

宁心滴丸对大鼠急性心肌缺血保护作用的实验研究

俞浩^{1*}, 王钦茂², 刘海鹏², 赵强³

(1. 安徽技术师范学院, 安徽 凤阳 233100; 2. 安徽中医学院, 安徽 合肥 230038;
3. 安徽大东方药业有限公司, 安徽 合肥 230088)

[摘要] 目的: 观察宁心滴丸对大鼠急性心肌缺血的影响。方法: 采用结扎大鼠冠状动脉左前降支建立急性心肌缺血模型, 观测宁心滴丸对急性心肌缺血大鼠心电图、心肌梗死范围、肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、血栓素(TXB₂)及 $\text{G-Ket}\sigma\text{-PGF}_{1\alpha}$ 的影响。结果: 宁心滴丸能显著抑制急性心肌缺血大鼠心电图J点升高, 减小心肌梗死范围, 降低CK、LDH、MDA及TXB₂水平, 升高SOD、 $\text{G-Ket}\sigma\text{-PGF}_{1\alpha}$ 水平。结论: 宁心滴丸对大鼠急性心肌缺血具有保护作用。

[关键词] 宁心滴丸; 急性心肌缺血; 肌酸激酶; 乳酸脱氢酶; 脂质过氧化; 血小板功能

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)01-0036-03

Protective Effect of NingXinDiWan on Acute Myocardial Infarction in Rats

YU Hao¹, WANG Qin-mao², LIU Hai-peng², ZHAO Qiang³

(1. Anhui Technical Teachers College, Fengyang 233100, China; 2. Anhui College of TCM, Hefei 230038, China;
3. Anhui Dadongfang Pharmacy Corporation, Hefei 230088, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the protective effects of NingXinDiWan(NXDW) on acute myocardial infarction in rats. **Methods:** The model acute myocardial infarction of rat was induced by ligating anterior branch of the left coronary artery. The change of ECG, and the level of CK, LDH, SOD, MDA, TXB₂, $\text{G-ket}\sigma\text{-PGF}_{1\alpha}$ were determined, the infarction area of myocardium was also observed. **Results:** NXDW could obviously refrain the elevated J of ECG, decrease the infarction area of myocardium, reduce the level of CK, LDH, MDA and TXB₂, and increase the level of SOD and $\text{G-ket}\sigma\text{-PGF}_{1\alpha}$. **Conclusion:** NXDW can protect myocardium from injury induced by ligating anterior branch of left coronary artery in rats.

[Key words] NXDW; Acute myocardial infarction; Creatine kinase; Lactic acid dehydrogenase; Lipid preoxidation; Platelet function

宁心滴丸是从黄杨科植物中国小叶黄杨(*Buxus microphylla* Sieb. et Zucc. var. *sinica* Rehd. et Wils)中提取的环维黄杨星 D(CVB-D)与聚乙二醇加工制成, 其功能为行气活血、通络止痛, 临床主要用于治疗心肌缺血、心律失常及心绞痛等。本试验采用结扎大鼠冠状动脉左前降支复制急性心肌缺血模型, 观察宁

心滴丸对急性心肌缺血的保护作用。

1 材料与方法

1.1 动物 健康 Wistar 雄性大鼠, 体重 240 ± 20g, 由安徽医科大学实验动物中心提供, 合格证: 皖医实动准第 01 号。

1.2 药品与试剂 宁心滴丸, 丸重 45mg, 每丸含 CVB-D1mg, 由安徽大东方药业有限公司提供, 批号 010826。黄杨宁片, 片重 75mg, 含 CVB-D0.5mg, 芜湖张恒春药业有限公司生产, 批号 010102。CK、LDH、SOD、MDA 试剂盒, 南京建成生物工程研究所, 批号

[收稿日期] 2004-11-16

[通讯作者] 俞浩, Tel: (020) 36587314; E-mail: yuhao1230@sohu.com

com

分别为 20011230、20011230、20011222、20011222。TXB₂、6-Keto-PGF_{1α} 试剂盒,北京北方生物技术研究
所,批号分别为 011228、011222。硝基四氮唑兰
(NBT)药盒, Sigma 公司生产,批号 20011218。

1.3 仪器 752 分光光度计,上海第三分析仪器厂。
XW-80A 旋涡混合器,上海医科大学仪器厂。电热恒
温水浴箱,上海医用恒温设备厂。80-2 型离心沉淀
器,上海手术器械厂。XDH-3 心电图机,上海医用电
子仪器厂。电子天平,上海天平仪器厂。911-γ 放射
免疫计数器,中国科学技术大学仪器厂。

1.4 方法 取 Wistar 雄性大鼠 72 只,适应饲养 1
周,随机分为 6 组,即宁心滴丸高、中、低剂量组,剂
量分别为 CVB-D 2, 1, 0.5mg/kg, 黄杨宁片组(阳性药
组,剂量为 CVB-D 2mg/kg),模型组和假手术组,每
组 12 只。灌胃给药,连续 5d,每天 1 次。模型组和
假手术组给等容量生理盐水。末次给药后 1h,参照
文献方法^[1],乌拉坦(1.2g/kg)麻醉,稳定 5min,皮下
插电极,记录 II 导联心电图。手术部位剪去毛,常规
消毒皮肤,于左胸第 4、5 肋间隙打开胸腔,挤压胸
廓,使心脏暴露于胸腔外,在肺动脉圆锥左缘,左心
耳根部下缘 1~2mm 处,用 5/0 无损伤缝合针结扎冠
状动脉左前降支,然后立即将心脏放回胸腔,缝合。
每组选模型成功(与结扎前比较,大鼠心电图 J 点显
著升高)大鼠 8 只。假手术组除不结扎冠状动脉外,
其余操作同手术组。结扎后 24h,处死大鼠。

1.5 观察指标

1.5.1 心电图变化 以 PR 段为基线,测定各组大
鼠结扎后 24h 和结扎前 II 导联心电图 J 点升高值,
并计算 J 点变化率。J 点变化率(%) = 100% × (结
扎后 24h J 点高度 - 结扎前 J 点高度) / 结扎前 J 点
高度。

1.5.2 心肌梗死范围测定(称重法)^[2] 处死大鼠,
胸骨正中打开胸腔,分离心脏,生理盐水洗净余血,
沿冠状沟剪去心房及各大血管,滤纸吸尽水分,电子
天平称重。然后将心肌切成 4~5 片,每片厚约
0.1cm,置 0.5% NBT 染色液中,37℃ 恒温水浴中染
色 15min。分离梗死区,称重,计算梗死区重量占心
室重量的百分比。

1.5.3 血清 CK LDH SOD MDA 含量测定 腹主动
脉取血,3500r/min 离心,分离血清,按试剂盒操作方
法,比色法测定。

1.5.4 血浆 TXB₂ 和 6-Keto-PGF_{1α} 含量测定 腹

主动脉取血 1.5mL,立即注入含消炎痛-EDTANa
0.2mL 的抗凝试管中,摇匀。4℃ 3500r/min 离心
15min,分离血浆,按试剂盒操作方法,放免法测定。

1.6 统计方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比
较采用单因素方差分析,数据统计采用 SPSS11.0
FOR WINDOWS 软件处理。

2 结果

2.1 对急性心肌缺血大鼠心电图的影响 由表 1
可知,宁心滴丸高、中剂量组能够显著抑制急性心肌
缺血大鼠 J 点升高,降低 J 点变化率,与模型组比较
有显著性差异。

表 1 宁心滴丸对急性心肌缺血大鼠心电图 J 点的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 (mg/kg)	药前 J 点高度 $\times 10^{-2}$ (mv)	J 点升高 $\times 10^{-2}$ (mv)	变化率 $\times 10^2$ (%)
模型组	—	3.88 ± 2.90	12.00 ± 4.54	6.09 ± 5.51
假手术组	—	3.13 ± 2.36	3.00 ± 1.20	1.76 ± 1.54
黄杨宁片组	2	3.27 ± 2.25	4.88 ± 1.64 ¹⁾	2.90 ± 2.66 ¹⁾
宁心滴丸高剂量组	2	3.38 ± 2.45	5.05 ± 1.38 ¹⁾	2.75 ± 2.27 ¹⁾
宁心滴丸中剂量组	1	3.25 ± 2.05	5.50 ± 1.39 ¹⁾	2.16 ± 1.15 ¹⁾
宁心滴丸低剂量组	0.5	3.75 ± 3.20	9.25 ± 2.87	5.00 ± 3.27

注:与模型组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01(下同)。

2.2 对急性心肌缺血大鼠心肌梗死范围的影响
由表 2 可知,宁心滴丸高、中、低剂量组均能显著减
小急性心肌缺血大鼠心肌梗死范围,与模型组比较
有显著性差异。

表 2 宁心滴丸对急性心肌缺血大鼠
心肌梗死范围的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

模型	剂量 (g/kg)	心室重(g)	梗死区重(g)	梗死范围(%)
模型组	—	0.72 ± 0.11	0.29 ± 0.06	40.69 ± 12.38
假手术组	—	0.77 ± 0.10	—	—
黄杨宁片组	2	0.76 ± 0.10	0.11 ± 0.04	13.82 ± 3.86 ²⁾
宁心滴丸高剂量组	2	0.79 ± 0.15	0.09 ± 0.03	11.08 ± 2.67 ²⁾
宁心滴丸中剂量组	1	0.78 ± 0.05	0.08 ± 0.02	10.88 ± 1.35 ²⁾
宁心滴丸低剂量组	0.5	0.76 ± 0.12	0.09 ± 0.02	11.67 ± 2.84 ²⁾

**2.3 对急性心肌缺血大鼠血清 CK LDH 含量的影
响** 由表 3 可知,宁心滴丸高、中、低剂量组能显著
降低急性心肌缺血大鼠血清 CK LDH 含量,与模型
组比较差异显著。

**2.4 对急性心肌缺血大鼠血清 SOD MDA 含量的影
响** 由表 4 可知,宁心滴丸高、中剂量组均能显著升
高急性心肌缺血大鼠血清 SOD 水平,降低血清 MDA
水平,与模型组比较具有显著性差异。

**2.5 对急性心肌缺血大鼠血浆 TXB₂、6-Keto-PGF_{1α}
含量的影响** 由表 5 可知,与模型组比较,宁心滴丸

高剂量组大鼠血浆 TXB₂ 含量显著降低,高、中、低剂量组大鼠血浆 6-Keto-PGF_{1a} 含量显著升高。

表 3 宁心滴丸对急性心肌梗死大鼠血清 CK、LDH 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 (mg/kg)	CK (u/ml)	LDH (× 10 ³) (u/l)
模型组	—	52.00 ± 11.18	10.00 ± 1.84
假手术组	—	28.00 ± 13.22	2.75 ± 0.97
黄杨宁片组	2	33.60 ± 12.45 ²⁾	4.00 ± 1.77 ²⁾
宁心滴丸高剂量组	2	31.60 ± 13.19 ²⁾	3.34 ± 1.27 ²⁾
宁心滴丸中剂量组	1	39.60 ± 7.44 ¹⁾	3.53 ± 1.78 ²⁾
宁心滴丸低剂量组	0.5	38.00 ± 12.50 ¹⁾	4.16 ± 1.46 ²⁾

表 4 宁心滴丸对急性心肌梗死大鼠血清 SOD、MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 (mg/kg)	SOD (NU/mL)	MDA (nmol/mL)
模型组	—	185.76 ± 22.82	12.32 ± 2.31
假手术组	—	263.60 ± 24.45	2.82 ± 0.49
黄杨宁片组	2	233.27 ± 33.95 ²⁾	4.74 ± 1.62 ²⁾
宁心滴丸高剂量组	2	226.54 ± 23.19 ²⁾	5.43 ± 1.71 ²⁾
宁心滴丸中剂量组	1	221.08 ± 25.44 ²⁾	7.53 ± 2.09 ²⁾
宁心滴丸低剂量组	0.5	205.14 ± 34.63	11.27 ± 1.95

表 5 宁心滴丸对急性心肌梗死大鼠血浆 TXB₂、6-Keto-PGF_{1a} 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 (mg/kg)	TXB ₂ (pg/mL)	6-Keto-PGF _{1a} (pg/mL)
模型组	—	147.25 ± 38.37	17.37 ± 3.48
假手术组	—	57.32 ± 18.21	26.45 ± 4.21
黄杨宁片组	2	107.14 ± 29.64 ¹⁾	21.53 ± 3.72 ¹⁾
宁心滴丸高剂量组	2	112.73 ± 32.79 ¹⁾	22.49 ± 4.67 ¹⁾
宁心滴丸中剂量组	1	121.96 ± 40.67	20.76 ± 3.39 ¹⁾
宁心滴丸低剂量组	0.5	126.99 ± 48.47	24.29 ± 5.64 ²⁾

3 讨论

结扎大鼠冠状动脉所致局灶性心肌梗死是目前国内外应用最广泛的方法,通过狭窄或完全闭塞冠状动脉,使其供应区血流减少或缺无,造成心肌梗死,心肌因缺血、缺氧而发生代谢紊乱,以致发生凝固性坏死,其发病过程与机制和临床相似。我们对传统的结扎方法进行了改进,动物麻醉后,直接用血管钳从肋间隙插入胸腔,挤出心脏结扎,除去死亡和不符合模型要求者(结扎后心电图 J 点升高不明显),造模成功率达 70% 以上,很好地满足了试验需要。

大鼠心肌梗死后,心电图出现 J 点急剧上抬。

同时,缺血引起心肌细胞受损,细胞内多种酶释放入血,引起一系列血清酶学变化,通过血清心肌酶变化可判定心肌缺血程度。NBT 能与活性酶作用,正常心肌被染成蓝色,缺血性损伤达一定程度时,组织中能量代谢障碍,酶活性降低或消失,故梗死区不着色^[3,4]。实验结果表明,宁心滴丸能抑制心肌缺血大鼠心电图 J 点升高,降低血清 CK、LDH 含量,减小心肌梗死范围。

通常情况下,机体通过酶系统或非酶系统产生氧自由基,后者能攻击生物膜中不饱和脂肪酸引发脂质过氧化作用,并因此形成脂质过氧化物如 MDA、酮基及新的氧自由基等,引起细胞损伤。因此,MDA 的含量常常可反映机体内脂质过氧化程度,间接反映细胞受损程度。正常情况下机体通过抗氧化体系包括 SOD 等迅速清除自由基,保证活性氧代谢平衡,心肌缺血时体内自由基生成增多,造成氧化损伤^[5]。宁心滴丸能升高血清 SOD 含量,降低 MDA 血清含量,因而能够对抗急性心肌梗死引起的细胞损伤。

血小板功能异常可能是心肌梗死的发病机理之一。TXA₂ 是强烈的血小板聚集诱导剂和血管收缩剂,PGI₂ 具有强大的抑制血小板聚集和扩张血管的作用。两者平衡对维持血小板功能和保护血管和防止血栓形成具有重要意义。TXA₂ 和 PGI₂ 性质不稳定,通过测定其稳定的代谢产物 TXB₂ 和 6-Keto-PGF_{1a},可反映体内 TXA₂ 和 PGI₂ 的水平^[6]。宁心滴丸能够降低 TXB₂ 水平,升高 6-Keto-PGF_{1a} 水平,改善血小板功能,可能是其抗心肌梗死的机制之一。

[参考文献]

[1] 王北婴,李仪奎. 中药新药研制开发技术与方法[M]. 上海:上海科学技术出版社,2001. 426-427.

[2] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1994. 921-922.

[3] 王学岭,刘静,陆一松,等. 心复康对实验性心肌梗死大鼠血清心肌酶活性及体外培养乳鼠心肌细胞酶活性的影响[J]. 中国中医药科技,1998,5(3): 165-166.

[4] 韩煜,范英昌,许东琴,等. 心复康对实验性心肌梗死大鼠心肌细胞缺血性损伤保护作用的实验研究[J]. 中国中医药科技,1998,5(3): 163-165.

[5] 孙成文,钟国赣,江启,等. 黄芪多糖抗氧化损伤作用的研究[J]. 中国药理学通报,1996,12(2): 161.

[6] 邵慧珍. 内皮细胞的抗栓、促栓作用与临床[J]. 血栓与止血学杂志,1995,2(2): 93.