

· 实验研究 ·

愈心痛胶囊对急性心肌缺血犬血浆 内皮素和血清一氧化氮的影响

雷 燕 刘建勋 周亚伟 尚晓泓 陈可冀

内容提要 本研究观察了中药复方愈心痛胶囊消化道给药对实验性急性心肌缺血犬血浆内皮素(ET)和血清一氧化氮(NO)水平及肌酸磷酸激酶(CPK)活性的影响。结果显示:在犬急性心肌缺血过程中血清 CPK 活性和血浆 ET 水平均显著增高,血清 NO 水平下降。愈心痛胶囊两个剂量组均可明显抑制实验性犬心肌损伤时 CPK 的溢出和血浆 ET 的过量释放,同时促进 NO 的生成和释放,与盐水对照组比较差异显著($P < 0.05 \sim 0.001$),从而保护心肌免受缺血性损伤,其作用效果与剂量呈正相关。

关键词 愈心痛胶囊 心肌缺血 内皮素 一氧化氮 肌酸磷酸激酶

Effect of Yuxintong Capsule on Plasma Endothelin and Serum Nitric Oxide in Acute Myocardial Ischemia Dogs LEI Yan, LIU Jian-xun, ZHOU Ya-wei, et al *Xiyuan Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing (100091)*

Effect of Yuxintong (YXT) capsule on plasma endothelin(ET), serum nitric oxide (NO) and creatine phosphokinase (CPK) activity in experimental acute myocardial ischemia dogs were observed. The results indicated that in acute myocardial ischemia dogs, the serum CPK activity and plasma ET level increased and serum NO level decreased significantly. In comparing with control, YXT not only could reduce significantly the increased plasma ET content and serum CPK activity, but also increase markedly the producing and releasing of NO, $P < 0.05 \sim 0.001$. Therefore, it could protect the myocardia from ischemic damage, the efficacy of YXT was positively dose dependent

Key words Yuxintong capsule, myocardial ischemia, endothelin, nitric oxide, creatine phosphokinase

内皮素(Endothelin, ET)和一氧化氮(Nitric Oxide, NO)是新近发现的一对效应相反的血管活性介质,二者的动态平衡对维持心血管系统的正常生理功能具有极其重要的作用。本研究观察了中药复方愈心痛胶囊消化道给药对实验性急性心肌缺血犬血浆 ET 和血清 NO 水平及肌酸磷酸激酶(CPK)活性的影响,旨在探讨该方对缺血性心肌的保护作用。

材料和方法

1 实验动物 选用健康成年犬,雌雄不拘,体重 12~18 kg(13.85 ± 1.96),由中国中医研究院西苑医院动物室提供,随机分为(1)空白对照组 5 只(生理

盐水, 3 ml/kg); (2)阳性药对照组 5 只(硫氮草酮, 5 mg/kg); (3)愈心痛大剂量组 5 只(2 g 生药/kg); (4)愈心痛小剂量组 5 只(1 g 生药/kg)。

2 药品、试剂和仪器 愈心痛胶囊主要由红参、三七等药物组成,其提取干粉(2 g 生药/g 干粉)由吉林敖东制药厂提供;硫氮草酮片(恬尔心, 30 mg/片),上海延安制药厂生产(批号 900103);0.9%氯化钠注射液,石家庄市第四制药厂生产(批号 2112003);ET 放免药盒购自中国人民解放军总医院;NO 试剂盒由军事医学科学院提供;CPK 用芬兰产的“KONE 牌选择性化学分析仪”测定。

3 实验方法 上述实验药物,均在实验前用生理盐水配制成等体积(3 ml/kg)以备用,动物在戊巴比妥钠 30 mg/kg 静脉麻醉及人工呼吸条件下,于左

侧第四肋间开胸,暴露心脏,做心包吊床,分离并结扎冠状动脉左前降支中点,造成急性实验性心肌缺血模型,结扎冠脉 15 min 后,各组经十二指肠给予实验药物或生理盐水,分别于冠脉结扎 15 min(药前)、药后 60、120、180 min 抽取股静脉血每次 4 ml, 2 ml 血立即分离血清,取 0.1 ml 上清液,以酶偶联法测定 CPK 活性;余血清置 -30°C 保存以备集中检测 NO,采用微盘测定法^[1],应用酶标仪在 550 nm 波长下测定样品的吸光值,以亚硝酸钠为标准,按标准曲线计算 NO 含量。另 2 ml 血加入含有 EDTA 和抑肽酶的试管中,尽快在 4°C 3000 rpm 离心 10 min,取血浆置 -30°C 冰箱中待测 ET,具体测定步骤按试剂盒说明书进行。各项实验数据进行统计学处理,以给药后各组不同观察时间的测定值与给药前(100%)进行自身比较,其变化百分率均与生理盐水组进行组间比较,采用 t 检验和直线相关分析。

结 果

1 各组给药前后血清 CPK 活性比较 见表 1。血清 CPK 活性随着冠脉结扎时间的延长逐渐增高,以结扎 15 min 时(给药前)测量值为对照,生理盐水组给药后 60、120、180 min 分别增加 34.56%、84.30% ($P<0.01$) 及 149.18% ($P<0.001$),说明心肌有急性损伤;愈心痛大、小剂量组及硫氮草酮组均能明显抑制 CPK 的溢出,使其活性显著低于生理盐水组。

2 各组给药前后血浆 ET 水平的影响 见表 2。随着冠脉结扎时间的延长,生理盐水组血浆 ET 呈上升趋势,120 min 达高峰;愈心痛两个剂量组和硫氮草酮组给药后血浆 ET 水平明显下降,大剂量组与硫氮草酮组作用相似,无显著性差异。

3 各组给药前后血清 NO 含量比较 见表 3。

表 1 各组给药前后 CPK 活性比较 ($\bar{x}\pm S$)

组 别	犬数	剂量 (/kg)	CPK 活性(U/L)			
			药前	药后 60 min	药后 120 min	药后 180 min
生理盐水	5	3 ml	608.80 $\pm$ 122.81	819.20 $\pm$ 179.16	1122.00 $\pm$ 223.46 $\Delta\Delta$	1517.00 $\pm$ 313.74 $\Delta\Delta\Delta$
硫氮草酮	5	5 mg	665.33 $\pm$ 98.37	639.00 $\pm$ 134.85*	771.20 $\pm$ 179.40**	996.00 $\pm$ 288.28** Δ
愈心痛胶囊	5	1 g	494.60 $\pm$ 217.38	630.00 $\pm$ 363.81	708.00 $\pm$ 387.97	786.00 $\pm$ 245.03*
愈心痛胶囊	5	2 g	535.00 $\pm$ 294.28	658.80 $\pm$ 234.98	726.60 $\pm$ 110.65*	822.60 $\pm$ 183.79**

注:与生理盐水组同期比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与本组药前比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$, $\Delta\Delta\Delta P<0.001$

表 2 各组给药前后 ET 含量的比较 ($\bar{x}\pm S$)

组 别	犬数	剂量 (/kg)	ET 含量(pg/ml)			
			药前	药后 60 min	药后 120 min	药后 180 min
生理盐水	5	3 ml	80.23 $\pm$ 19.36	86.65 $\pm$ 18.65	99.47 $\pm$ 16.59	94.11 $\pm$ 10.92
硫氮草酮	5	5 mg	78.52 $\pm$ 17.53	73.98 $\pm$ 10.79	64.82 $\pm$ 13.90**	57.95 $\pm$ 14.87**
愈心痛胶囊	5	1 g	75.34 $\pm$ 17.10	73.38 $\pm$ 13.20	74.83 $\pm$ 13.81	69.87 $\pm$ 13.61*
愈心痛胶囊	5	2 g	80.39 $\pm$ 17.99	71.94 $\pm$ 8.12	65.30 $\pm$ 19.64*	59.28 $\pm$ 7.35*** Δ

注:与生理盐水组同期比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;与本组药前比较, $\Delta P<0.05$

表 3 各组给药前后血清 NO 含量比较 ($\bar{x}\pm S$)

组 别	犬数	剂量 (/kg)	NO 含量($\mu\text{mol/ml}$)			
			药前	药后 60 min	药后 120 min	药后 180 min
生理盐水	5	3 ml	4.02 $\pm$ 1.04	3.52 $\pm$ 1.05	3.02 $\pm$ 0.71	2.76 $\pm$ 0.58 $\Delta\Delta$
硫氮草酮	5	5 mg	4.26 $\pm$ 1.12	5.28 $\pm$ 1.44*	6.28 $\pm$ 0.88*** Δ	5.78 $\pm$ 0.71*** Δ
愈心痛胶囊	5	1 g	3.78 $\pm$ 0.88	4.28 $\pm$ 1.98	4.78 $\pm$ 1.65	5.52 $\pm$ 1.42*** Δ
愈心痛胶囊	5	2 g	4.00 $\pm$ 1.37	4.76 $\pm$ 0.54	5.32 $\pm$ 1.45*	5.95 $\pm$ 1.20*** Δ

注:与生理盐水组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;与本组药前比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

生理盐水组随着缺血时间的延长, 血清中的 NO 含量明显下降, 而硫氮萘酮和愈心痛可以逆转这一趋势。硫氮萘酮起效较快, 120 min 血清 NO 含量达到高峰, 而愈心痛两个剂量组均在药后 180 min 有明显作用, 与生理盐水组比较有显著性差异(P 均 < 0.01)。

4 麻醉犬急性心肌缺血期血浆 ET 与血清 NO 和 CPK 的关系 研究发现, 在麻醉犬急性心肌缺血过程中, 血浆 ET 和血清 CPK 分泌均增加, 但 CPK 活性与 ET 分泌高峰未显示相关性。相关分析表明, 血浆 ET 与血清 NO 含量存在负相关, 但相关不显著($r = -0.897$, $df = 2$, $P > 0.05$)。

讨 论

CPK 广泛存在于细胞胞浆中, 尤以心肌细胞为多, 当心肌细胞损伤时 CPK 溢出, 使其在血清中活性升高, 血清 CPK 活性越高, 反映心肌损伤程度越重^[2]。本实验以 CPK 释放为指标表明: 结扎冠状动脉左前降支中点, 造成麻醉犬急性心肌损伤的模型是成功的。本实验观察到愈心痛胶囊可明显抑制犬急性心肌损伤时 CPK 的溢出, 降低血清 CPK 活性, 保护心肌细胞膜。

ET 是由内皮细胞产生的一种作用强烈而持久的血管收缩肽, 其过量释放可引起冠状动脉痉挛, 心肌缺血坏死, 并可加重心肌再灌注损伤^[3]。研究证实^[4], 缺血缺氧是 ET 大量释放的最主要因素之一。本实验观察到愈心痛胶囊可明显降低麻醉犬急性心肌缺血时血浆 ET 水平, 抑制 ET 的释放, 从而减轻 ET 对血管和心肌组织的损伤作用。

NO 是由内皮细胞释放的一种舒血管因子, 持续基础的 NO 释放, 对维持心血管系统恒定的舒张状态, 调节血压和冠状动脉基础张力, 保持心肌血流灌注等有着重要作用^[5]。NO 半衰期很短且极不稳定, 于有氧环境中, NO 主要而稳定的代谢产物是硝酸盐和亚硝酸盐^[6]。硝酸盐可与磺酸及茶乙烯二胺盐反应生成粉红色偶氮化合物, 通过比色法可间接测知 NO 浓度。本实验观察到愈心痛胶囊可提高犬急性心肌缺血时血清 NO 水平, 促进 NO 的生成和释放, 从而保护心肌免受缺血性损害。

本研究发现, 实验性犬急性心肌缺血时血清 NO 水平下降, 同时伴 ET 的血浆水平显著增高, 但尚不

能确定它们的因果关系。血浆 ET 浓度与血清 CPK 活性未显示相关性, 提示 ET 增加并非心肌坏死刺激所致, 与 Stewart 报道一致^[7]。

硫氮萘酮是钙拮抗剂, 据报道^[8], 钙拮抗剂是抑制 ET 缩血管效应的有效药物。综观愈心痛胶囊方中红参益气扶正, 对机体有广泛的调节适应作用, 能增强机体抗应激能力, 对心肌有耐缺氧和改善心肌灌注的作用^[9]; 三七散瘀止痛, 其主要成分三七总皂甙具有钙拮抗剂样作用^[10], 能明显降低心肌耗氧量, 改善冠脉循环, 从而减轻和延缓缺血引起的损伤过程。诸药合用, 功效与硫氮萘酮相近。

参 考 文 献

1. 张灵芝, 谭敦勇, 周爱儒. 组织细胞一氧化氮含量测定的几种方法. 生物化学与生物物理进展 1993; 20(6): 412—415.
2. 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——同功酶诊断急性心肌梗塞. 中华内科杂志 1986; 25(9): 530—532.
3. Anggard EE. The endothelium——body's largest endocrin gland? J Endocrinol 1990; 127: 371—375.
4. 汤 健, 唐朝枢, 杨 军, 等. 内皮素, 第 1 版. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1994: 261—262.
5. Kelm M, Schrader J. Control of coronary vascular tone by nitric oxide. Circulation Research 1990; 66: 1561—1575.
6. Snyder SH, Brecht DS. Biological roles of nitric oxide. Scientific American 1992; 3: 28—35.
7. Stewart DJ, Kubac G, Costello KB, et al. Increased plasma endothelin-1 in the early hours of acute myocardial infarction. JACC 1991; 18: 34—43.
8. Kiowski W, Lüscher TF, Linder L, et al. Endothelin-1 induced vasoconstriction in humans reversal by calcium channel blockade but not by nitrovasodilators on endothelium-derived relaxing factor. Circulation 1991; 83: 469—472.
9. 王本祥, 王铁生, 徐东铭. 人参研究进展. 第 1 版. 天津: 天津科学技术出版社, 1991: 281—282.
10. 郑光植, 杨崇仁. 三七生物学及其应用. 第 1 版. 北京: 科学出版社, 1994: 90—91.

(收稿: 1995—12—10 修回: 1996—02—08)