

红花总黄素对异丙肾上腺素所致心肌缺血大鼠的保护及机制研究

郑为超, 陈铎葆, 张雷, 李兵
(安徽理工大学医学院, 安徽淮南 232001)

摘要:目的: 研究红花总黄素对心肌缺血模型保护作用及其机制。方法: 采用异丙肾上腺素(ISO)制备心肌缺血模型, 同时观测红花总黄素对心肌和血清中SOD、MDA、LDH、NO等指标的影响。结果: 红花总黄素各剂量组中, 血清和心肌中SOD活性明显升高; MDA含量下降; LDH含量降低。红花总黄素小剂量时, 能升高血清和心肌中NO含量。结论: 红花总黄素具有一定的缺血心肌保护作用, 其机制可能与其抗氧化作用及NO改变有关。

关键词: 红花总黄素; 心肌缺血; 氧自由基

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)06-0036-03

红花是传统中药中常用的活血化瘀药物, 临床上常用于防治冠心病和高血压等疾病。近年来, 研究发现其有效成份红花总黄素是其中药理活性较强的一组水溶性成份, 有明显的抗心肌缺血, 降低血压等作用^[1], 但对其作用机制的研究尚少。本文通过采用异丙肾上腺素(Isoproterenol, ISO)制备心肌缺血模型, 观察红花总黄素对心肌缺血保护作用, 并探讨其作用机制。

1 材料

1.1 药物 红花总黄素提取液, 浓度为80.42%, 置-18℃冷冻储藏, 由北京市安贞医院心肺血管疾病研究所金鸣老师惠赠, 专利号为: 200212265132; 异丙肾上腺素注射液(Isoprenaline hydrochloride): 上海禾丰制药有限公司产品, 批号: 沪卫药准字(1995)第010025号; 丹参注射液(Salvia miltiorrhizae, SM), 上海第九制药厂产品, 批号: 98032054。

1.2 动物 实验选用SD大鼠, 雌雄各半, 体重320±20g, 购自安徽医科大学实验动物中心, 合格证号: 皖医动实准第01号。

1.3 仪器 751-GW型分光光度计(上海光学仪器厂)。

1.4 试剂 乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)及一氧化氮(NO)测定试剂盒均购自南京建成生物制品研究所。

2 方法

2.1 大鼠异丙肾上腺素心肌缺血模型的制备 按Rone^[2]等方法作改良复制ISO心肌缺血模型, 每组动物每日上午皮下注射ISO(10mg·kg⁻¹), 连续3d。全部动物于末次给药后24h动脉放血处死, 收集血液, 制备血清。迅速开胸取出心脏, 称重, 心尖部取适量心肌组织, 制备10%匀浆, 离心取上清, 液冷冻储藏, 备用。

2.2 分组与给药 取SD大鼠, 随机分为5组: 正常对照组(生理盐水10mg·kg⁻¹); SY小剂量组(5mg·kg⁻¹); SY中剂量组(10mg·kg⁻¹); SY大剂量组(20mg·kg⁻¹); 丹参组(2.0g·kg⁻¹)。各组均每日2次灌胃给药, 连续3d。

2.3 SOD、MDA、NO和LDH指标的检测 取血清和心肌匀浆上清液, 按测定试剂盒说明书操作。通过分光光度计测定NO₂⁻/NO₃⁻间接反应NO生成量, 分别测定血清和心肌中NO含量; 采用测定过氧脂质降解产物中MDA和硫代巴比妥酸合成的红色产物, 在532nm处有最大的吸收峰, 以MDA代表组织中氧自由基水平; 同时采用NBT法测定血清和心肌的超氧化物歧化酶(SOD)活性; 取样本按文献^[3]法通过测定丙酮酸二硝基苯胺的含量, 以其代表LDH的含量。

2.4 统计学处理 实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 各组间数据进行t检验。

3 实验结果

3.1 红花总黄素对心肌缺血大鼠NO含量的影响 从表1可以看出, 丹参组与对照组比较, 血清和心肌

中NO含量呈现显著性提高($P < 0.01$);SY小剂量组能提高血清和心肌中NO含量($P < 0.01$),中剂量组和大剂量组较对照组有不同程度的提高,分别为16.2%和14.8%,但未见明显差异。

表1 红花总黄素对心肌缺血大鼠血清和心肌中NO含量的影响($\bar{x} \pm s; n = 10$)

分组	剂量(mg/kg)	血清($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	心肌($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$)
对照组	—	25.5 ± 7.3	1.3 ± 0.4
小剂量组	5	50.1 ± 9.4 ⁺⁺	3.2 ± 0.8 ⁺⁺
中剂量组	10	28.2 ± 7.9	1.7 ± 0.6
大剂量组	20	26.8 ± 6.3	1.6 ± 0.6
丹参组	2.0g	48.2 ± 8.3 ⁺⁺	5.2 ± 1.4 ⁺⁺

注:与对照组比较⁺ $P < 0.05$,⁺⁺ $P < 0.01$ (下同)

3.2 红花总黄素对心肌缺血大鼠LDH含量的影响

从表2可以看出,SY各给药组较对照组血清和心肌中LDH含量均有明显降低($P < 0.01$),提示SY能有效降低血清和心肌中LDH含量。

表2 红花总黄素对心肌缺血大鼠血清和心肌中LDH含量的影响($\bar{x} \pm s; n = 10$)

分组	剂量(mg/kg)	血清($\text{u} \cdot \text{L}^{-1}$)	心肌($\text{u} \cdot \text{mg}^{-1}$)
对照组	—	6225 ± 1013	8287 ± 2033
小剂量组	5	3874 ± 873 ⁺⁺	5216 ± 2013 ⁺⁺
中剂量组	10	4521 ± 1145 ⁺	5226 ± 2318 ⁺⁺
大剂量组	20	4487 ± 1038 ⁺	6108 ± 2419 ⁺⁺
丹参组	2.0g	3518 ± 903 ⁺⁺	4829 ± 2318 ⁺⁺

3.3 红花总黄素对心肌缺血大鼠SOD活性和MDA含量的影响 心肌缺血时,血清中MDA含量升高和SOD活性降低,这已经被以往的实验所证实。本实验结果提示(见表3、4)各SY组血清和心肌中MDA含量较对照组明显降低,SOD活性均较对照组明显升高,存在显著差异($P < 0.05$ or $P < 0.01$)。

表3 红花总黄素对心肌缺血大鼠血清和心肌中SOD活性影响($\bar{x} \pm s; n = 10$)

分组	剂量(mg/kg)	血清($\text{u} \cdot \text{L}^{-1}$)	心肌($\text{u} \cdot \text{mg}^{-1}$)
对照组	—	104.0 ± 23.8	183.6 ± 52.3
小剂量组	5	182.4 ± 25.6 ⁺	284.4 ± 71.6 ⁺
中剂量组	10	169.5 ± 32.2 ⁺	278.1 ± 59.2 ⁺
大剂量组	20	203.8 ± 51.6 ⁺⁺	279.3 ± 43.1 ⁺⁺
丹参组	2.0g	227.7 ± 62.4 ⁺⁺	294.5 ± 58.2 ⁺⁺

4 讨论

儿茶酚胺类药物异丙肾上腺素可引起心肌损伤,造成弥漫性、局灶性、心肌坏死,其心脏增大,心肌组织钙积聚,脂质过氧化增强及细胞内酶(LDH)漏出^[4]。NO作为血管内皮舒张因子(EDRF),具有舒张血管平滑肌,抑制平滑肌细胞增生,维持血管张力和抑制血小板聚集等作用^[5],同时NO具有抑制白细胞表面粘附作用,防止血小板激活,抗氧自由基作用^[6]。

表4 红花总黄素对心肌缺血大鼠血清和心肌中MDA含量的影响($\bar{x} \pm s; n = 10$)

分组	剂量(mg/kg)	血清($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	心肌($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$)
对照组	—	8.7 ± 2.1	2.8 ± 0.4
小剂量组	5	4.8 ± 1.8 ⁺⁺	1.8 ± 0.5 ⁺⁺
中剂量组	10	6.3 ± 2.3	2.4 ± 0.8
大剂量组	20	7.9 ± 2.8 ⁺⁺	2.8 ± 0.6
丹参组	2.0g	3.5 ± 1.5 ⁺⁺	1.3 ± 0.4 ⁺⁺

注:与对照组比较⁺ $P < 0.05$,⁺⁺ $P < 0.01$

本实验采用异丙肾上腺素(ISO)制备心肌缺血模型。实验结果提示,红花总黄素小剂量能明显提高血清和心肌中的NO含量,表明红花总黄素具有促进NO的释放,舒张冠脉,增加冠脉血流量;而红花总黄素中、大剂量时提高心肌中的NO含量不明显,可能是由于在剂量较大时,红花总黄素对心脏具有一定兴奋作用,心肌耗O₂增加,削弱了其对NO作用。

从实验结果看出,红花总黄素各剂量组能明显降低心肌缺血模型血清和心肌中的MDA含量;增强SOD的活性,这表明红花总黄素能有效清除自由基。同时,红花总黄素对各剂量组能使心肌缺血模型血清和心肌中LDH含量减少,这表明红花总黄素具有一定保护缺血心肌的作用。自由基广泛存在于人体的各组织中,特别是心肌缺血后活化的中性粒细胞大量聚集在缺血区,加速了自由基的生成^[7]。红花总黄素能清除血清和心肌中的自由基,可能是保护心肌的重要原因之一。

参考文献:

- [1] 黄正良. 红花黄素降压作用及机理的初步分析[J]. 中成药研究, 1986, (7): 27-29.
- [2] Rona G, Chappel CL, Blalazs, et al. An infarct like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by isoproterenol in the rat[J]. Am Physiol, 1959, 67(6): 443-447.
- [3] 徐淑云, 卞如廉, 陈修. 药理实验方法学[M]. 第二版, 北京: 人民卫生出版社, 1991. 926-938.
- [4] Buhler FrR, Laragh JH, Hdzgreve H. Cardiovascular remodeling and its correction toward a comprehensive strategy[J]. Am J med sci, 1993, 94(S4A): 4A.
- [5] Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology[J]. Pharmacol Rev, 1991, 43(2): 109-113.
- [6] Smedly LA. Neutrophil-mediated injury to endothelial cells on hancement hyendotoxin and essential role of neutrophil elastase[J]. Clin invest, 1986, 77(12): 1233-1237.
- [7] Zweior JL. Measurement of superoxide derived free radical in the reperfused heart, Evidence for a free radical mechanism of reperfusion injury[J]. Biol chem, 1988, 262(12): 1353-1358.