基础研究 文章编号:0253-3626(2009)12-1676-03

丹参酮ⅡA磺酸镁对大鼠急性心肌梗死的保护作用及机制

张玉方[1],赵春景[2]

(1.重庆市江北区第一人民医院药剂科,重庆 400020;2.重庆医科大学附属第二医院药剂科,重庆 400010)

【摘 要】目的:探讨丹参酮ⅡA磺酸镁(Magnesium tanshinone ⅡA sulfonate,MTS)对急性心肌梗死的保护作用及其作用机制。方法:用冠状动脉结扎法制备大鼠急性心肌梗死模型,并将成功模型大鼠随机分为5%葡萄糖溶液对照组、丹参酮ⅡA磺酸钠组、丹参酮ⅡA磺酸镁低、中、高剂量组。结扎后5 min通过尾静脉分别给予相应剂量的药物并于4 h后测定大鼠心肌梗死范围以及血清和心肌组织中酶的活性。结果:与对照组比较,丹参酮ⅡA磺酸镁能剂量依赖性降低模型血清肌酸激酶(Creatine phosphokinase,CK)和乳酸脱氢酶(Lactic acid dehydrogenase,LDH)活性;减少心肌梗死范围;提高心肌组织超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,SOD)活性,同时降低丙二醛(Malondiadehyde,MDA)含量。结论:丹参酮ⅡA磺酸镁对急性心肌梗死有保护作用,其保护机制与抗氧自由基作用有关。

【关键词】丹参酮ⅡA磺酸镁;心肌梗死;心肌保护;氧自由基

【中国图书分类法分类号】R965.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-05-05

Protective effects of magnesium tanshinone ⅡA sulfonate on acute myocardial infarction in rats

ZHANG Yu-fang, et al

(*Department of Pharmacy, the First people's Hospital Jiangbei District in Chongqing*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the protective effects and its protective mechanism of Magnesium tanshinone ⅡA sulfonate (MTS) on acute myocardial infarction. *Methods*: The acute myocardial infarction model in rats were performed by the ligation of the left coronaryartery and the successful models were randomly assigned to either a control group (5% glucose solutions) sodium tanshinone ⅡA sulfonate (STS)group(5 mg/kg), combined MTS group(1,5,15 mg/kg). The corresponding dosages medicine were given to that rats 5 minutes after ligationing through the vena caudalis; The

作者介绍:张玉方(1982-),女,硕士,研究方向:临床药理学。

通讯作者:赵春景,男,教授,E-mail:zhaocj6547@sina.com。

用。NO合成后弥散至附近的靶细胞内,通过靶细胞的介导与受体结合,激活靶细胞膜上的鸟苷酸环化酶,继而使cGMP合成增加,扩张血管,改善细胞灌注。另外,NO还可降低细胞内钙离子、扩张血管、抑制血小板聚集与粘附、减少氧自由基的产生。本实验结果显示,葛根素预处理组明显增加NOS和NO的含量,给予PI3K/Akt信号通路阻断剂LY294002后NOS和NO的含量明显降低,提示葛根素预处理的心肌效应还与其能增加缺血再灌注心肌NOS和NO含量水平有关。

综上所述,葛根素预处理对心肌缺血再灌注损伤具有保护效应,其机制可能与其激活PI3K/AKT信号通路,提高心肌NOS和NO水平有关。

参 考 文 献

[1] Hausenloy D J, Yellon D M. New directions for protecting the heart against ischemia-reperfusion injury: targeting the reperfusion injury salvage kinase(RISK) pathway[J]. Cardiovasc Res,2004,61(3):448-460.

[2] 陈玉培,牟崇明,季道如,等.参附注射液预干预对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用[J].重庆医科大学学报,2005,30(2):220-228.

[3] Ravingerová T, Matejíková J, Neckár J, et al. Differential role of PI3K/Akt pathway in the infarct size limitation and antiarrhythmic protection in the rat heart [J]. Mol Cell Biochem, 2007,297 (1-2): 111-120.

[4] 鲍晓梅,李 珍,秦小同,等.葛根素预处理对离体大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].实用临床医药杂志,2007,11(6):15-18.

[5] 孙 鹏,刘金龙.葛根素对组织缺血再灌注损伤保护机制的研究进展[J].现代中西医结合杂志,2006,15(3):405-407.

[6] 卢金萍,任江华,姚述远.葛根素对心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].中国现代应用药学杂志,2004,21(4):268-271.

[7] Hausenloy D J, Yellon D M. Reperfusion injury salvage kinase signalling: taking a RISK for cardioprotection[J]. Heart Fail Rev, 2007, 12 (3-4):217-234.

[8] Hausenloy D J, Wynne A M, Yellon D M. Ischemic preconditioning targets the reperfusion phase[J]. Basic Res Cardiol,2007, 102(5):445-452.

(责任编辑:关蕴良)

myocardial infarct size, change of enzymes in myocardium and serum were simultaneously monitered 4 hours later. *Results*: Comparing with control group it was found that MTS decreased the lactic acid dehydrogenase (LDH) and creatine phosphokinase (CK) activity in serum, reduced myocardial infarct size, and improved the activity of superoxide dismutase (SOD) and decreased the malondiadehyde (MDA) contents in myocardium respectively. *Conclusion*: MTS had protective effects on the acute myocardial infarction by the ligation, the mechanism of the protective effect may be related to its role against oxygen free radical.

【Key words】 Magnesium tanshinone ⅡA sulfonate; Myocardial infarction; Myocardial protection; Oxygen free radical

急性心肌梗死(Acute myocardial infarction, AMI)是目前临床上常见的急症之一,它严重危害着人类的健康。近年来,AMI 发病率增高,AMI 后治疗成为心血管领域研究的热点。丹参酮ⅡA 磺酸镁(Magnesium tanshinone ⅡA sulfonate, MTS)是通过对丹参酮ⅡA 磺酸钠结构上的钠离子取代而形成。文献报道[1~2]丹参酮ⅡA 磺酸钠和镁盐能保护缺血心肌、扩张冠脉、干预和抑制心脏传导系统而用于心肌梗死、心律失常、心衰等疾病的治疗,而且镁制剂能有效的保护或减轻去甲肾上腺素引起的心肌损害程度[3]。鉴于二者在心脏疾病中的作用,本实验通过对结扎大鼠冠脉造成急性心肌梗死模型来明确丹参酮ⅡA 磺酸镁对心肌梗死的保护作用及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SD 大鼠,雄性,体重(250 ± 30) g(重庆医科大学实验动物中心)。

1.1.2 药品与试剂 丹参酮ⅡA 磺酸镁(MTS,纯度 93.4%,重庆医科大学附属第二医院药剂科);丹参酮ⅡA 磺酸钠(STS,纯度 97.5%,上海友思生物技术有限公司);BCA 法蛋白定量试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司);磷酸肌酸激酶(Creatine phosphokinase, CK)和乳酸脱氢酶(Lactic acid dehydrogenase, LDH)试剂盒(长春汇力生物技术有限公司);超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)和丙二醛(Malondiadehyde, MDA)测试盒(南京建成生物工程研究所);红四氮唑(分析纯,上海灵锦精细化工有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 模型的建立及分组 参照文献[4]建立大鼠心肌梗死模型,以"J"点抬高≥0.1 mV 作为模型成功标志。将模型成功大鼠随机分为 5 组(每组 10 只):对照组(等容量 5% 葡萄糖溶液)、STS 组(5 mg/kg)、MTS 低剂量组(1 mg/kg)、MTS 中剂量组(5 mg/kg)和 MTS 高剂量组(15 mg/kg)。以上各组于模型成功后 5 min 通过尾静脉分别给予相应剂量的药物。

1.2.2 血清及心肌组织生化指标的测定 给药 4 h 以后,放血处死大鼠,收集血液,离心(2 000 r/min, 5 min)取血清备用;取心室肌,用冰生理盐水制成 100 g/L 组织匀浆,离心(3 000 r/min, 15 min),取上清液备用。用 CK, LDH, SOD 和 MDA 试剂盒按说明方法测定其活性或含量;心肌匀浆上清液蛋白含量用 BCA 蛋白含量测定法测定。

1.2.3 心肌梗死范围的测定 心肌梗死范围的测定按文献方法[4]将给药 6 h 后大鼠的心脏进行 TTC 染色,分离心肌片

表 1 MTS 对心肌梗死大鼠血清 CK 和 LDH 活性的影响(n=10, $\bar{x}\pm s$)

分组	剂量(mg/kg)	CK(U/L)	LDH(U/L)
对照组		264.22 ± 96.53	2 045.07 ± 425.19
MTS 组	15	176.04 ± 40.71[ab]	1 614.21 ± 406.15[ab]
	5	182.32 ± 72.53[ab]	1 637.00 ± 384.35[ab]
STS 组	1	227.21 ± 81.51[b]	1 711.32 ± 476.09[b]
	5	181.31 ± 84.33[a]	1 625.12 ± 500.04[a]

a. P<0.05, 与对照组比较; b. P>0.05, 与 STS 组比较

表 2 MTS 对心肌梗死大鼠心肌组织 SOD 活性及 MDA 含量的影响(n=10, $\bar{x}\pm s$)

分组	剂量(mg/kg)	SOD(U/mgprot)	LDH(nmol/mgprot)
对照组		556.92 ± 143.62	28.33 ± 4.38
MTS 组	15	789.87 ± 163.49[a]	16.07 ± 3.16[ab]
	5	722.66 ± 190.29[a]	19.56 ± 4.21[a]
STS 组	1	705.44 ± 203.39	24.02 ± 4.72[a]
	5	723.86 ± 186.80[a]	20.25 ± 2.89[a]

a. P<0.05, 与对照组比较; b. P<0.05, 与 STS 组比较

表 3 MTS 对冠脉结扎大鼠心肌梗死范围影响（n=10，$\bar{x}\pm s$）

分组	剂量(mg/kg)	梗死范围(%)
对照组		22.66 ± 4.14
MTS 组	15	17.46 ± 2.31[ab]
	5	18.22 ± 2.14[ab]
	1	19.36 ± 3.00[ab]
STS 组	5	19.14 ± 4.10[a]

a. P<0.05，与对照组比较；b. P>0.05，与 STS 组比较

中的梗死区，称重，计算梗死心肌（湿重）占全心室（湿重）的百分比。

1.3 统计学分析

实验数据录入 SPSS11.0 统计软件包。计数资料数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示，组内比较用 t 检验，各组间均数比较采用单因素方差分析。检验水准：$\alpha=0.05$，P<0.05 时判为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MTS 对心肌梗死大鼠血清 CK 和 LDH 活性的影响

通过表中数据比较发现，MTS 剂量依赖性降低 CK 和 LDH 活性，但 MTS 高中剂量组降低 CK 和 LDH 活性与 STS 组比较无明显差异。结果提示 MTS 能减少受损心肌细胞数量。见表 1。

2.2 MTS 对冠脉结扎大鼠梗死心肌 SOD 活性和 MDA 含量的影响

MTS 有剂量依赖性地降低心肌中 MDA 含量，MTS 15 mg/kg 组作用尤为明显，且优于 STS。另外 MTS 剂量依赖升高 SOD 趋势，MTS 组效果与 STS 组比较无明显差异。提示 MTS 能抑制脂质过氧化物反应对心肌的损害。见表 2 。

2.3 MTS 对冠脉结扎大鼠心肌梗死范围影响

如表 3 所示，MTS 减少心肌梗死范围呈剂量依赖性。MTS 降低心肌梗死范围较 STS 无明显差异。

3 讨 论

首次报道丹参酮ⅡA 磺酸镁呈剂量依赖性降低模型大鼠血清 CK 和 LDH 活性；减少心肌梗死范围；提高心肌组织 SOD 活性，同时降低 MDA 含量，对大鼠梗死心肌具有保护作用。

心肌缺血时常导致细胞内低镁，使多种依赖 Mg^{2+}的能量代谢酶活性降低；同时失去 Mg^{2+} 对 Ca^{2+} 的天然拮抗作用，线粒体内大量 Ca^{2+}聚积，氧化磷酸化受损，使能量代谢发生障碍。通过 MTS 补充 Mg^{2+}，理论上可以使细胞内依赖 Mg^{2+}能量代谢酶活性得到恢复，防止线粒体内 Ca^{2+}的积聚，减轻细胞的损伤。此外，高镁能保护，增强膜对氧自由基损伤的耐受，减少脂质过氧化物的形成[5,6]。在此次 MTS 与STS 的对比研究中，MTS 也表现出了抗氧自由基活性，降低了细胞的受损程度，减少了心肌梗死范围。其原因很可能与高镁能保护线粒体谷胱甘肽氧化酶活性，提高 SOD 活性有关。但此次实验除了在降低 MDA 含量方面 MTS 优于 STS，其他指标与 STS 比较没有显著性差异，其原因可能与 MTS 分子中 Mg^{2+} 所占比例太小而导致使用剂量过小有关。

另外，钙超载时线粒体功能障碍也是引起细胞不可逆损伤的重要原因之一。STS 通过抑制线粒体呼吸链电子的传递速度，减少缺血再灌注过程中的自由基的产生，再加上其清除自由基的能力，从而达到保护心肌的目的[7]。MTS 是否能通过此作用机理而具有保护心肌的作用，可以做进一步的研究；杜秋明等[8]报道了 STS 能降低 I/R 性心律失常的发生。因此，MTS 能否防止钙介导的慢反应电位而消除由此引起的心律失常，也值得做进一步研究。

参 考 文 献

[1] 王 蓉，曾晓荣，王 贞，等. 丹参酮 IIA 磺酸钠对家兔缺血预处理心肌保护作用的影响[J]. 中国微循环，2004,8(5):335.

[2] 莫 测，朱 松，魏红霞.镁盐控制急性心肌梗死溶栓后心律失常的临床意义[J].安徽医学，2002,23(3):45.

[3] 朱文萍，金荣庆，苑松岩，等.镁对去甲肾上腺素致心肌损伤的保护作用[J].中国药理学通报，2001,17(3):356.

[4] 徐叔云，卞如濂. 药理实验方法学[M] .人民卫生出版社，2002. 1052-1053.

[5] 徐 海，时安云.镁对缺血后再灌注心肌线粒体膜的影响[J].北京医科大学学报，1995,27(5):357.

[6] 陈晓龙，杨建中，熊慧生.丹参酮ⅡA 磺酸钠治疗冠心病不稳定型心绞痛的临床研究[J].重庆医学，2008,37(2):168-169,171。

[7] 焦选茂，周同庆，刘树森，等.丹参酮ⅡA 磺酸钠对鼠肝线粒体功能的影响[J].生物化学杂志，1995,11(3):292-296.

[8] 杜秋明，李忠诚，王贵荣，等. 丹参酮ⅡA 磺酸钠对大鼠心肌缺血/再灌注心律失常的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志，2008,15(3):183-184.

（责任编辑：冉明会）