

川芎嗪预处理对清醒大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

梁日欣, 廖福龙, 韩 东

(中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

摘要:目的:用心肌缺血预处理的整体动物模型,观察川芎嗪预处理对清醒大鼠心肌缺血灌注损伤所致心律失常、心肌梗塞面积、乳酸脱氢酶和磷酸肌酸激酶活性的保护作用。方法:先将实验动物麻醉,在人工呼吸状态下,开胸,左主动脉下穿线。然后,缝合胸腔。术后第6d,进行实验。单纯缺血再灌注组:结扎冠脉30min,其后再灌120min;缺血预处理组:冠脉结扎5min,再灌5min;然后,再次结扎冠脉30min,其后再灌120min;药物组:川芎嗪 $20\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $40\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 分别连续静脉给药5min;5min后,结扎冠脉30min,其后再灌120min;结果:川芎嗪降低缺血和再灌时间VF和VT的发生,其发生率为37.5%;使心肌梗塞面积缩小,乳酸脱氢酶和磷酸肌酸激酶的释放减少;上述指标与单纯缺血再灌注组相比,均有显著性差异。其结果与缺血预处理(冠状结扎5min,再灌5min)对心肌缺血再灌注损伤产生的保护作用一致。结论:川芎嗪通过预处理途径对清醒大鼠心肌缺血再灌注损伤所致心律失常、心肌梗塞面积、乳酸脱氢酶和磷酸肌酸激酶活性产生保护作用。

关键词:川芎嗪;预处理;心肌缺血

中图分类号:R285.5 文献标识码:B 文章编号:1005-9903(2002)01-0021-03

Ligustrazini preconditioning protection on myocardial ischemia and reperfusion injury in the conscious rat

LIANG Ri-xin, LIAO Fu-long, HAN Dong

(Institute of Chinese Material Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing, 100700, China)

Abstract: Ligustrazini ($20\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and $40\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) was injected to the conscious rat for 5min, then followed by ischemia 30min/reperfusion 120min, the incidence of VT and VF and mean duration of VT plus VF were decreased with a delayed onset of VT plus VF. In addition, the rise of plasma level of LDH, CPK and the infarct size was attenuated. The result indicated that pretreatment of ligustrazini might mimic IP with cardioprotection on ischemia/reperfusion.

Key words: Ligustrazini; Preconditioning; Myocardial ischemia

结扎冠脉造成急性心肌梗塞是目前评价药物对缺血心肌保护作用的常用病理模型。特别是整体大鼠心肌缺血再灌注模型由于独具某些优点,应用更加广泛;研究证明:整体大鼠无论在清醒还是麻醉状态下,均可造成缺血或再灌注损伤,并能明确地对药物进行评价。但是,大鼠在麻醉状态下结扎左前降支,存在一些缺点。因为麻醉状态下进行人工呼吸,处于非生理状态,心血管功能及神经反射受到一定的抑制,麻醉本身也有一些影响,使实验结果复杂化。而清醒大鼠模型^[1-2]避免了麻醉药、急性手术和失血对心律失常和心肌梗塞形成的影响,使神经系统和心血管系统功能维持正常生理状态,因此,清

醒大鼠模型更接近临床情况,所得实验资料更加可靠。我们在过去的研究中已经证明:川芎嗪预处理对麻醉大鼠心肌缺血再灌注损伤具有保护作用^[3]。本项研究应用清醒大鼠预处理模型,旨在对川芎嗪预处理对心肌缺血再灌注损伤的保护作用进行更明确地评价。

1 材料

1.1 药物及试剂 盐酸川芎嗪,北京第四制药厂,批号960624。硝基蓝测定试剂盒(比色法),北京化工厂,批号980205。磷酸肌酸激酶(CPK)测定试剂盒,北京化工厂,批号,980104。

1.2 动物 雄性Wistar大鼠,体重300~400g,由中国医学科学院实验动物中心提供,合格证号:医动字第01-3008。

1.3 仪器 HB-140 型动物人工呼吸机, DB-3 型心电图机, 751 紫外分光光度计。

2 方法

2.1 动物模型^[1-4] 实验动物通过自制麻醉装置进行乙醚麻醉; 行气管切开, 进行人工呼吸。于胸骨左缘 3~4 肋间, 打开胸腔及心包膜, 暴露心脏; 在肺动脉圆锥与左心耳下缘之间, 经左冠状动脉下浅层心肌穿一丝线, 线的两端穿过一条直径 2mm 的聚乙烯塑料管, 其内端紧贴于冠状动脉, 外端封闭; 穿过背部肌肉和皮肤, 暴露体外。然后, 反复吸出胸腔内血液和气体, 逐层缝合胸部肌肉和皮肤。待动物自主呼吸恢复后, 缝合气管。术后第 6d, 将动物于清醒状态下放入一特制装置内以固定体位, 连接电极。动物稳定 30min 后, 结扎冠脉 30min, 再灌注 120min 时, 记录 II 导 ECG, 观察室颤(VF)、室速(VT)的发生率及持续时间。实验结束后, 腹主动脉取血, 分离血浆测 LDH、CPK 活性。然后, 迅速摘取心脏, 按文献报导的方法, 左心室称重后, 将其切成 1~2mm 的心肌薄片, 浸于 N-BT 溶液中染色 30min。非缺血区的心肌组织为深蓝, 缺血区心肌不染色。按称重法计算心肌梗死面积。

2.2 实验分组 大鼠 40 只。随机分为 5 组, 每组 8 只。1) 单纯缺血再灌注组: 左主冠状动脉结扎 30min, 再灌注 120min。2) 预适应组: 左主冠状动脉结扎 5min, 再灌注 5min。然后, 结扎 30min, 再灌注 120min。3) 川芎嗪组: 20mg·kg⁻¹ 川芎嗪于冠状动脉结扎前连续静脉给药 5min; 给药 5min 后, 左主冠状动脉结扎 30min, 再灌注 120min。4) 川芎嗪组: 40mg·kg⁻¹ 川芎嗪于冠状动脉结扎前连续静脉给药 5min; 给药 5min 后, 左主冠状动脉结扎 30min, 再灌注 120min。5) 假手术组: 左主冠状动脉穿线不结扎。

2.3 统计分析 VT、VF 的发生率用 X² 检验; 其它剂量资料分析用组间 t 检验。

3 实验结果

3.1 对清醒大鼠心肌缺血再灌注所致心律失常的保护作用 单纯缺血再灌注组, 缺血和再灌注期间 VT 和 VF 的发生率分别为 75% 和 87.5%, 而且持续时间长; 预适应组产生保护作用, 缺血期和再灌期心律失常发生率明显降低, 持续时间缩短, 与单纯缺血再灌组相比, P < 0.01; 川芎嗪 40mg·kg⁻¹ 和 20mg·kg⁻¹ 组, 可使室性心律失常发生率下降, 持续时间有所缩短, 与单纯缺血再灌注相比, P < 0.05。结果见表 1。

表 1 川芎嗪预处理对清醒大鼠心肌缺血再灌注所致心律失常的影响($\bar{x} \pm s; n=8$)

组别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	VT 和 VF 发生率 (%) 缺血 30min 再灌 120min	持续时间 (VT+VF) (s)
假手术组	-	-	-
单纯 I/R 组	-	75	87.5
IP 组	-	12.5**	12.5**
川芎嗪组	20	37.5*	37.5*
川芎嗪组	40	37.5*	37.5*

注: 与单纯 I/R 组比较* P < 0.05; ** P < 0.01; (下同)。

3.2 对心肌梗塞面积和血浆乳酸脱氢酶、磷酸肌酸激酶活性的影响 川芎嗪 40mg·kg⁻¹ 和 20mg·kg⁻¹ 组降低冠脉缺血 30min 再灌注 120min 后的心肌梗塞面积 LDH 和 CPK 的释放, 与单纯缺血再灌注组, P < 0.05。预处理组明显减少心肌梗塞面积和血浆 LDH、CPK 增高程度, 与单纯缺血再灌注组, P < 0.05。结果见表 2。

表 2 川芎嗪预处理对清醒大鼠心肌缺血再灌注所致梗塞面积和 LDH、CPK 活性的影响($\bar{x} \pm s; n=8$)

组别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	LDH (U·mL ⁻¹)	CPK (10 ⁻³ U·L ⁻¹)	梗塞面积 (%)
假手术组	-	112 ± 34	234 ± 87	-
单纯 I/R 组	-	211 ± 16 [#]	613 ± 114 [#]	29.18 ± 4.09
IPC 组	-	164 ± 20*	268 ± 136*	15.18 ± 3.17*
川芎嗪组	20	176 ± 32*	286 ± 64*	17.25 ± 6.83*
川芎嗪组	40	181 ± 25*	211 ± 61*	15.38 ± 4.16*

注: 与假手术组相比[#] P < 0.01。

4 讨论

自从 1986 年发现心肌缺血预适应对心肌缺血再灌注损伤的保护作用以来, 为了证实其普遍性, 对多种动物模型进行了大量的研究, 证明了预适应这种保护作用不仅存在于动物体内, 也存在于人类^[5-8]。但研究多在麻醉动物身上进行。虽然大鼠在麻醉和人工呼吸条件下, 开胸结扎冠脉, 造成急性缺血性损伤, 是研究抗心肌缺血药物的常用方法, 但仍存在一些缺点: 麻醉状态下心血管功能和神经反射受到抑制, 对损伤会产生一定影响。而用清醒大鼠模型, 避免了这种不足, 使得模型与临床相关性更好, 以至对药物的评价更可靠。

本实验在清醒大鼠整体心脏上观察到: 预适应组使其心肌梗塞面积显著缩小, LDH、CPK 释放和室性心律失常发生率明显降低; 川芎嗪 20mg·kg⁻¹ 和 40mg·kg⁻¹ 预处理组, 也使室性心律失常发生率降

低,心肌梗塞面积缩小,LDH 和 CPK 释放减少;结果表明川芎嗪对清醒大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用可能是通过预处理的途径产生的。

参考文献:

- [1] 安瑞海,傅络萱,李蕴山.清醒大鼠缺血性心律失常模型的改良制备法及实验观察[J].中国药理学通报,1987,3(5):311-313.
- [2] 赵贵卿,王化洲,齐志敏,等,预防性口服氯化镁抗实验性心肌缺血作用的研究[J].中国药理学通报,1998,14(3):253-255.
- [3] 梁日欣,廖福龙,李文,等,川芎嗪的药理性预适应对麻醉大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].中药药理与临床,1999,(15):13.
- [4] 王世平,陈玉华,徐端正,等,丹参酮IIA 磺酸钠对心肌梗狗血液动力学和心梗范围的作用[J].上海第一医学院学报,1980,7(5):374.
- [5] 宗普.人类心肌预适应的最新研究进展[J].中外医学,心血管疾病分册.1996.27(5):284.
- [6] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA, et al. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium[J]. *Circ*, 1986, 74: 1124.
- [7] Tomai F, Crea F, Gaspardone A et al. Ischemic preconditioning during coronary angioplasty is prevented by glibenclamide, a selective ATP-sensitive K^+ channel blocker[J]. *Circulation*, 1994, 90: 700.
- [8] 金祝秋.药理性预适应的心脏保护作用[J].国外医学,1997,17(2):106.