

猪心肌缺血模型及九龙丹对缺血心肌的保护^①张磊¹ 马虹² 黄守坚¹ 张小娜³ 孙家钧¹

(1 中山医科大学药理教研室; 广州, 510089

2 中山医科大学附属第一医院心内科 3 广州白云山制药厂)

摘要 目的: 建立猪急性心肌缺血模型, 观察中药九龙丹对缺血心肌的保护作用。方法: 结扎 15 只小型猪的左冠状动脉前降支下 1/3, 造成心肌梗塞, 测结扎前后血液动力学、心外膜电图的变化, 以及结扎 6 h 后的梗塞坏死范围。观察九龙丹灌胃给药后对上述指标的影响, 并以普萘洛尔作阳性药对照。结果: 结扎冠脉后不同时间段左室内压最大上升速率 dp/dt_{max} 和心肌最大缩短速度 v_{max} 下降, 心率加快, 心外膜电图 ST 段抬高。九龙丹对上述变化均有较明显的改善作用, 使梗塞范围缩小, 与普萘洛尔效果相似。结论: 用小型猪作心肌缺血模型效果确切、可靠。九龙丹对缺血心肌有明显保护作用。

主题词 心肌缺血; 疾病模型; 动物; 猪; 中成药/治疗应用

中图分类号 R 363; 972

EXPERIMENTAL MYOCARDIAL ISCHEMIA AND PROTECTIVE EFFECTS OF JIULONGDAN

Zhang Lei¹ Ma Hong² Huang Shoujian¹ Zhang Xiaona³ Sun Jiajun¹

(1 Department of Pharmacology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089

2 First Affiliated Hospital, Sun Yet-sen University of Medical Sciences

3 Baiyunshan Pharmaceutical Factory of Guangzhou)

Abstract Objective: To establish the porcine myocardial ischemia model and to valuate the effects of Jiulongdan (a Chinese traditional medicine) on it. **Methods:** The acute myocardial ischemia was induced by ligating left anterior descending coronary artery at the distal one third segment in 15 anesthetized, open-chest pigs. The hemodynamic parameters and the epicardial electrocardiogram were examined before and after ligation, the infarct area was showed with NB-T stain 6 h after ligation. Furthermore, the effects of Jiulongdan on the above parameters were also studied in comparison with that of Propranolol. **Results:** After ligation, dp/dt_{max} and v_{max} decreased with the rise of heart rate. On the other hand, epicardial electrocardiogram showed marked ST-segment elevation in all pigs. Jiulongdan ameliorated these changes and reduce the area of myocardial infarct to different extent as compared with propranolol. **Conclusions:** The model of porcine myocardial ischemia is reliable and Jiulongdan appears to have a protective effect on ischemic myocardium.

Subject headings myocardial ischemia; disease model; animal; swine; medicine, Chinese traditional/therapeutic use

实验性心肌缺血模型常用鼠、兔或狗, 而在国内很少有用猪作模型的报道。与这些常用动物相

比,猪的冠状动脉及侧支循环的分布更接近于人类^[1],并能进行多指标记录,因此更适合于评价抗心肌缺血药。我们用小型猪通过开胸结扎左冠状动脉前降支建立急性心肌缺血模型,并观察新复方中药九龙丹对缺血心肌的保护作用。

1 材料与方 法

1.1 手术操作

实验用小型猪 15 只(本校动物中心提供),雌雄兼备,体重(16±30) kg。戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后仰卧固定于手术台,气管切开作辅助呼吸。胸骨正中剪开,暴露心脏,剪开心包缝制成吊床;测量左冠状动脉前降支(LAD)长度,在其中下 1/3 交界处游离动脉,套 4 号线备结扎。分离颈总动脉,插管连接充满肝素生理盐水的压力换能器以测动脉血压;再由心尖部插导管入左心室,亦接压力换能器测左室内压(LVP,量符号 p_{LV});LVP 电讯号用微分器处理以记录左室压上升速率(dp/dt);用皮下针电极描记 II 导联心电图。以上各参数均同步记录在 RM-6008 型 8 道生理记录仪(日本光电)上。记录上述各项测量指标基础值。随后结扎 LAD。

1.2 实验分组及给药

将猪随机分为 3 组:对照组、普萘洛尔组和九龙丹组,每组 5 只,分别在结扎 LAD 后 15 min 经胃管注入 20 mL 等体积的生理盐水、普萘洛尔(1 mg/kg)或九龙丹(1.2 mg/kg),药物剂量按公斤体重计算相当于人的临床治疗量。

1.3 心外膜电图测定

根据结扎 LAD 的部位,选择左心室表面预定缺血区域内 12 个点作为心外膜电图的引导点,另选远离缺血区的 1 个点作为参照^[4]。用浸泡生理盐水的棉线电极为探查电极,于结扎前后描记心外膜电图。将所有引导点 ST 段抬高的总和(ΣST)作为心肌缺血损伤程度的指标。

1.4 心肌梗塞范围测定

实验结束(结扎 LAD 6 h)后,切取心脏,将心室部分横切成 0.5 cm 厚的心肌片,硝基四氮唑蓝(NB-T)染色,肉眼可见非缺血区染为深紫蓝色,而缺血坏死区不染色。剪取未染色区称重,计算它占

整个心室质量的百分比。

1.5 心肌最大缩短速度

心肌最大缩短速度(MMSV,量符号 v_{max})是通过作图求得:以 LVP(p_{LV})为 X 轴,相应的(dp/dt)/ p_{LV} 为 Y 轴,得一压力-速度环,沿此环等容收缩期的初期下降支向左外推至 Y 轴的交点,此纵坐标截距即为 v_{max} 值。

统计数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,显著性检验用 t 检验和方差分析。

2 结 果

2.1 猪心肌缺血模型的表现特征

①血液动力学改变:见表 1 对照组。结扎 LAD 后心肌收缩性下降,表现为 v_{max} 和左室内压最大上升速率 dp/dt_{max} 分别在结扎后 15 min、30 min 下降,持续至结扎后 120 min 仍没有恢复到结扎前水平。各时间段中左室压峰值(LVP $_{max}$)、左室舒张末压(LVEDP)和平均动脉压(MAP)较结扎前无明显改变。心率(HR)在结扎后 15 min 即开始增快,30 min 达高峰,90 min 后逐渐恢复至结扎前水平。②心外膜电图:结扎后的各时间段中 ΣST 明显增高,尤以扎后 30 min 最为显著。见表 2 中对照组。结扎初期还可看到频发的室性早搏。③心肌梗死范围:NB-T 染色显示,结扎猪 LAD 下 1/3 处 6 h 后梗死范围为 12.2%±4.0%。

2.2 九龙丹对猪心肌缺血的改善作用

①血液动力学:从表 1 可以看出,结扎后 15 min 给予九龙丹,分别在给药后 45 min、75 min 开始使下降的 dp/dt_{max} 和 v_{max} 回升,而增快的 HR 亦在 45 min 后开始降低。此外,九龙丹还使结扎后 90 min、120 min 的 LVP $_{max}$ 高于结扎前。②心外膜电图:从表 2 可以看出,结扎后九龙丹和普萘洛尔组 ΣST 比结扎前明显增高,至 120 min 时仍未恢复。但与对照组比较,两组 ST 段抬高幅度均明显下降。③心肌梗死范围:NB-T 染色显示,结扎 LAD 6 h 后普萘洛尔组为 7.4%±1.6%,而九龙丹组仅为 4.9%±2.2%,用药组梗死范围显著小于对照组的 12.2%±4.0%(分别为 $P < 0.05$)和 $P < 0.01$),且九龙丹组又较普萘洛尔组梗死范围更小($P < 0.05$)。

表1 对照组与九龙丹组结扎LAD前后血液动力学改变

Table 1 The changes of hemodynamic parameters in Control and Jiulongdan groups before and after ligation

	Before ligation	After ligation (t / min)				
		15	30	60	90	120
LVP _{max} (p / kPa)						
Control	20.1±1.1	19.2±0.9	19.4±1.5	20.2±1.9	20.0±2.4	19.3±1.0
Jiulongdan	19.4±1.2	19.9±1.3	20.3±1.6	22.7±1.1	25.1±1.2 ¹⁾²⁾	26.0±0.9 ¹⁾²⁾
LVEDP(p / kPa)						
Control	-0.9±0.1	-0.8±0.07	-0.8±0.1	-1.0±0.15	-0.9±0.13	-0.7±0.07
Jiulongdan	-0.9±0.09	-0.9±0.08	-0.9±0.1	-1.0±0.11	-1.0±0.12	-0.9±0.1
dp / dt _{max} (kPa/s)						
Control	412.3±26.6	407.0±31.9	297.9±21.3 ¹⁾	305.9±25.3 ¹⁾	292.6±41.2 ¹⁾	319.2±23.9 ¹⁾
Jiulongdan	426.2±29.9	315.8±28.3 ¹⁾²⁾	301.5±22.4 ¹⁾	98.8±26.7 ²⁾	407.6±30.8 ²⁾	406.3±32.2 ²⁾
MMSV (v _{max} / s ⁻¹)						
Control	48±8	35±7 ¹⁾	32±5 ¹⁾	34±5 ¹⁾	37±6 ¹⁾	44±8
Jiulongdan	49±10	34±8 ¹⁾	30±7 ¹⁾	32±8 ¹⁾	46±9 ²⁾	47±9
MAP(p / kPa)						
Control	17.3±1.6	17.8±1.9	17.0±1.6	16.4±1.2	16.8±1.3	16.8±2.1
Jiulongdan	16.9±1.4	17.2±1.5	7.3±1.3	17.0±1.8	16.6±1.7	16.7±1.4
HR(r _h / min ⁻¹)						
Control	126±8	158±14 ¹⁾	168±16 ¹⁾	156±12 ¹⁾	135±10	133±11
Jiulongdan	124±8	160±13 ¹⁾	161±14 ¹⁾	137±13 ²⁾	134±12	130±14

1) $P < 0.05$ compared with preligation values; 2) $P < 0.05$ compared with control group

表2 各组结扎LAD前后心外膜心电图的ΣST改变

Table 2 The changes of epicardial electrocardiogram in all groups before and after ligation (V / mV)

	Before ligation	After ligation(t / min)			
		120	15	30	60
Control	13.0±0.1	57.8±2.5 ²⁾	59.3±2.9 ²⁾	54.5±3.6 ²⁾	39.6±5.9 ²⁾
Propranolol	13.2±1.0	55.1±4.7 ²⁾	41.7±11.7 ²⁾³⁾	29.3±7.8 ¹⁾⁴⁾	20.0±3.5 ¹⁾⁴⁾
Jiulongdan	12.9±0.3	56.8±0.5 ²⁾	53.5±5.9 ²⁾⁵⁾	41.5±6.6 ²⁾³⁾⁵⁾	30.8±8.9 ²⁾³⁾⁵⁾

1), 2) $P < 0.05$, $P < 0.01$ compared with preligation values; 3), 4) $P < 0.05$, $P < 0.01$ compared with control group; 5) $P < 0.05$ compared with propranolol group

3 讨论

3.1 猪心肌缺血模型的优点和可靠性

目前,建立心肌缺血模型所使用的动物,最常见的是犬,其次有兔、猫、豚鼠、大鼠等。狗的体积大小适中,但冠状血管和人相比有较大差异,尤其是冠状动脉变异多,侧支吻合丰富,室间隔动脉特别发达,梗死面积差异甚大,故不是理想动物。兔与猫个体偏小,不利分离与静脉紧密伴行的冠状动

脉及进行多指标记录,鼠类体积更小,检测、取材均受限。猴子与小牛冠状动脉解剖最为接近人类,但来源有限,价格昂贵,难以普及使用。猪的冠状动脉侧支循环极少,冠脉分布也与人类极相似;且小型猪体积适中,价格比狗低。猪与人类心肌细胞内均缺乏黄嘌呤氧化酶系^[3]。心肌缺血性损害与氧自由基的产生密切相关,而黄嘌呤氧化酶催化的反应中可产生大量的氧自由基^[4]。因此,用猪作模型研究人类心肌梗死的机制以及药物保护作用更具有适用性和合理性。

本实验结扎猪 LAD 下 1/3 节段后产生了类似人急性心肌梗死的病理生理改变。早期出现室性心律失常,以后 dp/dt_{max} 和 v_{max} 下降及 HR 增快,提示结扎 LAD 致梗死后引起心肌收缩功能减退和对缺血应激产生的交感神经张力增加的代偿反应。LVEDP 为左室前负荷指标,它在冠脉结扎前后没有明显改变, LVP_{max} 在结扎后亦无明显降低,提示此模型对心脏负荷影响较小。但心外膜电图上有典型的 ST 段缺血性抬高和室性早搏的出现,病理染色显示的梗死坏死灶非常明显,且动物间个体差异不大,经典的抗心肌缺血药 β 受体阻断药作用明显,这些有力说明本模型的优点,适用于抗心肌缺血研究。结扎猪 LAD 位置不宜过高,尤其是基础心率过快时,结扎位置稍高即易导致动物心室纤颤死亡,可能和猪心侧支循环少有关。通过摸索,我们认为结扎 LAD 中下 1/3 处比较合适,既能引起合适的梗死范围,又不引起严重的血液动力学障碍和室颤。

3.2 九龙丹的显著抗心肌缺血作用

九龙丹复方中含有人参、附子、蟾酥、麝香、龙脑、红花、熊胆、牛黄等成分,有益气活血、温经通脉的作用^[7]。本研究了解九龙丹按公斤体重计算,相当于人临床用量是否对实验性心肌缺血具有保护作用。血液动力学实验结果,提示它具有明显的增强心肌收缩性能的作用,并因此较早地使代偿性的心率加快缓解。在结扎后 60 min,九龙丹使心外膜电图中抬高的 ST 段显著下降,持续至结扎后 120 min 仍有改善作用。与普萘洛尔相比,九龙丹改善

心外膜电图的作用稍显迟缓(前者给药后 15 min 即有作用)且改善程度亦不如前者;但降低心肌缺血坏死范围、减少心肌酶释放的作用更明显。由于九龙丹方剂中有蟾酥等强心成分,可能增加心肌耗氧量^[5],而普萘洛尔通过 β 受体阻滞作用减弱心肌收缩力、减慢心率而降低耗氧,这可能是在改善心外膜电图上后者早于前者的原因。但九龙丹成分的抗张冠脉血管、改善心脏微循环的作用^[9]是普萘洛尔不具有的,因此前者对心肌酶释放及坏死范围的改善作用更大一些。本实验中 LDH 在各组结扎后没有显著变化,可能与血清 LDH 在梗塞早期升高没有 CPK 快以及特异性差、受影响因素多有关。

参 考 文 献

- 1 Weaver M E. A quantitative study of the anatomy and distribution of coronary arteries in comparison with other animals and man. *Cardiovasc Res*, 1986, 20(12): 907
- 2 陈 修. 心外膜心电图描记法. 见: 徐叔云. 药理实验方法学. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1991. 905~906
- 3 Stadius M L, Maynard C, Fritz J R, *et al*. Coronary anatomy and left ventricular function in the first 12 hours of acute myocardial infarction. *Circulation*, 1985, 72(2): 292
- 4 Lucchesi B R. Myocardial ischemia, reperfusion and free radical injury. *Am J Cardiol*, 1990, 65(19): 141
- 5 魏 然, 陈晨华, 董杰德, 等. 黄芪、人参增强人心肌细胞代谢的实验研究. *中国中药杂志*, 1992, 17(3): 173

(1997-10-16 收稿 1998-03-14 修回)

· 简 讯 ·

顾军曾益新张清炯获国家 863 计划资助

1998 年春季喜接国家科委、中国生物工程开发中心来文,国家 863 计划生物领域“重大疾病相关基因的研究”重大项目中,“遗传资源的调查和采集”课题,经中国生物工程开发中心和生物领域专家委员会审核已获准实施。我校分子医学研究中心主任顾军教授、肿瘤防治中心主任曾益新教授、中山眼科中心张清炯教授均获资助。在此之前我校尚未问津过 863 计划项目,三位教授为我校在此计划项目中实现了零的突破。

(冯世容)