

“久病人络”，王清任《医林改错》说“入络为瘀”，缺氧促进 PASM 增殖，而致肺动脉血管重构，正是这一理论的体现。本研究表明，血府逐瘀汤可明显抑制缺氧对 PASM 增殖的促进作用，并且随药物浓度的增加，呈剂量依赖性作用。

在病理状态时，HPH 患者的肺动脉内皮有严重的组织学异常，其内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 基因很少表达甚至不表达，eNOS 的酶活性与组织学病变严重程度呈显著负相关关系^[2]。而诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 被认为是在受到缺氧、细胞因子等刺激后呈诱导性表达，是 Ca²⁺/CaM 非依赖性的，可能起到介导免疫和细胞毒性的作用。缺氧可诱导大鼠 PASM 中的 iNOS 基因和蛋白的表达，使 PASM 具有 NOS 活性，而发挥 NO 调节作用^[3]。本实验结果与以往报道一致，在无内皮细胞及其他因素时，常氧条件下 PASM 培养液无 NO 测出，而缺氧条件下则有 NO 测出，表明在缺氧条件下，PASM 具有自分泌 NO 的能力。研究发现内源及外源性 NO 都有抑制 PASM 增殖的作用^[4]。作用机制一方面可能是 NO 在血管平滑肌细胞内，与细胞浆可溶性鸟苷环化酶血红素部分结合，激活鸟苷

环化酶，后者再催化三磷酸鸟苷变成 cGMP，增加细胞内的 cGMP 浓度，使 NO 活性区局部血管扩张，组织血流增加，从而使局部缺氧得到改善，cGMP 被磷酸二酯酶水解而失活。另一方面可能是其细胞毒作用。

血府逐瘀汤能明显增加体外培养的 PASM 培养液中的 NO 浓度，可能是提高了 PASM 的自分泌 NO 的水平，从而抑制 PASM 增殖。

致谢：沃兴德教授对本研究的指导帮助。

References:

[1] Song H, Xu S. Effect of Xuefuzhuyu Decoction on the pulmonary arterial smooth muscle cell proliferation [J]. *J Zhejiang Coll Tradit Chin Med* (浙江中医学院学报), 2002, 26(2): 67-68.
 [2] Du J B, Zhao B, Li W, et al. Nitric oxide synthase mRNA expression in pulmonary arteries of hypoxic pulmonary hypertensive rats [J]. *Chin J Pediatr* (中华儿科杂志), 1998, 36(1): 19.
 [3] Wang P Y, Liu J, Luo D C, et al. The function of nitrogen monoxide in pulmonary arterial smooth cell under hypoxia [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1997, 13(5): 47.
 [4] Zeng Q, Ran P X, Chen S C, et al. The inhibitory mechanism of nitric-oxide synthase gene transfection on hypoxia-induced proliferation of rat pulmonary arterial smooth muscle cells [J]. *Chin J Tuberc Respir Dis* (中华结核和呼吸杂志), 2003, 26(6): 358-361.

红花提取物对犬急性心肌缺血的保护作用

李路江¹, 吴子芳², 吕文伟³, 陈霞^{3*}

(1. 吉林大学第一医院 器官移植中心, 吉林 长春 130021; 2. 吉林石油集团公司总医院, 吉林 松原 138000
 3. 吉林大学白求恩医学院 药理学教研室, 吉林 长春 130021)

红花系菊科红花属植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花，性温味辛，能活血通经、散瘀止痛。研究表明，红花提取物能抑制血小板聚集，抑制血栓形成，延长凝血时间^[1]，对结扎冠状动脉所致的大鼠急性心肌缺血有保护作用^[2]。为全面研究红花提取物抗心肌缺血作用，本实验采用结扎犬左冠状动脉前降支造成的心肌缺血模型，探讨红花提取物对犬急性心肌缺血的保护作用。

1 材料与与方法

1.1 药品：红花提取物由吉林省中医中药研究院提供 (含红花黄素 81.37%)。地奥心血康胶囊由成都地奥制药集团有限公司生产，批号 0312066。氯化硝

基四氮唑蓝 (NBT)，上海惠世生化试剂有限公司生产，批号 20040708。磷酸肌酸激酶 (CPK)、乳酸脱氢酶 (LDH)、游离脂肪酸 (FFA)、过氧化脂质 (LPO)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 测定试剂盒由中生北控生物科技股份有限公司生产。

1.2 动物：健康成年杂种犬 24 只，雌雄兼用，体重 12~16 kg，由吉林大学实验动物部提供。

1.3 仪器：RM-6000 型多道生理记录仪，日本光电公司。SC-3 型电动呼吸机，上海医疗器械厂。EOS880 型半自动血液生化分析仪，意大利。SSW 电热恒温水槽，上海博迅实业有限公司。输液泵，保

收稿日期：2007-03-25

作者简介：李路江(1959—)，男，副主任技师，主要从事器官移植研究工作。

* 通讯作者 陈霞 Tel: (0431) 85619799 E-mail: xichen616@yahoo.com.cn

定兰格恒流泵有限公司。医学图像分析系统,成都泰盟科技公司。电子秤,沈阳龙腾电子称量仪器有限公司。LD25—2 型离心机,北京离心机厂。

1.4 模型制备:杂种犬 24 只,随机分为 4 组,每组 6 只。生理盐水对照组(NS)、阳性药物对照组(地奥心血康胶囊,52.0 mg/kg)、红花提取物(5.5、11.0 mg/kg)组。犬用戊巴比妥钠(30.0 mg/kg) iv 麻醉,背位固定,切开颈部皮肤,气管插管,连接电动呼吸机。于左侧第 4 肋间施开胸术,暴露心脏,剪开心包,做心包术,分离冠状动脉左前降支主干中下 1/3 交界处,穿线以备结扎,用多点湿布式吸附法标测心外膜心电图(EECG),标测点 24 个,分正常区(对照点),梗死边缘区和梗死中心区。术毕,稳定 20 min,记录各点 EECG。结扎冠状动脉,制备实验性急性心肌梗死模型。分离十二指肠给药,记录结扎即刻、给药后 30、60、90、120、150、180、240、360 min 各点 EECG,以 ST 段升高总幅度(Σ -ST, mV)表示缺血程度;以 ST 段升高 ≥ 2 mV 的导联数(N-ST)表示缺血范围。记录 360 min 后,从静脉取血,分离血清,用 EOS880 型半自动血液生化分析仪测血清中 CPK、LDH 活性。根据试剂盒方法测定血清 LPO 水平及 SOD、GSH-Px 活性,按一次提取比色法测定 FFA 水平。取下心脏,沿冠状沟剪去大血管根部和心房,将左心室均匀横断切成 5 片,置于 NBT 染液中,在 37 °C 恒温水浴箱中染色 15 min。梗死区不着色,非梗死区被 NBT 染为蓝色。用医学图像分析系统测量心肌梗死面积。

1.5 统计学方法:采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, *t* 检验判断组间差异显著性。

2 结果

2.1 对急性心肌梗死犬心肌梗死面积及血清 CPK、LDH 活性的影响:NBT 染色法观察心肌缺血梗死面积的结果表明,红花提取物 5.5、11.0 mg/kg 组和地奥心血康胶囊 52.0 mg/kg 组的动物心肌梗死面积明显低于 NS 组,差异显著 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$)。生化测试结果表明红花提取物 5.5、11.0

mg/kg 组和地奥心血康胶囊 52.0 mg/kg 组与 NS 组比较明显降低血清 CPK、LDH 活性 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 红花提取物对急性心肌梗死犬心肌梗死面积与血清中 CPK、LDH 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Effect of extract from *C. tinctorius* on myocardial infarction area and activity of CPK and LDH in serum of acute myocardial infarct dogs ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	心肌梗死面积/ %	CPK/ (U·L ⁻¹)	LDH/ (U·L ⁻¹)
NS	-	17.47±3.32	1777.3±322.44	255.37±90.74
地奥心血康	52.0	12.58±3.38*	1224.7±401.31*	118.61±47.74*
红花提取物	5.5	10.55±2.39**	1233.5±325.19*	134.83±56.19*
	11.0	8.97±2.88***	1121.6±407.81*	128.88±41.34*

与 NS 组比较, * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ (下表同)
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs NS group

(following Tables are same)

2.2 对急性心肌梗死犬心肌缺血程度(Σ -ST)的影响:红花提取物 5.5 mg/kg 组给药后 90~180 min 与 NS 组比较明显降低心肌缺血区 Σ -ST, 差异显著 ($P < 0.05$)。红花提取物 11.0 mg/kg 组给药后 60~240 min 作用明显 ($P < 0.05, 0.01$);地奥心血康胶囊 52.0 mg/kg 组给药后 60~180 min 作用明显 ($P < 0.05$), 见表 2。

2.3 对急性心肌梗死犬心肌缺血范围(N-ST)的影响:红花提取物 5.5 mg/kg 组给药后 90~180 min 作用明显 ($P < 0.05$), 红花提取物 11.0 mg/kg 组给药后 60~240 min 作用明显 ($P < 0.05, 0.01$), 地奥心血康胶囊 52.0 mg/kg 组给药后 60~180 min 作用明显 ($P < 0.05$), 见表 3。

2.4 对急性心肌梗死犬血清 FFA、LPO 水平及 SOD、GSH-Px 活性的影响:红花提取物 5.5、11.0 mg/kg 和地奥心血康胶囊 52.0 mg/kg 组与 NS 组比较明显降低血清 FFA 及 LPO 水平 ($P < 0.05, 0.01$), 提高 SOD 及 GSH-Px 活性 ($P < 0.05, 0.01$)。表明红花提取物对抗急性心肌缺血作用可能与对抗氧自由基引发的脂质过氧化反应, 增强体内抗氧化酶活性有关, 见表 4。

表 2 红花提取物对急性心肌梗死犬 Σ -ST 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of extract from *C. tinctorius* on Σ -ST in acute myocardial infarct dogs ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	Σ -ST/mV								
		结扎	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	240 min	360 min
NS	-	151.61±56.31	148.51±55.91	155.18±46.82	152.41±39.24	152.51±36.27	149.50±37.11	149.67±35.50	143.98±27.94	143.83±34.65
地奥心血康	52.0	163.11±22.48	138.23±31.08	107.17±41.55*	116.62±25.34*	115.06±28.95*	113.19±29.71*	110.67±32.34*	122.33±21.51	113.59±21.38
红花提取物	5.5	157.83±39.98	151.51±40.88	121.83±47.17	113.37±32.34*	115.61±36.18*	114.51±33.69*	109.15±33.71*	113.88±31.47	115.31±28.29
	11.0	152.51±40.27	137.67±33.20	103.88±29.93*	99.67±31.75**	98.50±31.04**	97.17±32.71**	96.67±29.97**	104.33±31.51*	113.50±28.38

表 3 红花提取物对急性心肌梗死犬 N-ST 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Effect of extract from *C. tinctorius* on N-ST in acute myocardial infarct dogs ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	ΣST/mV								
		结扎	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	240 min	360 min
NS	-	22.02±0.09	21.55±1.39	20.39±1.55	20.81±1.44	20.51±1.84	20.12±3.11	20.88±1.33	20.11±2.94	19.83±2.65
地奥心血康	52.0	21.68±0.55	19.97±2.51	17.69±2.85*	17.61±2.39*	17.12±2.90*	16.17±2.71*	16.47±3.34*	17.33±2.51	17.50±2.38
红花提取物	5.5	22.09±1.02	20.15±2.64	19.03±3.17	18.88±2.36*	17.17±1.18*	17.56±1.69*	16.19±1.71*	17.83±3.77	18.37±2.23
	11.0	21.33±2.27	19.97±3.20	19.23±2.93*	14.67±2.75**	15.59±3.04**	15.27±2.71**	17.67±2.35*	17.33±2.58*	18.50±2.37

表 4 红花提取物对急性心肌梗死犬血清 FFA、LPO 水平及 SOD、GSH-Px 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Effect of extract from *C. tinctorius* on levels of FFA and LPO and activity of SOD and GSH-Px in serum of acute myocardial infarct dogs ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	FFA/ (μmol·L ⁻¹)	LPO/ (nmol·L ⁻¹)	SOD/ (nU·L ⁻¹)	GSH-Px/ (U·L ⁻¹)
NS	-	708.21±66.41	22.91±4.51	36.40±6.07	198.22±24.16
地奥心血康	52.0	599.07±71.17*	18.92±4.14*	44.83±7.33*	213.75±26.19*
红花提取物	5.5	583.18±60.08*	17.89±3.79*	45.07±5.85*	219.61±24.58*
	11.0	555.57±59.41**	16.17±3.91**	46.15±5.14**	232.46±26.86**

3 讨论

结扎犬左冠状动脉前降支所致心肌梗死是目前国内外应用最广泛的方法,通过结扎冠状动脉,使其供应区的血流减少,造成心肌缺血,供氧减少。心肌细胞受损后,细胞内多种酶释放入血,引起一系列血清酶学变化。CPK、LDH 是细胞内酶,当心肌细胞受到损伤的时候,心肌细胞中 CPK、LDH 会从细胞中大量泄漏出来,造成心肌细胞代谢紊乱,心肌酶的漏出可认为是细胞完全坏死前的改变,因此,血清心肌酶的变化是反映梗死程度的重要指标^[3]。

NBT 染色法反映心肌损伤较为客观,由于 NBT 需与活性酶作用,正常心肌可被染成蓝色,心肌缺血性损伤达到一定程度时,组织中能量代谢障碍,酶活性降低或消失,故梗死区不着色。心肌缺血在心电图中表现为 ST 段升高,由于急性缺氧使细胞膜损伤,钾离子漏出,降低了钾离子的浓度;或钠离子流入细胞,降低了钠离子的浓度,跨膜电位降低,ST 段正向移位。

能量供给障碍是心肌缺血最根本原因^[4],FFA 成为心肌能量的主要来源,缺血导致血中 FFA 显

著增高,FFA 过高会造成心肌损害,增加心肌耗氧量,加重心肌缺血,扩大梗死范围。LPO 是自由基引发脂质过氧化反应的产物,缺血心肌产生的氧自由基可进入到血循环而使外周血中氧自由基增多。因此,可通过 LPO 水平及 SOD 活性变化间接评定氧自由基对机体造成的损伤程度。

本实验结果表明,红花提取物能明显降低血清中 CPK 和 LDH 的活性,说明红花提取物可减轻细胞膜的损伤程度,降低细胞膜通透性,具有膜稳定性作用。红花提取物在给药后能够减少 Σ-ST,降低 N-ST。缩小缺血心肌的梗死面积,心肌损害明显减轻。红花提取物能明显抑制急性心肌缺血犬血清 FFA 水平升高,降低血清 LPO,并明显增加血清 SOD、GSH-Px 活性。提示红花提取物可能通过增强内源性氧自由基清除系统的能力,减轻脂质过氧化反应及其有害代谢产物对心肌细胞膜的损害,维护心肌细胞膜的正常通透性,减少心肌酶活性发挥抗心肌缺血作用。

References:

- [1] Liu Z F, Li P, Li G S, et al. The effect of the extracting from *Carthamus tinctorius* L. on platelet aggregation and thrombosis [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2000, 16(6): 20-21.
- [2] Li Y P, Liu C Y, Li Q J, et al. Effect of extract of safflower on acute experimental myocardial ischemia in rat [J]. *J Hebei Tradit Chin Med Pharmacol* (河北中医药学报), 2000, 15(2): 35-36.
- [3] Lu W W, Ji G Y, Zhao L J, et al. Protective effect of L-amlodipine on dog with experimental myocardial infarction [J]. *J Jilin Univ, Med Sci* (吉林大学学报:医学版), 2003, 29: 69-71.
- [4] Scarabelli T M, Stephanou A, Pasini E, et al. Minocycline inhibits caspase activation and reactivation and increases the ratio of XTAP to smac/DIABLO and reduces the mitochondrial leakage of cytochrome C and smac/DIABLO [J]. *J Am Cardiol*, 2004, 43: 865-874.