

宁心通痹胶囊对大鼠心肌缺血及胸主动脉收缩的影响^Δ

聂继红*, 张海英(新疆医科大学附属中医医院药学部, 乌鲁木齐 830000)

中图分类号 R285;R283.65 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)27-2504-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.27.03

摘要 目的:研究宁心通痹胶囊对在体急性心肌缺血模型大鼠与离体主动脉收缩的影响。方法:结扎左冠状动脉以复制大鼠心肌缺血模型。实验分为假手术(等体积0.5%CMC-Na)、模型(等体积0.5%CMC-Na)、地奥心血康(60 mg/kg)与宁心通痹高、中、低剂量(6.0、3.0、1.5 g/kg)组。记录给药前后各时间点的心电图T波、ST段偏移量;硝基四氮唑蓝组化染色法测定心肌梗死区质量与梗死面积百分率。采用大鼠离体胸主动脉条,观察不同质量浓度宁心通痹胶囊(26.70×10^{-3} 、 13.35×10^{-3} 、 6.68×10^{-3} 、 3.34×10^{-3} 、 1.67×10^{-3} g/ml)对大鼠胸主动脉收缩的影响。结果:高、低剂量宁心通痹胶囊能显著降低模型大鼠的心电图T波改变量($P<0.01$ 或 $P<0.05$);高、中剂量宁心通痹胶囊能显著降低模型大鼠的心电图ST段偏移量($P<0.05$);高、中剂量宁心通痹胶囊能显著降低模型大鼠心肌梗死区质量与梗死面积百分率($P<0.01$ 或 $P<0.05$);在 26.70×10^{-3} 、 13.35×10^{-3} 、 6.68×10^{-3} g/ml质量浓度下,宁心通痹胶囊能明显舒张大鼠离体胸主动脉条($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论:宁心通痹胶囊具有改善大鼠心肌缺血和舒张体外血管的作用。

关键词 宁心通痹胶囊;急性心肌缺血;胸主动脉

Effects of Ningxin Tongbi Capsule on Myocardial Ischemia and Contraction of Thoracic Aorta in Rats

NIE Ji-hong, ZHANG Hai-ying (Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To observe the effects of Ningxin tongbi capsule on myocardial ischemia and contraction of thoracic aorta in rats. METHODS: Myocardial ischemia model was induced by the ligation of left coronary artery. Model rats were divided into 6 groups, i.e. sham operation group (constant volume of normal saline), model group (constant volume of normal saline), Di'ao xinxuekang capsule group (60 mg/kg) and Ningxin tongbi capsule high-dose, medium-dose and low-dose groups (6.0, 3.0, 1.5 g/kg). S-T migration and T wave of electrocardiogram were detected before and after medication. The area of myocardial infarction was determined by NBT immunohistochemical staining method. The effects of different concentrations of Ningxin tongbi capsule (26.70×10^{-3} , 13.35×10^{-3} , 6.68×10^{-3} , 3.34×10^{-3} , 1.67×10^{-3} g/ml) on the contraction of thoracic aorta were observed by using isolated thoracic aorta strips of rats. RESULTS: High-dose and low-dose of Ningxin tongbi capsule could reduce the T wave of electrocardiogram ($P<0.01$ or $P<0.05$). High-dose and medium-dose of Ningxin tongbi capsule could reduce the ST migration of electrocardiogram ($P<0.05$). High-dose and medium-dose of Ningxin tongbi capsule could relieved myocardial infarction weight and the percentage of infarct area ($P<0.01$ or $P<0.05$). Ningxin tongbi capsule (26.7×10^{-3} , 13.35×10^{-3} , 6.68×10^{-3} g/ml) had significant relaxing effect on the contraction of isolated thoracic aorta strips in rats. ($P<0.01$ or $P<0.05$) CONCLUSIONS: Ningxin tongbi capsule can improve myocardial ischemia and can relax the contraction of blood vessel in rats.

KEY WORDS Ningxin tongbi capsule; Acute myocardial ischemia; Thoracic aorta

宁心通痹胶囊是由新疆医科大学附属中医医院沈宝藩教授在继承历代医家经验基础上,结合数十年临床实践拟定的经验方制剂而成。原方为加味心痛宁方,经系统的临床和实验研究表明,其能显著缓解痰瘀互结型冠心病心绞痛患者临床症状,对实验大鼠心肌缺血、心律失常有明显改善作用^[1-3]。本课题组以加味心痛宁方为基础开发宁心通痹胶囊,处方由瓜蒌、新塔花等药材组成。方中瓜蒌甘寒,补气化痰,散结宽胸;新塔花为维吾尔药材,味辛微苦,活血行气,化痰通络。诸药配合,可使瘀祛痰消、脉络通畅而达宣痹通络、宁心止痛之功效,主治痰瘀互结所致的胸痹(即为冠心病心绞痛)。为深入研究宁心通痹胶囊的药理作用,本课题组从其对大鼠心肌缺血及胸主动脉收缩的影响方面进行研究,从而为宁心通痹

胶囊的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

RM6280C型多道生理记录仪(成都仪器厂);HX-300S型动物呼吸机(成都泰盟科技有限公司)。

1.2 药品与试剂

宁心通痹胶囊(新疆医科大学附属中医医院制剂室,批号:20070815);地奥心血康胶囊(成都地奥制药集团有限公司,批号:200707010,规格:每粒含甾体总皂苷100 mg);盐酸肾上腺素注射液(Adr,上海禾丰制药有限公司,批号:6A09008,规格:1 mg:1 ml);戊巴比妥钠(成都市科龙化工试剂厂,批号:20060727);肝素钠注射液(南京新百药业有限公司,批号:20070201);硝酸甘油注射液(北京益民药业有限公司,批号:20070910,规格:1 ml:5 mg);硝基四氮唑蓝(NBT,华东师范大学化工厂,批号:20071118)。

^Δ 基金项目:新疆维吾尔自治区科技援疆项目(No.201191167)

* 主任药师,教授,硕士研究生导师。研究方向:中药复方新制剂研发。E-mail: xjnjh411@163.com

1.3 动物

清洁级SD大鼠,♀♂兼半,体质量(200 ± 20)g,由成都中医药大学实验动物研究中心提供[动物使用许可证号:SCXK(川)2004-0011]。饲养于一级动物房,温度:18~28℃,相对湿度:40%~70%,换气次数:10~15次/h,光照条件:12 h昼/12 h夜交替。

2 方法

2.1 宁心通痹胶囊对大鼠心肌缺血的影响

2.1.1 分组与给药 实验分为6组,即假手术(等体积0.5% CMC-Na)、模型(等体积0.5% CMC-Na)、地奥心血康(60 mg/kg)与宁心通痹高、中、低剂量(6.0、3.0、1.5 g/kg)组。ig 给药,每天1次,连续5周。

2.1.2 复制模型与检测指标^[4-5] 末次给药前禁食不禁水12 h,末次给药后1 h ip 0.4%戊巴比妥钠麻醉(1 ml/100 g),记录冠状动脉结扎前的心电图。在胸骨左侧,与胸骨平行作长约2 cm的纵切口,切开皮肤、胸大肌,暴露肋骨。用棉线将皮肤与肌肉做荷包缝合,打一松结。气管切开,插管,套上呼吸机,用止血钳在距胸骨2 mm处插入第4或第5肋间,绞断一根肋骨,扩大切口,小心用镊子破心包膜,轻压右侧胸廓,挤出心脏,于动脉圆锥与左心耳之间冠状静脉处结扎左冠状动脉(假手术组只穿线不结扎),将心脏小心放回胸腔,挤压空气,迅速抽紧已备用的松结,紧闭胸腔,待动物恢复自主呼吸后,关闭呼吸机,结扎后即刻计时,记录结扎后15 min、6 h的心电图。

处死大鼠,剪开胸腔,取出心脏,用生理盐水洗净余血,剔尽血管、脂肪等非心肌组织,用吸水纸吸去水分,沿冠状沟剪去心房,留下心室,称质量。顺房室沟从心尖到心基部平行将心室切成0.1 cm厚的心肌片,用生理盐水冲洗干净,置于0.1% NBT中,37℃水浴染色10~15 min,染色过程中不时搅动染液,令心肌染色充分。染色后立即用水冲洗多余的染料,把染色的正常心肌(蓝黑色)与不被染色的梗死区(浅色)切开,梗死区称质量,计算心肌梗死面积百分率,观察药物有无减少心肌梗死范围的作用。心肌梗死面积百分率(%)=未染色心肌质量/全心室质量 $\times 100\%$ 。

2.2 宁心通痹胶囊对大鼠胸主动脉收缩的影响^[6-9]

2.2.1 分组与药物质量浓度的设定 试验分为7组,即空白(50 ml 克氏液)、硝酸甘油(0.1 $\mu\text{g/ml}$)与宁心通痹①、②、③、④、⑤(质量浓度分别为 26.70×10^{-3} 、 13.35×10^{-3} 、 6.68×10^{-3} 、 3.34×10^{-3} 、 1.67×10^{-3} g/ml)组。药物以0.5% CMC-Na混悬均匀达到终浓度。

2.2.2 离体胸主动脉收缩幅度测定 取大鼠,麻醉,沿胸骨左缘纵向剖开胸腔,暴露心脏及大血管,剪下胸主动脉降支,置于盛有经氧饱和的克氏液的平皿中,冲洗至无血迹,剔除多余的脂肪和结缔组织,用细剪将主动脉剪成长5 mm的动脉条,将其下端固定于浴槽挂钩上,另一端用细线固定于张力传感器上。浴槽内盛有50 ml 克氏液,温度控制在 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,持续通入95% O_2 +5% CO_2 混合气体。动脉条负荷2 g,每15~20 min换液1次,平稳90 min后,在浴槽中加入1 ml不同质量浓度的宁心通痹胶囊药液或硝酸甘油注射液,记录其振幅,待反应达最大值立即加入Adr 0.1 ml,并与给药前比较,计算收缩减少幅度(空白组最大收缩幅度-给药组最大收缩幅度)。

2.3 统计学方法

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用统计学SPSS13.0软件处理,计量资料多组间比较采用方差分析,两组间比较采用LSD检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 宁心通痹胶囊对模型大鼠心肌缺血的影响

3.1.1 宁心通痹胶囊对模型大鼠心电图T波的影响 结扎后15 min和6 h,与假手术组比较,模型组T波改变量增加($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),说明模型复制成功。与模型组比较,宁心通痹高剂量组结扎后15 min和6 h T波改变量显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);宁心通痹低剂量组结扎后6 h T波改变量显著减低($P < 0.05$),说明宁心通痹胶囊对冠状动脉结扎模型大鼠心电图缺血性T波有明显的改善作用。宁心通痹胶囊对模型大鼠心电图T波的影响见表1。

表1 宁心通痹胶囊对模型大鼠心电图T波的影响($\mu\text{V}, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of Ningxin tongbi capsule on electrocardiogram T wave in model rats($\mu\text{V}, \bar{x} \pm s$)

组别	n	结扎前	结扎后15 min改变量	结扎后6 h改变量
假手术组	7	102.60 $\pm$ 33.03	19.43 $\pm$ 25.57	20.67 $\pm$ 25.58
模型组	8	93.72 $\pm$ 32.79	53.35 $\pm$ 39.72*	74.85 $\pm$ 38.95**
地奥心血康组	6	94.84 $\pm$ 71.96	40.18 $\pm$ 31.82	34.38 $\pm$ 30.51 [#]
宁心通痹低剂量组	6	95.25 $\pm$ 49.31	38.65 $\pm$ 27.09	31.93 $\pm$ 45.79 [#]
宁心通痹中剂量组	6	102.09 $\pm$ 55.29	31.55 $\pm$ 24.14	43.11 $\pm$ 14.88
宁心通痹高剂量组	6	99.28 $\pm$ 60.74	17.16 $\pm$ 12.85*	13.86 $\pm$ 37.62 ^{##}

与假手术组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

vs.sham operation group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs.model group: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

3.1.2 宁心通痹胶囊对模型大鼠心电图ST段偏移量的影响

结扎后6 h,与假手术组比较,模型组ST段偏移量显著增加($P < 0.05$),说明模型复制成功。与模型组比较,宁心通痹高、中剂量组结扎后6 h ST段偏移量显著降低($P < 0.05$),说明宁心通痹胶囊对冠状动脉结扎大鼠心电图缺血性ST段偏移量有一定的改善作用。宁心通痹胶囊对模型大鼠心电图ST段偏移量的影响见表2。

表2 宁心通痹胶囊对模型大鼠心电图ST段偏移量的影响($\mu\text{V}, \bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of Ningxin tongbi capsule on electrocardiogram ST migration in model rat($\mu\text{V}, \bar{x} \pm s$)

组别	n	结扎前	结扎后15 min改变量	结扎后6 h改变量
假手术组	7	30.51 $\pm$ 7.60	6.45 $\pm$ 10.83	11.02 $\pm$ 19.61
模型组	8	27.13 $\pm$ 15.66	17.78 $\pm$ 14.29	41.96 $\pm$ 40.15*
地奥心血康组	6	27.79 $\pm$ 21.52	17.70 $\pm$ 6.87	12.82 $\pm$ 13.17 [#]
宁心通痹低剂量组	6	33.01 $\pm$ 26.31	14.88 $\pm$ 9.33	29.60 $\pm$ 22.31
宁心通痹中剂量组	6	23.82 $\pm$ 7.05	12.84 $\pm$ 15.12	13.46 $\pm$ 11.42 [#]
宁心通痹高剂量组	6	28.99 $\pm$ 14.26	10.67 $\pm$ 9.55	15.95 $\pm$ 14.09 [#]

与假手术组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$

vs.sham operation group: * $P < 0.05$; vs.model group: [#] $P < 0.05$

3.1.3 宁心通痹胶囊对模型大鼠心肌梗死面积百分率的影响 结扎后6 h,与假手术组比较,模型组心肌梗死区质量显著增加,梗死面积百分率显著升高($P < 0.01$),说明模型复制成功。与模型组比较,宁心通痹高、中剂量组心肌梗死区质量显著减少,梗死面积百分率显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),说明宁心通痹胶囊对冠状动脉结扎大鼠心肌梗死有改善作用。宁心通痹胶囊对模型大鼠心肌梗死面积百分率的影响见表3。

表3 宁心通痹胶囊对模型大鼠心肌梗死面积百分率的影响
($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effects of Ningxin tongbi capsule on the percentage of myocardial infarction area in model rat($\bar{x} \pm s$)

组别	n	心室质量,g	梗死区质量,g	梗死面积百分率,%
假手术组	7	0.944 8±0.170 7	0.034 1±0.020 8	3.69±2.54
模型组	8	0.993 5±0.183 2	0.181 9±0.075 1*	18.31±6.35*
地奥心血康组	6	1.006 9±0.207 2	0.096 4±0.049 5**	9.38±3.84**
宁心通痹低剂量组	6	0.983 5±0.130 6	0.126 9±0.049 3	13.33±6.86
宁心通痹中剂量组	6	0.931 2±0.140 1	0.093 1±0.025 2**	10.00±2.24*
宁心通痹高剂量组	6	1.089 2±0.225 2	0.108 1±0.064 5*	9.88±5.38*

与假手术组比较: * $P<0.01$;与模型组比较: ** $P<0.05$, *** $P<0.01$
vs.sham operation group: * $P<0.01$;vs.model group: ** $P<0.05$, *** $P<0.01$

3.2 宁心通痹胶囊对大鼠胸主动脉收缩的影响

硝酸甘油组离体胸主动脉条收缩幅度显著低于空白组($P<0.01$),符合阳性药物的作用特征,说明本试验系统成立。与空白组比较,宁心通痹①、②、③组大鼠离体胸主动脉条的收缩幅度显著减少($P<0.01$ 或 $P<0.05$),说明宁心通痹胶囊有抑制Adr引起大鼠胸主动脉条收缩的作用。宁心通痹胶囊对大鼠离体胸主动脉收缩的影响见表4。

表4 宁心通痹胶囊对大鼠离体胸主动脉收缩的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Tab 4 Effects of Ningxin tongbi capsule on the contraction of isolation thoracic aorta in rats($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	药物终浓度,g(生药)/ml	收缩幅度,g
空白组	/	1.53±0.34
硝酸甘油组	0.1 μg/ml	0.69±0.08**
宁心通痹①组	26.70×10 ⁻³	0.60±0.15**
宁心通痹②组	13.35×10 ⁻³	0.82±0.05*
宁心通痹③组	6.68×10 ⁻³	0.93±0.06*
宁心通痹④组	3.34×10 ⁻³	1.23±0.34
宁心通痹⑤组	1.67×10 ⁻³	1.35±0.24

与空白组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$
vs. blank group: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

4 讨论

目前,复制动物心肌缺血和心肌梗死模型的方法有结扎冠状动脉法、冠状动脉注射药物法、注射垂体后叶素法等,本研究采用结扎左冠状动脉复制心肌缺血大鼠模型。该法可人为地仿造临床心肌缺血时的冠状动脉狭窄及闭塞,其梗死与分布范围相对一致,病理生理、生化改变与临床心肌缺血相似,是研究心肌缺血理想的动物模型制备方法。本研究手术过程中,动物死亡率较高,死亡原因为结扎后部分动物心脏停搏,部分动物因为关胸不严造成气胸死亡。

冠状动脉发生痉挛或血流中断时,冠脉血流量突然下降,冠脉供血与心肌需血之间的供求失衡,导致心肌急性或慢性缺血、缺氧而产生心绞痛或心肌梗死,这时心电图有关导联上可表现出ST段和T波的改变。利用结扎冠状动脉复制大鼠急性心肌缺血模型,在心电图Ⅱ导联上呈现ST段和T波抬高^[9]。本研究中,大鼠经结扎冠状动脉复制急性心肌缺血模型,可见ST段明显抬高,T波明显高耸,说明急性心肌缺血模型复制成

功。宁心通痹高剂量组在结扎后15 min和6 h T波改变量均显著低于模型组($P<0.01$ 或 $P<0.05$),宁心通痹高、中剂量组在结扎后6 h ST段偏移量均显著低于模型组($P<0.05$),表明宁心通痹胶囊能明显抑制模型大鼠T波和ST段偏移量的改变。

NBT染色法反映心肌损伤较为客观:由于NBT需与活性酶作用,正常心肌可被染成蓝色;心肌缺血性损伤达到一定程度时,组织中能量代谢产生障碍,酶活性降低或消失,故梗死区不着色^[10]。宁心通痹胶囊能明显减少心肌梗死面积,说明宁心通痹胶囊有改善大鼠心肌缺血的作用。

宁心通痹胶囊对Adr引起的主动脉条收缩有明显的抑制作用,表明其对大鼠体外主动脉条有舒张作用。由于时间有限,本研究没有对其作用机制进行探讨,有必要在下一步的试验中进行。

综上,宁心通痹胶囊通过改善模型大鼠心电图T波和ST段偏移量,稳定心肌细胞膜,减轻心肌细胞坏死,舒张主动脉血管,从而达到改善心肌缺血大鼠心电图及减少梗死范围的作用。该结论可为宁心通痹胶囊临床治疗心血管疾病提供理论依据。

参考文献

[1] 李鹏,沈宝藩,何立人.心痛宁加味方治疗冠心病痰瘀互结型心绞痛临床研究[J].实用中医内科杂志,2004,18(4):330.

[2] 李鹏,毛晓峰,赵永东,等.心痛宁加味方对实验性急性心肌缺血大鼠心律失常记分的影响[J].福建中医药,2004,35(4):43.

[3] 李鹏,毛晓峰,赵永东.心痛宁加味方对实验性急性心肌缺血大鼠心肌梗塞范围的影响[J].农垦医学,2004,26(5):326.

[4] 熊义涛,金满文,王凤娟,康欣胶囊对结扎冠状动脉犬心肌缺血的影响[J].中国医院药学杂志,2008,28(23):1 992.

[5] 鄢良春,王林,吕秋军,等.葛根素衍生物G20抗心肌缺血作用的研究[J].中国药房,2008,19(24):1 848.

[6] 彭晓云,陶燕铎,温绍君,等.藏药7号水提液对大鼠离体胸主动脉条收缩作用的影响[J].北京中医药大学学报,2004,27(4):41.

[7] 陶玲,肖婷婷,胡涵师,等.艳山姜果实挥发油对离体家兔胸主动脉条收缩性能的影响[J].中国医院药学杂志,2010,30(23):1 966.

[8] 曾靖,李良东,赖飞,等.葛根素对家兔胸主动脉条收缩的影响[J].中成药,2005,27(5):566.

[9] 王钰莹,魏英,夏文,等.银丹心脑通软胶囊对垂体后叶素致心肌缺血大鼠心电图的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2009,7(7):804.

[10] 李永芳,杨梅,寇毅英,等.八味沉香散水提液对急性心肌缺血大鼠心电图及血清酶的影响[J].时珍国医国药,2010,21(5):1 110.

(收稿日期:2012-08-19 修回日期:2012-09-30)