

• 药理 •

保心丸对实验性心肌缺血的保护作用

张 昱(中国中医研究院西苑医院 北京 100091)

王绵之 黄启福(北京中医药大学 北京 100029)

摘要 采用结扎冠脉所致心肌缺血大鼠模型,观察保心丸对实验性心肌缺血的作用,结果表明,保心丸能缩小心肌梗塞范围,减少心肌酶的释放,保护心肌组织超微结构,自动图像分析结果表明,保心丸能提高缺血心肌琥珀酸脱氢酶(SDH)和三磷酸腺苷酶(ATPase)的活性。

关键词 保心丸 心肌缺血 心肌梗塞范围 心肌酶 超微结构

Protective Effect of Baoxin Pills on Experimental Myocardial Ischemia*Zhang Yu(Xiyuan Hospital,China Academy of TCM,Beijing,100091)**Wang Mianzhi,Huang Qifu(Beijing University of TCM,Beijing,100029)*

Abstract: Using the model of rat myocardial ischemia induced by coronary artery ligation,protective effect of Baoxin pill on experimental myocardial ischemia was studied. The results showed that Baoxin pills could reduce the myocardial infarct size,decrease the release of myocardial enzyme and protect the myocardial tissue ultrastructure. Automatic image analysis showed that Baoxin pills could increase the activity of myocardial SDH and ATPase.

Key words: Baoxin pills,myocardial ischemia,myocardial ischemia size,myocardial enzyme,ultrastructure

保心丸是根据王绵之教授的经验方研制的中药制剂,具有益气养阴、活血通脉、化痰宣痹功效,经临床观察,该药对缺血性心脏病(冠心病)疗效显著。为进一步阐明其作用机理,验证其疗效,我们观察了该药对实验性心肌缺血大鼠的保护作用。

1 材料与方

1.1 动物 Wistar 雄性大鼠,体重 220g~260g,购自军事医学科学院实验动物中心。

1.2 药物与试剂 保心丸主要由人参、黄芪、麦冬、丹参、石菖蒲等组成,饮片由北京中医药大学中药教研室鉴定后加工成水泛丸,密封保存备用。对照药复方丹参片(丹参、三七、冰片)为广州市花城制药厂产品。实验前将两药用蒸馏水配制成 2mg/ml 和 1mg/ml 浓度的药液。氯化硝基四氮唑蓝(N-BT),上

海前进试剂厂产品。琥珀酸钠,北京红光化工厂产品。ATP 钠盐,Sigma 公司产品。

1.3 动物分组和模型制备 将大鼠随机分为假手术组、缺血组、复方丹参组和保心丸组。复方丹参组和保心丸组分别用复方丹参片、保心丸药液(5g/kg)灌胃,假手术组和缺血组灌服等容量的生理盐水,连续 3d,于第 4d 灌胃 30min 后进行实验。按 Seley 的方法^[1],乙醚麻醉,开胸挤出心脏,在左心耳与肺动脉圆锥之间,距主动脉根部 2mm 处,用丝线结扎冠状动脉前降支,将心脏送回胸腔,胸外按摩,待自主呼吸恢复后,缝合胸壁,假手术组仅做冠脉穿线,不结扎。

1.4 血清 CPK、LDH 测定 各组动物于结扎冠脉 5h 后,断头取血,离心,分离血清,于 24h 内在自动生化分析仪(日立 7150 型)测

定 CPK、LDH 含量。

1.5 心肌梗塞范围测定 摘取心脏,用滤纸吸去水分,称全心重量。剪去心房,将心室横切成 4 片,置于 pH7.4 的 0.5%N-BT 磷酸缓冲液中,于 37℃ 恒温箱中染色 15min,非梗塞区心肌被染成蓝色,梗塞区心肌不着色,剪去心肌非梗塞区,将梗塞区心肌称重,计算梗塞心肌占全心重量的百分比,借以判断梗塞范围。

1.6 心肌酶组织化学定量 SDH 活性测定按 N-BT 法,ATPase 活性测定按 Niles 改良的钙钴法^[2],每组 5 只大鼠心肌用冷冻切片切片,进行 SDH、ATPase 活性测定,每张切片在梗塞区随机观测 3 个视野,用美国 TN8502 型自动图像分析仪测其灰度值,求其平均值。

1.7 电镜超微结构观察 电镜标本用 2.5%戊二醛前固定和 1%锇酸后固定,丙酮逐级脱水,环氧树脂 Epon 812 包埋,超薄切片,醋酸双氧铀和枸橼酸铅双重染色,用 JEM-1200 EX 透射电镜(日本电子公司)观察。

1.8 统计方法 数值用平均值±标准差表示,显著性检验用 t 检验。

2 结果

2.1 保心丸对血清 CPK、LDH 的影响 结扎冠脉 5h 后,缺血组血清 CPK、LDH 含量较假手术组明显增多,2 组比较有显著差异。保心丸组和复方丹参组血清 CPK、LDH 含量低于假手术组,有显著差异,说明未能恢复至缺血前水平,但比缺血组明显下降,亦有显著差异。表明保心丸和复方丹参片均能减少缺血心肌细胞 CPK、LDH 的释放,而以保心丸作用更好。见表 1。

2.2 保心丸对心肌梗塞范围的影响 根据 N-BT 大体标本染色结果,计算缺血心肌占全心湿重的百分比,作为心肌梗塞范围。保心丸组,复方丹参组的心肌梗塞范围均小于缺血组,有显著性差异,两者之间无差异,表明

保心丸和复方丹参片均能缩小心肌梗塞范围。见表 2。

表 1 各组大鼠冠脉结扎 5h 后血清 CPK、LDH 的变化

组别	n	CPK(IU · L ⁻¹)	LDH(IU · L ⁻¹)
假手术组	6	664±117**	2948±281**
缺血组	6	1459±280	5016±601
复方丹参组	6	981±150* ^{ΔΔ}	3995±390* ^{ΔΔ}
保心丸组	6	928±124** ^Δ	3505±313** ^Δ

与缺血组比较 *P<0.05, **P<0.01;

与假手术组比较^ΔP<0.05, ^{ΔΔ}P<0.01, ($\bar{x}\pm s$, 表 3 同)

表 2 保心丸对结扎冠脉 5h 大鼠心肌梗塞范围的影响

组别	全心重 (mg)	缺血心肌重 (mg)	心肌梗塞范围 (%)
假手术组	627.6±39.5		
缺血组	586.8±43.2	169.5±32.9	29.2±6.9
复方丹参组	625.4±41.6	121.9±21.7	19.7±3.1*
保心丸组	616.2±38.3	126.8±17.6	20.6±2.5*

与缺血组比较 *P<0.05, n=6, ($\bar{x}\pm s$)

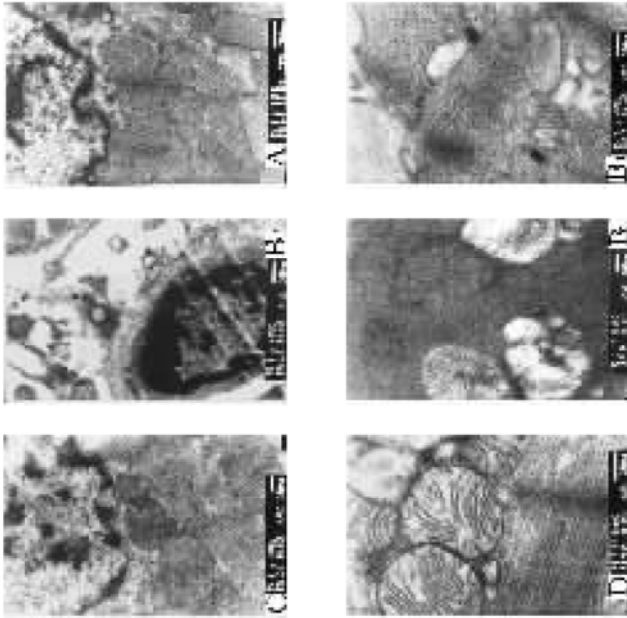
2.3 保心丸对心肌酶组织化学的影响 结扎冠脉 5h 后,缺血组梗塞区心肌 SDH、ATPase 活性下降,其灰度值低于假手术组,有显著性差异。保心丸组和复方丹参组梗塞区心肌细胞 SDH、ATPase 活性虽然较假手术组减弱,有显著性差异,但与缺血组比较明显增加,灰度值明显高于缺血组,有显著性差异。说明保心丸和复方丹参片均能提高缺血心肌 SDH、ATPase 活性,而保心丸作用强于复方丹参片。见表 3。

表 3 各组动物心肌酶组织化学图像定量分析(灰度值, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	LDH	ATPase
假手术组	5	263.0±91.4**	127.2±49.4**
缺血组	5	78.7±15.6	23.2±8.3
复方丹参组	5	118.2±28.8* ^{ΔΔ}	48.7±17.4* ^{ΔΔ}
保心丸组	5	144.8±32.6** ^Δ	64.1±20.5** ^Δ

2.4 保心丸对缺血心肌超微结构的影响 从附图可见,假手术组的肌原纤维清晰,排列整齐,心肌细胞核清晰,核膜完整,核染色质均匀分布,线粒体无肿胀,嵴排列规则(图 A);缺血组的肌原纤维模糊,排列不整,延伸,断裂(B1),心肌细胞肿胀,核染色质聚集(图 B2),线粒体肿胀,嵴溶解消失,呈基质样变性,基质内有髓样小体形成和钙沉积(图

B3);复方丹参组的心肌细胞核正常,肌原纤维基本清晰,排列整齐,线粒体接近假手术组,嵴排列也较规则(图C);保心丸组的肌原纤维基本清晰,排列整齐,线粒体接近假手术组,嵴排列也较规则,细胞核、核膜清晰,染色质分布均匀(图D)。



附图 保心丸对缺血心肌超微结构的影响

A. 假手术组(A×15000) B. 缺血组(B1×30000
B2×12000 B3×50000) C. 复方丹参组(C×15000)
D. 保心丸组(D×40000)

3 讨论

在本实验中,灌服保心丸可使心梗后大鼠血清CPK、LDH活性明显下降,心肌梗塞面积显著缩小,减轻心肌缺血的严重程度,而保心丸在降低CPK、LDH活性方面,其作用优于复方丹参片。另外,电镜显示,保心丸对缺血心肌细胞内亚微结构,尤其是线粒体具有保护作用,从而防止了心肌缺血区的扩展,限制心肌梗塞范围,证明保心丸对缺血心肌有肯定的保护作用。

SDH是线粒体的标志酶,参与三羧酸循环,位于线粒体内,所以SDH活性的变化可反映细胞内三羧酸循环的情况,可作为缺血心肌变化的指标之一^[3]。ATPase是线粒体在氧化磷酸化,合成ATP以及能量转换过

程中的转换酶。心肌生化研究表明,由于缺血心肌无氧代谢,导致乳酸蓄积,细胞内酸中毒,从而引起心肌缺血区的ATPase活性显著降低^[4]。所以,ATPase活性也是反映缺血心肌变化的重要指标。本研究结果表明,保心丸和复方丹参片均能提高缺血心肌的SDH、ATPase活性,说明保心丸和复方丹参片均具有防止缺血损伤线粒体的作用,而保心丸作用更为显著,均能产生能量供给心肌利用,改善心肌细胞功能。

补气中药如人参、党参,能促进细胞对葡萄糖的利用,提高糖酵解和有氧分解能力,增加能量供应,或者提供心肌LDH、SDH活性,改善能量代谢^[5,6]。所以,保心丸提高SDH、ATPase活性作用强于复方丹参片也可能与保心丸除了具有活血祛瘀的作用外,尚具有补气作用有关。

参考文献

- 1 Selye H, Bajusz H, Grasso S, et al. Simple techniques for surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology*, 1960, 11: 398
- 2 陈啸梅主编. 组织化学手册. 北京: 人民卫生出版社, 1980. 154
- 3 刘爱莲, 孙琦, 沈乃, 等. 急性心肌缺血不同时间后再灌注后琥珀酸脱氢酶的影响. *哈尔滨医科大学学报*, 1987, 21(6): 10
- 4 Aronld Schwartz. Biochemical and morphologic correlate of cardiac ischemia. *Am J Cardiol*, 1973, 32: 46
- 5 李仪奎, 姜名英主编. 中药药理学. 北京: 中国中医药出版社, 1992. 182
- 6 林 谦, 于友华, 谢锦玉, 等. 党参对冠心病心绞痛患者的血液细胞及对大鼠心肌作用的定量细胞化学观察. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 1994, 3(4): 398

(收稿: 1997-11-21)