

· 实验研究 ·

心康口服液对实验性小鼠柯萨奇 B₃ 病毒性心肌炎的实验研究^{*}

赵 红¹ 万素君² 徐新林¹ 褚 雁¹ 黄霞珍² 阮英茆¹

内容提要 目的 观察心康口服液治疗小鼠柯萨奇 B₃(CVB₃)病毒性心肌炎的疗效。方法 将小鼠随机等分为模型组、阳性药对照(Ribavirin)组、心康口服液组及正常对照组,并腹腔接种 CVB₃ 病毒液建立病毒性心肌炎模型。观察比较 4 组小鼠 5、10、20 天体重、心脏重量、心脏肉眼及组织形态学改变,同时进行形态定量学检查及统计学分析。结果 心康口服液组小鼠体重增加,心肌坏死程度轻,范围小,组织修复完全。结论 心康口服液对病毒性心肌炎小鼠有一定疗效,该药保护心肌及抗病毒作用优于 Ribavirin。

关键词 病毒性心肌炎 心康口服液 组织形态学

Experimental Study on Effect of Xinkang Oral Liquid on Coxsackie B₃ Viral Myocarditis in Mice ZHAO Hong, WAN Su-jun, XU Xin-lin, et al Department of Pathology, Cardiovascular Institute, Furwai Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing (100037)

Objective: To study the therapeutic effect of Xinkang Oral Liquid (XKOL) in treating acute Coxsackie B₃ viral myocarditis in mice. **Methods:** Viral myocarditis model was established by intraperitoneal inoculation with Coxsackie B₃ virus. Mice were randomly divided into 4 groups randomly, the model group, the positive control group (treated with Ribavirin), the XKOL group and the normal control group. Body weight of mice was weighed at the 5th, 10th and 20th day. Weight, macro- and histopathologic changes of heart were observed by microscope and measured by morphometric quantification, and the data were treated statistically. **Results:** In the XKOL group, the body weight of mice increased, the degree of myocardial necrosis mild and small in size, which has been repaired more completely, the antiviral effect was found in XKOL group. **Conclusion:** XKOL has definite therapeutic effect on viral myocarditis, its effect is better than Ribavirin in protecting myocardium and anti-virus.

Key words viral myocarditis, Xinkang oral liquid, histomorphology

病毒性心肌炎是目前常见的对人类健康危害极大的难治疾病之一,发病率逐年增高^(1,2),而临床至今尚缺乏满意的治疗手段。中国中医研究院广安门医院心内科研究组经过十余年的临床研究,研制了新型复方口服液——心康口服液,用于治疗病毒性心肌炎,收到了较好的临床疗效。本研究旨在小鼠病毒性心肌炎模型中进一步评价该药疗效,为临床治疗提供实验依据。

材料与方

1 动物 10 日龄上海种窝生乳鼠(带母鼠),体重(6.0±0.5)g,雌雄不拘,军事医学科学院实验动物

中心提供,共 157 只。

2 病毒 柯萨奇 B₃(CVB₃)_m 株病毒,在 HeLa 细胞中传代繁殖,经冻融 3 次,3000r/min 离心收获上清,分装后置-70℃保存备用,在 Vero 细胞中测 50% 组织感染单位(TCID₅₀)为 10^{6.5}/ml。

3 药物 心康口服液(暂定名)成分:主要由北沙参、麦冬、黄芪、黄芩、生地、大青叶、蒲公英、黄精、金银花、炒枣仁 10 味中药组成,每支 10ml,每毫升含生药 2g,由中国中医研究院广安门医院研制,山东菏泽制药厂提供。Ribavirin 注射液,每支 1ml,100mg/ml,江苏省江阴制药厂提供,生产批号:970418。

4 仪器设备 JN-B 精密扭力天平称量 500mg 分度值 1mg(上海第二天平仪器厂生产);BHEC 显微机彩色图像处理系统(北京惠中公司提供)。

5 实验方法

^{*} 本课题为国家自然科学基金项目(No. 39770916)

1. 中国医学科学院 中国协和医科大学 心血管病研究所 阜外心血管病医院(北京 100037) 2. 中国中医研究院广安门医院

5.1 造模与分组 除正常对照小鼠外,其余小鼠分别在实验当日腹腔内接种 0.3ml 含 10^6 CVB₃m Eagle 氏液以建立心肌炎模型并随机分为 3 批:5、10、20 天。每批分 4 组:模型组(27 只)、Ribavirin 组(25 只)、心康口服液组(82 只)、正常对照组(23 只)。

5.2 给药方法 接种病毒 2h 后,心康口服液组以 0.2ml/10g 体重,每天 2 次给予心康口服液灌胃;模型组以等量消毒饮用水代替灌胃;Ribavirin 组以 100mg/kg 体重 Ribavirin 皮下注射,每天 1 次;正常对照组自然喂养,连续治疗观察至 5、10、20 天时,采取心脏组织检测。

6 观察项目及检测方法 (1)称小鼠体重、心脏重量(mg);(2)肉眼观察(在解剖显微镜下进行)小鼠心脏表面病变情况;(3)光学显微镜检查:取小鼠心中下 1/2 心肌,10% 中性福尔马林固定,石蜡包埋,组织切片厚度 $4\mu\text{m}$,HE 染色及光镜观察;(4)形态定量学检查:测量小鼠心肌组织切片病变面积及横截面积(全心面积),求出病变面积与横截面积比值。

7 统计学方法 用 SPSS/PC 软件包对所得多组数据进行统计学处理,组间比较采用 t 检验。

结 果

1 各组小鼠心脏重量及心脏重量系数的比较 见表 1。与正常对照小鼠比较,病毒感染小鼠心脏重量均有增加,但模型组差异有显著性($P<0.05$);心脏重量系数差异无显著性。

表 1 各组小鼠心脏重量及心脏重量系数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	剂量 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	心脏重量 (mg)	心脏重量系数 [#]
模 型	27	—	$107.23 \pm 7.26^*$	0.82
心康口服液	82	34.0	$90.74 \pm 3.86^\Delta$	0.76
Ribavirin	25	0.1	91.88 ± 6.99	0.77
正常对照	23	—	87.12 ± 6.52	0.77

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较, $^\Delta P<0.05$;#心脏重量/体重 $\times 100$ 为心脏重量系数

2 3 组小鼠病变检出数及检出率比较 见表 2。肉眼观察 3 个病毒感染组心脏表面均可见到不同程度出血点,灰白色点状及斑片状病变,但两用药组与模型组比较差异均有显著性($P<0.01$)。

表 2 3 组病毒感染小鼠心脏表面
病变检出率比较 [只(%)]

组 别	n	出血点	斑点状	斑片状
模 型	27	21(77.8)	2(7.4)	21(77.8)
心康口服液	82	22(26.8)*	5(6.1)	6(7.3)*
Ribavirin	25	9(36.0)*	2(8.0)	3(12.0)*

注:与模型组比较,* $P<0.01$

3 组织形态学改变 5 天时病变主要以均质样变性、空泡样变性、间质内有散在淋巴细胞浸润为主,亦可见到多处小灶状心肌细胞坏死;10 天时主要为心肌细胞坏死崩解、嗜碱样变性、淋巴细胞浸润及纤维细胞增生;20 天时系以纤维结缔组织取代为特征。模型组小鼠心肌 5 天及 10 天各种病变均可见到,呈大片或广泛多灶性,可及心室壁全层;20 天为大片纤维瘢痕修复;Ribavirin 组 5 天病变在 3 组中最轻,10 天时心肌坏死逐渐明显,呈小灶多灶性,可及心室壁全层;20 天时除有纤维疤痕形成外仍可见有片状心肌细胞坏死;心康口服液组 5 天时病变程度轻于模型组,但重于 Ribavirin 组;10 天时心肌坏死程度无明显加重并见到成纤维细胞增生,病灶呈散在小灶性,病变深度为心室壁外中 2/3;20 天时组织完全修复。

4 各组小鼠心肌病变形态定量分析 见表 3。将病变面积、全心面积及两者比值进行比较。全心面积 3 组间及与正常对照组间比较差异均无显著性($P>0.05$);病变面积及病变面积/全心面积比值心康口服液组与 Ribavirin 组及模型组比较差异均有显著性($P<0.01$),其中病变面积及病变面积/全心面积 Ribavirin 组与模型组比较差异亦有显著性($P<0.01$)。

表 3 各组小鼠心肌病变形态定量分析比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	病变面积 (mm^2)	全心面积 (mm^2)	病变面积/全心面积
模 型	27	0.88 ± 0.28	12.22 ± 0.50	0.08 ± 0.03
心康口服液	82	$0.06 \pm 0.02^{* \Delta}$	12.05 ± 0.50	$0.01 \pm 0.02^{* \Delta}$
Ribavirin	25	$0.38 \pm 0.10^*$	11.28 ± 0.78	$0.04 \pm 0.01^*$
正常对照	23	0	11.11 ± 1.12	0

注:与模型组比较,* $P<0.01$;与 Ribavirin 组比较, $^\Delta P<0.01$

讨 论

近年来我国医学工作者运用中医学理论研究治疗病毒性心肌炎,取得了大量实验数据及科研成果,证实了中药治疗该病具有潜力^(3,4)。心康口服液为纯中药复方制剂,运用传统中医学理论不仅发挥了清热解毒以祛邪治标抗病毒作用(黄芩、大青叶、蒲公英及金银花);同时兼顾了养阴益气扶本护心整体机能的调节(沙参、麦冬、黄芪、生地)。已有实验证明黄芪、黄芩等成分可抑制 CVB₃-RNA 复制,降低心肌中病毒 RNA 及病毒滴度^(5,6);可使小鼠受环磷酸胺抑制的迟发型超敏反应呈一定程度的恢复,促进免疫受抑小鼠成熟 T 细胞增殖,能增加单核巨噬细胞的功能,使廓清速率加快⁽⁷⁾;心康口服液组在病毒感染初期虽有较明显的心肌细胞变性坏死,随用药时间延长,心肌损伤较为局

限,程度较轻,组织修复现象出现较早,至 20 天时完全修复。形态定量亦取得了与形态学观察相一致的结果,无论是测量病变面积的绝对值还是病变面积与全心面积比值均反映出心康口服液组心脏损伤面积最小,后期组织修复最完全。本实验结果进一步证实了该复方制剂有保护心肌、抗病毒、治疗病毒性心肌炎的作用。其抗病毒作用的机理有待进一步深入研究。

参 考 文 献

1. Smith WG. Coxsackie B myopericarditis in adults. Am Heart J 1970 ;80(1):34—46.
2. 陈灏珠.关于病毒性心肌炎和扩张型心肌病.中华心血管病

杂志 1992 ;20(1):3.

3. 杨英珍,单越芬,赵惠扬,等.黄芪对病毒性心肌炎患者左心室功能的影响.上海医科大学学报 1989 ;16(2):87—90.
4. 熊丁丁,杨英珍,宿燕岗,等.中西医结合治疗小鼠柯萨奇 B₃ 病毒性心肌炎的实验研究.中国中西医结合杂志 1998 ;18(8):480—482.
5. 杨英珍.病毒性心肌炎进展(二).中国中西医结合杂志 1995 ;15(9):557—561.
6. 马伏英,陈晓波,侯久长,等.三黄汤抗柯萨奇 B₃ 病毒性心肌炎的实验研究.哈尔滨医科大学学报 1996 ;30(5):432.
7. 万素君,毛艳荣,郑君.心康口服液的免疫药理作用.中药药理与临床 1995 (特刊):101—103.

(收稿 2000-03-29 修回 2000-12-20)