

心康注射液对急性心肌缺血模型大鼠 治疗作用的实验研究

王 靓, 龙子江^{*}, 施 慧, 陈 明, 王 芳, 卞 海
(安徽中医学院药理教研室, 安徽 合肥 230038)

[摘要] 目的: 研究心康注射液对急性心肌缺血模型大鼠的治疗作用并探讨其作用机制。方法: 采用冠状动脉结扎制备急性心肌缺血大鼠模型, 观察心康注射液对模型大鼠血液中肌酸磷酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和ADP诱导的血小板聚集率的影响。结果: 心康注射液能明显降低心肌缺血模型大鼠血清中CK、MDA、LDH含量, 明显提高血清中SOD含量; 心康注射液能够明显抑制心肌缺血模型大鼠的血小板聚集率。结论: 心康注射液能降低CK、MDA、LDH含量, 提高SOD含量, 抑制血小板聚集率, 对冠状动脉结扎制备的心肌缺血大鼠模型有较好的防治作用。

[关键词] 急性心肌缺血; 肌酸磷酸激酶; 乳酸脱氢酶; 丙二醛; 超氧化物歧化酶; 血小板聚集

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)01-0069-03

Experimental Study on the Treatment of Xinkang Injection on Model Rats with Acute Myocardial Ischemia

WANG Liang, LONG Zi-jiang^{*}, SHI Hui, CHEN Ming, WANG Fang, BIAN Hai

(Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Department of Pharmacology, Hefei 230038, China)

[Abstract] **Objective:** To study the therapeutic effect and mechanism of Xinkang injection on model rats with acute myocardial ischemia. **Method:** Model rats with acute myocardial ischemia were prepared by coronary artery ligation. The influences on the content of creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), malonaldehyde (MDA), Superoxide dismutase (SOD) and ADP-induced platelet aggregation rate were observed. **Results:** Xinkang injection significantly reduced the content of CK, MDA, LDH in serum of model rats with acute myocardial ischemia. Xinkang injection significantly improved the content of SOD in serum of model rats; Xinkang injection reduced the rate of platelet aggregation of model rats. **Conclusion:** Xinkang injection can reduce the content of CK, MDA, LDH, improve the content of SOD, and inhibit the rate of platelet aggregation. Xinkang injection has a preventive and therapeutic effect on model rats with acute myocardial ischemia prepared by coronary artery ligation.

[Key words] acute myocardial ischemia; CK; LDH; MDA; SOD; platelet aggregation

心康注射液是以中药丹参为主要成分的复方中药制剂。丹参具有活血祛瘀、凉血消痈、止痛、养血安神之功效。现代研究表明^[1] 丹参有降低血压、增加冠脉血流量、减慢心率、缩短实验性心肌缺血的时间以及抑制血小板聚集及抗凝等作用。本实验探讨

心康注射液对冠状动脉结扎的急性心肌缺血模型大鼠损伤心肌的保护作用, 为临床用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验药物及试剂 心康注射液由安徽中医学院药理教研室提供(批号: 070527)。该药是以丹参为主要组分辅以红花、冰片、牡丹皮等配伍而成, 质控标准: 每 1 mL 含丹参以丹参素钠和原儿茶醛的总量计, 不得少于 35 μ g, 每 1 mL 含总黄酮以芦丁计,

[收稿日期] 2008-06-02

[通讯作者] * 龙子江, Tel: 13305510881; E-mail: lzjyls@163.com

不得少于 0.4 mg, 临床人用量为生药 16 g·d⁻¹。丹参滴注液由上海华源安徽锦辉制药有限公司提供, 国药准字 Z20026670。CK LDH MDA 和 SOD 试剂盒均由南京建成生物研究所提供, 二磷酸腺苷(ADP)由上海博奥生物科技有限公司生产, 其他药品均为市售。

1.2 仪器 XD-7100 型心电图仪, 上海医疗电子仪器厂生产; Anke TDL-5 台式离心机, 上海安亭科学仪器厂生产; 754 紫外-可见分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司生产; 电子天平, 上海天平仪器厂生产; 电热恒温干燥箱, 上海三星电热仪器厂生产; MPG-3E 多能双通道血液凝聚仪, 上海斯隆医电设备有限公司生产。

1.3 方法^[2,3] Wistar 健康大鼠, 体重(180~220)g, 随机均分为假手术组(等容量葡萄糖注射液)、模型组(等容量葡萄糖注射液)、阳性药物组(丹参滴注液生药 2.88 g·kg⁻¹)、心康注射液小(生药 1.44 g·kg⁻¹)、中(生药 2.88 g·kg⁻¹)、大剂量组(生药 5.76 g·kg⁻¹)。每组 10 只, 雌雄各半。大鼠连续给药 4 d 后, 乙醚麻醉下, 于左第 4 肋间开胸暴露心脏, 距左冠状动脉起点(2~3)mm 处, 穿 5 个 0 手术线结扎, 闭胸, 假手术组只开胸, 暴露心脏穿线但不结扎

冠状动脉。术后 24 h 用 3.5% 的水合氯醛 ip 麻醉动物, (1 mL·100 g⁻¹), 然后腹主动脉取血, 按试剂盒说明书操作, 用 754 紫外分光光度计于 440, 660, 532, 550 nm 处, 分别测血清 LDH、CK、MDA 和 SOD 值; 剩余用 3.8% 枸橼酸钠抗凝(抗凝剂: 全血=1:9), 按 Born 比浊法测定血小板聚集率^[4], 将抗凝血以 100 r·min⁻¹ 离心 1.5 min, 取上层血浆于 EP 管中, 即为富血小板血浆 (PRP), 剩余血浆继续以 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上层血浆, 即为贫血小板血浆 (PPP)。于比浊管内加入 100 μL PPP 调零, 同样取 100 μL PRP, 放入比浊管, 37℃ 预热 2 min, 分别加入诱导剂 15% ADP 12 μL, 在电磁搅拌下用 MPG-3E 多能双通道血液凝聚仪测血小板聚集率[最大聚集率 (PAGM)、2 min 聚集率 (PAG2)、1 min 聚集率 (PAG1)、平均聚集率 (PAGave)]。

1.4 统计方法 数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 统计学处理采用 SPSS10.0 统计软件包, 组间比较采用 *t* 检验, 等级资料用 Ridit 检验。

2 结果

2.1 心康注射液对冠状动脉结扎急性心肌缺血模型大鼠血清酶学的影响 结果见表 1。

表 1 心康注射液对心肌缺血模型大鼠血清酶活性的影响($\bar{x} \pm s$, *n* = 10)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	LDH(U·mL ⁻¹)	CK(U·mL ⁻¹)	MDA(nmol·mL ⁻¹)	SOD(U·mL ⁻¹)
假手术组	—	1 998.68 ± 265.21 ²⁾	0.84 ± 0.33 ²⁾	1.27 ± 0.37 ²⁾	83.16 ± 22.13 ²⁾
模型组	—	2 896.26 ± 301.17	1.55 ± 0.56	1.96 ± 0.55	53.79 ± 17.09
丹参滴注液组	2.88	2 518.24 ± 367.19 ¹⁾	0.99 ± 0.36 ¹⁾	1.42 ± 0.44 ¹⁾	74.28 ± 18.63 ¹⁾
心康注射液组	1.44	2 602.64 ± 212.28 ¹⁾	1.11 ± 0.48	1.70 ± 0.68	69.65 ± 21.85
	2.88	2 465.49 ± 429.17 ¹⁾	1.01 ± 0.36 ¹⁾	1.45 ± 0.42 ¹⁾	74.67 ± 21.04 ¹⁾
	5.76	2 218.46 ± 160.48 ²⁾	0.91 ± 0.34 ²⁾	1.31 ± 0.31 ²⁾	80.20 ± 18.46 ²⁾

注: 与模型组比较¹⁾ *P* < 0.05; ²⁾ *P* < 0.01(下同)

由表 1 可见, 冠脉结扎 24 h 后, 模型组动物血清中 LDH, CK, MDA 显著升高, SOD 减少, 与假手术组比均有显著差异(*P* < 0.01), 说明模型成功; 而心康注射液各剂量组能显著降低心肌缺血模型大鼠血清中 LDH 含量, 中、大剂量能降低 CK、MDA 含量, 增加 SOD 活性, 与模型组比有显著差异(*P* < 0.01, *P* < 0.05), 说明心康注射液能够显著改善冠状动脉结扎导致的心肌缺血模型大鼠血清酶学的改变。

2.2 心康注射液对冠状动脉结扎急性心肌缺血模

型大鼠血小板聚集率的影响 结果见表 2。

由表 2 可见, 手术 24 h 后, 模型组动物血小板聚集率明显增加, 与假手术组比有显著差异(*P* < 0.01), 而心康注射液各剂量组明显抑制心肌缺血模型大鼠血小板 2 min、1 min、平均聚集率及最大聚集率, 与模型组比有显著性差异, 说明心康注射液能够显著改善冠状动脉结扎导致的心肌缺血模型大鼠血小板聚集率的改变。

表 2 心康注射液对心肌缺血模型大鼠血小板聚集率的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	PAG(max) (%)	PAG1 min (%)	PAG2 min (%)	PAG ave (%)
假手术组	—	42.50±7.51 ²⁾	38.80±8.30 ²⁾	36.40±11.97 ²⁾	27.80±6.69 ²⁾
模型组	—	61.10±7.76	52.50±8.87	55.60±9.94	41.40±10.23
丹参滴注液组	2.88	45.60±11.78 ²⁾	40.70±9.13 ¹⁾	40.20±15.17 ¹⁾	29.90±10.83 ¹⁾
心康注射液组	1.44	47.10±5.79 ²⁾	40.90±3.36 ²⁾	45.30±6.23 ¹⁾	33.00±7.11
	2.88	49.10±6.73 ²⁾	40.90±4.53 ²⁾	46.50±7.02 ¹⁾	36.70±8.09
	5.76	44.00±6.15 ²⁾	36.90±6.30 ²⁾	40.20±10.28 ²⁾	32.30±6.15 ¹⁾

3 讨论

心肌缺血系冠状动脉供血绝对或相对不足或冠状动脉供血中断导致心肌急性暂时的或者持久性的缺血缺氧,心肌细胞代谢障碍,代谢产物堆积,损伤心肌,甚至造成心肌坏死,进而影响心脏功能,临床上表现为心绞痛、心肌梗死等临床综合征。甚至造成患者死亡。

心肌缺血时,其代谢亦发生紊乱,表现为能量耗竭,蛋白质合成障碍,各种酶的释放和心肌有害物质的蓄积,从而加重缺血对心肌的损伤,其中 LDH 和 CK 是目前临床诊断心肌梗死较好的指标^[5]。结扎冠状动脉造成心肌缺血后,心肌组织细胞膜受损伤时细胞内 CK 和 LDH 被释放出来并扩散入血浆,血清中 CK LDH 活性明显升高。本实验研究表明,心康注射液可以显著性降低血液中 CK LDH 活性,呈现出保护心肌、抗心肌缺血作用。

越来越多的研究表明心肌缺血损伤发生的机理之一是组织局部氧自由基产生增加并积聚,且通过对膜的脂质过氧化,加剧心肌损伤。机体通过酶系统与酶系统产生氧自由基,后者能攻击生物膜中的不饱和脂肪酸,引发脂质过氧化,并因此形成脂质过氧化物,以及新的氧自由基等。MDA 的量可反映机体脂质氧化的程度,间接的反映细胞损伤的程度。在生理状态下,自由基的生成与体内抗氧化系统(如 SOD) 间保持动态平衡。SOD 能清除超氧阴离子,保护细胞免受损伤。心肌缺血时^[6],SOD 活性下降,而氧自由基生成增加,后者损害以脂质为主要成分的生物膜,一旦生物膜的完整性被破坏,就会使细胞内外 Ca²⁺ 平衡失调,细胞肿胀破裂,血管内皮细胞损伤,使血小板聚集。SOD 活力的高低间接反应了机体清除氧自由基的能力,而 MDA 的高低

又间接反应了机体细胞受自由基攻击的严重程度,两者配合更能反应心肌缺血的程度。本实验研究表明,心康注射液能显著性降低 MDA 含量,增加 SOD 活力,从而抗脂质过氧化,减轻缺血心肌细胞损伤,达到保护心肌、抗心肌缺血作用。

临床上冠心病患者往往血小板数量增多及/或活性增强。血小板功能亢进与动脉血栓形成有密切的关系。动脉血栓的形成经历血小板黏附、血小板聚集和释放以及凝血机制激活 3 个阶段。本实验研究表明心康注射液能够显著抑制 ADP 诱导的血小板聚集。其可能通过抑制致密颗粒释放 ADP,一方面影响了血小板活化,另一方面 ADP 释放减少,与血小板膜特异性受体相互作用减弱,抑制磷脂酶 C 活化,阻止颗粒内容的释出,从而抑制血小板聚集、阻止血栓形成,发挥抗心肌缺血作用。

[参考文献]

[1] 季海刚,司 亮.丹参对心肌缺血再灌注损伤保护作用的研究进展[J].光明中医,2006,21(3):52-54.
[2] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].上海:上海科学技术出版社,2006.307.
[3] 徐叔云,卞如濂,陈 修.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2003.1052.
[4] 韩燕全,龙子江,洪 燕.冰七滴丸对大鼠急性心肌缺血保护作用的研究[J].中药药理与临床,2004,20(6):25-26.
[5] 付晓春,王 希,郑 辉,等.荜茇对缺血缺氧心肌的保护作用[J].南方医科大学学报,2007,27(8):1173-1175.
[6] 尚正录,尚 云,卫洪昌.黄芪保心汤预防实验性大鼠急性心肌缺血的研究[J].上海中医药杂志,2004,38(11):49-50.