

山楂叶提取物对犬急性心肌缺血再灌注损伤的保护作用*

□付建华 李 澎 李欣志 刘建勋** (中国中医科学院西苑医院 北京 100091)

摘 要:目的:研究山楂叶提取物(奥沙恩注射液)对犬急性心肌缺血再灌注损伤的保护作用。方法:以犬为实验对象,复制心肌缺血再灌注损伤模型,从心肌酶、血管活性物质、心外膜心电图、心肌耗氧量、心肌缺血及坏死面积等多种角度,研究奥沙恩注射液对心肌缺血再灌注损伤的影响。结果:奥沙恩注射液可显著降低心肌缺血再灌注后心肌酶(CK、CK-MB、LDH)的含量,显著降低血管活性物质(ET、TXB₂)的升高,提高血浆 6-Keto-PGF_{1α} 的水平和 6-Keto-PGF_{1α}/TXB₂ 比值,显著降低心肌耗氧,减少心肌死区面积。结论:奥沙恩注射液对犬急性心肌缺血再灌注损伤具有明确的保护作用。

关键词:山楂叶提取物 心肌缺血再灌注 心肌耗氧 内皮素 血栓烷素 B₂ 心外膜心电图

心肌缺血再灌注损伤,是指由再灌注而不是缺血导致的心肌细胞死亡,即细胞在缺血期保持存活,而于再灌注期最终死亡^[1-2]。目前研究认为,心肌钙超载,氧自由基产生增多介导的脂质过氧化反应、中性粒细胞(PMN)激活及炎性浸润等参与了心肌缺血再灌注损伤(MIRI)。奥沙恩注射液是我实验室经过十几年的工作,在对山楂叶总黄酮进行了大量而深入研究的基础上开发的具有独立知识产权的新药,经过大量的实验研究,发现其对心血管系统具有多方面的生物活性。本实验选用目前国内常用的结扎冠状动脉左前降支的方法复制犬心肌缺血再灌注损伤模型,拟观察山楂叶提取物-奥沙恩注射液对犬急

性心肌缺血再灌注损伤的保护作用。

一、材料和方法

1. 实验材料

(1) 药物和主要试剂。

①实验药物:奥沙恩注射液,山楂叶经 60%乙醇提取,大孔吸附树脂纯化,得山楂叶提取物配制而成,含总黄酮 60%,花青素 25%,5ml/支,10mg 提取物/ml,由中国中医科学院西苑医院基础医学研究室药药学室提供(批号:010701-2)。0.9%氯化钠注射液:北京双鹤药业股份有限公司生产(批号:010321612)。

②试剂:硝基蓝四唑(N-BT),解放军军事医学科学院药材供应站(批号:971120)。内皮素(ET)放免药盒,北京福瑞生物工程公司(批号:0402);血浆血栓

收稿日期:2005-11-27

修回日期:2006-02-27

* 国家自然科学基金资助项目(No:30472182):山楂叶黄酮对心肌缺血再灌注损伤炎症反应和粘附分子表达的影响,负责人:付建华。

** 联系人:刘建勋,研究员,博士生导师,中国中医科学院西苑医院副院长,主要研究方向:中药药理研究与新药开发,Tel:010-62874049,E-mail: jianxun@ht.rol.cn.net。

素 B₂(TXB₂)和 6-酮-前列腺素 F_{1a} (6-Keto-PGF_{1a}) 放免药盒,北京福瑞生物工程公司(批号:0402)。肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒,北京中生生物工程高技术公司提供(批号:010401)。

(2)实验动物。

健康成年杂种犬 18 只,雌雄兼用,体重 14.33±1.18 Kg,由北京市通利实验动物养殖厂提供[京动许字(2000)第 010 号]。

(3)主要仪器。

高速离心机(BECKMAN GS-15R,美国),全自动 γ 记数仪(FT-630G 型,北京),全自动生化分析仪(RA-1000 型,美国),血氧仪(AVL912 型,瑞士),多道生理记录仪(RM-6100 型,日本光电),多媒体彩色病理图象分析系统(MPIAS-500 型,北京),电脑微量注射泵(AJ-5803 型,上海)。

2. 实验方法

(1)实验动物模型的复制。

参照文献^[3]复制犬心肌缺血再灌注模型。实验动物以戊巴比妥钠(30mg/kg)静脉麻醉,气管插管,连接电动人工呼吸机(SC-3 型,上海医疗设备厂)。施左侧第四肋间开胸术,暴露心脏,剪开心包,做心包床,分离冠状动脉左前降支中段(一般相当于第三分支根部),穿线,准备结扎再灌注。股静脉插管点滴生理盐水及给药,颈外静脉插管至冠状静脉窦,于各时间点抽取静脉血样,颈动脉插管,抽取动脉血样,以血氧测定仪分别测定冠状静脉窦血氧含量及动脉血氧含量。缺血再灌注区域缝置多点固定式心外膜电极,连接多道生理记录仪,于各时间点记录心外膜 30 个标测点的心外膜心电图变化情况^[4]。

手术完成后稳定 30 分钟,记录各项参数为对照,利多卡因 50mg iv,预防以减少室颤的发生。实验时用无创动脉夹阻断冠状动脉左前降支中断血流 60 min,然后恢复冠脉血流 240 min,形成心肌缺血再灌注损伤模型。再灌注前 5 min,经股静脉点滴受试药物。

(2)实验动物分组。

缺血 60 min 后,随机分 3 组,给予以下方案处

理:(1)模型对照组,生理盐水 1ml/kg,n=6;(2)奥沙恩注射液 5mg/kg 剂量组,n=6;(3)奥沙恩注射液 10mg/kg 剂量组,n=6。上述实验药物用生理盐水配制成同体积(50ml),电脑微量注射泵以 5ml/min 的速度经股静脉给予。

(3)实验动物取材。

心脏缺血再灌注 4 h 后,处死动物,立即取下心脏,生理盐水冲洗,称量全心重,在心脏结扎线以下,从心尖部分起平行于冠状沟均匀地将心室部分横断切成 5 片(2 mm 左右厚),分别称重,然后置于硝基四氮唑兰(N-BT)染液中,室温染色 15min,将此心脏的大体情况用多媒体彩色病理图像分析系统输入计算机。

(4)检测项目。

① CK、CK-MB、LDH。分别于如图 1 各时间点抽取冠状静脉窦血 2 ml,EDTA 抗凝,离心(4℃,3000 rpm/min,10min),分离血浆,-80℃保存测定 CK、CK-MB、LDH。

② ET、TXB₂、PGI₂。分别于如图 1 各时间点抽取冠状静脉窦血 2 ml,用消炎痛-EDTA·Na₂ 50μl 抗凝,离心(4℃,3000 rpm/min,10min)分离血浆,-80℃保存待测 ET、TXB₂、PGI₂(6-Keto-PGF_{1a} 替代)。

③ 心肌缺血程度及心肌缺血范围的测定。分别于如图 1 各时间点记录心外膜心电图,对心外膜心电图的 30 个标测点进行分析,以 S-T 段升高大于 2mv 为判断标准,计算心肌缺血程度(S-T 段升高总 mv 数 Σ-S-T)及心肌缺血范围(S-T 段升高总点数 Σ-N-ST)。

④ 心肌坏死面积的测定。用多媒体彩色病理图

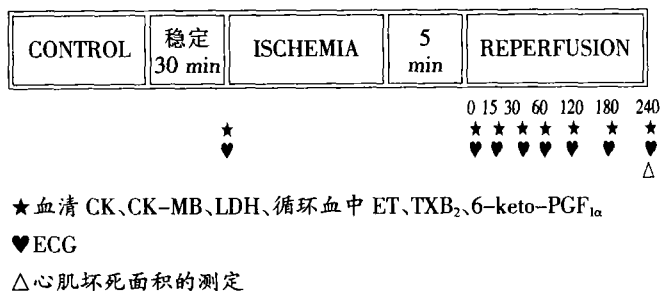


图 1 实验操作图

像分析系统对经 N-BT 染色的心脏大体情况进行分析,测量每片心肌两侧的梗死区(N-BT 非染色区)与非梗死区(N-BT 染色区),计算每片心肌的面积,心室总面积和梗死区总面积。计算梗死区占心室及全心脏重量的百分比。

⑤动、静脉血氧含量的测定。

3. 统计学处理

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,实验结果给药组均数与模型组均数间用方差分析。

二、结 果

1. 血管活性物质含量的变化情况

(1)奥沙恩注射液对肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)及乳酸脱氢酶(LDH)的影响。

结果见表 1~3,心肌缺血 60 min 时实验各组动物的 CK、CK-MB 及 LDH 含量均显著升高,与自身缺血前相比有统计学意义($P < 0.05$ 或 0.01)。再灌注后随着时间的延长这三种酶含量进一步升高,奥沙恩注射液可抑制其活性的升高,与模型组相比,奥

沙恩注射液 10mg 提取物/kg 剂量组能明显抑制 120 min、180 min 和 240 min 时 CK 和 CK-MB 活性的升高,且有显著性差异($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$);奥沙恩注射液 5 mg 提取物/kg 剂量组也有降低其升高的作用趋势,但与模型组相比无显著性差异($P > 0.05$)。奥沙恩注射液两剂量组均可明显抑制 120、180、240min 时 LDH 活性的升高,与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$)。

(2)奥沙恩注射液对内皮素(ET)、血栓素(TXB₂)及 6-酮-前列腺素(6-Keto-PGF_{1α})含量的影响。

结果见表 4~7,结扎犬冠状动脉 60 min,各組动物血浆内皮素含量明显升高,与缺血前自身比较有显著差异($P < 0.05$ 或 0.01),再灌注后 ET 含量进一步升高,奥沙恩注射液对其升高有显著抑制作用,与模型组比较,10 mg 提取物/kg 剂量组可显著抑制再灌注后 15 min、30 min、60 min 时 ET 的升高($P < 0.05$)。TXB₂ 缺血 60 min 后也显著升高,再灌注后其含量继续升高,奥沙恩注射液也可显著抑制其升高,再灌注后 15 min、30 min、180 min 和 240 min

表 1 心肌 I/R 各时间点冠状静脉窦血 CK 活性变化情况(u/L, $\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	剂量	术后 缺血前	缺血 60 min	缺血再灌注					
				15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
模型组	1ml/kg	347.0 ± 89.8	637.17 ± 175.80**	802.77 ± 140.18**	1078.00 ± 170.50**	1281.67 ± 226.18**	1460.93 ± 258.43**	1678.83 ± 440.49**	2094.67 ± 306.49**
奥沙恩	5mg/kg	302.2 ± 65.1	763.67 ± 197.78**	1020.83 ± 321.37**	1127.50 ± 345.71**	1238.00 ± 360.74**	1389.83 ± 463.27**	1571.67 ± 436.84**	1727.83 ± 296.93**
注射液	10mg/kg	460.0 ± 210.3	837.17 ± 366.38*	839.67 ± 308.01*	980.33 ± 324.02**	1173.83 ± 346.37**	1137.17 ± 231.80***	1189.33 ± 131.08***	1311.00 ± 241.11***

表 2 心肌 I/R 各时间点冠状静脉窦血 CK-MB 活性变化情况(u/L, $\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	剂量	术后 缺血前	缺血 60 min	缺血再灌注					
				15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
模型组	1ml/kg	449.67 ± 110.03	816.50 ± 212.60**	1078.53 ± 317.77**	1312.27 ± 326.18**	1382.79 ± 318.42**	1890.85 ± 377.61**	2074.43 ± 449.45**	2287.99 ± 474.46**
奥沙恩	5mg/kg	443.00 ± 65.78	768.87 ± 213.39*	1060.30 ± 350.81*	1104.97 ± 269.59**	1464.80 ± 355.46*	1583.00 ± 270.78*	1823.00 ± 361.44*	2015.40 ± 451.06*
注射液	10mg/kg	596.00 ± 240.61	813.07 ± 211.90*	1080.80 ± 377.50*	1192.77 ± 378.97**	1218.40 ± 211.19*	1332.58 ± 244.87***	1457.63 ± 415.53***	1555.15 ± 550.60***

表 3 心肌缺血再灌注各时间点冠状静脉窦血 LDH 活性变化情况(u/L, $\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	剂量	术后 缺血前	缺血 60 min	缺血再灌注					
				15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
模型组	1ml/kg	57.5 ± 16.8	76.4 ± 18.2*	95.9 ± 35.9*	119.3 ± 48.5*	137.4 ± 55.4*	162.6 ± 64.5*	154.2 ± 67.8*	136.4 ± 44.7*
奥沙恩	5mg/kg	60.5 ± 9.7	68.2 ± 14.1*	88.4 ± 28.8*	112.1 ± 40.7**	97.4 ± 35.6*	94.0 ± 30.6*	85.3 ± 31.4*	83.1 ± 19.5*
注射液	10mg/kg	81.8 ± 25.6	91.6 ± 15.9*	125.4 ± 27.1*	144.7 ± 41.6*	107.1 ± 26.8	98.3 ± 20.6*	90.4 ± 16.9*	87.9 ± 14.6*

奥沙恩注射液的小剂量和大剂量组与模型组比较对 TXB₂ 的抑制均有显著意义 ($P<0.05$ 或 0.01)。心肌缺血 60min 时 6-Keto-PGF_{1 α} 及 6-Keto-PGF_{1 α} /TXB₂ 比值有所下降,但与缺血前相比无统计学意义,再灌注后二者进一步降低,模型组与其自身缺血前相比有显著差异;10 mg 提取物/kg 剂量组奥沙恩注射液可明显升高 6-Keto-PGF_{1 α} 的含量、提高 6-Keto-PGF_{1 α} /TXB₂ 比值,与模型组比较有显著差异 ($P<0.05$ 或 0.01)。

2. 对犬心肌缺血情况(心外膜电图标测)的影响

(1) 对犬心肌缺血程度(Σ -ST)的影响。

结果表明,心肌缺血 60min 各组动物已经形成明显的心肌缺血,再灌注后各组动物的心肌缺血程

度(Σ -ST)迅速减轻,表现为抬高的 ST 段大幅回落,与缺血 60min 时自身相比,均有显著差异 ($P<0.05\sim0.001$)。与模型组比较,奥沙恩注射液 10mg 提取物/kg 组于再灌注后 30min 和 60min 时降低心肌缺血程度最明显,有显著差异 ($P<0.05$)。再灌注 120min 后,各组动物的心肌缺血程度从心外膜电图分析差别已不再显著,且缺血程度也变得很轻微(见表 8)。

(2) 对犬心肌缺血范围(N-ST)的影响。

结果见表 9,再灌注后各组动物的心肌缺血范围(N-ST)迅速减小,表现为 ST 段抬高的心外膜点数大幅减少,与缺血 60min 时自身相比,均有显著差异 ($P<0.05\sim0.001$)。奥沙恩注射液 10mg 提取物/

表 4 心肌缺血再灌注各时间点冠状静脉窦血浆 ET 含量变化情况 (pg/ml, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量	术后	缺血	缺血再灌注					
		缺血前	60 min	15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
模型组	1ml/kg	62.4 $\pm$ 28.2	108.6 $\pm$ 34.8**	132.7 $\pm$ 57.9**	142.1 $\pm$ 62.4**	137.5 $\pm$ 72.5*	125.6 $\pm$ 76.0*	135.8 $\pm$ 87.2*	173.8 $\pm$ 116.5*
奥沙恩	5mg/kg	56.5 $\pm$ 22.4	104.9 $\pm$ 18.3*	81.0 $\pm$ 23.2	73.0 $\pm$ 19.9 ^o	72.3 $\pm$ 31.1	73.3 $\pm$ 27.1	83.5 $\pm$ 30.0	87.0 $\pm$ 42.5
注射液	10mg/kg	59.2 $\pm$ 19.7	88.5 $\pm$ 36.5*	69.4 $\pm$ 20.7 ^o	77.3 $\pm$ 28.8 ^o	64.2 $\pm$ 30.0 ^o	70.7 $\pm$ 27.8	78.8 $\pm$ 24.6	74.0 $\pm$ 29.2

表 5 心肌缺血再灌注各时间点冠状静脉窦血浆 TXB₂ 含量变化情况 (pg/ml, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量	术后	缺血	缺血再灌注					
		缺血前	60 min	15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
模型组	1ml/kg	1720.0 $\pm$ 209.4	1975.7 $\pm$ 223.8**	2184.9 $\pm$ 127.7**	2107.1 $\pm$ 227.3*	2067.3 $\pm$ 201.0*	2101.9 $\pm$ 178.9**	2124.5 $\pm$ 185.2*	2167.3 $\pm$ 228.5*
奥沙恩	5mg/kg	1718.5 $\pm$ 362.4	2019.7 $\pm$ 253.2	1844.0 $\pm$ 223.5 ^o	1771.4 $\pm$ 204.6 ^o	1861.1 $\pm$ 290.8	1908.0 $\pm$ 338.8	1808.9 $\pm$ 406.4	1658.4 $\pm$ 470.3 ^o
注射液	10mg/kg	1730.2 $\pm$ 205.0	2020.1 $\pm$ 269.8*	1879.8 $\pm$ 312.1	1792.5 $\pm$ 305.4	1968.5 $\pm$ 150.4	1918.8 $\pm$ 300.7	1790.6 $\pm$ 238.6 ^o	1825.3 $\pm$ 258.0 ^o

表 6 心肌缺血再灌注各时间点血浆 6-Keto-PGF_{1 α} 含量变化情况 (pg/ml, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量	术后	缺血	缺血再灌注					
		缺血前	60 min	15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
模型组	1ml/kg	2609.9 $\pm$ 808.3	2009.0 $\pm$ 945.8	1963.8 $\pm$ 945.4	1302.0 $\pm$ 778.0**	1356.4 $\pm$ 727.8**	1565.0 $\pm$ 626.4**	1713.3 $\pm$ 708.1*	2021.8 $\pm$ 472.1
奥沙恩注射液	5mg/kg	2061.7 $\pm$ 1093.4	1863.4 $\pm$ 966.6	1425.0 $\pm$ 1096.6	1583.1 $\pm$ 1029.1	1884.5 $\pm$ 1179.8	1891.5 $\pm$ 1199.9	2198.7 $\pm$ 1244.8	2688.5 $\pm$ 1498.3
注射液	10mg/kg	2929.0 $\pm$ 609.0	2642.8 $\pm$ 988.9	2384.2 $\pm$ 1048.0	2339.2 $\pm$ 1031.6	2584.5 $\pm$ 1015.3 ^o	2773.5 $\pm$ 1159.6 ^o	2960.9 $\pm$ 1370.2	3215.7 $\pm$ 1171.9 ^o

表 7 心肌缺血再灌注各时间点血浆 6-Keto-PGF_{1 α} / TXB₂ 比值变化情况 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量	术后	缺血	缺血再灌注					
		缺血前	60 min	15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
模型组	1ml/kg	1.533 $\pm$ 0.509	1.010 $\pm$ 0.405	0.897 $\pm$ 0.408*	0.630 $\pm$ 0.401**	0.666 $\pm$ 0.366**	0.762 $\pm$ 0.334**	0.826 $\pm$ 0.375*	0.951 $\pm$ 0.291*
奥沙恩	5mg/kg	1.304 $\pm$ 0.815	0.921 $\pm$ 0.474	0.750 $\pm$ 0.503	0.876 $\pm$ 0.500	1.009 $\pm$ 0.559	1.038 $\pm$ 0.690	1.277 $\pm$ 0.714	1.671 $\pm$ 0.807
注射液	10mg/kg	1.692 $\pm$ 0.312	1.274 $\pm$ 0.379	1.234 $\pm$ 0.468*	1.283 $\pm$ 0.532 ^o	1.304 $\pm$ 0.495 ^o	1.419 $\pm$ 0.555 ^o	1.643 $\pm$ 0.720 ^o	1.715 $\pm$ 0.461 ^o

kg 组于再灌注后 30min 和 60min 减小心肌缺血范围(N-ST)最明显,与模型组比较有显著差异($P<0.05$)。

(3)对犬心肌梗死范围(N-BT 染色法测定)的影响。

结果见表 10,以定量组织学 N-BT 染色法显示心肌梗死范围,模型组动物心肌梗死区分别占心脏及心室的 $8.3\pm2.6\%$ 和 $25.6\pm7.4\%$;奥沙恩注射液两个剂量组均可减小动物心肌梗死区面积,其作用强度相近,与模型组比较均有显著性差异($P<0.05$)。

3. 对犬动、静脉血氧含量的影响

结果见表 11~13,模型组动物在心肌缺血 60min 再灌注后,动静脉血氧含量差值相对于缺血前有所增高,说明其心肌耗氧量增加,但无统计学意义。奥

沙恩注射液两个剂量组动物的动脉血氧含量无明显变化或有所增高,其静脉血氧含量再灌注后 15min、30min、60min 时与缺血前相比增高显著($P<0.05$),动静脉血氧含量的差值相对于其自身缺血前明显减少($P<0.05$),说明其心肌耗氧量于再灌注初始阶段明显降低。

三、讨 论

急性心肌缺血再灌注损伤是一个复杂的病理生理过程,缺血再灌注损伤不仅包括对缺血组织实质细胞的损伤,也包括对血管床特别是微血管床的损伤,使血流不能进入实质细胞。肌酸激酶(CK)广泛存在于骨骼肌、心肌和脑组织中,尤以心肌细胞为多。当心肌细胞损伤时 CK 溢出,使其在血清中活

表 8 奥沙恩注射液对犬心肌缺血程度(Σ -ST)的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量	缺血	缺血再灌注					
		60 min	15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
模型组	1ml/kg	293.00±98.21	67.33±41.72***	52.33±36.09***	29.00±29.06***	15.67±18.00***	13.17±26.57***	10.33±19.28***
奥沙恩注射液	5mg/kg	275.80±87.05	119.40±94.42*	42.00±51.98***	22.60±37.30***	10.40±20.07***	12.00±16.02***	13.40±21.74***
注射液	10mg/kg	226.33±94.06	53.33±46.04**	7.50±9.40***	2.00±3.16***	3.83±5.15***	2.83±4.40***	1.17±1.83***

表 9 奥沙恩注射液对犬心肌缺血范围(N-ST)的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量	缺血	缺血再灌注					
		60 min	15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
模型组	1ml/kg	22.67±7.79	11.50±8.04*	13.50±7.01	10.33±7.81*	8.33±7.81**	3.83±7.96**	3.33±6.41***
奥沙恩注射液	5mg/kg	27.00±2.68	16.83±7.03**	11.50±10.09**	9.33±11.43**	7.17±10.93**	7.67±10.89**	7.50±10.37**
注射液	10mg/kg	24.83±2.99	9.33±6.77***	2.17±2.79***	0.50±0.84***	1.17±1.60***	0.83±1.33***	0.33±0.52***

表 10 各给药组对犬急性心肌梗死范围的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/kg	心脏重量	心脏面积 mm ²	心室面积 mm ²	梗塞区面积 mm ²	梗塞区/心脏	梗塞区/心室
生理盐水	3ml	92.8±21.9	13166.55±1880.9	4281.1±780.5	1086.8±335.0	8.3±2.6	25.6±7.4
奥沙恩注射液	5mg	84.4±18.4	11123.00±2564.8	3999.4±587.7	479.1±199.1*	4.7±2.8	12.4±6.0*
奥沙恩注射液	10mg	84.4±8.2	11963.02±2342.8	4055.3±863.0	592.1±233.2*	5.0±3.8	13.4±7.6*

表 11 心肌缺血再灌注各时间点动脉血氧含量的变化情况($\bar{x}\pm s, g/dl, n=6$)

组别	剂量	术后	缺血	缺血再灌注					
		缺血前	60 min	15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
模型组	1ml/kg	11.4±2.9	12.2±3.6	12.4±3.8	12.2±3.1	12.0±3.5	12.5±3.1	13.1±3.0	12.1±5.1
奥沙恩注射液	5mg/kg	11.8±0.9	12.7±0.4	12.3±0.5	12.4±1.0	12.4±1.3	13.2±1.5	13.3±1.5*	13.7±1.2*
注射液	10mg/kg	10.7±4.1	11.4±4.4	11.0±4.2	10.7±4.0	10.1±3.8	11.0±4.0	11.3±4.3	11.4±4.5

性升高,血清 CK 活性越高,反映心肌损伤越重,所以 CK 的释放可以看作是心肌细胞坏死或心肌细胞膜通透性增加的一个标志^[5]。CK-MB 因其专属性强,比 CK 更能反映心肌损伤的情况,故在诊断急性心肌梗死时有高度特异性。LDH 是一种糖酵解酶,广泛存在于细胞浆中,只有当在细胞膜受到损伤,通透性增高时,胞浆中 LDH 才大量释放到细胞外。心肌细胞内糖的氧化分解极为旺盛,心肌所需能量主要由糖氧化分解提供,正常情况下,心肌主要靠有氧代谢提供能量,急性心肌血氧供障碍时,有氧代谢转为无氧酵解,ATP 供应不足,代谢障碍,代谢产物堆积,使细胞膜稳定性降低,溶酶体释放,导致生物膜损伤、变性,使 CK、LDH 大量漏出^[6],故 CK、CK-MB 和 LDH 是反应心肌缺血再灌注损伤的重要指标。本实验观察到心肌缺血再灌注后,心肌耗氧增加,CK、CK-MB 和 LDH 活性显著升高,奥沙恩注射液可抑制其活性的升高,降低心肌耗氧,证明奥沙恩注射液对心肌缺血再灌注损伤有一定的保护作用。

血管内皮细胞能产生 PGI₂、ET 和 TXA₂ 等多种血管活性物质,它们是血管内在自身调节体系的重要组成部分,由于这些物质作用的多面性和它们之间的相互作用,形成了对血管舒缩功能与血液流动性错综复杂的调节系统,这对保持正常血液循环的生理功能十分重要^[7-11]。本实验通过测定 ET、PGI₂

的终末代谢产物 6-酮-前列腺素(6-keto-PGF_{1α})及 TXA₂ 的代谢产物 TXB₂ 等活性物质,观察其在心肌缺血再灌注过程中的变化以及奥沙恩注射液的影响。结果表明,奥沙恩注射液对心肌缺血再灌注引起的 ET、TXB₂ 活性升高有明显抑制作用,同时可提高血浆 6-酮-前列腺素(6-Keto-PGF_{1α})的水平和 6-Keto-PGF_{1α}/TXB₂ 比值。这说明奥沙恩注射液对血管活性物质均具有一定的调节作用,对维持血管的舒缩功能状态和器官的血液灌流,防治缺血或缺血再灌注损伤性心血管疾病有一定意义。

心外膜电图标测和心肌 N-BT 染色是心血管实验研究广泛用来判断心肌缺血坏死的比较可靠的指标。本实验研究了奥沙恩注射液对心肌缺血再灌注犬这两项指标的影响,结果表明其心肌缺血 60min 各组动物已经形成明显的心肌缺血,再灌注后各组动物的心肌缺血程度(Σ-ST)迅速减轻,表现为抬高的 ST 段大幅回降,ST 段抬高的心外膜点数大幅减少。与模型组比较,奥沙恩注射液于再灌注后早期(30min 和 60min)时即已表现出对心脏的保护作用。尽管再灌注 180min 后心外膜电图显示的心肌缺血范围已很小甚至完全消失,但从实验结束后心肌染色的结果看来,二者并不完全相符,因此对实验结果应从更多角度来分析。

以上实验结果说明奥沙恩注射液对心肌缺血再灌注损伤具有明显的保护作用,这与其调节血管

表 12 心肌缺血再灌注各时间点静脉血氧含量的变化情况($\bar{x} \pm s$, g/dl, n=6)

组别	剂量	术后 缺血前	缺血 60 min	缺血再灌注					
				15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
模型组	1ml/kg	5.68±2.52	6.07±2.84	6.90±2.59	6.35±2.34	6.60±2.42	6.52±2.44	6.82±2.31	6.33±3.36
奥沙恩	5mg/kg	5.87±2.85	8.10±2.47	7.67±2.84	8.50±2.18*	8.48±1.86*	8.27±2.26	7.53±2.39	7.52±2.43
注射液	10mg/kg	3.33±1.90	4.02±2.83	5.47±2.60*	5.00±2.17*	4.73±2.09	5.12±1.80	5.13±2.30	5.53±2.61

表 13 心肌缺血再灌注各时间点动、静脉血氧含量差值的变化情况($\bar{x} \pm s$, g/dl, n=6)

组别	剂量	术后 缺血前	缺血 60 min	缺血再灌注					
				15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
模型组	1ml/kg	5.68±3.16	6.17±4.22	5.53±3.48	5.87±2.63	5.42±3.03	5.97±1.93	6.28±1.74	5.80±3.02
奥沙恩	5mg/kg	5.88±2.30	4.60±2.37	4.58±2.68	3.90±2.64	3.95±1.33	4.95±2.59	5.72±2.65	6.17±3.23
注射液	10mg/kg	7.35±3.21	7.40±3.61	5.52±1.85*	5.67±2.29	5.38±2.36	5.83±2.66	6.15±2.89	5.90±2.30

活性物质,减少心肌耗氧,缓解心肌氧供不足等有关,其作用机理值得进一步研究。

参考文献

- 1 Fox KA. Reperfusion injury: laboratory phenomenon or clinical reality? *Cardiovasc Res*, 1992, 26(7):656~661.
- 2 Kloner RA, Przyklenk K. Understanding the jargon: a glossary of terms used (and misused) in the study of ischaemia and reperfusion. *Cardiovasc Res*, 1993, 27(2):162~171.
- 3 Lefer DJ, Flynn DM, Buda AJ. Effects of a monoclonal antibody directed against P-selectin after myocardial ischemia and reperfusion. *Am J Physiol*, 1996, 270(1 Pt 2):H88~98.
- 4 中医研究院西苑医院基础室药理组. 心外膜心电图方法的改进. *新医药学杂志*, 1978, (11):53.
- 5 张国元,陈思聪,葛蕊华,等. 应用免疫抑制法测定磷酸肌酸激酶-MB 同工酶诊断急性心肌梗塞. *中华内科杂志* 1986,25(9):530~533.
- 6 Lum H, Barr DA, Shaffer JR, et al. Reoxygenation of endothelial cells increases permeability by oxidant-dependent mechanisms. *Circ Res*, 1992, 70(5):991~998.
- 7 Tsao PS, Aoki N, Lefer DJ, et al. Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation*, 1990, 82(4):1402~1412.
- 8 Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, et al. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature*, 1990, 348(6303):732~735.
- 9 Masaki Tomoh. Reduced sensitivity of vascular response to endothelin. *Circulation*, 1993, 87(suppl V):V 33~V 35.
- 10 Ream E, Richardson A. Fatigue: a concept analysis. *Int J Nurs Stud*, 1996, 33(5):519~29.
- 11 Lewis RA, Austen KF, Soberman RJ. Leukotrienes and other products of the 5-lipoxygenase pathway. Biochemistry and relation to pathobiology in human diseases. *N Engl J Med*, 1990, 323(10):645~55.

The protective effects of hawthorn extraction on acute myocardium ischemia and reperfusion injury

Fu Jianhua, Li Peng, Li Xinzhi, Liu Jianxun

(Department of Basic Medicine Science, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091)

To study the protective effects of hawthorn extraction (ZSZ) on acute myocardial ischemic and reperfusion injury in anaesthetic dogs. Method: The acute ischemic and reperfusion injury models were made by ligation and relax of left anterior descending(LAD) artery. The experiments adopted epicardiogram mapping to measure the scope and degree of myocardial ischemia, quantitative histologic assay (nitroblue tetrazolium, N-BT stain) to determine the size of myocardial infarction. The endothelin (ET), thromboxane B₂ (TXB₂) and 6-Keto-PGF_{1α} was measured by radioimmunological assay. And analysis of serum myocardial enzyme(CK、CK-MB、LDH) was measured by auto clinical chemistry analyzer. Result: ZSZ was showed to obviously alleviate the degree of myocardial ischemia (Σ-ST) and narrow the ischemic area indicated by N-BT staining. In addition, ZSZ could reduce CK、CK-MB、LDH, inhibit the ET and TXB₂ release, increase plasma 6-Keto-PGF_{1α}, reducing myocardial oxygen consumption induced by ischemic and reperfusion. Conclusion: ZSZ demonstrated to attenuate the damage subjected to myocardial ischemic and reperfusion injury, which may be due to its function of inhibiting the ET and TXA₂ release, increasing 6-Keto-PGF_{1α}, reducing myocardial oxygen consumption and then protecting myocardial.

Key Words: hawthorn extraction, myocardial ischemic and reperfusion, myocardial oxygen consumption, endothelin; thromboxane B₂, epicardiogram

(责任编辑:王 瑀,责任编审:叶祖光,责任译审:王 瑀)