

复方丹参对缺血心肌磷脂肌醇代谢的影响

南京海军 414 医院心内科(南京 210015) 陶月玉 郭松铎 陈惠珍 胡 华

南京海军神经生物学研究中心 卢步峰[△] 严玉兰 鲁友明

内容提要 采用结扎大鼠左冠脉前降支造成急性心肌缺血模型, 本文首次报道了复方丹参对急性缺血心肌磷脂肌醇代谢的影响。结果显示: 急性缺血 10 min, 心肌磷脂肌醇信息传递系统功能增强, 其磷脂酰肌醇-4, 5-二磷酸(PIP_2)和肌醇-1, 4, 5-三磷酸(IP_3)水平明显高于非缺血对照组($P < 0.01$, $n = 7$)。复方丹参(2 g/kg 体重)能显著抑制急性缺血导致的心肌 PIP_2 和 IP_3 水平的升高, 其 PIP_2 和 IP_3 水平显著低于缺血组($P < 0.01$, $n = 7$)

关键词 心肌缺血 磷脂酰肌醇-4, 5-二磷酸 肌醇-1, 4, 5-三磷酸 复方丹参

关于心肌缺血时病理改变的确切分子学机制目前还不清楚。本文首次报道了复方丹参对急性缺血心肌磷脂肌醇代谢的影响。旨在从心肌细胞跨膜信息传递的磷脂肌醇途径探索心肌缺血性损伤的分子学基础, 从而为缺血性心脏病的临床防治工作提供新的启示。

材料与方法

一、试剂

D-myo- IP_3 [^3H] 测定药盒为 Amersham 公司产品, 复方丹参注射液为上海第一制药厂产品(批号: 920121, 每毫升含丹参、降香各 2 g, pH 为 7.4, 其电解质含量: Ca^{2+} 为 1.2 mmol/L, K^+ 为 2.5 mmol/L, Na^+ 为 140 mmol/L), 其余均为国产分析纯。

二、大鼠心肌缺血模型制备

大鼠心肌缺血模型制备参见文献^[1]。SD 大鼠 35 只, 雄性, 体重 190~220 g, 水合氯醛 350 mg/kg 体重腹腔注射麻醉。距胸骨左缘 2 mm 处纵行开胸, 呼吸机人工呼吸, 暴露心脏于胸腔外, 用 000 号丝线 1 根于右心房下缘 2 mm 与肺动脉圆锥水平结扎左冠脉前降支造成急性心肌缺血模型, 不结扎作为对照组。随机将实验动物分为 5 组(每组 7 只): 非缺血对照组, 缺血组(缺血 10 min)和 3 个丹参给药组(结扎冠脉前 20 min 腹腔注射复方丹参注射液, 3 组剂量分别为给丹参 0.5 g/kg 体重、2 g/kg 体重和 8 g/kg 体重)。

三、心肌 PIP_2 和 IP_3 测定

心肌缺血 10 min 后, 迅速切取缺血心肌组织(结

扎线下左心室游离壁前下壁, 对照组亦同)0.1 g, 加入 5% 高氯酸 5 ml, 用玻璃匀浆器在冰浴状态下制成匀浆, 冰浴 20 min, 取少量匀浆用 Folin 酚法蛋白定量^[2]。余匀浆离心 4000 g × 20 min, 4℃, 将上清液用 10 N 的 NaOH 调 pH 为 7.5, 最后待测心肌组织浓度为 2 mg/100 μl , 在液体闪烁计数器上进行肌醇-1, 4, 5-三磷酸(IP_3)测定。详细操作参见 D-myo- IP_3 [^3H] 测定药盒说明书(Amersham, Code TRK-1000)。沉淀部分用 2 ml 1 mol/L TCA/1 mmol EDTA 洗涤, 弃去所有上清液, 沉淀部分加 0.94 ml 甲醇/氯仿 12 mol/L HCl(80/40/1, V/V), 匀浆 15 min, 离心 1000 g × 15 min, 15℃, 取底层 0.4 ml 液体蒸馏干燥, 加 1 mol/L KOH 0.28 ml, 加热 100℃ × 15 min 后, 冰浴上放冷, 用 1 ml 蒸馏水溶解, 测得的 IP_3 值即为等分子 PIP_2 含量。

四、数据处理

所有数据用均数 ± 标准误($\bar{x} \pm S\bar{x}$)表示。经 Ralaph B 和 D' Agostino 法正态检验和 Barlett 法方差齐性检验之后, 应用两样本均数比较 t 检验和完全随机多样本均数比较的方差分析和 q 检验。

结 果

一、缺血心肌磷脂肌醇信息系统功能的变化 见附表。

附表显示: 心肌缺血 10 min 后, 心肌组织中 PIP_2 和 IP_3 水平较非缺血的对照组明显增高, 分别升高为 $293 \pm 19\%$ 和 $375 \pm 35\%$, 两组之间均有非常显著性差异($P < 0.01$)。

二、丹参对缺血心肌磷脂肌醇信息系统功能增强

[△]镇江医学院生化教研室

的抑制作用 见附表。

由附表可见丹参(2 g/kg 体重)能非常显著地抑制缺血所致心肌 PIP_2 和 IP_3 水平的升高,抑制率分别为 64.38% 和 68.06%,分别较缺血组下降了 $179 \pm 14\%$ 和 $213 \pm 9\%$,两组之间均有非常显著性差异 ($P < 0.01$)。小剂量丹参(0.5 g/kg 体重)对缺血心肌磷脂肌醇代谢无明显抑制作用, PIP_2 和 IP_3 受抑制率分别为 3.13% 和 2.78%,与缺血组之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。丹参剂量增至 8 g/kg 体重时,其抑制缺血心肌 PIP_2 和 IP_3 升高的能力与丹参 2 g/kg 体重组比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。

附表 丹参对缺血心肌 PIP_2 和 IP_3 代谢变化的影响
(pm/mg 蛋白, $\bar{x} \pm S\bar{x}$)

组别	PIP_2	IP_3
对照(A)	0.41 ± 0.03	0.31 ± 0.02
缺血(B)	1.60 ± 0.03	1.44 ± 0.03
丹参(0.5 g/kg)(C)	1.55 ± 0.03	1.40 ± 0.03
丹参(2 g/kg)(D)	0.57 ± 0.02	0.46 ± 0.01
丹参(8 g/kg)(E)	0.54 ± 0.03	0.45 ± 0.02

注: A 与 B, A 与 C, B 与 D, B 与 E, C 与 D, C 与 E; P 均 < 0.01 ; A 与 D, A 与 E, B 与 C, D 与 E; P 均 > 0.05 ; 每组鼠数均为 7 只

讨 论

众多实验结果表明,心肌缺血时体内多种神经递质和生理活性物质水平增高(如:去甲肾上腺素、血管紧张素 II、组织胺、5-羟色胺、血栓素 A_2 以及血小板激活因子等),影响心肌缺血性损伤的病理发生、发展过程^(3,4)。这些神经递质和生理活性物质的靶细胞效应可能与它们均可有促进磷脂肌醇系统的代谢有关^(5,6)。在离体心肌细胞缺氧时,其 IP_3 水平明显升高⁽⁷⁾。本结果显示急性心肌缺血时,心肌组织内 PIP_2 和 IP_3 水平明显增高。这种心肌缺血(氧)时心肌磷脂肌醇信息系统功能增强的结果提示:上述多种神经递质和生理活性物质参与心肌缺血性损伤发生、发展过程中可能均有磷脂肌醇信息传递途径的介入。

丹参制剂具有确切的保护心肌缺血性损伤的作用^(8,9)。我们的实验结果表明:丹参对缺血心肌磷脂肌醇信息系统的功能亢进具有明显的抑制作用,且丹参这种抑制缺血心肌磷脂肌醇代谢作用随丹参剂量在一定范围内的增加而相应增强。虽然,丹参对缺血心肌磷脂肌醇代谢的确切抑制部位尚不清楚。但是,其结果显示了丹参对心肌缺血性损伤的保护作用可能与其抑制缺血心肌磷脂肌醇信息系统的功能亢进有关。我们认为,从磷脂肌醇信息传递途径探索缺血性心脏病防治的新措施可能具有重要的临床意义。

参 考 文 献

1. Dun W, et al. Anti-arrhythmia and anti-lipid peroxidation effects of methylflavonolamine. *Acta Pharmacol Sin* 1991;12:177.
2. Lowry OH, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:2550.
3. Willerson JJ, et al. Specific platelet mediators and unstable coronary artery lesions. *Circulation* 1989;80:198.
4. James JW, et al. Pathogenesis and pathology of ischemic heart disease. In: James JW, L'Dauid H, L'Marimilian B, eds. Ischemic heart disease: clinical and pathophysiological aspects. New York: Raven Press, 1982; 7-83.
5. Hokin LE. Receptors and phosphoinositide-generated second messengers. *Am Rev Biolchem* 1985; 54:205.
6. Putney JW Jr. Formation and action of calcium-mobilizing messenger, inositol-1,4,5-trisphosphate. *Am J Physiol* 1987; 252:G149.
7. Heathers GP, et al. Enhanced inositol trisphosphates response to alpha 1-adrenergic stimulation in cardiac myocytes exposed to hypoxia. *J Clin Invest* 1989; 83:1409.
8. 陈维洲. 丹参的药理. *药学学报* 1984; 19:876.
9. 王迎平,等. 丹参酮 II_A 磺酸钠对心肌梗塞狗血液动力学和心梗范围的作用. *上海第一医学院学报* 1980; 7:347.

上海市中西医结合康复医学研究所成立

1993 年 3 月初,上海市卫生局批复上海医科大学,同意成立上海市中西医结合康复医院研究所。该所设在上海医科大学附属中山医院,经费、编制由上海医科大学和中山医院统筹安排。市卫生局指出,希望加强领导,积极扶植此项工作。

安徽省高校科技联合培训部中医函授部面向全国招生

本部经安徽省教委批准面向全国招生,选用《全国高等中医院校函授教材》,所设 12 门中西医课程,与高等教育中医自学考试紧密配合。由专家、教授教学和全面辅导,凡是有高中语文程度者均可报名,来函请寄至合肥市阜阳路 48 号安徽省高校联合培训部(邮政编码 230001),简章备索。

but not in younger ones, this drug seems to have different action from testosterone preparations. In another animal experiment, the reproduction promoting effect of WYL was shown by the increase of sperm count and motility of sperms in old male rats as well as its reproductive ability.

Key words Wuzi Yanzong Liquid, norepinephrine, dopamine, serotonin, testosterone, estradiol, reproduction

(Original article on page 349)

Effects of Magnesium Lithospermate B on D-Galactosamine Induced Rat Liver Injury

Liu Ping (刘平), Yasuhiro Mizoguchi*, Seiji Morisawa*

Dept. of Hepatology, Shanghai Academy of TCM, Shanghai (200032)

* Division of Biochemistry, Dept. of Medicine, Osaka City University, Japan

To investigate the effective ingredients of *Salvia miltiorrhizae* on anti-liver injury, the water soluble component of the above drug, magnesium lithospermate B, was used to conduct the experimental treatment of acute liver injury by D-galactosamine (10 mg/kg body weight, orally). The results showed that the component could obviously attenuate the necrosis of liver tissues, lower the activities of serum alanine amino transferase (ALT) and aspartate amino transferase (AST), $P < 0.05$. Compared with those of the normal rats, the levels of the products of cyclo-oxygenase (6-keto-prostaglandin $F_{1\alpha}$, prostaglandin D_2 and total prostaglandins) in the metabolism of arachidonic acid in non-parenchymal cells of acute liver-injured rats were markedly decreased ($P < 0.05$). These data revealed that magnesium lithospermate B might be one of the main components of *Salvia miltiorrhizae* in anti-liver injury, while increasing the levels of total prostaglandins in liver non-parenchymal cells was perhaps one of the mechanisms of anti-liver injury.

Key words *Salvia miltiorrhizae*, magnesium lithospermate B, D-galactosamine, liver injury, prostaglandin

(Original article on page 352)

Effects of *Salvia Miltiorrhizae Compositae* on Phosphoinositides Metabolism of Acute Myocardial Ischemia

Tao Yue-Yu (陶月玉), et al

Navy No. 414 Hospital, Nanjing (210015)

The effects of *Salvia miltiorrhizae compositae* (SMC) on phosphoinositides metabolism of acute myocardial ischemia in rats were studied. The results showed that the function of the phosphoinositide signaling system was enhanced 10 min. after acute myocardial ischemia. Both of the accumulations of phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP_2) and inositol-1,4,5-trisphosphate (IP_3) were higher than those of the non-ischemic control group ($P < 0.01$, $n=7$). The rise of the levels of PIP_2 and IP_3 caused by acute myocardial ischemia was remarkably inhibited by the SMC (2g/kg body wt.), and the levels of PIP_2 and IP_3 were lower than those of the ischemic group ($P < 0.01$, $n=7$).

Key words myocardium, ischemia, phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, inositol-1,4,5-trisphosphate, *Salvia miltiorrhizae*

(Original article on page 354)