

g/kg)组、田七洋参冲剂 0.75 及 1.5 g/kg 组,ig 给药,体积为 5 mL/kg,每日 1 次,连续给药 7 d,于末次给药 30 min 后,iv 10%右旋糖酐 500 溶液 4 mL/kg(对照组除外),1 h 后股动脉取血,放于备有烘干肝素的抗凝试管中,测定其血液流变学指标——聚集指数,结果经 *t* 检验,见表 8。田七洋参冲剂可降低大鼠在实验性微循环障碍下的红细胞聚集度,对改善微循环障碍具有一定的作用。

表 7 对小鼠实验性心律失常的作用

组别	剂量	动物	死亡数	存活数
对照组	—	18	16	2
复方丹参片	2.25 g/kg	18	11	7
田七洋参	3.75 g/kg	19	10	9*
	7.5 g/kg	19	10	9*

与对照组相比: $P < 0.05$

表 8 对血液系统的作用

组别	剂量	动物	聚集指数
对照组	—	13	1.466±0.072**
右旋糖酐模型	—	15	1.658±0.139
复方丹参片	0.45 g/kg	14	1.703±0.083
田七洋参	0.75 g/kg	12	1.694±0.098
	1.5 g/kg	10	1.531±0.114*

与模型组相比:\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.05$

### 3 讨论

现代研究表明,西洋参含多种人参皂苷,具有显著的抗疲劳、抗缺氧能力<sup>[5]</sup>。田七含人参皂苷、三七皂苷、黄酮等,其中三七黄酮能对抗垂体后叶素引起的 T 波改变,三七根总皂苷对心律失常有保护作用<sup>[1]</sup>。西洋参和田七均具有滋补强壮作用。而田七常用于止血及活血,不常用作补益药。本实验表明,田七与西洋参合用,具有提高机体抗应激能力和免疫功能的滋补强壮功能,同时,由于田七的活血化淤功能,对心血管疾病亦有防治作用。

#### 参考文献

- 1 颜正华主编. 中药学. 北京:人民卫生出版社,1991:500,503,729
- 2 卫生部药政局. 新药(西药)临床前研究指导原则汇编. 1993:131,132
- 3 卫生部药政局. 中药新药研究指南. 1993:136
- 4 徐叔云,等. 药理实验方法学. 北京:人民卫生出版社,1991:1017
- 5 陆钦尧,等. 益寿中草药选解. 北京:人民卫生出版社,1987:120

(1998-06-19 收稿)

## 心复康对大鼠实验性心肌梗死形态学及体外培养乳鼠心肌细胞超微结构的影响<sup>△</sup>

天津中医学院(300193) 冯学瑞\* 张艳军 陆一竹 陆融 范英昌

**摘要** 用结扎大鼠左冠状动脉前降支的方法造成心肌梗死病变模型,给予中药心复康后对其病理形态的改变进行观测,结果显示可使实验性心肌梗死大鼠梗死程度减轻,梗死后修复增快。采用体外培养的大鼠乳鼠心肌细胞,通过暂时停止供应心肌细胞生存必需的糖和氧,造成心肌细胞缺氧样损伤,从细胞水平观察心复康的作用,结果表明可明显改善心肌细胞结构缺血样损伤。提示心复康对心肌梗死具有防治作用。

**关键词** 心复康 心肌梗死 心肌细胞 病理形态学 超微结构

心肌梗死是由于突发持续性心肌缺血引起的心肌坏死,是缺血性心脏病中较为严重

\* Address:Feng Xuerui, Tianjin College of Traditional Chinese Medicine, Tianjin

冯学瑞 男 副教授,1970年毕业于天津医科大学,长期从事病理学教学和中医基础理论脏腑相关学说的研究,研制多种脏腑病症模型,并进行中药复方治疗病症的实验研究,对中医脏腑理论关于肺与大肠相表里学说做了深入的探讨,研制阳明腑实证(大肠不完全梗阻)模型,观察肺脏等脏器的病变,论证了该学说的客观性、科学性、内在联系和作用机制,相继发表了一系列关于肺与大肠相表里实验研究的论文。

<sup>△</sup>天津市自然科学基金资助项目 No 924007008

的一个类型。根据中医学辨证施治,运用具有益气养阴、活血化瘀作用的中药心复康治疗冠心病患者 600 余例,取得了明显的临床效果,为了进一步探讨其防治心肌梗死的作用机制,我们将心复康用于动物实验和细胞培养,观察对实验性心肌梗死大鼠病理形态学及体外培养乳鼠心肌细胞超微结构的影响。

## 1 材料

1.1 动物:成熟 SD 大鼠,2~3 d 龄 SD 大鼠,天津药物研究院动物室提供。

1.2 药物及试剂:心复康由西洋参、白术、枸杞子、女贞子、功劳叶、土鳖虫、鹿衔草等组成,天津中医学院第一附属医院制剂室提供。心痛康(江苏靖江制药厂,批号 2-02)。德脉宁(isosorbide-5-mononitrate,德国 Merckle Gmbh 生产)。D-MEM/F-12 培养基和新生牛血清(GibcoBRL 公司)。

1.3 仪器:美国产 2323 型 CO<sub>2</sub> 培养箱,荷兰飞利浦 400-ST 透射电镜。

## 2 方法

2.1 动物实验性心肌梗死模型制作及分组:健康成熟的 SD 大鼠 85 只,雌雄各半,体重 200~250 g,随机分为正常对照组,自然恢复组,心复康组,心痛康对照组,德脉宁对照组及假手术组。

动物造膜<sup>[1]</sup>:大鼠在乙醚麻醉下,手术开胸,挤出心脏,在动脉圆锥与左心耳冠状动脉处结扎冠状动脉后,把心脏放回胸腔,缝合胸壁,待大鼠清醒后,连接心电图机描记肢体 II 导联心电图,有心肌缺血表现者视造膜成功。

正常对照组大鼠不予任何处理;假手术组开胸挤出心脏后不结扎冠状动脉;自然恢复组大鼠造膜后不予任何药物,每日 ig 3 mL 清水 1 次;心复康组按生药 60 g/(kg·d) ig 心复康水煎液 6 mL;心痛康组按成药 1.2 g/(kg·d) ig 心痛康冲剂 3 mL;德脉宁组按 15 mg/(kg·d) ig 德脉宁 3 mL(以上药物均为成人药量 20 倍)。所有动物均自由进水,各组均于术前 3 d 给水或给药至实验结束。

2.2 心肌细胞培养<sup>[2]</sup>及分组:取 2~3 d 龄

的 SD 大鼠 50 只,以无菌手术取下心脏,放入无菌 D-Hanks 溶液中反复冲洗去除血液,将心肌组织剪碎,用 0.125%胰蛋白酶溶液消化多次,离心,加入少量含 20%新生牛血清 D-MEM/F12 培养液,收集各次消化离心后的细胞悬液,通过 140 目尼龙网过滤,制成 1×10<sup>6</sup> 细胞/mL 心肌细胞悬液作培养,其接种细胞 74 瓶,37℃静置培养,每 3 天换液 1 次。2 周后,细胞连接成网状。形成同步收缩,将其随机分为正常对照组(n=34),心复康组(n=40),按每 100 mL 正常培养液加入心复康无菌提取液(300 μg/mL)30 μL 的比例培养。3 d 后从正常对照组中抽取 20 瓶细胞标本换入缺糖培养液;从心复康组中抽取 20 瓶换入加有心复康无菌提取液的缺糖培养液,开盖置于 CO<sub>2</sub> 培养箱中,并迅速抽吸箱中空气,置换以高纯氮气,37℃密闭培养,分别成为缺氧缺糖对照组和缺氧缺糖心复康组。

2.3 病理形态学观察:造膜 72 h 后处死动物,取出心脏,用生理盐水冲洗,沿冠状沟切除心房,顺房室沟从心尖到心底部平行将大鼠心室切为均等的 3 块心肌,经 10%中性福尔马林溶液固定后,常规石蜡包埋,每片心肌切取 2 张切片,每例心肌共切取 6 张切片,常规 HE 染色,镜下观察,按表 1 将心肌梗死后的整体病变程度及恢复程度分为轻、中、重三度。以目镜显微测微网,一个大网格为面积计数单位,计数成纤维细胞数目。

表 1 心肌梗死程度分级

项目	+	++	+++
梗死面积	<1/4	<2/3	>2/3
成纤维细胞	密集	较稀疏	稀疏,梗死灶中无成纤维细胞增生
梗死形态	呈地图样分布,其间有岛屿状存活心肌细胞	呈地图样分布,其间存活心肌细胞	大片装梗死灶内无任何修复性反应
梗死部位	仅限于内膜下	局部心肌梗死	全层梗死

综合上述病变,“+”<5 个者为轻度;5≤“+”<10 者为中度;“+”≥10 个者为重度。

2.4 心肌细胞超微结构的观察:培养的大鼠乳鼠心肌细胞在分组处理 6 h 后,各组随机

抽取 2 例, 弃去原培养液, 加入 0.125% 胰蛋白酶 1.5 mL 和含有 20% 小牛血清的 D-EME/F12 培养液, 吸管吹打, 形成细胞悬液, 分置于离心管中, 离心, 弃上清液, 加 2.5% 戊二醛固定, 行锇酸固定后。Epon812 包埋, 超薄切片, 醋酸铀-枸橼酸铅染色, 飞利浦 400-ST 透射电镜观察。

### 3 结果

3.1 对实验性心肌梗死大鼠病理形态学的影响: 见表 2 和图 1、2。

表 2 对实验性心肌梗死大鼠心肌梗死区内成纤维细胞数目的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物(只)	成纤维细胞数
自然恢复组	15	92 ± 14
心复康组	15	142 ± 9**
心痛康组	15	123 ± 11*△
德脉宁组	15	120 ± 11*△△

与自然恢复组相比: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

与心复康组相比: △ $P < 0.05$  △△ $P < 0.01$



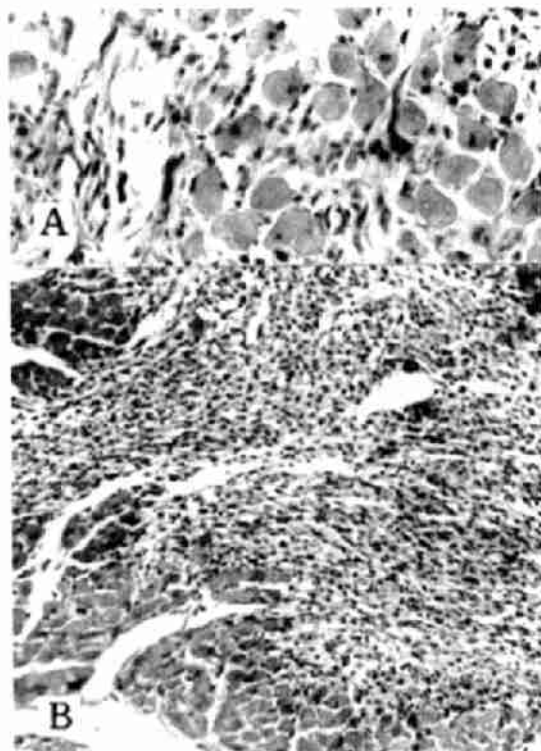
光镜下大鼠心肌梗死灶广泛, 可见梗死灶内坏死组织轮廓及炎细胞浸润, 成纤维细胞稀少, 肉芽组织生长缓慢。HE, ×100

图 1 手术模型组

各组心肌梗死程度经 Ridit 分析,  $\chi^2$  检验有非常显著性差异 ( $R_A = 0.446, R_B = 0.657, R_C = 0.659, R_D = 0.616, \chi^2 = 14.953, P < 0.01$ ), 表明药物治疗各组心肌梗死程度明显减轻, 见表 3。

表 3 心肌梗死程度比较

组别	动物(只)	轻度	中度	重度
自然恢复组(A)	15	1	7	6
心复康组(B)	15	12	3	0
心痛康组(C)	15	7	8	0
德脉宁组(D)	15	8	6	1



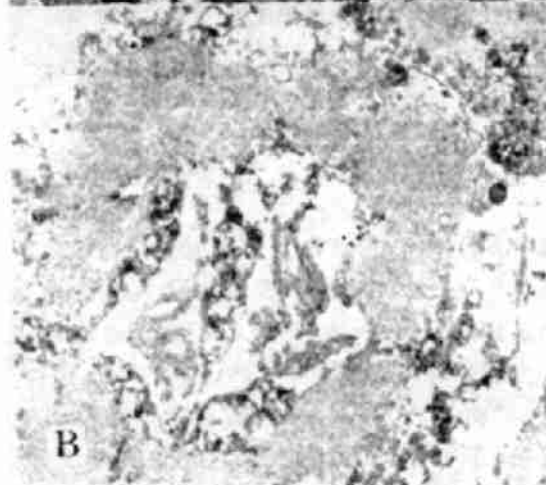
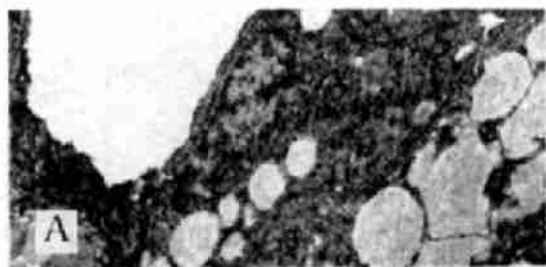
A-光镜下大鼠心肌梗死灶较局限, 梗死灶内可呈岛屿状分布的存活心肌细胞, 肉芽组织增生活跃。HE, ×100; B-光镜下大鼠心肌梗死灶仅限于心内膜下, 梗死灶内可见存活的心肌细胞, 梗死灶大部分已被肉芽组织机化。HE, ×100

图 2 心复康组

3.2 对体外培养大鼠心肌细胞超微结构的影响: 电镜可见单纯缺氧缺糖组心肌细胞细胞器严重损伤, 线粒体明显变性、肿胀, 内质网扩张, 并见大量脂质沉积, 细胞核变性, 染色体固缩, 严重者细胞膜崩解。缺氧缺糖心复康组病变明显较单纯缺氧缺糖组轻微, 仅见细胞浆内脂质沉积, 线粒体轻度肿胀。正常对照组细胞结构清晰, 胞浆内仅见少量脂质沉积(图 3~5)。

### 4 讨论

心肌梗死属于中医“胸痹”、“厥心痛”、“真心痛”范畴, 从《内经》的“邪在心”到《金匱要略》的“阳微阴弦”较完整而扼要地提出了“胸痹心痛”的病机。根据其“本虚标实”的病机特点, 我们创立了具有益气养阴、活血化痰功效的中药复方心复康, 方用西洋参、苦寒之品, 补气养阴、清火生津; 并以甘苦、温之白术, 补气健脾, 两药重用, 共奏益气养阴之大



A-电镜下心肌细胞线粒体明显变性,肿胀,内网扩张,胞浆内可见大量脂质沉积。×6000  
B-电镜下心肌细胞内细胞器结构模糊不清,细胞核变性,染色质固缩,有处细胞膜崩解。×6000

图3 单纯缺氧缺糖组

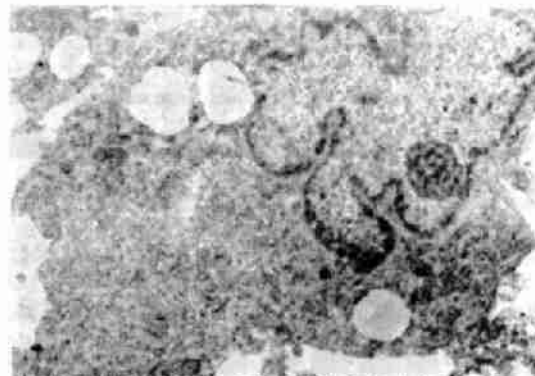
功;枸杞子、女贞子配伍微苦、凉之功功劳叶,养阴清热,共达养阴生血之效;土鳖虫主治活血化瘀;稍佐鹿衔草以温补强健,使阴得阳生而泉源不竭。全方配伍扶正祛邪,其补益而不留邪,攻逐而不伤正。

通过多例镜下观察,结果表明中药心复康对心肌梗死具有一定的防治作用:(1)减少梗死范围。(2)减轻梗死病变程度。(3)加快机体对梗死病变的修复。体外培养大鼠心肌细胞在缺氧缺糖条件下可形成实验性心肌细胞损伤模型,国外文献称之为心肌细胞“缺血性”损伤<sup>[3,4]</sup>。心肌细胞受损伤后,电镜下可见其细胞器严重损伤,细胞膜受损。实验证明中药心复康对心肌细胞缺氧缺糖性损伤有直接保护作用,可使病变轻微。心复康对体外培养



电镜下心肌细胞线粒体轻度肿胀,胞浆内可见少量脂质沉积。×6000

图4 心复康组



电镜下心肌细胞结构清晰,胞浆内仅见少量脂质沉积。×6000

图5 正常对照组

心肌细胞缺血性损伤的保护作用,可能是通过稳定细胞,改善线粒体功能,减轻线粒体水肿而保护心肌细胞,减轻损伤程度的,这些机制有待进一步探讨。但我们实验结果支持了本方的临床疗效评定,为本方的推广应用奠定了基础。

#### 参考文献

- 1 徐叔云,等. 药理实验方法学. 第二版. 北京:人民卫生出版社,1991,921
- 2 李连达,等. 中国中西医结合杂志,1986,6(4),246
- 3 Marvin W J, et al. Gire Res, 1979,45:528
- 4 Lau Y H, et al. Gire Res, 1980,47:41

(1998-10-23 收稿)

#### 敬告读者

本刊编辑部尚存部分过刊精装合订本,包括:1991~1994年(50元/年),1995~1997年(102元/年),1998年(120元),1996年增刊(50元),1997年增刊(45元),1998年增刊(55元)。欢迎来函来电订购。