂量	188	10	19.97 ± 1.32*
养心氏片低剂量	94	10	20.79 ± 2.21

注:与模型对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$。

2.2 各组对血清生化指标的影响 与假手术组比较,结扎大鼠冠脉后,模型动物血清中 CK、LDH 的活力明显升高,SOD 活力明显下降,MDA 含量明显升高,NO 含量明显下降($P < 0.01$)。与模型组比较,硝苯地平、养心氏片高剂量能明显改善心肌缺血大鼠各血清心肌酶学等指标的异常($P < 0.05$);养心氏片中剂量组能明显降低心肌缺血大鼠血清 MDA 的含量,升高超氧化物歧化酶的活力($P < 0.05$);养心氏片低剂量能明显降低心肌缺血大鼠血清 MDA 的含量($P < 0.05$)。结果详见表 3[11]。

2.3 各组对心率的影响 与假手术组比较,结扎冠脉后大鼠的心率变化率明显升高($P < 0.05$)。与模型组比较,硝苯地平能明显降低心肌缺血大鼠心率升高($P < 0.05$);养心氏片高剂量组能明显降低心

肌缺血大鼠心率升高($P<0.05$);养心氏片中、低剂量组能分别降低结扎后 30、10 min 时大鼠心率($P<0.05$);对心率的影响结果详见表 4。

2.4　各组对心肌缺血模型大鼠标准Ⅱ导联心电图(T 波、S-T 段(J 点))指标的影响　硝苯地平组、养心氏片高、中剂量组能明显降低冠脉结扎致大鼠各时间点标准Ⅱ导联 S-T 段(J 点)的抬高($P<0.05$),各给药组均能明显降低冠脉结扎致大鼠各时间点标准Ⅱ导联 T 波的抬高($P<0.05$),改善心肌缺血时大鼠的心电图状况。结果详见表 5、表 6 中所示。

表 3　养心氏片对冠脉结扎致心肌缺血大鼠血清生化指标的影响($\bar{x}\pm s$,n = 10)

组别	血清生化指标				
	CK 活力(U/mL)	LDH 活力(U/L)	SOD 活力(U/mL)	MDA 含量(nmol/mL)	NO 含量(μmol/L)
假手术	0.47 ± 1.34 **	1403.39 ± 1384.62 **	148.74 ± 10.51 **	2.37 ± 1.07 **	89.87 ± 56.52 **
模型	4.22 ± 2.52	5669.02 ± 812.54	118.03 ± 20.71	10.07 ± 3.96	33.45 ± 28.70
硝苯地平	2.42 ± 1.58 *	3854.60 ± 1881.80 *	144.58 ± 16.27 **	3.74 ± 1.64 **	75.81 ± 37.46 *
养心氏片高剂量	2.46 ± 0.99 *	3980.80 ± 1860.60 *	146.54 ± 14.02 **	5.09 ± 3.18 **	74.75 ± 27.87 *
养心氏片中剂量	3.06 ± 1.45	5141.58 ± 1891.34	140.39 ± 10.79 *	5.74 ± 3.35 **	53.63 ± 17.57
养心氏片低剂量	4.08 ± 2.03	5891.83 ± 711.39	121.01 ± 19.77	6.49 ± 3.95 *	34.87 ± 40.86

注:模型对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$。

表 4　养心氏片对冠脉结扎致心肌缺血大鼠心率(HR)的影响($\bar{x}\pm s$,n = 10)

组别	正常值(次/min)	结扎后各时间点 HR 变化率(%)				
		结扎后 10 min	结扎后 30 min	结扎后 45 min	结扎后 60 min	结扎后 90 min
假手术	408.60 ± 42.59	-3.23 ± 6.14 *	-3.08 ± 7.55	-3.19 ± 9.10 *	-4.92 ± 8.53 **	-5.70 ± 7.13 *
模型	405.90 ± 33.91	3.50 ± 7.06	2.14 ± 6.13	3.13 ± 6.70	4.03 ± 8.67	1.10 ± 5.13
硝苯地平	402.00 ± 46.41	-3.89 ± 4.32 *	-3.85 ± 5.63	-4.38 ± 6.39 *	-4.23 ± 6.13 *	-8.90 ± 5.38 **
养心高剂量	434.70 ± 48.76	-5.98 ± 5.39 **	-6.44 ± 4.40 **	-5.03 ± 5.79 *	-4.77 ± 5.32 *	-7.36 ± 5.24 **
养心中剂量	414.40 ± 42.33	-1.33 ± 10.60	-4.18 ± 6.89 *	-2.19 ± 6.49	-0.55 ± 6.90	-0.50 ± 7.66
养心低剂量	410.90 ± 41.33	-4.13 ± 5.17 *	-1.57 ± 4.93	-1.72 ± 2.63	-1.25 ± 4.89	-1.16 ± 5.44

注:与模型对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$。

表 5　养心氏片对冠脉结扎致心肌缺血大鼠标准Ⅱ导联 S-T 段(J 点)的影响($\bar{x}\pm s$,n = 10)

组别	正常(mv)	结扎后各时间点 J 点值(mv)					
		结扎后 5 min	结扎后 10 min	结扎后 15 min	结扎后 30 min	结扎后 45 min	结扎后 60 min
假手术	0.002 ± 0.003	0.011 ± 0.017 **	0.011 ± 0.017 **	0.014 ± 0.020 **	0.015 ± 0.016 **	0.013 ± 0.015 **	0.013 ± 0.014 **
模型	0.004 ± 0.004	0.105 ± 0.036	0.119 ± 0.032	0.142 ± 0.030	0.145 ± 0.021	0.156 ± 0.026	0.163 ± 0.036
硝苯地平	0.004 ± 0.006	0.072 ± 0.034 **	0.105 ± 0.034	0.106 ± 0.032 *	0.119 ± 0.029 *	0.128 ± 0.024 *	0.128 ± 0.026 *
养心高剂量	0.003 ± 0.004	0.077 ± 0.018 *	0.099 ± 0.027	0.108 ± 0.019 *	0.111 ± 0.021 **	0.124 ± 0.020 *	0.136 ± 0.021
养心中剂量	0.004 ± 0.006	0.078 ± 0.028 *	0.105 ± 0.043	0.119 ± 0.047	0.130 ± 0.042	0.135 ± 0.035	0.139 ± 0.032
养心低剂量	0.003 ± 0.005	0.086 ± 0.025	0.118 ± 0.047	0.120 ± 0.041	0.133 ± 0.049	0.141 ± 0.049	0.143 ± 0.044

注:与模型对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$。

表 6　养心氏片对冠脉结扎致心肌缺血大鼠标准Ⅱ导联 T 波的影响($\bar{x}\pm s$,n = 10)

组别	正常(mv)	结扎后各时间点 T 波值(mv)					
		结扎后 5 min	结扎后 10 min	结扎后 15 min	结扎后 30 min	结扎后 45 min	结扎后 60 min
假手术	0.129 ± 0.033	0.157 ± 0.043 **	0.156 ± 0.037 **	0.151 ± 0.032 **	0.158 ± 0.038 **	0.160 ± 0.035 **	0.161 ± 0.031 **
模型	0.143 ± 0.032	0.343 ± 0.106	0.372 ± 0.110	0.413 ± 0.070	0.429 ± 0.078	0.443 ± 0.083	0.446 ± 0.081
硝苯地平	0.115 ± 0.039	0.175 ± 0.038 **	0.205 ± 0.043 **	0.236 ± 0.049 **	0.252 ± 0.056 **	0.284 ± 0.083 **	0.289 ± 0.065 **
养心高剂量	0.117 ± 0.035	0.227 ± 0.068 **	0.249 ± 0.072 **	0.276 ± 0.060 **	0.277 ± 0.056 **	0.298 ± 0.053 **	0.313 ± 0.053 **
养心中剂量	0.123 ± 0.033	0.274 ± 0.065 *	0.341 ± 0.081	0.351 ± 0.074	0.350 ± 0.072 *	0.365 ± 0.071 *	0.367 ± 0.070 *
养心低剂量	0.127 ± 0.035	0.246 ± 0.070 **	0.312 ± 0.089	0.321 ± 0.097 **	0.349 ± 0.099 *	0.366 ± 0.105 *	0.364 ± 0.110 *

注:与模型对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$。

3　讨论

心脏是机体血液循环的“泵”器官,是保证全身供血、供氧的重要组织,而心脏本身做功所需要的能量和营养物质几乎唯一地由冠脉循环提供。当心肌缺血时,使冠脉血流量不足,导致心肌氧的供需平衡失调,心肌缺血缺氧会导致心肌细胞代谢过程紊乱,尤其是能量物质生成锐减,正常心功能难以维持,心肌收缩及舒张功能障碍;又因血流中断,有害产物难

以清除,心肌细胞和血清中各种酶等发生改变,造成心肌细胞损伤。同时由于心功能的下降,导致心肌力学和血流动力学各项指标发生不同程度的改变。心肌细胞内含有丰富的酶,如肌酸激酶等,心肌细胞损伤死亡后,酶随着细胞膜通透性的增高而入血。随着血流的减少,缺血心肌处于缺血缺氧状态,脂质极易发生过氧化反应,形成脂质过氧化物。由于缺氧所致过氧化物和自由基的增多,心肌细胞膜受损更甚,外漏之血液中的肌酸激酶等的增多[11,12,14]。

养心氏片通过降低心肌缺血大鼠的 HR,抑制大鼠冠脉结扎所致 T 波升高的作用,明显减小心肌坏死百分比%,使得心肌耗氧量降低,改善缺血心肌氧供需失衡的状况。同时养心氏片能减少心肌酶的漏出,降低血清中 CK、LDH 活性;降低因脂质过氧化而升高的 MDA 含量,升高 SOD 活性,提高缺血心肌细胞的抗氧化能力,减少脂质过氧化引起的自由基损伤,又能升高血清 NO 含量,保护受损心肌细胞,降低心肌受损程度[5-6]。

综上所述,养心氏片抗心肌缺血主要作用机制可能是,稳定保护缺血心肌细胞,增加冠脉供血,减少心肌受损程度,减少梗死面积;改善心肌力学,降低心肌耗氧量。养心氏片经过现代先进工艺提取、纯化,制成片剂后,其有效成分含量提高,通过对大鼠冠脉结扎致心肌缺血模型的实验研究,表明养心氏片具有明显的抗心肌缺血的作用,其中以片剂高剂量作用最强,为临床广泛应用于心血管疾病治疗提供了试验依据[12-14]。

参考文献

[1]徐叔云,卞如濂,陈修,等. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2002:941-1059.

[2]陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:494-495,534-536.

[3]沈晓飞,李佳川,曾勇,等. 益心通络颗粒对大鼠急性心肌缺血和血液流变学的影响[J]. 中药药理与临床,2010(5):110-112.

[4]周文武,林玲,陈军,等. 冠脉结扎法制做大鼠心肌缺血模型[J]. 中国实验动物学报,2005,12(4):226-230.

[5]贺海波,许佳,徐媛青,等. 竹节参总皂苷预处理对冠脉结扎致大鼠急性心肌缺血损伤的影响[J]. 中药材,2012,35(5):744-749.

[6]余燕,龙子江,金花荣,等. 心舒滴丸对冠脉结扎所致大鼠长期心肌缺血模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(3):109-111.

[7]牟艳玲,王福文,张强,等. 甲胺鸢尾素对冠脉结扎致急性心肌缺血大鼠心功能的影响[J]. 中国药学杂志,2014,49(2):126-128.

[8]杨勇. 益心康泰胶囊对冠状动脉结扎所致心肌缺血大鼠模型的保护作用[J]. 中外医学研究,2012,10(16):13-14.

[9]李丽,梁绪国,刘锡强,等. 迷迭香酸对冠脉结扎大鼠心肌缺血损伤的保护作用[J]. 中国医学创新,2009,6(22):18-20.

[10]魏征人,李红,杨世杰. 蒺藜皂苷对大鼠在体结扎冠脉造成的急性心肌缺血损伤的保护作用[J]. 吉林大学学报:医学版,2005,31(1):1-4.

[11]李金华,姚小军,王丹,等. 加味黄连解毒汤抗心肌缺血作用[J]. 分子诊断与治疗杂志,2014(2):117-120.

[12]朱盛,杨斌,刘建勋. 祛痰化瘀通脉颗粒对急性心肌缺血大鼠血管新生的影响及机制研究[J]. 中华中医药杂志,2013,28(8):2290-2293.

[13]江文德,陈玉华,王迎平,等. 丹参素及另两种水溶性丹参成分抗心肌缺血和对冠状动脉作用的研究[J]. 上海第一医学院学报,1982,9(1):13.

[14]黄秀兰,王伟,周亚伟. 淫羊藿总黄酮注射液对大鼠实验性心肌缺血的保护作用[J]. 中国中西医结合杂志,2006,26(1):68-71.

(2014-04-26 收稿 责任编辑:王明)

(上接第 552 页)

[4]仇翠霞,庄伟,黄爱花. 浅析化疗药物所致静脉炎的预防及护理[J]. 职业卫生与应急救援,2004,22(4):204.

[5]罗盛,孙岚,田园,等. 地塞米松对长春瑞滨所致静脉炎的预防作用观察[J]. 浙江临床医学,2008,10(1):32.

[6]周际昌. 实用肿瘤内科治疗[M]. 北京:北京科学技术出版社,2013:59.

[7]郑玉群. 长春瑞滨化疗致静脉炎 100 例原因分析及护理对策[J]. 现代中西医结合杂志,2007,16(14):1993-1994.

[8]周际昌. 实用肿瘤内科治疗[M]. 北京:北京科学技术出版社,2013:60.

[9]南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社,2006:75-2968.

[10]钟赣生. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社,2012:114-370.

[11]徐晓玉. 中药药理与应用[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2010:40-124.

[12]段泽星,谢立群. VEGF 在肿瘤生长和血管生成中的作用[J]. 世界华人消化杂志,2010,18(27):2894-2900.

[13]郝希山,魏于全. 肿瘤学[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:108-112.

[14]汤钊猷. 现代肿瘤学[M]. 3 版. 上海:复旦大学出版社,2011:279-280.

[15]黄洁夫,孙燕,石远凯主译. Holland Frei 癌症医学[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社,2014:182-207.

[16]何维,曹雪涛,熊思东,等. 医学免疫学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2013:97.

(2014-04-13 收稿 责任编辑:曹柏)