

• 药理 •

益心口服液预处理对急性心肌缺血大鼠 CEC、血浆 ET、CGRP 及心肌病理形态学的影响*

卫洪昌 朱冬胜¹ 朱晓梅 孙平龙 戴薇薇²(上海中医药大学病理生理研究室 上海 200032;¹上海中医药大学 96 级硕士研究生 上海 200032;²上海中医药大学生化教研室 上海 200032)

摘要 目的: 研究益心口服液预处理对急性心肌缺血大鼠心血管的保护作用。**方法:** 设假手术组、模型对照组、维拉帕米组、益心口服液组, 建立急性心肌缺血模型。造模后 2h 时采血测血浆内皮素(ET)、降钙素基因相关肽(CGRP)、循环内皮细胞(CEC)计数, 并进行心肌病理形态学观察。**结果:** 益心口服液和维拉帕米均可降低急性心肌缺血大鼠血浆 ET ($P < 0.05$) 和 CEC ($P < 0.01$) 水平, 减轻心肌病理形态学改变。维拉帕米组血浆 CGRP 低于模型对照组 ($P < 0.05$)。益心口服液组和维拉帕米组间上述三指标无显著性差异。**结论:** 益心口服液预处理可减轻心肌及血管内皮细胞损伤, 调节急性心肌缺血时所发生的 ET、CGRP 分泌失衡。

关键词 益心口服液; 预处理; 急性心肌缺血; 大鼠

Effects of preconditioning by yixin oral liquid on CEC, plasma ET & CGRP, myocardial pathomorphology of acute myocardial ischemia in rats

Wei Hongchang, Zhu Dongsheng, Zhu Xiaomei, Sun Pinglong, dai Weiwei (Shanghai University of Traditional Chinese Medicine and Pharmacology, Shanghai 200032)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the protective effects of preconditioning by yixin oral liquid (YOL) on cardiovascular system of acute myocardial ischemia rats. **METHODS:** Acute myocardial ischemia models in control group, verapamil group and YOL were set up, meanwhile the sham group was built up. Blood would be collected for assaying endothelin (ET) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) in plasma, circle endothelial cell (CEG), and myocardial pathomorphological examination would be preceded after the myocardial ischemia models being set up for two hours. **RESULTS:** Both YOL and verapamil could decrease not only the levels of plasma ET ($P < 0.05$) and the amounts of CEC ($P < 0.01$, $P < 0.05$ respectively), but also ameliorate myocardial pathomorphological changes in acute myocardial ischemia rate. The contents of plasma CGRP in verapamil group were lower than those in model group ($P < 0.05$). Difference of the up-mentioned three indexes between YOL group and verapamil group appeared to be insignificant. **CONCLUSION:** Preconditioning by YOL might play an important role in the modulation of plasma ET and CGRP as well as in the amelioration of myocardium and vascular endothelial cells in acute myocardial ischemia rats.

KEY WORDS yixin oral liquid, preconditioning, myocardial ischemia, rat

有研究表明急性心肌缺血时会发生血管损伤, 血管内皮细胞(VEC)脱落, 循环内皮细胞

(CEC)数量增加^[1], 血浆内皮素(ET)降钙素因相关肽(CGRP)含量会发生变化。本实验用中药益心口服液预处理, 观察预处理后急性心肌

* 上海市卫生局科研课题, 编号 96203。

缺血动物模型 CEC 数量、血浆 ET 及 CGRP、心肌病理形态学的改变,并阐述其意义。

1 材料和方法

1.1 动物分组

雄性 SD 大鼠 100 只,体重(200 ± 20)g, (上海中医药大学实验动物中心提供),随机分成 4 组,每组 25 只。①假手术组和模型对照组:每日灌喂 2ml 饮用水 1 次。②维拉帕米(异搏定)组:每日灌喂 2ml 维拉帕米混悬液(每 ml 含 2.8mg 维拉帕米)1 次。③益心口服液组:每日灌喂 2ml 益心口服液(组成:黄芪、川芎、益母草、红花。每 ml 含生药 3.1g)1 次。造模前连续喂药 2wk。

1.2 模型制备

用 20% 乌拉坦腹腔注射(0.8ml/100g wt)麻醉大鼠,气管切开,插管接微型呼吸机,剪除胸毛,电烙刀沿胸骨左缘打开胸腔,破除胸膜和心包膜,暴露心脏,于左心耳下结扎冠状动脉左前降支,假手术组不结扎,术毕以盐水棉球覆盖切口。2h 后腹主动脉采血 5ml 供 CEC 计数用(每组大鼠 15 只),3ml 供 ET、CGRP 测定用(另外每组 10 只大鼠),每组取心脏 10 只,置 10% 福尔马林溶液中固定,常规石蜡切片,HE 染色,光镜观察。

1.3 CEC 测定

参照 Hladovec J 等^[2]法,结果以细胞数/0.9ml 表示。

1.4 ET 和 CGRP 测定方法

按 ET、CGRP 放免试剂药盒(北京东亚免疫技术研究所提供)说明书操作步骤进行测定,血浆 ET、CGRP 含量用 ng/L 表示。

1.5 心肌缺血程度分级

“+”病变厚度相当肌壁厚 1/4;“#”病变厚度相当于肌壁厚 2/4;“##”病变厚度相当肌壁厚 3/4;“###”病变厚度相当肌壁厚 4/4。

1.6 统计学处理

计量资料用 $x \pm SD$ 表示,两组均数行 t 检验,显著界值 $P < 0.05$ 。半定量资料用 Ridit 分析。

2 结果

2.1 各组大鼠 CEC 的变化(见表 1)

表 1 各组 CEC 数量的变化($x \pm s_d$)

组别	动物数	CEC(个/0.9ml)
假手术组	15	6.357 ± 3.875
模型对照组	15	22.636 ± 11.439* [#]
维拉帕米组	15	12.500 ± 6.149* [#]
益心口服液组	15	10.385 ± 6.172* [#]

注:与假手术组比较* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型对照组比较# $P < 0.05$, $P < 0.01$ 。

结果表明:造模后模型对照组 CEC 显著高于假手术组($P < 0.01$);益心口服液组和维拉帕米组 CEC 较模型对照组低(分别为 $P < 0.01$, $P < 0.05$)。益心口服液组 CEC 虽然较维拉帕米组低,但差异不显著($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠血浆 ET、CGRP 水平的变化(见表 2)

表 2 各组大鼠血浆 ET、CGRP 水平的变化(ng/L ; $x \pm s_d$)

组别	动物数	ET	CGRP
假手术组	10	157.5 ± 27.0	60.6 ± 15.8
模型对照组	10	241.0 ± 30.8* [#]	92.4 ± 33.8 [#]
维拉帕米组	10	211.3 ± 28.6 [#]	64.3 ± 20.2 [#]
益心口服液组	10	208.5 ± 27.2 [#]	70.8 ± 36.2

注:与假手术组比较* $P < 0.05$,** $P < 0.001$;与模型对照组比较# $P < 0.05$

结果表明:模型对照组血浆 ET、CGRP 均高于假手术组($P < 0.01$, $P < 0.05$);益心口服液组和维拉帕米组血浆 ET 均较模型对照组低($P < 0.05$),维拉帕米组血浆 CGRP 水平降低($P < 0.05$);益心口服液组和维拉帕米组间上述二指标无显著差异($P < 0.05$)。

2.3 各组大鼠心肌病理形态学的变化

模型对照组:各例均有不同程度的心肌缺血性损害。病变部位在左心室近心内侧(即近心腔)。主要表现为:肌纤维变长,排列紊乱、疏松、呈波浪型,肌纤维间距增宽;肌纤维有变性、断裂现象。个别病例间质有出血、偶见炎细胞浸润(图 1)。

益心口服液组和维拉帕米组:各例均有不同程度的心肌缺血性损害,但在程度上较模型对照组轻(见图 2、图 3)。心肌缺血程度(见表 3)方面,益心口服液组和维拉帕米组心肌缺血

程度较模型对照组轻。

表3 各组大鼠心肌缺血程度

损伤程度	模型对照组	维拉帕米组	益心口服液组
+	2	6	6
##	3	3	3
###	5	1	1
平均	2.3	1.5 [*]	1.5 [*]

注: * 与模型对照组比较 $P < 0.05$ 。

3 讨论

在心血管疾病研究中, 预处理 (Preconditioning, PC) 是常用的实验研究方法, 如缺血预处理、缺氧预处理、快速起搏预处理、药物预处理等。现代药物预处理一般是用亚致量的对心肌有损伤或刺激作用的药物处理以调动机体对后续缺血适应能力的方法。本实验用中药益心口服液预处理可避免缺血本身所造成的损伤, 对急性心肌缺血的防治有一定的理论意义和实用价值。

益心口服液预处理对心血管保护作用可能的作用机制: ①益心口服液能扩张冠状动脉, 增加冠脉流量, 增加侧枝循环供血。益心口服液中各单味药均具有上述药理作用, 方中川芎和红花具有明显的钙拮抗作用^[3,7]。②保护血管, 减轻血管损伤。CEC 是目前在活体唯一能特异性反映血管损伤的标志物, CEC 数目增多标志着活体血管内皮细胞 (VEC) 受损^[4]。益心口服液预处理可能通过调节 VEC 分泌的活性物质失衡 (如缩血管活性物质 ET 增加, 舒血管活性物质 NO 减少等), 保护血管壁, 减少 VEC 脱落, 本实验观察到益心口服液预处理可明显减少急性心肌缺血后 CEC 的数量。③调节血管舒缩活性物质的分泌。ET 是由 VEC 释放的人体内最强的缩血管活性肽, 过量释放可引起冠状动脉强烈痉挛, 心肌缺血坏死, 并使梗塞面积扩大, 进一步加重血管内膜损伤^[5,6]。CGRP

主要是由支配心血管系统的传入神经末梢释放, 外周血中 CGRP 有强烈的扩张冠状动脉作用, 并可拮抗 ET, 对缺血心肌起保护作用。本研究表明急性心肌缺血造模后血浆 ET、CGRP 升高, 与临床报道一致。用益心口服液和维拉帕米预处理可减轻心肌缺血时 ET 和 CGRP 的分泌失衡, 且益心口服液对缩血管的 ET 降低作用显著而对舒血管的 CGRP 改变不显著, 说明益心口服液预处理可能更有利于增加急性心肌缺血后冠脉供血。已有药理研究表明方中川芎、益母草有降低心肌氧耗, 提高心肌对缺氧的耐受性, 这一切都有利于减轻 AMI 后所产生的血管内皮损伤, 心肌组织形态学观察亦证明了益心口服液可减小心肌缺血坏死区。

益心口服液是纯中药制剂, 我们在临床上治疗冠心病已取得了较好的疗效, 毒理试验证明长期服用无任何毒副作用。本实验表明该制剂对有效防治 AMI 可能具有潜在的重大实用价值。

(本文图 1~ 4 见封三)

参考文献

- 1 杨映波. 循环内皮细胞研究的意义及动向. 国外医学心血管疾病分册, 1992, 19(3): 158
- 2 Hladovec J, Rössmann P. Circulating endothelial cells isolated together with platelets and the experimental modification of their counts in rats. Thromb Res, 1973, 3: 655
- 3 王浴生主编. 中药药理与应用. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 36
- 4 Takahashi H, Harker LA. Measurement of human endothelial cells in whole blood. Thromb Res, 1983, 31: 1
- 5 Anggard EE. The endothelium - body's largest endocrine gland? J Endocrinol, 1990, 127: 371
- 6 Watanabe T. Contribution of endogenous endothelin to the extension of myocardial infarct size in rats. Cir Res, 1991, 69: 370
- 7 王序. 现代生物分析法对常用中药的筛选研究. 北京医科大学学报, 1986, 18(1): 31

(收稿: 1999-01-25)