

丹参注射液对急性肾衰竭兔心肌缺血的保护作用

刘久波¹, 陈林², 朱少铭³, 彭新民¹, 兰永社¹, 李艳⁴

(鄖阳医学院附属太和医院 1. 体检中心; 2. 药学部; 3. 肾内科; 4. 核医学科, 湖北十堰 442000)

[摘要] 目的 探讨丹参注射液对急性肾衰竭(ARF)家兔心肌缺血的保护作用。方法 取家兔 28 只, 随机分为 3 组, 对照组 8 只, 模型组 12 只, 丹参组 8 只。麻醉后对照组和模型组给予 0.9% 氯化钠注射液耳缘静脉注射, 丹参组给予丹参注射液耳缘静脉注射。均为 0.5 mL · kg⁻¹, 每 6 h 重复 1 次, 共 4 次。第 1 次给药后 0.5 h, 对照组给予 0.9% 氯化钠注射液双侧后肢肌内加压注射, 10 mL · kg⁻¹, 模型组和丹参组制备家兔 ARF 模型, 即给予 50% 甘油溶液双侧后肢肌内加压注射, 10 mL · kg⁻¹。检测各组家兔不同时相血小板聚集功能、前列环素(PGI₂)、血栓素 A₂(TXA₂)、内皮素(ET)等指标及心肌组织形态学变化。结果 与对照组比较, 模型组肌内注射给药后 2, 24 h 血小板聚集性、TXA₂、ET 均明显升高(均 $P < 0.01$), 6-酮-前列腺素 F_{1a}(6-Keto-PGF_{1a}) 明显降低($P < 0.01$), 心肌组织出现严重的缺血性损害; 丹参组则无明显变化。与模型组比较, 丹参组家兔肌内注射给药后 2, 24 h, 血小板聚集性、TXA₂、ET 明显降低(均 $P < 0.01$), 6-Keto-PGF_{1a} 明显升高($P < 0.01$), 心肌组织缺血性损害明显减轻。结论 ARF 时, 家兔血小板聚集性改变和血管活性物质与氧自由基的增高可能是造成心肌组织缺血性损害的直接原因之一。丹参可通过抑制血小板聚集功能, 降低 TXA₂、ET 等明显减轻 ARF 家兔心肌组织缺血性损伤。

[关键词] 丹参注射液; 肾衰竭, 急性; 心肌缺血损伤; 血小板聚集性; PGI₂; TXA₂

[中图分类号] R286; R965 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-0781(2005)11-0997-04

Protective Effect of *Danshen* Injection on Myocardial Ischemia in Rabbits with Acute Renal Failure

LIU Jiu-bo¹, CHEN Lin², ZHU Shao-ming³, PENG Xin-min¹, LAN Yong-she¹, Li Yan⁴ (1. *Physical Examination Center*; 2. *Department of Pharmacy*; 3. *Department of Nephrology*; 4. *Department of Nuclear Medicine, Taihe Hospital Affiliated with Yunyang Medical College, Shiyan 44200, China*)

ABSTRACT Objective To study protective effect of *danshen* injection on myocardial ischemia in rabbits with acute renal failure (ARF). **Method** 28 rabbits were randomly divided into three groups: the control group, $n = 8$; the model group $n = 12$; and *danshen* group, $n = 8$. The control group and the model group were injected sodium chloride injection, and *danshen* group injected *danshen* injection, iv, 0.5 mL · kg⁻¹, four times daily for 4 d. Then the control group were injected 10 mL · kg⁻¹ 0.9% sodium chloride injection, and the model group and *danshen* group were injected 10 mL · kg⁻¹ 50% glycerin by pressure injection in the behind legs 0.5 h later since the first injection. The platelet aggregation, PGI₂, TXA₂, endothelins (ET) and myocardial morphology were examined. **Results** Compared to the control group, at 2 and 24 h, platelet aggregation, TXA₂, ET were significantly higher, and 6-Keto-PGF_{1a} were significantly lower ($P < 0.01$), and there were severe ischemic injury in the model group; but not significantly in *danshen* group. At 2 and 24 h, in *danshen* group, platelet aggregation, TXA₂, ET was significantly lower, and 6-Keto-PGF_{1a} was significantly higher than in the model group ($P < 0.01$). Myocardial ischemic injury in *danshen* group was markedly reduced. **Conclusion** The higher platelet aggregation, and the more vasoactive substance and oxygen free radical during ARF may be one of the direct causes of ischemic myocardial injury. *danshen* injection may reduce the cardiac ischemic injury in rabbits with acute renal failure by inhibiting blood platelet conglomeration and lowering TXA₂, and ET.

KEY WORDS *Danshen* injection; Renal failure, acute; Ischemic myocardial injury; Blood platelet aggregation; PGI₂; TXA₂

研究表明, 血液流变学的变化可直接影响组织器官微循环的血流灌注, 这是多种缺血性疾病的病理生理基础^[1]。最近的研究还证实, 兔的急性肾衰竭(acute renal failure, ARF) 发病过程中, 存在明显的高黏滞血症和微循环障碍^[2,3]。笔者在本实验中研究了甘油所致的兔 ARF 模型血小板聚集功能、前列环素 I₂ (PGI₂)、血栓素 A₂ (TXA₂)、内皮素(endothelins, ET)

等指标的变化, 以及以上检测指标与兔心肌组织形态学变化的关系。此外还考察了丹参对兔 ARF 引起的急性心肌缺血的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康雄性日本大耳白家兔, 体重 2.1 ~ 2.5 kg, 鄖阳医学院实验动物中心提供。所有实验家兔于实验前 7 d 放入代谢笼中, 在自然光线下饲喂含有嘌呤类物质的食物, 记录每天摄入食物量和饮水量, 以及家兔尿量、体重变化等。实验前禁水 24 h。

1.2 试药 50% 甘油溶液(上海永化特种化学试剂

[收稿日期] 2005-01-01 **[修回日期]** 2005-02-10

[作者简介] 刘久波(1963 -), 男, 湖北鄖县人, 主任医师, 硕士, 主要从事微循环及血液流变学的基础和临床应用研究。电话: 0719 - 8801368, E-mail: ljb169168@sina.com。

厂生产,批号:000820);丹参注射液(十堰市康迪制药厂生产,批号:20010403,每毫升含丹参1 g)。

1.3 实验方法

1.3.1 模型制作与分组方法 取家兔28只,均用20%乌拉坦腹腔注射麻醉,5 mL·kg⁻¹。随机分为3组,对照组8只,模型组12只,丹参组8只。对照组和模型组给予0.9%氯化钠注射液耳缘静脉注射,丹参组给予丹参注射液耳缘静脉注射。均为0.5 mL·kg⁻¹,每6 h重复1次,共4次。第1次给药后0.5 h,对照组给予0.9%氯化钠注射液双侧后肢肌内加压注射,10 mL·kg⁻¹,模型组和丹参组采用文献[4]中的方法制备家兔ARF模型,即给予50%甘油溶液双侧后肢肌内加压注射,10 mL·kg⁻¹。注射后动物可自由进食和饮水,约2 h后,尿液呈葡萄红色,测定血肌酐明显升高;24 h后血肌酐、尿素氮明显高于对照组,肾脏病理学检查可见肾小球出血,肾小管坏死,肾小管内有暗红色管型阻塞,间质水肿。证实ARF模型制作成功^[5]。

1.3.2 观察指标和测定方法 观察家兔注射甘油后2,24 h血小板聚集功能和血液中PGI₂、TXA₂、ET的含量,以及心肌组织形态学变化。①血小板聚集功能测定采用光电比浊法。采家兔股静脉血,以3.28%枸橼酸钠1:9抗凝,500 r·min⁻¹离心3 min,取200 μL富含血小板的血浆(PRP),剩余部分3 000 r·min⁻¹离心10 min,取贫血小板血浆(PPP)。将1 mg·mL⁻¹的肾上腺素(ADR)用纯化水稀释,临用时取配制好的终浓度为1 μmol·L⁻¹的ADR试剂15 μL作为聚集诱导剂。以PA-100型血小板聚集仪(重庆天海医疗设备有限公司生产)记录5 min内的血小板聚集曲线,分别取1 min聚集率(AGG₁)、5 min聚集率(AGG₅)和最大聚集率(AGG_{max}),以最大聚集率计算聚集抑制率。聚集抑制率=[(模型组AGG_{max}-丹参组AGG_{max})/模型组AGG_{max}]×100%。②PGI₂、TXA₂、ET的测定。通过测定PGI₂的代谢产物6-酮-前列腺素F_{1a}(6-Keto-PGF_{1a})来反映PGI₂水平。6-Keto-PGF_{1a}、TXA₂、ET等的测定均采用放射免疫法,药盒由北京东亚免疫技术研究所提供,严格按说明书操作,仪器为697型双探头γ计数仪(上海日环仪器厂生产)。

1.3.3 形态学实验 模型组于注射甘油后2,24 h时分别取家兔4,8只,其他两组于肌内注射药物后24 h快速活体取心脏,快速固定(固定液:4%甲醛25 mL,冰醋酸5 mL,95%乙醇70 mL),常规切片,分别苏木精-伊红染色、Masson染色,光镜下观察(×100,×200,×400)。

1.4 统计学方法 所有数据均用均数±标准差($\bar{x} \pm$

s)表示,应用SPSS10.0数理统计软件处理。*P*<0.05表示差异有显著性,*P*<0.01表示差异有极显著性。

2 结果

2.1 各组家兔肾功能及心肌酶谱的变化 模型组家兔注射甘油后2 h,尿液呈葡萄红色,血Cr明显升高,血清肌酸激酶(CK)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)与实验前比较,无明显变化。注射甘油后24 h,模型组家兔Cr、BUN、CK、AST、LDH等指标明显升高,其中Cr、BUN、CK、AST、LDH等指标明显高于对照组(均*P*<0.01)。说明本实验制作的ARF模型是成功的,同时表明模型组家兔随着肾衰竭的加重,心肌出现了缺血性损害。丹参组注射甘油后2 h血Cr,24 h的血Cr、BUN、CK、AST、LDH等指标明显低于模型组(均*P*<0.01)。表明丹参对ARF家兔的肾功能和心肌缺血性损害有明显的保护作用。具体结果见表1。

2.2 各组家兔血小板聚集功能的变化 与相同时间内对照组比较,模型组肌内注射甘油后2,24 h,由ADR诱导的血小板聚集率明显增高(均*P*<0.01),丹参组则无明显增高。与模型组比较,丹参组以上各指标明显降低(*P*<0.05)。说明急性肾衰竭家兔血小板聚集性明显增强,血液处于高凝状态;丹参对其血小板聚集具有明显的抑制作用。具体结果见表2。其中丹参给予甘油后2和24 h血小板聚集抑制率分别为20.66%和43.73%。

2.3 各组家兔血浆6-Keto-PGF_{1a}、TXA₂和ET的变化 与对照组比较,模型组肌内注射甘油后2,24 h,6-Keto-PGF_{1a}均明显降低(均*P*<0.01),TXA₂、ET均明显升高(均*P*<0.01),丹参组则变化不明显。与模型组比较,丹参组肌内注射甘油后2,24 h,6-Keto-PGF_{1a}明显升高,TXA₂、ET明显降低(均*P*<0.01)。说明肌内注射甘油所致的ARF家兔出现明显的缺血-再灌注损伤,其血管活性物质明显升高;丹参对缺血-再灌注损伤有明显的抑制作用。具体结果见表3。

2.4 各组家兔心肌组织形态学变化 对照组家兔心肌组织形态正常;模型组家兔心肌细胞弥漫性变性、心肌细胞间质水肿、血管周围水肿,肌内注射甘油后24 h心肌病理改变比2 h严重且明显;丹参组家兔心肌病理改变较模型组明显减轻,4只家兔心肌细胞无明显改变,另外4只心肌细胞轻微变性,但心肌细胞间质和血管周围未见明显水肿。提示急性ARF家兔心肌存在明显的缺血现象,随着缺血的加重,心肌细胞的损害也进一步加重;丹参注射液能够改善心肌的血供,减轻心肌的缺血性损害。

表 1 不同时相各组家兔肾功能及心肌酶谱的变化

组别与时间	家兔/ 只	Cr/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	BUN/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	CK/ ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	AST/ ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	LDH/ ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)
丹参组	8					
给予甘油后 2 h		144.32 ± 24.61 ^{*1}	9.56 ± 6.25	23.57 ± 3.25	65.30 ± 9.60	149.70 ± 13.90
给予甘油后 24 h		151.12 ± 23.52 ^{*1}	10.57 ± 8.85 ^{*1}	150.57 ± 8.85 ^{*1}	146.57 ± 8.12 ^{*1}	250.67 ± 9.15 ^{*1}
模型组	12					
实验前		91.60 ± 18.60	8.12 ± 5.22	21.20 ± 2.90	62.10 ± 8.90	150.50 ± 14.80
给予甘油后 2 h		243.25 ± 28.12 ^{*2*3}	9.12 ± 6.40	26.28 ± 8.30	82.30 ± 9.70	158.60 ± 15.90
给予甘油后 24 h		298.46 ± 31.32 ^{*2*3}	15.63 ± 5.66 ^{*2*3}	240.50 ± 6.80 ^{*2*3}	324.60 ± 11.30 ^{*2*3}	568.90 ± 16.80 ^{*2*3}
对照组	8					
给予甘油后 2 h		97.60 ± 21.60	8.92 ± 5.72	23.90 ± 3.20	62.10 ± 8.90	145.70 ± 13.50
给予甘油后 24 h		103.30 ± 25.10	9.15 ± 6.29	25.20 ± 3.70	69.10 ± 9.50	148.10 ± 15.20

注:与相同时间内模型组比较,^{*1} $P < 0.01$;与本组实验前比较,^{*2} $P < 0.01$;与相同时间内对照组比较,^{*3} $P < 0.01$

表 2 不同时相各组家兔 ADR 诱导的血小板聚集率变化

组别与时间	家兔/只	AGG ₁	AGG ₅	AGG _{max}
丹参组	8			
给予甘油后 2 h		24.32 ± 4.61 ^{*1}	48.56 ± 8.25 ^{*2}	48.56 ± 8.25 ^{*2}
给予甘油后 24 h		21.12 ± 4.52 ^{*1}	50.57 ± 8.85 ^{*1}	50.57 ± 8.85 ^{*1}
模型组	12			
给予甘油后 2 h		42.21 ± 5.61 ^{*3}	61.21 ± 8.3 ^{*3}	61.21 ± 8.3 ^{*3}
给予甘油后 24 h		49.45 ± 5.66 ^{*3}	89.87 ± 8.60 ^{*3}	89.87 ± 8.6 ^{*3}
对照组	8			
给予甘油后 2 h		21.23 ± 3.23	47.37 ± 7.85	47.37 ± 7.85
给予甘油后 24 h		24.21 ± 3.35	49.98 ± 6.54	49.98 ± 6.54

注:与相同时间内模型组比较,^{*1} $P < 0.01$,^{*2} $P < 0.05$;与相同时间内对照组比较,^{*3} $P < 0.01$

表 3 3 组家兔不同时间血浆 6-Keto-PGF_{1 α} 、TXA₂ 和 ET 的变化

组别与时间	家兔/只	6-Keto-PGF _{1α}	TXA ₂	ET
丹参组	8			
给予甘油后 2 h		82.21 ± 21.22 ^{*1}	101.21 ± 23.35 ^{*1}	71.98 ± 22.32 ^{*1}
给予甘油后 24 h		80.25 ± 20.32 ^{*1}	92.76 ± 29.56 ^{*1}	72.25 ± 22.11 ^{*1}
模型组	12			
给予甘油后 2 h		52.21 ± 22.32 ^{*2}	131.22 ± 26.27 ^{*2}	128.21 ± 19.38 ^{*2}
给予甘油后 24 h		48.23 ± 21.12 ^{*2}	166.24 ± 22.31 ^{*2}	159.14 ± 21.20 ^{*2}
对照组	8			
给予甘油后 2 h		92.21 ± 21.31	90.28 ± 22.23	68.52 ± 11.32
给予甘油后 24 h		93.22 ± 20.32	97.43 ± 21.31	66.58 ± 10.31

注:与相同时间内模型组比较,^{*1} $P < 0.01$;与相同时间内对照组比较,^{*2} $P < 0.01$

3 讨论

本实验过程中,模型组家兔血小板聚集功能、TXA₂、ET、心肌酶谱(包括 CK、AST、LDH 等)等均明显升高,PGI₂降低,心肌组织出现严重的缺血性损害。在甘油所致家兔 ARF 发病过程中自始至终存在以血液黏度增高为主的多种血液流变学的变化^[5],证明 ARF 家兔血小板聚集性明显增强,这些因素都造成血液循环障碍,引起血管活性物质释放增加,使心肌的血供减少,心肌发生缺血、缺氧,心肌细胞损伤,心肌酶谱升高。随着肾衰竭的加重,血液流变学指标进一步恶化,

心肌血供减少加剧,心肌细胞的缺血性损害更为严重。

实验结果还显示,丹参注射液可明显抑制 ARF 家兔的血小板聚集性,减轻心肌细胞的缺血性损伤。其作用机制可能有以下几点:①丹参注射液为中药提取制剂,主要含丹参素,原儿茶醛,原儿茶酸,丹酚酸 A、B、C 和迷迭香酸等。丹参素有抑制血小板聚集的作用;②丹参素还可抑制血小板合成和释放 TXA₂ 等前列腺素类收缩血管物质^[6],能提高机体的耐缺氧能力;③丹参能明显增加 ARF 动物血中 6-Keto-PGF_{1 α} 与 TXA₂ 浓度比例,降低血浆 ET 含量。

本实验结果表明,丹参可通过抑制血小板聚集功能、降低血液中 TXA₂ 含量、松弛血管、改善微循环、增加心脏血流量等作用保护心脏。

[参考文献]

[1] 康振黄,陈槐卿. 血液流变学及其临床应用[M]. 成都:四川教育出版社,1987.7,136.

[2] 刘久波,聂磊,涂汉军,等. 实验性急性肾衰竭兔肾组织学损伤与血液流变学的关系[J]. 中国微循环杂志,2002,6(3):139-141.

[3] 聂磊,刘久波,涂汉军,等. 急性肾衰竭兔肾皮质局部

血流量与球结膜微循环变化的研究[J]. 中国微循环杂志,2002,6(3):155-157.

[4] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 第3版. 北京:人民卫生出版社,2002.1237.

[5] 刘久波,陈林,杨道华,等. 实验性急性肾衰竭家兔血液流变学的变化[J]. 郧阳医学院学报,2002,21(3):142-145.

[6] 杨佳,秦彩玲. 复方丹参方及丹参、三七对血小板功能影响的研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2003,9(2):59-60.

情志舒对大鼠胃窦壁内乙酰胆碱酯酶含量的影响

李贵玲¹,李亦武²,李玥³,郭海军²,李国成²

(1. 华中科技大学同济医学院附属协和医院肿瘤医院,武汉 430022;2. 华中科技大学同济医学院基础医学院,武汉 430030;3. 华中师范大学生命科学学院,武汉 430070)

[摘要] 目的 观察复方中药情志舒对大鼠胃窦壁内乙酰胆碱酯酶(AChE)含量的影响,研究情志舒方治疗非溃疡性消化不良(NUD)的作用机制。方法 20只雄性Wistar大鼠,随机平均分为4组,每组5只,将情志舒组、多潘立酮组和模型组大鼠制作肝胃不和型NUD模型。情志舒组和多潘立酮组大鼠分别给予情志舒和多潘立酮药液灌胃,模型组和对照组大鼠不给予任何药物。采用组化方法测定各组大鼠胃窦壁内AChE的含量。结果 情志舒组大鼠胃窦壁内AChE的面密度值和数密度值均明显高于模型组(均 $P < 0.05$),但与对照组比较,差异无显著性(均 $P > 0.05$)。结论 中药情志舒能显著增加大鼠胃窦壁内AChE的表达,这可能与该药治疗NUD的机制有关。

[关键词] 情志舒;胆碱酯酶;消化不良,非溃疡性

[中图分类号] R965;R286 [文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2005)11-1000-02

非溃疡性消化不良(non-ulcer dyspepsia, NUD)是指具有上腹痛、腹胀、早饱、嗝气、厌食、烧心、反酸、恶心、呕吐等上腹部不适症状,经各项检查排除器质性疾病的一组消化内科常见的临床症状群^[1]。NUD的发病率较高,几乎每个人一生中都有过消化不良的症状,只是持续时间的长短和影响正常生活的程度不同。据统计,26%~35%的消化不良患者就诊过,其中有19%~76%为NUD^[2,3]。1989年美国芝加哥国际NUD研讨会将NUD分成5种类型,即反流样、溃疡样、运动障碍样、吞气症、特发型^[4]。NUD属中医“胃脘痛”“痞满”范畴。中医对本病目前尚无统一的辨证分型标准,依患者临床表现及病因大致分为肝胃不和、肝胃郁热、肝郁脾虚、脾胃亏虚4个证型,其中肝胃不和尤为多见,约占45%。中医认为情志因素在其发病中起着重要的作用。若七情失和,肝气犯胃,则气机逆乱,升降不利,而见痞满等证;情怀不畅,肝郁气滞,疏泄失职,横逆犯胃,气血而不行,胃脘作痛。中药情志舒是同济医学院李国成教授经多年细心研究,拟定用于治疗NUD的复方中药,该方采用疏肝解郁、理气导滞的方法,治疗NUD患者治愈率高达95%^[5]。为探讨该药的作用机制,笔者观察了情志舒对大鼠胃窦壁内胆碱酯

酶(AChE)含量,以及大鼠胃运动频率和幅度的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级Wistar雄性大白鼠20只,体重180~200g,均由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供。

1.2 实验药品与制备方法 中药情志舒由玄胡、川楝子、厚朴等12味中药组成,该药饮片由华中科技大学同济医学院附属同济医院中药房提供,全方依处方比例配方。多潘立酮片(商品名:吗丁啉,西安杨森制药有限公司生产,规格:每片10mg)。情志舒全方共含生药126g,加重蒸馏水300mL,浸泡2h,煎沸30min,取汁100mL,再加蒸馏水200mL,煎沸30min,取汁200mL,二汁合为一,加热浓缩成126mL原液,即每毫升含生药1g,备用。取多潘立酮片10mg(1片)加入纯化水100mL,制成多潘立酮溶液,即每毫升溶液含多潘立酮0.1mg。多聚甲醛(E. Merk公司生产),碘化乙酰硫代胆碱(Fluka公司生产),醋酸钠(上海化学试剂站提供),枸橼酸钠(青岛海洋化工厂生产),硫酸铜(沈阳红旗化工厂生产),铁氰化钾(台州市生化材料厂生产),四异丙基磷酰胺(青岛海洋化工厂生产)。

1.3 实验仪器 AO恒冷箱冰冻切片机,200GA台式平衡记录仪,723分光光度计,80-2离心沉淀器,Olympus光学显微镜,MPZAS多媒体彩色病理图像分析系统,OlympusPM-30照相系统,主要溶液为AChE孵育液。

[收稿日期] 2005-08-05 [修回日期] 2005-09-10

[作者简介] 李贵玲(1967-),女,河南滑县人,硕士,从事肿瘤放、化疗工作。电话:027-84222351。