

碧血胶囊对大鼠急性心肌缺血的保护作用

李娟莉 陆奕宇 苏式兵

【摘要】 目的 探讨碧血胶囊对大鼠急性心肌梗死的保护作用。**方法** 采用麻醉开胸结扎冠状动脉左前降支造成急性心肌梗死模型,将 60 只雄性 SD 大鼠随机分为:假手术组、急性心肌梗死模型组、通心络组、碧血胶囊高、低剂量组、地尔硫卓组。测定用药前后大鼠模型心电图、心律失常、梗死面积以及血清肌酸激酶、乳酸脱氢酶、丙二醛、超氧化物歧化酶的变化。**结果** 与急性心肌梗死模型组比较,碧血胶囊高剂量组能够明显减少冠脉结扎大鼠的心肌梗死面积($P < 0.05$)及血中丙二醛、肌酸激酶的含量($P < 0.05$),显著降低急性心肌缺血所致 T 波的高抬($P < 0.01$)。**结论** 碧血胶囊能减轻大鼠心肌梗死时的心肌缺血程度及心律失常的发生率,降低心肌梗死面积及血清肌酸激酶和丙二醛的水平,对大鼠急性心肌梗死具有一定的保护作用。

【关键词】 碧血胶囊; 心肌梗死; 心肌缺血; 大鼠

【中图分类号】 R256.2 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2014.11.002

Protective effects of Bixue capsule on acute myocardial infarction rats LI Juan-li, LU Yi-yu, SU Shi-bing. Research Center for Traditional Chinese Medicine Complexity System, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Corresponding author: SU Shi-bing, E-mail: Shibingsu07@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the protective effects of Bixue capsule on acute myocardial infarction ischemia rats. **Methods** Acute Myocardial Infarction (AMI) model was induced by left coronary artery ligation. Sixty healthy Sprague-Dawley male rats were randomly divided into sham operated group, MI group, high and low dose Bixue capsule groups, Diltiazem groups and Tongxinluo capsule control groups. The changes of T waveform, MI area and serum SOD, MDA, LDH, CK levels were measured after ligation. **Results** compared to MI group, high dose Bixue capsule group can reduce the increased MI area ($P < 0.05$), serum CK and MDA levels ($P < 0.05$) and T waveform ($P < 0.01$) caused by acute myocardial ischemia. **Conclusion** Pretreatment with Bixue capsule effectively improved the ischemic myocardial through reducing T waveform, myocardial infarction area and serum CK and MDA levels.

【Key Words】 Bixue capsules; Myocardial infarction; Myocardial ischemia; Rats

心肌缺血常见于冠状动脉粥样硬化性心脏病,是由于心脏冠状动脉循环改变引起冠状血流和心肌需求之间不平衡而导致的心肌损害。心肌缺血严重者可导致缺血局部的心肌梗死,甚至引起猝死。目前,临床上尚缺乏能够有效改善心肌缺血、预防心肌梗死,且安全的药物。中药复方碧血胶囊具有改善实验大鼠心功能和血流动力学^[1]和血液

流变性^[2]以及降低血脂的作用^[3]。本研究采用大鼠急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)模型,通过测定用药前后大鼠模型心电图、梗死面积以及血清肌酸激酶(creatine kinase, CK)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)以及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的变化,进一步观察了碧血胶囊对结扎大鼠冠状动脉造成心肌梗死的保护作用,为其临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物

选用 7 周龄的健康清洁级雄性 SD 大鼠,体质

基金项目:上海市教委 E-研究院中医内科建设计划(E03008)

作者单位:201203 上海中医药大学复杂系统研究中心

作者简介:李娟莉(1972-),女,博士,讲师。研究方向:心血管生理。E-mail: lijuanl@sina.com

通讯作者:苏式兵(1955-),博士,教授,博士生导师。研究方向:中药药理。E-mail: Shibingsu07@163.

量(250 ± 20) g, 实验动物由上海中医药大学实验动物中心提供, 2010 年 5 月购入(动物许可号 SCXK2007-0005)。

1.2 分组及给药

将 SD 大鼠随机分为 6 组, 每组 10 只, 分别为: 假手术组、急性心肌梗塞模型(AMI)组、碧血胶囊(原料药的重量配比为: 三七总皂苷 5 份, 绞股蓝总皂苷 5 份, 竹叶提取物 4 份, 水蛭细粉 20 份)高剂量组(968 mg/kg)和低剂量组(484 mg/kg), 通心络胶囊组(500 mg/kg), 地尔硫卓静脉滴注组[4.5 mg/(200 g·d), 30~40 分钟内滴完]。由于在手术中出现结扎所致的出血、心律失常等, 导致大鼠的死亡, 各组大鼠最终的统计分析动物数均为 8 只。

1.3 实验性 AMI 大鼠模型的制备

按照文献进行模型制备^[4]。实验大鼠各给药组按照上述剂量每天 1 次, 灌胃 1 周, 各组最后统计分析的动物数均为 8 只。在各灌胃组末次给药后 2 小时后手术, 地尔硫卓组在急性手术前 10 分钟尾静脉注入。除假手术组开胸过线但不结扎外, 其余动物行开胸手术建立 AMI 模型。具体方法是以 1% 戊巴比妥钠腹腔麻醉, 大鼠背位固定, 连接记录心电图的记录电极, 颈部皮肤切开气管, 连接 C201 型动物呼吸机。同时进行左心室插管, 待插管稳定 30 分后, 剃光左侧胸部毛发, 在胸部第二、三肋间偏左 4~5 mm 处施开胸术, 暴露心脏, 剪开心包, 在左心耳根部下方 2 mm 处进针, 结扎冠状动脉, 肉眼观察结扎线以下心肌立刻出现黑紫, 即造成急性心肌缺血模型^[5]。迅速关闭胸腔缝合, 各组动物均于结扎即刻或几分钟内出现 ST 抬高或降低, 有的可伴有 T 波抬高或降低, 则结扎手术成功。若 ST 段或 T 波不抬高或不降低者弃之。

1.4 试剂和仪器

通心络胶囊(国药准字 219980015, 石家庄以岭药业); 地尔硫卓(田边制药株氏会社日本大阪工厂生产, 天津田边公司分装, 分装批号 0902002); 碧血胶囊(每粒胶囊 0.43 g, 由上海埃克生物制品有限公司提供, 批号 080228); 氯化硝基四氮唑蓝 NBT(国药集团化学试剂有限公司, 批号 F10091214); MDA、SOD、LDH 和 CK 试剂盒, 均购于南京建成生物工程研究所。RM 6240 型生物信号处理采集处理系统和 C201 型动物呼吸机: 四川成都仪器厂; ECG-6511 心电图机: 上海医疗电子仪器公司; Synergy2 酶标仪: 美国伯腾仪器有限公司(BioTek)。

1.5 指标检测

1.5.1 心电图观察 连接 RM6240 型生物信号处理采集处理系统, 记录心电图(ECG), 术毕, 在 5、10、30、60 分钟分别进行心电图记录, 观察 T 波的变化。

1.5.2 组织病理学观察 取下心脏称重, 沿冠状沟剪去大血管根部和心房, 称左心室重, 并将其均匀地横断切成 5 片, 置于 N-BT 染液中, 在 37℃ 恒温水浴箱中染色 15 分钟。测量每片心肌双侧梗死区(NBT 非染色区)与非梗死区(NBT 染色区), 待梗死心肌界线清楚时立即取出, 切取梗死心肌并称重。以梗死心肌与心室湿重或心脏重量的百分比做为心肌梗死面积(myocardial infarct size, MIS)^[6]。

1.5.3 血清 CK、LDH、SOD、MDA 含量的检测 从大鼠腹主动脉采血 3 ml 并分离血清后, 严格按照试剂盒说明在 BIOTEK 酶标仪上检测血清中 LDH、CK、SOD、MDA 的含量。

1.6 统计学处理

数据采用 SPSS 11.5 软件, 所有结果均用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 6 组资料间的上述指标(T 波、CK、SOD、MDA 及心梗面积)的组间比较, 各組间整体分析用单因素 ANOVA 方差分析, 两两比较用 LSD 检验方法; LDH 应用非参检验 Kruskal-Wallis 方法分析; T 波的检验, 用重复测量数据的方差分析方法, $P < 0.05$ 为统计学上差异有显著性。

2 结果

2.1 碧血胶囊对大鼠急性心肌缺血后 T 波的影响

大鼠急性心肌缺血后, 与缺血前相比, 各组 T 波均显著升高, 并且随着缺血时间的延长有所恢复; 经重复测量数据的方差分析, 与 AMI 组相比, 假手术组、碧血胶囊高剂量组、碧血胶囊低剂量组、通心络组、地尔硫卓组, 各组在缺血的不同时间后的 T 波升高, 都显著低于 AMI 组($P < 0.01$)。这表明各用药组在不同的时间点均能降低急性缺血后所造成的 T 波的升高, 见表 1。图 1 分别显示了碧血胶囊用药组与 AMI 组间 T 波变化的区别。

2.2 碧血胶囊对大鼠血清 LDH、CK、SOD 和 MDA 的影响

如表 2 所示, 大鼠急性心肌缺血后, 与缺血前相比, 各组 LDH、CK 均升高。各用药组 CK 均降低, 运用单因素方差分析, $F = 1.62$, $P = 0.047$, 这表明各組间有统计学差异。与 AMI 组相比, 运用 LSD 检验, 结果显示除碧血胶囊低剂量组($P = 0.17$ 外),

表 1 碧血胶囊对大鼠急性心肌缺血 T 波的影响($\bar{x} \pm s, mV, n=8$)

组别	缺血前	缺血后 0 min	缺血后 10 min	缺血后 30 min	缺血后 45 min	缺血后 60 min
假手术组	133.4 ± 15.2	141.8 ± 15.1	142.7 ± 17.3 ^b	145.8 ± 17.5 ^b	144.5 ± 19.2 ^b	147.3 ± 17.4 ^b
AMI 组	120.7 ± 4.0	260.8 ± 43.0	309.6 ± 19.7	322.9 ± 20.0	350.7 ± 30.9	345.4 ± 30.1
碧血胶囊高剂量组	132.0 ± 10.7	172.5 ± 16.9 ^b	149.9 ± 20.5 ^b	154.1 ± 21.2 ^b	179.7 ± 15.4 ^b	171.0 ± 12.6 ^b
碧血胶囊低剂量组	122.9 ± 24.6	159.0 ± 19.0 ^b	167.7 ± 30.0 ^b	194.1 ± 49.6 ^b	188.1 ± 45.7 ^b	181.7 ± 44.8 ^b
通心络组	98.1 ± 11.1	101.7 ± 12.5 ^b	130.2 ± 15.2 ^b	124.8 ± 18.3 ^b	141.4 ± 18.6 ^b	134.3 ± 8.9 ^b
地尔硫卓组	127.7 ± 17.9	160.2 ± 30.1 ^b	161.5 ± 40.6 ^b	163.4 ± 33.7 ^b	175.2 ± 32.3 ^b	159.4 ± 27.5 ^b

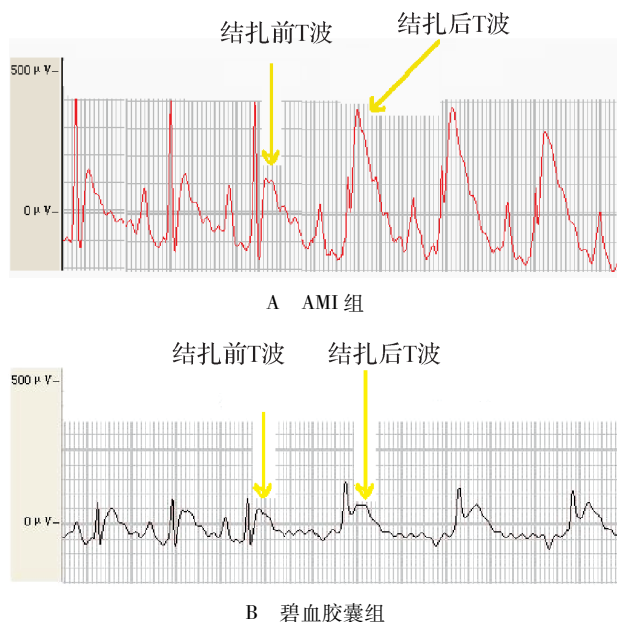
注:与 AMI 组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 

图 1 AMI 组、碧血胶囊组结扎后 T 波变化

各组均有显著性差异(高剂量组 $P = 0.018$, 通心络组 $P = 0.007$, 地尔硫卓组 $P = 0.005$)。各用药组血清 LDH 与模型组相比,有降低趋势,运用非参检验 Kruskal-Wallis 方法, $P = 0.07$, 这表明各组间均无显著性差异。与模型组相比,其中各用药组 MDA 降低,运用单因素方差分析, $F = 1.07$, $P = 0.03$, 这表明各组间有统计学差异。与 AMI 组相比,运用 LSD

表 2 碧血胶囊对大鼠急性心肌缺血后血清 LDH、CK、SOD 和 MDA 的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	LDH (U/L)	CK (μ /ML)	SOD (μ /ml)	MDA (nmol/ml)
假手术组	797 ± 108	0.7 ± 0.12	151.6 ± 22.7	0.86 ± 0.19
AMI 组	1469 ± 154	1.2 ± 0.10	100.5 ± 13.6	1.91 ± 0.31
碧血胶囊高剂量组	1006 ± 78	0.7 ± 0.12 ^a	137.2 ± 36.7	1.07 ± 0.26 ^a
碧血胶囊低剂量组	971 ± 95	0.9 ± 0.08	111.2 ± 33.8	1.35 ± 0.19
通心络组	944 ± 157	0.6 ± 0.14 ^b	148.6 ± 24.8	0.90 ± 0.23 ^b
地尔硫卓组	916 ± 130	0.6 ± 0.12 ^b	142.1 ± 22.7	0.80 ± 0.11 ^b

注:与 AMI 组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$

检验,结果显示除碧血胶囊低剂量组($P = 0.09$ 外),各组均有显著性差异(高剂量组 $P = 0.01$, 通心络组 $P = 0.005$, 地尔硫卓组 $P = 0.004$)。各用药组血清 SOD 与模型组相比,有增加趋势。运用单因素方差分析, $F = 1.2$, $P = 0.8$, 这表明各组间无统计学差异。

2.3 碧血胶囊对大鼠心肌梗死面积的影响

如表 3 所示,心梗面积运用单因素方差分析, $F = 1.32$, $P = 0.000$, 这表明各组间有统计学差异。与 AMI 组比较,碧血胶囊高剂量组($P = 0.006$)、通心络组($P = 0.000$)、地尔硫卓($P = 0.002$)组均能显著减少缺血所致的心肌梗死面积,碧血胶囊低剂量组($P = 0.096$)也能降低心肌梗死的面积,但没有统计学差异($P > 0.05$)。图 2 显示了大鼠 AMI 模型及各用药组的心梗面积(NBT 染色)。

表 3 碧血胶囊对大鼠心肌梗塞面积的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	心室重量(g)	梗死心肌重量(g)
假手术组	—	—
AMI 组	0.73 ± 0.02	0.11 ± 0.01 ^b
碧血胶囊高剂量组	0.67 ± 0.01	0.07 ± 0.01 ^a
碧血胶囊低剂量组	0.70 ± 0.01	0.10 ± 0.01
通心络组	0.66 ± 0.02	0.02 ± 0.00 ^b
地尔硫卓组	0.68 ± 0.01	0.06 ± 0.01 ^b

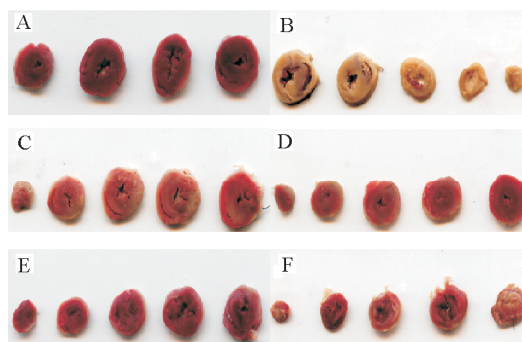
注:与 AMI 组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 

图 2 各组大鼠 AMI 后心梗面积的变化

3 讨论

结扎大鼠左冠状动脉前降支可引起急性心肌缺血及梗死。此法所致的急性心肌损伤后血流动力学和心肌代谢的改变类似于人类严重急性心肌缺血或心肌梗死,且梗死发生快、缺血的范围固定,故大鼠冠脉结扎法常用于抗心肌缺血药物的研究^[7-8]。本研究表明,与假手术组相比,急性心肌梗死组缺血后所致心电图 T 波高抬(超过 0.1 mV),表明急性心肌缺血、梗死的模型成功建立。

本研究采用 N-BT 组织化学染色法直接测定心肌梗死范围,同时通过检测 T 波的改变和测定血清酶学指标间接反映心肌梗死范围及程度,结合抗脂质过氧化指标,综合考察碧血胶囊抗心肌缺血作用。本实验证实,碧血胶囊能降低 T 波抬高程度,明显抑制血清 CK、LDH 水平升高,这表明碧血胶囊对冠脉结扎致大鼠急性心肌缺血具有良好的保护作用。

急性心肌缺血后,血清 CK、LDH 活性明显升高,代表细胞损伤的开始,最终导致细胞死亡和组织坏死,所以酶的漏出被认为是细胞完全坏死前的改变^[9-10]。本实验证实,碧血胶囊能显著降低 CK、LDH 活性,与模型组相比,CK 活性的降低有显著性差异。(LDH 有降低趋势,但无显著性差异),与缩小心肌梗死面积相吻合。冠脉结扎致心肌缺血缺氧,活性氧簇产生增多,而活性氧簇触发的脂质过氧化反应又加重心肌细胞损伤^[11]。通过测定内源性抗氧化酶如 SOD 活性和过氧化脂质 MDA 的变化,间接评价活性氧簇对机体造成的损伤程度。本实验证实,碧血胶囊能明显抑制血清 MDA 水平升高,与模型组相比,有显著性差异,并能增加血清 SOD 水平的趋势。本研究表明碧血胶囊抗心肌缺血作用机制可能是通过改善心电图,提高心肌对缺血损伤的耐受性,对抗脂质过氧化反应,稳定细胞膜,保护内源性抗氧化酶活性而发挥作用。

碧血胶囊心肌缺血作用机制可能是通过改善心外膜抗心肌缺血的机制可能与其主要成分有关。碧血胶囊主要是由三七、水蛭、绞股蓝组成。它具有活血化瘀,降低血液黏滞度,改善心肌缺血缺氧,降低血脂等作用^[13]。现代药理研究表明,三七的主要活性成分为三七总皂苷具有明显的降低心肌耗氧量、改善心肌缺血、降血脂、防止动脉粥样硬化、抗心律失常等作用^[10-11]。徐灵建等^[12]报道了复方水蛭精胶囊能降低心肌缺血再灌注后脂质过氧化物,升高血

清 SOD 浓度,降低 cAMP 值,降低全血黏度、血浆黏度、降低心肌梗死范围。熊维生等^[13]报道绞股蓝的主要成份绞股蓝皂苷能缩小家兔心肌梗死范围,抑制心梗后游离脂肪酸升高,降低梗死心肌 MDA 含量,并能抗缺血及再灌注损伤作用,其机理可能与抗脂质过氧化有关。

以上结果提示,碧血胶囊抗心肌缺血作用机制可能通过三七、绞股蓝、水蛭等成分的共同作用,改善心电图,提高心肌供血,对抗脂质过氧化反应,稳定细胞膜,保护内源性抗氧化酶活性,从而降低 MIS,进而起到保护缺血心肌的作用,本研究为碧血胶囊防治冠心病心肌缺血,减少心肌梗死的发生率提供了实验依据,其是否亦通过影响钙超载以及其它调节发挥改善 AMI 后心功能的药理作用机制尚待进一步较深入研究。

参 考 文 献

- [1] 李娟莉,苏式兵. 碧血胶囊对急性心肌梗死大鼠血流动力学和心肌力学的影响[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(6): 116-119.
- [2] 刘新军,苏式兵,王秀峰,等. 碧血胶囊对大鼠血液流变性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 174-176.
- [3] 刘新军,王秀峰,杜佳,等. 碧血胶囊治疗大鼠非酒精性脂肪肝的疗效观察[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2011, 19(6): 357-361.
- [4] 尹倪,陈胜喜,罗万俊,等. 冠状动脉前降支结扎法制作大鼠急性心肌梗死模型[J]. 中国医师杂志, 2006, 8(9): 1193-1195.
- [5] 于占久,王秉璋,杨鸣岗. 关于心肌梗塞的实验研究[J]. 中华心血管病杂志, 1980, 8(1): 65-67.
- [6] 李乐,孙晓东,高小利,等. 绞股蓝总黄酮对犬急性缺血心肌的保护作用[J]. 中国病理生理学杂志, 2008, 24(2): 388-389, 392.
- [7] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版,北京:人民卫生出版社, 2002: 1052-1053.
- [8] 姜建石,梁会旭,刘艳霞. 硝酸甘油与丁丙诺啡合用抗大鼠心肌缺血的药理性预适应研究: 早期心脏保护作用[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(10): 1119-1125.
- [9] 王秋静,吕文伟,路航,等. 心同贴对麻醉犬急性心肌梗死的保护作用[J]. 中国临床康复, 2003, 7(21): 290-291.
- [10] 周晓慧,周晓霞,杨鹤梅. 三七总皂甙防治动脉粥样硬化的研究进展[J]. 承德医学院学报, 2003, 20(4): 350.
- [11] 刘季春,陈朋,方功德,等. 三七总皂甙对犬心肌的保护作用[J]. 中国循环杂志, 1998, 13(2): 109-110.
- [12] 徐灵建,王文云,郎君生. 复方水蛭精胶囊对大鼠心肌缺血及再灌注损伤的保护作用[J]. 中成药, 2003, 25(1): 51-55.
- [13] 熊维生,晏向东,沈乃,等. 绞股蓝总皂甙对实验性心肌梗塞的保护作用[J]. 中国药理学报, 1990, 11(5): 427-430.

(收稿日期:2013-11-19)

(本文编辑:黄凡)