

西红花酸对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

寇鑫晖, 钱之玉*

(中国药科大学 药理教研室, 江苏 南京 210009)

摘要:目的 研究西红花酸对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及可能的机制。方法 梗死模型, 结扎大鼠左前降支冠状动脉 45 min, 再灌注 180 min 测定心肌梗死率, 并于缺血前和再灌注 5、60、180 min 测定血清中的肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)活性。顿抑模型, 结扎大鼠左前降支冠状动脉 15 min, 再灌注 180 min 测定缺血和非缺血心肌组织中 Na^+ , K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶活性、总腺苷酸(TAC)的量、能荷(EC)和血清中丙二醛(MDA)的量。并于缺血前、缺血末, 再灌注 5、30、90、180 min 时测定心率、左心室内收缩压、舒张压、射血分数、最大和最小左心室内压变化速率($\pm dp/dt$)、最大和最小左心室容积变化速率($\pm dV/dt$)以及每搏功。结果 缺血前或者再灌注前给予西红花酸能够显著降低心肌梗死率, 呈剂量依赖关系; 并且降低血清中 CK 和 LDH 的活性。50 mg/kg 西红花酸可以改善心脏功能, 减轻心肌顿抑的程度, 升高心肌组织 ATP 的量及 EC。结论 西红花酸可以有效抑制因心肌缺血和再灌注引发的心肌梗死, 缓解心肌顿抑, 西红花酸可能是通过改善心肌能量代谢发挥其抗心肌缺血再灌注损伤作用的。

关键词: 西红花酸; 心肌梗死; 心肌顿抑; 血流动力学

中图分类号: R286.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)07-1049-05

Protection of crocetin on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats

KOU Xin-hui, QIAN Zhi-yu

(Department of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: **Objective** To study the protection of crocetin on myocardial ischemia-reperfusion injury and the possible mechanism involved. **Methods** Infarction model: Coronary occlusion was maintained for 45 min and reperfusion for 180 min to produce infarction model. Creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) activity in serum of infarction groups were analyzed at baseline (before ischemia), 5, 60, and 180 min after reperfusion. Stunned model: Stunned model was achieved by ligating the left anterior descending branch of coronary artery for 15 min. Na^+ , K^+ -ATPase, and Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase activity, total adenosine content (TAC), and energy charge (EC) in ischemic and nonischemic myocardial tissue and malondialdehyde (MDA) in serum of stunned groups were analyzed at the end of 180 min of reperfusion. Haemodynamic parameters including heart rate, left ventricular end-systolic and end-diastolic pressure, ejection fraction, maximum and minimum dp/dt , maximum and minimum dV/dt , and stroke work, were monitored at baseline, 5, 30, 90, and 180 min after reperfusion. **Results** Crocetin could attenuate the infarction ratio, relieve stunning in a dose-dependent manner, and decrease the CK and LDH activities in serum. Crocetin (50 mg/kg) could improve the heart function, ameliorate myocardial stunning degree, and increase the level of ATP and EC in myocardial tissue. **Conclusion** Crocetin could protect myocardium from ischemia and following reperfusion, then prevent the myocardial infarction and relieve myocardial stunning. The underlying mechanism may be partly attributed to the improvement of energy restoration and free radical scavenging effect.

Key words: crocetin; myocardial infarction; myocardial stunning; haemodynamics

当心肌的能量需求和冠状动脉的血液供应失衡后, 将造成心肌缺血。再灌已缺血的心肌可能对心脏功能造成额外的损害, 甚至导致心肌坏死的现象, 称为再灌性损伤^[1]。引起上述心肌损伤的主要因素包括: 能量代谢紊乱、自由基、钙超载和中性粒细胞浸

润^[1]。西红花酸可以作用于心肌保护的多个环节^[2~5], 如抑制核因子 κB (NF- κB)^[6], 改善氧运输^[7], 调节氧化还原状态^[8]。本研究采用心肌梗死和顿抑两种模型, 研究西红花酸在心脏缺血再灌注损伤时对心脏功能的保护作用和抗心肌梗死的作用。

收稿日期: 2007-10-18

作者简介: 寇鑫晖(1980—), 男, 新疆乌鲁木齐人, 硕士研究生, 主要研究方向为生化药理。Tel: (025) 83240271

* 通讯作者 钱之玉 Tel: (025) 83271322

1 材料

1.1 仪器: Millar MIKRO—TIP SPR—886 型压力-体积心导管 (美国米勒公司)。BIOPAC MP—100 多导生理记录仪 (美国 BIOPAC 公司)。Shimadzu 2010 CHT HPLC (日本岛津公司)。Thermo 酶标仪 (美国热电公司)。

1.2 药品与试剂: 西红花酸 (质量分数 $\geq 98\%$, HPLC 法测定), 自制, 用 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na)+5% NaHCO_3 混悬配制。乳酸脱氢酶 (LDH)、肌酸激酶 (CK)、 Na^+ , K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP 酶活性以及丙二醛 (MDA) 测定试剂盒由南京建成生物试剂有限公司提供。ATP、ADP 和 AMP 标准品由 Sigma 提供。

1.3 动物: 108 只质量为 250~300 g 的健康雄性 SD 大鼠, 由南京青龙山试验动物饲养厂提供。

2 方法与结果

2.1 给药方法: 假手术组和模型组大鼠经十二指肠给予 0.5% CMC-Na; 给药组在相应给药时间 (缺血前 10 min、再灌前 10 min 或再灌后 5 min) 给予西红花酸, 经 HPLC 测定证明经十二指肠给予 0.5% CMC-Na+5% NaHCO_3 混悬配制的西红花

酸 10 min 后可以达到血药浓度的峰值。

2.2 西红花酸对大鼠心肌梗死的保护作用: 取大鼠 54 只, 随机分为 (I) 缺血前 10 min 给药组 (该组再分为假手术组, 模型组和西红花酸 12.5、25、50 mg/kg 剂量组, 每组 6 只); (II) 再灌前 10 min 给药组 (该组再分为模型组和西红花酸 50 mg/kg 剂量组, 每组 6 只); (III) 再灌后 5 min 给药组 (该组分为模型组和西红花酸 50 mg/kg 剂量组, 每组 6 只)。手术结扎大鼠心脏左前降支冠状动脉 (LAD) 45 min, 再灌注 180 min 造成心肌梗死模型^[9]。I 组大鼠于缺血前, 再灌 5、60、180 min 后眼眶取血, 测定血清 CK 和 LDH 活性, 依照试剂盒说明书进行测定, 结果见表 1。I、II、III 组大鼠再灌末再次阻断冠脉, 尾 iv 伊文思蓝, 取心脏, 冷冻并横切成 1 mm 厚度的薄片, 拍照, 用于计算危险区面积 (未被染成蓝色的区域)。稍后置于 1% 的氯化三苯基四氮唑 (TTC) 染料中, 37℃ 下孵育 15 min, 转移至福尔马林溶液中固定 30 min 后, 拍照, 用于计算梗死面积 (未被染成深红色的区域)。按公式^[9]: 梗死率=梗死面积/危险区面积 $\times 100\%$, 计算梗死率, 结果见表 2。

表1 西红花酸对心肌梗死模型大鼠血清 CK 和 LDH 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 Effect of crocetin on serum CK and LDH activity of myocardial infarction model rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	CK/(U·mL ⁻¹)				LDH/(U·mL ⁻¹)			
		缺血前	再灌 5 min	再灌 60 min	再灌 180 min	缺血前	再灌 5 min	再灌 60 min	再灌 180 min
假手术	—	33.20 $\pm$ 3.38	33.71 $\pm$ 3.32	34.21 $\pm$ 3.49	34.44 $\pm$ 3.83	6.82 $\pm$ 0.59	6.95 $\pm$ 0.67	7.04 $\pm$ 0.69	7.08 $\pm$ 0.76
模型	—	34.02 $\pm$ 3.17	36.04 $\pm$ 3.28**	43.38 $\pm$ 3.79**	46.41 $\pm$ 4.07**	6.80 $\pm$ 0.63	6.98 $\pm$ 0.65	8.46 $\pm$ 0.62*	9.80 $\pm$ 0.57**
西红花酸	12.5	34.10 $\pm$ 4.34	36.16 $\pm$ 4.41	41.63 $\pm$ 4.21	45.85 $\pm$ 5.75	6.82 $\pm$ 0.87	7.27 $\pm$ 0.89	8.01 $\pm$ 0.83	9.17 $\pm$ 1.15
	25.0	33.57 $\pm$ 5.34	35.72 $\pm$ 5.57	38.26 $\pm$ 5.33*	42.16 $\pm$ 5.15*	6.71 $\pm$ 0.59	6.79 $\pm$ 0.61	7.65 $\pm$ 0.53	8.43 $\pm$ 0.54*
	50.0	33.12 $\pm$ 2.01	34.35 $\pm$ 2.06	35.98 $\pm$ 2.36**	38.01 $\pm$ 2.11**	7.01 $\pm$ 0.41	7.24 $\pm$ 0.42	7.54 $\pm$ 0.45	7.97 $\pm$ 0.44*

与假手术组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs Sham group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

表2 西红花酸不同给药时间对大鼠心肌梗死的保护作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Protection of crocetin on myocardial infarction of rats administrated at different times ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	心肌梗死率/%		
		I (缺血前 10 min 给药)	II (再灌前 10 min 给药)	III (再灌后 5 min 给药)
模型	—	60.0 $\pm$ 4.4	59.8 $\pm$ 5.2	57.3 $\pm$ 5.0
西红花酸	12.5	54.2 $\pm$ 3.4	—	—
	25.0	48.4 $\pm$ 3.0*	—	—
	50.0	36.5 $\pm$ 3.1**	45.0 $\pm$ 4.3* Δ	54.7 $\pm$ 3.5

与模型比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与 25 mg/kg 西红花酸组比较: * $P<0.05$; 与 III 组比较: $\Delta P<0.05$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group; * $P<0.05$ vs 25 mg/kg crocetin group; $\Delta P<0.05$ vs III group

表1 结果表明缺血前 10 min 给予西红花酸, 能观察到再灌 60、180 min 时, 血清 CK 活性显著低于模型组, 而血清 LDH 活性于再灌末显著低于模型组。缺血前给予西红花酸 25、50 mg/kg 可以剂量依赖性的减少心肌梗死率 ($P<0.05$, 0.001)。再灌前 10 min 给予 50 mg/kg 西红花酸显著减少心肌梗死率 ($P<0.05$)。再灌后 5 min 给药组的梗死率没有统计学意义。缺血前 10 min 和再灌注前 10 min 给予 50 mg/kg 西红花酸后梗死率显著低于再灌后 5 min 给药组, 见表 2。

2.3 西红花酸对大鼠心肌顿抑后左心室血流动力学指标的改善作用: 取大鼠 54 只, 随机分为 (A) 缺血前 10 min 给药组 (该组分为假手术组、模型组和

西红花酸 50 mg/kg 剂量组, 每组 6 只), (B) 再灌前 10 min 给药组 (该组分为假手术组、模型组和西红花酸 50 mg/kg 剂量组, 每组 6 只) 和 (C) 再灌后 5 min 给药组 (该组分为假手术组、模型组和西红花酸 50 mg/kg 剂量组, 每组 6 只)。由于心肌梗死实验中 50 mg/kg 剂量西红花酸抗梗死效果最好, 所以在本部分实验中选用 50 mg/kg 剂量研究西红花酸对血流动力学的改善作用。手术结扎大鼠 LAD 15 min, 再灌注 180 min 造成心肌梗死模型^[10]。除以上各组 (A、B、C) 中的假手术组大鼠外, 其他大鼠于缺血前、末, 再灌 5、30、90、180 min 后测定心率, 左心室内收缩压、舒张压, 射血分数, 最大及最小左心室内压变化速率 ($\pm dp/dt$), 最大及最小左心室容积变化速率 ($\pm dV/dt$) 和每搏功, 结果见表 3~5。

缺血前 10 min 给药可以极显著改善再灌 30、90、180 min 时的左心室内舒张压、 $\pm dp/dt$ 、 $\pm dV/dt$ 和每搏功, 也可以显著改善再灌 90、180 min 的左心室内收缩压。再灌前 10 min 给药可以极显著改善再灌 30、90、180 min 时的 $\pm dp/dt$, 同时显著改善再灌 90、180 min 时的 $\pm dp/dt$ 和每搏功。另外, 缺血前和再灌前给药还可以极显著改善再灌注 5 min 时的左心室内舒张压、 $\pm dp/dt$ 、 $\pm dV/dt$ 和每搏功的变化值。再灌后给药极显著改善再灌 90、180 min 的 $\pm dp/dt$ 和 $\pm dV/dt$ 。同时, 显著改善再灌后 30 min 时的 $\pm dp/dt$ 、 $\pm dV/dt$ 和每搏功。缺血前给药与再灌前给药相比, 各血流动力学参数之间没有统计学意义; 再灌注前给药与再灌后给药相比, 各血流动力学参数之间没有统计学意义。

表 3 西红花酸 (50 mg/kg) 缺血前 10 min 给药对大鼠顿抑心脏血流动力学的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 3 Effect of crocetin (50 mg/kg) administrated 10 min before ischemia on haemodynamics of stunned heart of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别		心率/ (次·min ⁻¹)	收缩压/ kPa	舒张压/ kPa	(+dp/dt)/ (kPa·s ⁻¹)	(-dp/dt)/ (kPa·s ⁻¹)	(+dV/dt)/ (mm ³ ·s ⁻¹)	(-dV/dt)/ (mm ³ ·s ⁻¹)	射血分数/ %	每搏功/ (kPa·mm ³)
模型	缺血前	345±20	16.4±0.9	0.29±0.09	1 368±33	1 004±27	6 524±171	6 213±172	29.56±2.82	1 802±76
	缺血 15 min	351±25	14.8±0.9	1.42±0.14	1 299±43	968±34	6 242±201	6 051±164	27.39±3.17	1 615±72
	再灌 5 min	361±30	12.9±0.7	2.25±0.20	1 104±45	890±29	5 155±267	4 947±213	21.03±3.44	1 313±76
	再灌 30 min	367±30	12.0±0.7	2.21±0.29	1 042±47	851±32	4 865±287	4 671±227	19.08±3.30	1 198±85
	再灌 90 min	368±33	11.3±0.7	1.98±0.27	1 021±46	834±32	4 750±273	4 532±214	19.12±2.93	1 138±81
	再灌 180 min	367±31	11.3±0.7	1.89±0.26	1 003±45	816±30	4 636±275	4 405±223	19.68±3.58	1 092±70
西红花酸	缺血前	356±22	16.9±0.8	0.25±0.11	1 353±31	1 002±35	6 397±133	6 140±177	31.26±3.73	1 773±83
	缺血 15 min	360±23	15.3±0.8	1.01±0.11	1 293±43	959±33	6 249±208	6 018±188	28.85±3.43	1 588±86
	再灌 5 min	366±32	14.0±0.8	1.31±0.09**	1 240±46**	939±32**	5 828±281**	5 548±219**	25.58±3.34	1 468±82**
	再灌 30 min	371±31	13.6±0.7	1.19±0.13**	1 208±45**	921±29**	5 690±284**	5 337±238**	22.61±3.47	1 402±66**
	再灌 90 min	369±32	13.0±0.8*	1.07±0.18**	1 188±46**	904±28**	5 571±279**	5 177±210**	22.28±3.34	1 354±79**
	再灌 180 min	369±32	13.0±0.8*	1.08±0.02**	1 171±44**	889±30**	5 470±284**	5 045±250**	22.80±4.74	1 380±72**

动力学参数变化值与模型组动力学参数变化值比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 下表同

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ variation of hemodynamic parameter vs that of model group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group; following

Tables are same

表 4 西红花酸 (50 mg/kg) 再灌前 10 min 给药对大鼠顿抑心脏血流动力学的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 4 Effect of crocetin (50 mg/kg) administrated 10 min before reperfusion on haemodynamics of stunned heart of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别		心率/ (次·min ⁻¹)	收缩压/ kPa	舒张压/ kPa	(+dp/dt)/ (kPa·s ⁻¹)	(-dp/dt)/ (kPa·s ⁻¹)	(+dV/dt)/ (mm ³ ·s ⁻¹)	(-dV/dt)/ (mm ³ ·s ⁻¹)	射血分数/ %	每搏功/ (kPa·mm ³)
模型	缺血前	329±22	16.1±1.2	0.22±0.08	1 427±37	1 025±24	6 680±168	6 073±133	30.59±3.53	1 627±60
	缺血 15 min	337±23	14.6±1.3	1.15±0.07	1 363±31	982±29	6 374±199	5 889±255	28.08±3.58	1 563±83
	再灌 5 min	344±20	12.8±1.2	2.25±0.20	1 179±42	905±32	5 162±145	4 877±289	22.45±2.91	1 413±87
	再灌 30 min	349±24	11.8±1.2	2.20±0.34	1 113±48	860±30	4 882±165	4 621±257	20.65±3.10	1 265±75
	再灌 90 min	349±23	11.3±1.2	1.99±0.43	1 095±46	841±31	4 763±239	4 523±256	20.45±3.82	1 163±70
	再灌 180 min	349±21	11.3±1.5	1.86±0.43	1 086±43	834±29	4 696±236	4 453±247	20.19±3.61	1 000±55
西红花酸	缺血前	332±26	16.4±1.3	0.30±0.08	1 392±35	973±14	6 812±120	6 222±192	31.46±3.84	1 662±69
	缺血 15 min	336±26	14.9±1.3	1.17±0.15	1 329±36	938±31	6 469±114	6 046±206	29.44±3.95	1 587±75
	再灌 5 min	341±28	13.7±1.7	1.78±0.21**	1 225±41**	915±29*	5 801±153**	5 468±283*	26.19±3.94	1 504±76**
	再灌 30 min	345±25	13.4±1.7	1.84±0.36	1 186±53	884±30	5 660±132**	5 257±297**	25.15±3.85	1 435±60*
	再灌 90 min	345±24	13.8±1.7	1.79±0.21	1 177±40*	864±29	5 598±229**	5 189±298**	25.28±3.34	1 359±76*
	再灌 180 min	346±24	14.1±1.9*	1.68±0.20	1 166±43*	848±30	5 514±217**	5 146±283**	25.11±3.55	1 329±64**

表5 西红花酸(50 mg/kg)再灌后5 min 给药对大鼠顿抑心脏血流动力学的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)Table 5 Effect of crocetin (50 mg/kg) administrated 5 min after reperfusion on haemodynamics of stunned heart of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组 别		心率/ (次·min ⁻¹)	收缩压/ kPa	舒张压/ kPa	(+dp/dt)/ (kPa·s ⁻¹)	(-dp/dt)/ (kPa·s ⁻¹)	(+dV/dt)/ (mm ³ ·s ⁻¹)	(-dV/dt)/ (mm ³ ·s ⁻¹)	射血分数/ %	每搏功/ (kPa·mm ³)
模型	缺血前	334±24	16.8±1.6	0.30±0.08	1 446±34	1 066±20	6 851±134	6 326±134	31.34±2.98	1 785±59
	缺血 15 min	340±29	14.9±1.7	1.24±0.09	1 371±36	1 018±23	6 413±121	5 945±234	30.14±3.27	1 496±68
	再灌 5 min	342±32	12.4±1.2	2.12±0.23	1 202±39	946±28	5 604±137	5 213±251	24.38±2.15	1 190±65
	再灌 30 min	345±33	11.4±1.3	2.16±0.29	1 092±36	862±31	4 884±174	4 704±226	23.12±2.78	1 051±70
	再灌 90 min	350±34	10.8±1.3	2.23±0.09	1 089±33	851±30	4 618±204	4 613±268	19.89±2.70	1 032±72
	再灌 180 min	347±32	11.4±1.7	2.08±0.38	1 068±29	853±32	4 584±228	4 568±269	19.42±2.18	1 017±65
西红花酸	缺血前	347±27	16.9±1.5	0.28±0.09	1 417±32	1 058±18	6 736±142	6 187±175	32.97±3.54	1 720±64
	缺血 15 min	356±31	14.5±1.6	1.27±0.16	1 359±38	1 007±22	6 327±153	5 807±217	29.93±3.71	1 458±69
	再灌 5 min	354±31	12.0±1.3	1.93±0.18	1 210±42	943±34	5 583±147	5 047±243	23.74±2.73	1 172±68
	再灌 30 min	359±38	11.2±1.6	2.00±0.31	1 162±33 [*]	901±29 [*]	5 358±159 [*]	4 910±235 [*]	22.86±2.54	1 127±68 [*]
	再灌 90 min	354±36	11.0±1.6	1.62±0.32	1 157±20 ^{##}	901±36	5 312±233 ^{##}	5 002±271	21.37±2.36	1 114±68
	再灌 180 min	350±37	12.1±1.5	1.61±0.29	1 140±23 ^{##}	889±31	5 371±217 ^{##}	4 975±276	21.49±3.04	1 111±68

2.4 西红花酸对大鼠心肌顿抑后生化指标的改善作用:顿抑模型再灌末,依照MDA试剂盒方法测定血清中MDA的量。取各组大鼠心脏,于LAD(缺血区心肌)、右旋冠状动脉(RC)(非缺血区心肌)所支配区域分别取心肌组织样本,用于测定Na⁺, K⁺-ATP酶、Ca²⁺, Mg²⁺-ATP酶活性,测定方法依照南京建成生物试剂有限公司相应试剂盒说明书,并测定心肌组织ATP、ADP和AMP的量(HPLC法^[11]),通过公式^[7]:总腺苷酸(TAC)=ATP+ADP+AMP,能荷(EC)=(ATP+ADP/2)/TAC,分别计算TAC和EC。

A、B、C各组中,3个假手术组和3个模型组之

间各指标没有统计学差异,结果合并处理。模型组大鼠再灌末血清MDA水平显著高于假手术组,缺血前给药、再灌前给药,西红花酸能够显著降低血清中的MDA水平,再灌后给药,这一作用消失,结果见表6。非缺血区心肌组织各生化指标没有显著变化。对于缺血区心肌组织,缺血前给予西红花酸能显著升高Na⁺, K⁺-ATP酶和Ca²⁺, Mg²⁺-ATP酶的活性、ATP和ADP的量、TAC和EC;再灌前给药,西红花酸能显著升高缺血区心肌组织中Na⁺, K⁺-ATP酶和Ca²⁺, Mg²⁺-ATP酶的活性、ATP、TAC和EC;再灌后给药,西红花酸显著升高缺血心肌组织中ATP的量,并显著升高EC,见表6。

表6 西红花酸(50 mg/kg)对心肌顿抑大鼠血清MDA、缺血心肌Na⁺, K⁺-ATP酶和Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase活性、ATP、ADP、AMP、TAC、EC的影响($\bar{x} \pm s$)Table 6 Effect of crocetin (50 mg/kg) on MDA in serum and Na⁺, K⁺-ATPase and Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase activity, and ATP, ADP, AMP, TAC, and EC levels in ischemic myocardium of stunned rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	处理方案	钠泵活性/ (μmol ADP· h ⁻¹ ·mg ⁻¹)	钙泵活性/ (μmol ADP· h ⁻¹ ·mg ⁻¹)	血清MDA/ (nmol·mL ⁻¹)	ATP/ (nmol·mg ⁻¹)	ADP/ (nmol·mg ⁻¹)	AMP/ (nmol·mg ⁻¹)	TAC/ (nmol·mg ⁻¹)	EC
假手术(n=18)	—	3.95±0.62	4.81±0.58	4.12±0.76	12.52±1.82	9.76±1.87	7.22±1.23	29.50±2.56	0.59±0.038
模型(n=18)	—	2.43±0.48 ^{##}	3.17±0.31 ^{##}	9.67±2.15 ^{##}	3.75±0.75 ^{##}	4.71±1.71 ^{##}	5.11±1.53	13.57±2.10 ^{##}	0.45±0.016 ^{##}
西红花酸(n=6)	缺血前给予 50 mg·kg ⁻¹	3.65±0.35 [*]	4.21±0.30 [*]	6.21±1.28 [*]	7.71±0.92 [*]	8.24±1.75 [*]	7.87±1.34	23.82±2.11 [*]	0.50±0.015 [*]
	再灌前给予 50 mg·kg ⁻¹	3.48±0.42 [*]	4.05±0.51 [*]	7.05±1.36 [*]	6.64±0.71 [*]	7.54±1.42	6.85±1.41	21.03±1.87 [*]	0.50±0.021 [*]
	再灌后给予 50 mg·kg ⁻¹	3.12±0.51	3.78±0.74	9.31±1.74	5.64±0.83 [*]	6.82±1.67	6.24±1.45	18.70±2.08	0.48±0.016 [*]

与假手术组比较: ^{##}P<0.01; 与模型组比较: ^{*}P<0.05 ^{**}P<0.01

^{##}P<0.01 vs Sham group; ^{*}P<0.05 ^{**}P<0.01 vs model group

3 讨论

心肌缺血再灌注损伤与氧自由基和钙超载密切相关,特别是再灌初期,二者的影响更加明显。当缺血时间过长并造成心肌发生坏死时称之为心肌梗死;短时间缺血虽尚未引起坏死,但已造成心脏功能抑制时称为心肌顿抑^[12]。缓解心肌缺血损伤的方法

除清除自由基、逆转钙超载外,恢复心肌细胞的能量代谢也是主要措施之一。心肌细胞的主要供能物质ATP在能量严重不足时,分解为ADP,并进一步分解为AMP。后续代谢产物腺苷、次黄嘌呤、肌苷等快速透过细胞膜,于再灌期流失。失去这些ATP合成的前体物质后,使得再灌期的能量合成障碍进一

步加剧^[9]。

本实验结果显示,西红花酸显著降低心肌梗死率,降低血清中CK和LDH活性,并呈剂量依赖性。为评估药物在损伤不同阶段的保护作用,本实验同时考察西红花酸再灌前给药和再灌后给药对损伤的缓解作用。通常认为,再灌后5 min左右是再灌性损伤的高峰。通过缺血前、再灌前和再灌后给药的梗死率比较,发现西红花酸对再灌初期具有较强的保护作用,而对缺血期没有显著的保护。这提示药物可能不能改善侧枝循环。综合以上实验数据推断,西红花酸是通过再灌期发挥心肌保护作用的。

采用心肌顿抑模型更加有利于客观的评价心肌细胞的功能变化^[12],因为心肌顿抑在发生机制上与心肌梗死有一定的共同点,而且心肌顿抑不会造成细胞坏死。于缺血再灌的不同阶段给药时,给药组动物缺血区心肌组织中ATP量均显著高于模型组,再灌前给药还能显著升高心肌组织中的TAC的量,这一结果提示西红花酸可以改善能量代谢。由于缺血前给药组和再灌前给药组动物心肌组织中维持了较高的腺苷酸储备,推断西红花酸改善能量代谢的同时,能够一定程度缓解腺苷酸分解造成的再灌期ATP合成前体不足的现象。再灌后给药,不能抑制腺苷酸库损耗,可能是因为缺血期和再灌早期已使大量腺苷酸分解并丢失^[13]。

心肌的收缩能力主要取决于心肌细胞的能量状态^[14]和收缩蛋白的结构完整性。再灌初期产生的自由基和钙过载活化的蛋白酶可以直接破坏收缩蛋白的结构^[12]。本实验中的3个给药方案均能显著改善再灌后的多项血流动力学参数,而且红花酸本身并不具备正性肌力的作用。由此推断西红花酸对血流动力学参数的影响可能是基于其改善缺血后再灌心肌能量代谢和提高心肌组织抵抗自由基损害的作用。再灌前给予西红花酸,不仅减少了血清中MDA的量,而且升高了缺血心肌组织中 Na^+ , K^+ -ATP酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP酶的活性。再灌后给药不能显著降低血清中的MDA量,并且不能显著升高缺血心肌组织中 Na^+ , K^+ -ATP酶、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP酶的活性,这可能是由于自由基损伤主要发生于再

灌初期^[12]。由此说明西红花酸改善心脏功能的作用可能主要是源于其促进了缺血心肌能量代谢的恢复。因而推断,西红花酸改善缺血后血流动力学参数的作用是通过再灌初期的自由基清除作用和整个再灌期的能量代谢恢复作用实现的,并且西红花酸促进能量代谢恢复的作用在保护心肌缺血再灌注损伤时显得更为主要。

参考文献:

- [1] Buja L M. Myocardial ischemia and reperfusion injury [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2005, 14: 170-175.
- [2] 刘东博, 潘明佳, 张艳军, 等. 西红花酸主要药理作用及其机制研究进展 [J]. 中草药, 2007, 38(12): 1915-附1.
- [3] 余卫平, 钱之玉, 绪广林, 等. 西红花酸对过氧化氢诱发心肌细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 改变的作用 [J]. 中草药, 2004, 35(1): 68-71.
- [4] 饶淑云, 钱之玉. 西红花酸对缺氧缺氧心肌细胞损伤的保护作用 [J]. 中草药, 2004, 35(4): 427-429.
- [5] 沈祥春, 钱之玉. 西红花酸对羟自由基损伤的原代心肌细胞的保护作用 [J]. 中草药, 2004, 35(6): 657-660.
- [6] Zheng S G, Qian Z Y, Tang F T, et al. Suppression of vascular cell adhesion molecule-1 expression by crocetin contributes to attenuation of atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits [J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 70: 1192-1199.
- [7] Giaccio M. Crocetin from saffron: an active component of an ancient spice [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2004, 44: 155-172.
- [8] Zhou C H, Qian Z Y, Zheng S G, et al. ERK1/2 pathway is involved in the inhibitory effect of crocetin on angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 535: 61-68.
- [9] Yamada K, Matsui K, Ogawa S, et al. Reduction of myocardial infarct size by SM-197378, a novel Na^+/H^+ exchange inhibitor, in rabbits [J]. *Eur J Pharmacol*, 2005, 521: 115-123.
- [10] Black S C. *In vivo* models of myocardial ischemia and reperfusion injury application to drug discovery and evaluation [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2000, 43: 153-167.
- [11] Miyuki K, Tetsuya T. Effect of ischemic preconditioning on mitochondrial oxidative phosphorylation and high energy phosphates in rat hearts [J]. *Mol Cell Cardiol*, 1996, 28: 417-428.
- [12] Bolli R, Marbán E. Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning [J]. *Physiol Rev*, 1999, 79: 609-634.
- [13] Ross S, Foex P. Protective effects of anaesthetics in reversible and irreversible ischaemiareperfusion injury [J]. *Br J Anaesth*, 1999, 82: 6226-6232.
- [14] Greenfield R A, Swain J L. Disruption of myofibrillar energy use: dual mechanisms that may contribute to postischemic dysfunction in stunned myocardium [J]. *Circ Res*, 1987, 60: 283-289.

西红花酸对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

作者：[寇鑫晖](#), [钱之玉](#), [KOU Xin-hui](#), [QIAN Zhi-yu](#)
作者单位：[中国药科大学药理教研室, 江苏, 南京, 210009](#)
刊名：[中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39 (7)
被引用次数: 4次

参考文献(14条)

1. [Buja L M](#) [Myocardial ischemia and reperfusion injury](#)[外文期刊] 2005 (4)
2. [刘东博](#); [潘明佳](#); [张艳军](#) [西红花酸主要药理作用及其机制研究进展](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2007 (12)
3. [余卫平](#); [钱之玉](#); [绪广林](#) [西红花酸对过氧化氢诱发心肌细胞\[Ca²⁺\]_i改变的作用](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2004 (01)
4. [饶淑云](#); [钱之玉](#) [西红花酸对缺糖缺氧心肌细胞损伤的保护作用](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2004 (04)
5. [沈祥春](#); [钱之玉](#) [西红花酸对羟自由基损伤的原代心肌细胞的保护作用](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2004 (06)
6. [Zheng S G](#); [Qian Z Y](#); [Tang F T](#) [Suppression of vascular cell adhesion molecule-1 expression by crocetin contributes to attenuation of atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits](#)[外文期刊] 2005 (8)
7. [Giaccio M](#) [Crocetin from saffron: an active component of an ancient spice](#)[外文期刊] 2004
8. [Zhou C H](#); [Qian Z Y](#); [Zheng S G](#) [ERK1/2 pathway is involved in the inhibitory effect of crocetin on angiotensin II induced vascular smooth muscle cell proliferation](#)[外文期刊] 2006 (1/3)
9. [Yamada K](#); [Matsui K](#); [Ogawa S](#) [Reduction of myocardial infarct size by SM-197378, a novel Na⁺/H⁺ exchange inhibitor, in rabbits](#)[外文期刊] 2005 (1/3)
10. [Black S C](#) [In vivo models of myocardial ischemia and reperfusion injury application to drug discovery and evaluation](#)[外文期刊] 2000 (2)
11. [Miyuki K](#); [Tetsuya T](#) [Effect of ischemic preconditioning on mitochondrial oxidative phosphorylation and high energy phosphates in rat hearts](#)[外文期刊] 1996
12. [Bolli R](#); [Marban E](#) [Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning](#)[外文期刊] 1999 (2)
13. [Ross S](#); [Foex P](#) [Protective effects of anaesthetics in reversible and irreversible ischaemia reperfusion injury](#) 1999
14. [Greenfield R A](#); [Swain J L](#) [Disruption of myofibrillar energy use: dual mechanisms that may contribute to postischemic dysfunction in stunned myocardium](#) 1987

本文读者也读过(10条)

1. [盛亮](#), [钱之玉](#), [季晖](#), [SHENG Liang](#), [QIAN Zhi-yu](#), [JI Hui](#) [西红花酸改善大鼠高三酰甘油血症的作用机制](#)[期刊论文]-[中国新药杂志](#) 2008, 17 (21)
2. [缪玉山](#), [黄根林](#), [倪冲](#), [周素娣](#) [反相高效液相色谱法对不同来源西红花药材中西红花苷-1、苷-2的定量分析](#)[期刊论文]-[中国医院药学杂志](#) 2002, 22 (11)
3. [刘娟](#) [西红花苷抗氧化作用与对血管内皮细胞分泌ET-1的影响](#)[会议论文]-2004
4. [谭安雄](#), [朱耀斌](#), [王玉银](#), [TAN An-xiong](#), [ZHU Yao-bin](#), [WANG Yu-yin](#) [西红花酸对大鼠脑缺血-再灌注氧自由基及一氧化氮的影响](#)[期刊论文]-[医药导报](#) 2011, 30 (7)
5. [郑书国](#), [钱之玉](#), [王宏婷](#), [ZHENG Shu-guo](#), [QIAN Zhi-yu](#), [WANG Hong-ting](#) [西红花酸对高脂血症家兔LDL氧化易感性](#)

及血清Ox-LDL水平的影响[期刊论文]-中国实验方剂学杂志2009, 15(6)

6. 杜鹏, 钱之玉, 沈祥春, 饶淑云, 文娜, DU Peng, QIAN Zhi-yu, SHEN Xiang-chun, RAO Shu-yun, WEN Na 西红花苷对大鼠心肌损伤的影响[期刊论文]-中国新药杂志2005, 14(12)
7. 陈素美 122西红花的药理作用[期刊论文]-国外医药（植物药分册） 2006, 21(3)
8. 秦志丰, 郭晓冬, 魏品康 西红花多苷片治疗心血瘀阻型心绞痛30例疗效观察[期刊论文]-中成药2003, 25(7)
9. 龚国清, 刘同征, 李立文, 钱之玉 西红花酸的体外抗氧化作用的研究[期刊论文]-中国药科大学学报2001, 32(4)
10. 贾琳, 张浩, 陈维, 刘瑛, 陈阳, JIA Lin, ZHANG Hao, Chen Chu, LIU Ying, CHEN Yang HPLC同时测定栀子药材中栀子苷和西红花苷-1的含量[期刊论文]-华西药学杂志2005, 20(3)

引证文献(5条)

1. 谭安雄, 朱耀斌, 王玉银 西红花酸对大鼠脑缺血-再灌注氧自由基及一氧化氮的影响[期刊论文]-医药导报 2011(7)
2. 李向阳, 冯伟力, 朱俊博, 尼玛才让, 格日力 藏药佐太对西红花苷-1大鼠体内药动学的影响[期刊论文]-中草药 2009(9)
3. 杨丹丹, 张家鑫, 吴小鹏, 钟晓明 西红花药理作用的研究进展[期刊论文]-中国民族民间医药 2011(13)
4. 陈雁, 张现涛, 张雷红, 杨中林 栀子化学成分及药理作用研究进展[期刊论文]-海峡药学 2010(12)
5. 陈雁, 张现涛, 张雷红, 杨中林 栀子化学成分及药理作用研究进展[期刊论文]-海峡药学 2010(12)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200807031.aspx