

乌头赤石脂丸对寒凝胸痹大鼠损伤心肌 和血液粘度的作用研究*

戴启刚, 汪受传[△]

(南京中医药大学第一临床医学院, 江苏南京 210046)

〔摘 要〕目的: 研究乌头赤石脂丸对寒凝胸痹大鼠损伤心肌的保护作用和血液粘度影响。方法: 冰水游泳 14d 加末日腹腔注射垂体后叶素 20U/kg 造成大鼠寒凝胸痹模型。注射垂体后叶素 30min 内描记Ⅱ导联心电图变化; 24h 后, 颈总动脉采血, 检测血中 CK、LDH 水平和血液粘稠度, 并取下心脏, 观察心室形态学。结果: 与模型组相比, 预先给予复方丹参滴丸组及乌头赤石脂丸中、高剂量组能减缓Ⅱ导联 J 点上抬 ($P < 0.05$), 降低血清 CK、LDH 含量和血液粘稠度 ($P < 0.05$), 减轻心室肌组织受损程度。结论: 乌头赤石脂丸能减轻寒凝胸痹大鼠的缺血心肌损伤, 对缺血心肌有保护作用, 并降低血液的粘稠度, 这可能是其保护作用的机制。

〔关键词〕乌头赤石脂丸; 胸痹; 心肌损伤; 血液粘度; 保护作用

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1000—2723(2012)04—0025—04

《金匮要略·胸痹心痛短气病》篇云: “心痛彻背, 背痛彻心, 乌头赤石脂丸主之。”乌头赤石脂丸方由蜀椒、制川乌、制附子、干姜、赤石脂按 2:1:1:1:2 组成, 因方中乌头、附子、蜀椒、干姜均为辛温大热, 故主治阳气不足, 阴寒痼结心下之胸痹^[1-3]。前期实验研究表明, 其能减轻异丙肾上腺素所致的大鼠心肌的损伤程度, 对缺血心肌有保护作用, 其模型类似于现代医学之冠心病、心绞痛, 与寒凝胸痹证型的吻合度不高^[4]。本实验拟以冰水游泳加注射垂体后叶素复制大鼠阳虚寒凝胸痹模型, 在模证相合的前提下, 通过描记心电图, 检测血清 CK、LDH、全血及血浆粘滞度, 观察心肌组织病理学变化, 探讨乌头赤石脂丸对寒凝胸痹大鼠的作用及可能机制。

1 材料与仪器

1.1 动物、药品、试剂

SD 大鼠, 雌雄各半, 体重 (200 ± 20) g, 由南京中医药大学动物中心提供, 动物许可证号: SCXK (沪) 2007—0005; 乌头赤石脂丸 (具体制备方法同前期研究, 见文献^[4]), 购于南京中医

药大学门诊部, 符合《中国药典》(2010 版) 一部规定; 复方丹参滴丸, 天津天士力制药股份有限公司, 批号: 20061208; 垂体后叶素, 上海第一生化药业有限公司, 批号: 040301; 血清 CK、LDH 试剂盒, 南京建成生物有限公司, 批号: 20090826、20091127。

1.2 仪器

BL-420E⁺ 生物机能实验系统, 成都泰盟科技有限公司; TP1020 自动脱水机、RM2135 型切片机、DMLS2 光学显微镜, 德国 LEICA 公司产品; Tissue-Tek TEL 组织包埋中心, 日本 SAKURA 公司产品; CS-VI 型摊片烤片机, 湖北孝感宏业医用仪器有限公司; SA-6000 自动血流变测试仪, 北京赛科希德科技发展有限公司; 752 型分光光度计, 上海分析仪器厂。

2 方法

2.1 动物分组

72 只 SD 大鼠, 随机分为 6 组: 正常对照组, 模型组, 复方丹参滴丸组 (给药量相当于人体等效剂量 72.9mg/kg), 乌头赤石脂丸低、中、高剂

* 基金项目: 南京中医药大学青年基金项目 (NO: 09XZR06)

收稿日期: 2012—04—01 修回日期: 2012—07—21

作者简介: 戴启刚 (1977~), 男, 江苏射阳人, 讲师, 在读博士生, 从事中药药效学研究。△ 通讯作者: 汪受传, E-mail: wscnj@126.com

量组（给药量分别相当于人体等效剂量的 1/3 即 0.63 g/kg、1 倍即 1.89g/kg、3 倍即 5.67g/kg）。每组 12 只。

2.2 动物模型的制备、描记心电图

参考文献 [5 - 6] 并结合预实验结果建立如下模型：正常对照组、模型组大鼠灌胃生理盐水 2mL，其余各组灌胃相应药物 2mL，每日 1 次，连续 2 周。除正常对照组外，其余各组大鼠每日灌胃 30 min 后，于 0℃ 冰水中游泳 5 min。于末次游泳结束后，大鼠以戊巴比妥钠按 35 mg/kg 剂量腹腔注射麻醉，大鼠背位固定在鼠台上，并与生物信号采集系统相接，描记Ⅱ导联心电图；除正常对照组外，其余各组动物腹腔注射垂体后叶素（20 U/kg）造模，描记 30 min 内Ⅱ导联心电图变化，如见 ST 段上抬、J 点抬高则表示造模成功。

2.3 采血、取心室

各组大鼠于注射垂体后叶素 24h 后，用戊巴比妥钠麻醉，颈总动脉采血（所采血分 3 份，2 份抗凝、1 份不抗凝），并迅速取下心脏，剪去心房及结缔组织，保留心室，作病理学检查。

2.4 血清 CK、LDH 及血液粘稠度的测定

将不抗凝血室温下静置 2h 待其凝固后以 3 000 r · min⁻¹ 速度离心 10min，取血清，化学比色法测定血清 CK、LDH 含量；一份抗凝血以同样方法离心，取血浆与另一份抗凝血全血一同留置检测粘稠度。

2.5 组织形态学观察

将大鼠左心室置于 10% 福尔马林液中固定，乙醇脱水，石蜡包埋，5μm 厚组织切片，苏木素 - 伊红（HE）染色，光镜下观察心肌细胞损伤程度。

2.6 统计学处理

结果以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，采用 SPSS17.0 软件作统计分析。等级资料用秩和检验，多组间比较用方差分析，实验结果 $P \leq 0.05$ 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 动物标本的脱落

本实验共分 6 组，每组 12 只 SD 大鼠。在造模过程中除正常对照组外，其余各组均有大鼠死亡，死亡数目及死亡率分别为：模型组死亡 5 只（死亡率 41.7%）；乌头赤石脂丸低、中、高剂量组分

别为 4 只（死亡率 33.3%）、3 只（死亡率 25.0%）、2 只（死亡率 16.7%）；复方丹参滴丸组为 3 只（死亡率 25.0%）。其中模型组死亡率最高，乌头赤石脂丸低、中、高剂量组死亡率渐次下降，药物干预组大鼠的死亡率低于模型组。

3.2 乌头赤石脂丸对大鼠心电图Ⅱ导联 J 点改变的影响

各组心电图Ⅱ导联 J 点位移如表 1 所示。模型组 J 点抬高值最高，与对照组相比， $P < 0.01$ ，表明造模成功；乌头赤石脂丸中、高剂量组及复方丹参滴丸组与模型组相比， $P < 0.01$ ，表明乌头赤石脂丸中、高剂量组对寒凝胸痹大鼠的心肌损伤有明显的治疗作用，能改善心肌损伤；但各治疗组与对照组相比， $P < 0.01$ ，表明其疗效在心电图改善方面还不能使之恢复到正常。

表 1 乌头赤石脂丸对寒凝胸痹大鼠心电图Ⅱ导联 J 点位移影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 <i>n</i>	J 点抬高值/mv
正常对照组	12	0.086 ± 0.011
模型组	7	0.159 ± 0.021**
乌头赤石脂丸低剂量组	8	0.148 ± 0.012**
乌头赤石脂丸中剂量组	9	0.113 ± 0.016**▲▲
乌头赤石脂丸高剂量组	10	0.089 ± 0.019**▲▲
复方丹参滴丸组	9	0.108 ± 0.027**▲▲

注：与正常对照组相比，** $P < 0.01$ ，* $P < 0.05$ ；与模型组相比，▲▲ $P < 0.01$ ，▲ $P < 0.05$ 。

3.3 心肌酶谱 LDH、CK 水平的改变

心肌受损后，细胞破裂，释放出其中的 CK、LDH 进入血液中，故检测血中 CK、LDH，常作为评判心肌受损程度的指标。各实验组检测结果如表 2。与正常对照组相比，模型组大鼠的血清 CK、LDH 水平明显提高（ $P < 0.01$ ），造模成功；与模型组相比，乌头赤石脂丸高、中剂量组及复方丹参滴丸组大鼠血清 CK、LDH 水平明显减轻（ $P < 0.05$ ）；而乌头赤石脂丸低剂量组虽能减低血清 CK、LDH 水平，但无统计学意义。

3.4 乌头赤石脂丸对寒凝胸痹大鼠心肌病理学改变的影响

心肌坏死程度按参照文献〔7〕分级：0级：无坏死；Ⅰ级：点状，局灶坏死；Ⅱ级：≥2个灶坏死；Ⅲ级：≥3个灶坏死；Ⅳ级：大片弥散性坏死。各组间的差异用秩和检验，结果见表3。乌头赤石脂丸中、高剂量组与模型组相比， $P<0.01$ ，表明其能明显减轻心肌损害；但与正常对照组相比， $P<0.01$ ，表明其疗效在心肌损害改善方面还不能使之恢复到正常。

表2 乌头赤石脂丸对寒凝胸痹大鼠血清LDH、CK水平的影响 ($\bar{x}\pm s$)			
组别	例数 n	CK/ (U/L)	LDH/ (U/L)
正常对照组	12	565.8±213.6	514.3±159.4
模型组	7	975.2±299.8**	864.3±246.8**
乌头赤石脂丸低剂量组	8	822.9±265.8	688.1±287.5
乌头赤石脂丸中剂量组	9	675.5±222.7 [▲]	625.6±189.7 [▲]
乌头赤石脂丸高剂量组	10	620.6±186.6 [▲]	586.5±175.4 [▲]
复方丹参滴丸组	9	710.3±195.0 [▲]	599.7±225.8 [▲]

注：与正常对照组相比，** $P<0.01$ ；与模型组相比，[▲] $P<0.05$ 。

表4 寒凝胸痹大鼠全血及血浆粘度改变 ($\bar{x}\pm s$)						
组别	例数/ n	全血粘度/mPa·s ⁻¹				血浆粘度/mPa·s ⁻¹
		1 s ⁻¹	5 s ⁻¹	30 s ⁻¹	200 s ⁻¹	
正常对照组	12	20.13±1.77	9.67±0.86	6.01±0.63	4.94±0.32	1.17±0.06
模型组	7	28.63±4.27**	13.01±1.54**	7.73±0.71**	5.90±0.46**	1.22±0.03*
低剂量组	10	20.02±2.67 ^{▲▲}	11.21±1.01 ^{▲▲}	6.78±0.49 ^{▲▲}	5.24±0.33 ^{▲▲}	1.17±0.04 [▲]
中剂量组	9	23.37±1.26 ^{▲▲}	11.03±0.54 ^{▲▲}	6.74±0.30 ^{▲▲}	5.24±0.22 ^{▲▲}	1.13±0.05 ^{▲▲}
高剂量组	8	16.78±3.96 ^{▲▲}	8.41±1.51 ^{▲▲}	5.42±0.74 ^{▲▲}	4.36±0.50 ^{▲▲}	1.12±0.02 ^{▲▲}
复方丹参滴丸组	9	25.01±2.32 [▲]	11.62±1.00 [▲]	7.01±0.57 [▲]	5.40±0.43 [▲]	1.17±0.03 [▲]

注：与正常对照组相比，** $P<0.01$ ，* $P<0.05$ ；与模型组相比，^{▲▲} $P<0.01$ ，[▲] $P<0.05$ ）

4 讨论

《内经》首载“胸痹”，《灵枢·本脏》云：“肺大则多饮，善病胸痹、喉痹、逆气”。胸痹因病位不同分为心痹和肺痹，张仲景认为胸痹病主要指心痹，其在《金匱要略·胸痹心痛短气病》指

表3 寒凝胸痹大鼠心肌病理学改变						
组别	心肌病理改变/ n					平均秩次
	0级	Ⅰ级	Ⅱ级	Ⅲ级	Ⅳ级	
正常对照组	12	0	0	0	0	6.50
模型组	0	0	1	3	3	48.14**
乌头赤石脂丸低剂量组	0	2	3	2	1	36.88**
乌头赤石脂丸中剂量组	0	3	5	1	0	31.78** ^{▲▲}
乌头赤石脂丸高剂量组	0	6	2	2	0	28.80** ^{▲▲}
复方丹参滴丸组	0	5	3	1	0	28.44** ^{▲▲}

注：与正常对照组相比，** $P<0.01$ ；与模型组相比，^{▲▲} $P<0.01$

3.5 全血及血浆粘度的检测

各组大鼠全血及血浆粘度改变如表4。模型组不同切变率的全血及血浆粘度最高，与对照组相比， $P<0.01$ 或 <0.05 ，表明存在着显著差别；各治疗组与模型组相比， $P<0.01$ 或 <0.05 ，表明乌头赤石脂丸能降低寒凝胸痹大鼠的全血或血浆粘度，改善血液流变学。由此可推测，乌头赤石脂丸可能通过降低寒凝胸痹大鼠的血液粘稠度，增加血液流速，提高心肌供血而实现对心肌的保护作用的。

出：“胸痹之病喘息，咳唾，胸背痛，短气”，“胸痹不得卧，心痛彻背”。由此可见，胸痹主要指胸部闷痛，甚则胸痛彻背，气短喘息不得卧为主症的一种疾病。7版《中医诊断学》将胸痹分型分为4型：寒凝心脉、气滞心脉、痰阻心脉、瘀阻心脉。

乌头赤石脂丸主治阳气不足，寒凝心脉之胸痹。

心肌缺血损伤时，将影响缺血区的心室生物电复极的正常进行，在心电图相关导联上发生 ST-T 段的异常改变，J 点为 ST 段的起点，其改变可作为心肌缺血的心电图观察指标。由于心肌细胞发生肿胀，细胞膜的完整性受到破坏，膜对蛋白酶的通透性增加，CK、LDH 由细胞内释出增加，使血清中酶含量增加，是评判心肌受损程度的指标。乌头赤石脂丸可降低寒凝胸痹大鼠心电图 II 导联 J 点的抬高；改善大鼠血清 CK、LDH 水平；病理形态学上显示能减轻心肌组织的缺血损伤程度，表明乌头赤石脂丸对冰水游泳结合垂体后叶素诱发寒凝胸痹大鼠缺血损伤心肌有保护作用。

血液粘度增高可使血流阻力增加，血流速度减慢，会诱导血小板的粘附聚集形成血栓，从而加重损伤心肌的缺血。乌头赤石脂丸降低寒凝胸痹大鼠的全血或血浆粘度，改善其血液流变学。提示乌头赤石脂丸能减轻寒凝胸痹大鼠心肌缺血损伤程度，可能通过改善血液的粘稠度达到保护目的，具体机制需进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 徐光华，张学山，黄展，等．乌头赤石脂汤合丹参注射液治疗急性心肌梗死的疗效观察[J]．新中医，2001，33（9）：30-31.

[2] 王旭东．探析乌头赤石脂丸的临床运用[J]．中医函授通讯，1993，11（5）：2-3.

[3] 黄汉超，周凤娇．乌头赤石脂汤治疗不稳定型心绞痛的临床观察[J]．中华中医药学刊，2007，23（5）：1032-1034.

[4] 戴启刚，汪受传，王忠山，等．乌头赤石脂丸对异丙肾肾上腺素所致大鼠心肌损伤的保护作用[J]．北京中医药大学学报，2011，34（11）：755-758.

[5] 闫娟娟，高文远．黄芪桂枝五物汤对胸痹阳虚寒凝证大鼠的心电图和血清酶的影响[J]．上海中医药杂志，2009，43（1）：75-77.

[6] 韦敏，沈健，许惠琴．乳舒改善微循环和血液流变学的作用研究[J]．云南中医学院学报，2006，29（5）：20-23.

[7] Bertinchant J P, Robert E, Polge A, et al. Comparison of the diagnostic value of cardiac troponin I and T determinations for detecting early myocardial damage and the relationship with histological findings after isoprenaline-induced cardiac injury in rats [J]．Clin Chim Acta, 2000, 298（122）：13-28.

（编辑：迟 越）

Study on Effect of WutouChishizhi Pill on Myocardial Injury and Blood Viscosity in Rats with Chest Bi

DAI Qi-gang, WANG Shou-chuan[△]

(The 1st Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing Jiangsu 210046, China)

[ABSTRACT] Objective: To observe the effect of Wutou Chishizhi pill on myocardial injury and blood viscosity in rats with chest Bi caused by cold and pituitrin. Methods: The chest Bi rat model was induced by rat swimming in ice water for 14 days and pituitrin 20U/kg injected intraperitoneally at the last day. After pituitrin injected, ECG II was traced for 30 minutes. 24 hours later, blood were collected via carotid artery for assaying the plasma CK、LDH activity and blood viscosity, and the cardiac ventricle were dissected and examined with light microscope. Results: CDDPG、YPMG and YPHG can lower the elevation of J point of ECG II ($P<0.01$), and obviously decrease the activities of CK、LDH and blood viscosity ($P<0.05$), and lessen the myocardial injury. Conclusion: Wutou Chishizhi pill has a protective effect on myocardial injury in rats with chest Bi caused by cold and pituitrin. It can lower blood viscosity, and thus, may enhance the cardiac blood supply, which may explain how Yutouchishizhi pill works.

[KEY WORDS] Wutou Chishizhi pill; chest Bi; myocardial injury; blood viscosity; protective effect