

羟苯磺酸钙对急性心肌梗死模型大鼠心肌的保护作用

郝丽云*(山西西山煤电集团有限责任公司职工总医院药剂科,太原 030053)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)04-0477-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.04.15

摘要 目的:研究羟苯磺酸钙对急性心肌梗死模型大鼠心肌的保护作用。方法:通过结扎冠状动脉前降支术建立急性心肌梗死大鼠模型。将模型大鼠随机分为模型组(生理氯化钠溶液)、羟苯磺酸钙低、中、高剂量(200、400、800 mg/kg)组,阳性对照(链激酶 4×10^4 U/kg)组,每组10只,在梗死发生后立即尾静脉注射相应药物。采用化学发光法检测各组大鼠术前和给药后4、24、48、72 h血浆中肌酸激酶、肌钙蛋白、血管内皮素的浓度,采用氯化硝基四氮唑磷酸缓冲液染色观察并计算给药后72 h小鼠心肌梗死范围。结果:与术前比较,模型组大鼠各时间点血浆中肌酸激酶、肌钙蛋白、血管内皮素浓度均明显增加,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,羟苯磺酸钙低、中、高剂量组和阳性对照组大鼠各时间点血浆中肌酸激酶、肌钙蛋白、血管内皮素浓度均减少,且与给药剂量和时间呈正相关;羟苯磺酸钙中、高剂量组和阳性对照组大鼠心肌梗死范围均明显减小,差异具有统计学意义($P < 0.01$),羟苯磺酸钙低剂量组大鼠心肌梗死范围差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论:羟苯磺酸钙对急性心肌梗死模型大鼠的心肌具有保护作用,可能与抑制血管内皮素过量释放有关。

关键词 急性心肌梗死;羟苯磺酸钙;肌酸激酶;肌钙蛋白;内皮素;大鼠

Cardioprotective Effects of Calcium Dobesilate on Acute Myocardial Infarction Model Rats

HAO Li-yun (Dept. of Pharmacy, Worker General Hospital of Shanxi Xishan Coal and Electricity Power Co., Ltd., Taiyuan 030053, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the cardioprotective effects of calcium dobesilate on acute myocardial infarction mode rats. METHODS: Acute myocardial infarction model was induced by ligation of anterior descending coronary, and then randomly divided into model group (physiological solution of sodium chloride), calcium dobesilate low-dose, medium-dose and high-dose groups (200, 400, 800 mg/kg) and positive control group (streptokinase 4×10^4 U/kg) with 10 rats in each group. After modeling, they were given relevant medicines intravenously via tail vein. The plasma concentrations of creatine kinase, troponin and endothelin were determined by chemiluminescence method before operation and 4, 24, 48 and 72 h after medication. The range of myocardial infarction 72 h after medication were observed and measured by nitro blue tetrazolium chloride phosphoric acid buffer solution. RESULTS: Compared with before operation, the plasma concentrations of creatine kinase, troponin and endothelin were increased significantly in model group; there was statistical significance ($P < 0.05$). Compared with model group, those of calcium dobesilate low-dose, medium-dose and high-dose groups and positive control group were decreased, which was positively correlated with drug dosage and time; the range of myocardial infarction were decreased significantly in calcium dobesilate medium-dose and high-dose groups and positive control group; there was statistical significance ($P < 0.01$). The range of myocardial infarction had no statistical significance in calcium dobesilate low-dose group ($P > 0.05$). CONCLUSIONS: Calcium dobesilate can protect the myocardium of acute myocardial infarction mode rats, which is associated with inhibiting excessive release of endothelin.

KEYWORDS Acute myocardial infarction; Calcium dobesilate; Creatine kinase; Troponin; Endothelin; Rats

急性心肌梗死是指冠状动脉急性闭塞,导致血流中断引起的局部心肌缺血性坏死。在我国每年约有0.2%~0.6%的人发生急性心肌梗死,且发病率及死亡率在逐年升高。临床上常规的治疗通常为溶栓治疗,但存在许多禁忌证如既往发生过出血性疾病、慢性严重高血压病史、创伤等。羟苯磺酸钙是一种通过抑制血管活性物质降低毛细血管通透性、抑制血小板聚集、降低血液黏稠度的药物,多作为口服药用于糖尿病视网膜膜病变的防治。近来,有研究发现羟苯磺酸钙对糖尿病性心脏病、冠心病等心肌损伤亦有显著的保护作用^[1]。20世纪90年代 Szlavly L 和 Httul K 等^[2-3]曾对羟苯磺酸钙在急性心肌梗死早期的治疗作用做了大量的实验研究,但国内目前未见相

关报道。本研究拟通过观察静脉注射羟苯磺酸钙对急性心肌梗死早期模型大鼠的心肌损伤敏感性标志物(肌酸激酶、肌钙蛋白^[4])及直接参与多种心血管疾病病理生理过程的血管活性物质(内皮素)的影响^[5],初步探索其治疗心肌梗死的作用及机制,为临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

FA1004A 电子分析天平(上海精天电子仪器厂);低温离心机(美国 Sigma 公司);ARCHITECT i2000SR 全自动化学发光免疫分析仪(美国雅培公司)。

1.2 药品与试剂

羟苯磺酸钙胶囊(西安利君制药责任有限公司,批号:1109221,规格:每粒0.5 g);注射用重组链激酶(上海凯茂生物

* 主管药师,博士。研究方向:心血管疾病、临床药学。电话:0351-6213267。E-mail:haoliyun58@163.com

医药有限公司,批号:20120307,规格:每支10万U);肌酸激酶检测试剂盒(美国Sigma公司);肌钙蛋白检测试剂盒(美国雅培公司);内皮素检测试剂盒(北京泰格科信生物科技有限公司)。

1.3 动物

SD大鼠,♀♂兼用,体质量200~250g,由山西医科大学实验动物中心提供,动物使用合格证号为SCXK(晋)2012-0039。

2 方法

2.1 急性心肌梗死模型的建立

取大鼠饲养7d取其尾静脉血,提取血浆冻存待用。大鼠腹腔注射0.2%肝素(2mg/kg),3%戊巴比妥钠(45mg/kg)麻醉大鼠,结扎冠状动脉左前降支以建立急性心肌梗死模型。

2.2 分组与给药

将建模成功的50只急性心肌梗死模型大鼠随机分为模型组、阳性对照组和羟苯磺酸钙低、中、高剂量组,每组10只。模型组大鼠尾静脉注射生理氯化钠溶液5ml,阳性对照组大鼠注射链激酶 4×10^4 U/kg^[6],羟苯磺酸钙低、中、高剂量组大鼠依次注射羟苯磺酸钙200、400、800mg/kg^[2]。

2.3 取血与心肌梗死范围检测

术前和给药后4、24、48、72h用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管取各组大鼠尾静脉血,静置15min,3000r/min(离心半径8cm)离心10min,分离血浆,-80℃低温保存,用于后续化学发光测定。于给药后72h时取各组大鼠心脏,称心室质量;将心室横切4~5片,在37℃恒温水浴条件下,置于氯化硝基四氮唑磷酸缓冲液(NBT)中染色,非梗死区染为蓝色,梗死组织呈不染色状态;将染色部分去除后,称量梗死组织的质量,计算心肌梗死范围=梗死组织质量/心室质量 $\times 100\%$ ^[7]。

2.4 生化指标的检测

化学发光法采用雅培ARCHITECT i2000SR全自动化学发光免疫分析仪,统一检测各组大鼠血浆中的肌酸激酶、肌钙蛋白和血管内皮素的浓度。

2.5 统计学分析

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用SPSS 13.0软件进行分析,组间差异用方差分析进行检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 一般状况

5组大鼠均在实验过程中有死亡发生。模型组和羟苯磺酸钙低剂量组死亡2只,羟苯磺酸钙中、高剂量组和阳性对照组均死亡1只。死亡原因涉及麻醉过深、术中出血过多、急性心肌梗死后诱发心律失常等。

3.2 心肌梗死范围

模型组、阳性对照组和羟苯磺酸钙低、中、高剂量组大鼠在急性心肌梗死发生72h后的心肌梗死范围分别为(29.7 \pm 5.1)%、(18.3 \pm 5.8)%、(25.8 \pm 6.3)%、(17.9 \pm 4.5)%、(17.6 \pm 3.9)%。与模型组比较,阳性对照组和羟苯磺酸钙中、高剂量组大鼠的心肌梗死范围明显减小($P < 0.01$),羟苯磺酸钙低剂量组大鼠的心肌梗死范围差异无统计学意义($P > 0.05$),其中阳性对照组与羟苯磺酸钙中、高剂量组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组大鼠心肌梗死面积的染色图见图1。

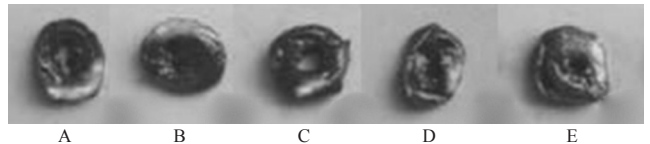


图1 各组大鼠心肌梗死面积的染色图

A.模型组;B.羟苯磺酸钙低剂量组;C.羟苯磺酸钙中剂量组;D.羟苯磺酸钙高剂量组;E.阳性对照组

Fig 1 Myocardial infarction area staining of rats in each group

A. model group; B. calcium dobesilate low-dose group; C. calcium dobesilate medium-dose group; D. calcium dobesilate high-dose group; E. positive control group

3.3 血浆中肌酸激酶、肌钙蛋白的变化

在急性心肌梗死发生后4~72h内,5组大鼠血浆中肌酸激酶、肌钙蛋白的浓度均较术前(即0h)明显增加,并在24h时达到峰值。同时组间比较显示,羟苯磺酸钙中、高剂量组和阳性对照组上述指标在心肌梗死后各时间点的水平均较模型组明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$),且羟苯磺酸钙中、高剂量组大鼠血浆中肌酸激酶的水平呈现出在心肌梗死后先高于阳性对照组、后于48h时低于阳性对照组的趋势。各组大鼠血浆中肌酸激酶和肌钙蛋白的浓度比较见表1、表2。

表1 各组大鼠血浆中肌酸激酶的浓度比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of plasma concentrations of creatine kinase of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

分组	n	肌酸激酶,U/L				
		0 h	4 h	24 h	48 h	72 h
模型组	8	708.2 \pm 91.6	1 008.6 \pm 131.7*	1 234.4 \pm 105.1*	1 201.6 \pm 178.3*	979.4 \pm 103.9*
羟苯磺酸钙低剂量组	8	710.4 \pm 68.5	996.2 \pm 78.7*	1 200.9 \pm 110.1*	1 203.3 \pm 96.8*	956.1 \pm 100.2*
羟苯磺酸钙中剂量组	9	700.9 \pm 89.9	874.7 \pm 140.6*	1 001.9 \pm 109.4*	845.3 \pm 99.7**	764.4 \pm 132.5*
羟苯磺酸钙高剂量组	9	698.7 \pm 133.2	865.1 \pm 89.9**	1 010.3 \pm 106.4*	850.8 \pm 116.7**	732.1 \pm 121.9*
阳性对照组	9	707.4 \pm 100.5	847.8 \pm 109.1*	967.7 \pm 139.3**	936.2 \pm 78.6**	789.6 \pm 110.2*

注:与0h比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,** $P < 0.05$

Note:vs. 0 h,* $P < 0.05$;vs. model group,** $P < 0.05$

表2 各组大鼠血浆中肌钙蛋白的浓度比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of plasma concentrations of troponin of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

分组	n	肌钙蛋白,pg/ml				
		0 h	4 h	24 h	48 h	72 h
模型组	8	0.45 \pm 0.08	5.78 \pm 0.28*	7.55 \pm 0.42*	2.14 \pm 0.35*	0.67 \pm 0.14*
羟苯磺酸钙低剂量组	8	0.42 \pm 0.03	5.76 \pm 0.17*	7.50 \pm 0.61*	2.11 \pm 0.22*	0.68 \pm 0.20*
羟苯磺酸钙中剂量组	9	0.43 \pm 0.05	3.96 \pm 0.22**	4.01 \pm 0.11**	1.73 \pm 0.29*	0.62 \pm 0.03*
羟苯磺酸钙高剂量组	9	0.45 \pm 0.02	3.92 \pm 0.43**	3.99 \pm 0.13**	1.59 \pm 0.58**	0.61 \pm 0.06*
阳性对照组	9	0.43 \pm 0.07	3.88 \pm 0.35**	4.22 \pm 0.50**	1.67 \pm 0.32**	0.60 \pm 0.09*

注:与0h比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,** $P < 0.05$

Note:vs. 0 h,* $P < 0.05$;vs. model group,** $P < 0.05$

3.4 血浆中内皮素的变化

内皮素是一种缩血管物质,是调节心血管功能的重要因子。检测结果表明,5组大鼠血浆中的内皮素浓度均较术前(0h)明显增加,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。同时,与模型组比较,羟苯磺酸钙中、高剂量组和阳性对照组大鼠血浆中的内皮素浓度明显减少,差异具有统计学意义($P < 0.05$);但羟苯磺酸钙中、高剂量组与阳性对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组大鼠血浆中内皮素的浓度比较见表3。

表3 各组大鼠血浆中内皮素的浓度比较($\bar{x} \pm s$)Tab 3 Comparison of plasma concentration of endothelin of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	内皮素, ng/L				
		0 h	4 h	24 h	48 h	72 h
模型组	8	35.24 ± 7.98	77.36 ± 10.38*	80.98 ± 8.75*	88.52 ± 8.75*	87.56 ± 11.01*
羧苯磺酸钙低剂量组	8	35.92 ± 6.89	76.89 ± 9.46*	78.25 ± 6.46*	88.14 ± 9.31*	86.72 ± 8.97*
羧苯磺酸钙中剂量组	9	36.13 ± 8.24	60.42 ± 7.31**	66.96 ± 5.85**	45.74 ± 9.12*	47.03 ± 6.72**
羧苯磺酸钙高剂量组	9	35.44 ± 6.75	60.07 ± 7.70**	67.02 ± 7.13**	42.29 ± 11.49*	44.68 ± 5.73*
阳性对照组	9	35.78 ± 9.03	63.70 ± 5.67**	70.11 ± 8.68**	50.09 ± 10.44**	46.89 ± 5.90**

注:与0 h比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,** $P < 0.05$

Note: vs. 0 h, * $P < 0.05$; vs. model group, ** $P < 0.05$

4 讨论

急性心肌梗死是指因心肌缺血所致的部分心肌急性坏死,常常引发严重的并发症如急性循环功能障碍、心率失常、心功能衰竭、严重低血压及休克。本实验通过结扎冠状动脉前降支建立急性心肌梗死大鼠模型,5组大鼠均有死亡现象发生。在成功建立的模型基础上,本实验观察了各组大鼠的心肌梗死范围,结果表明羧苯磺酸钙中、高剂量组与阳性对照组均可显著缩小由于心肌缺血所致的梗死范围。

急性心肌梗死发生发展的过程中还常伴随着一些特异性标记物的升高,其中肌酸激酶、肌钙蛋白是诊断急性心肌梗死发生时的敏感指标。肌酸激酶又称磷酸肌酸激酶,主要存在于骨骼肌和心肌中,常在胸痛发作后3~60 h开始升高、12~24 h达到峰值、3~4 d恢复正常,其阳性结果对急性心肌梗死肯定诊断价值可达92%以上^[4]。肌钙蛋白是心肌肌原纤维的调节蛋白,为心脏的特异性蛋白。当心肌细胞因缺血、缺氧发生损伤时,肌钙蛋白通过破损细胞膜释放入血,在血中出现较早,持续时间长。本研究在大鼠心肌梗死发生前及发生后4、24、48、72 h分别检测了其血液中肌酸激酶、肌钙蛋白的浓度。实验结果表明,在急性心肌梗死发生后肌酸激酶、肌钙蛋白浓度均增加的基础上,羧苯磺酸钙中、高剂量组的上升趋势显著降低,与阳性对照组差异无统计学意义。

另外,笔者还检测了大鼠血浆中内皮素的含量。内皮素是一种强烈的缩血管物质,其引起的血管收缩、心肌缺血、代谢紊乱和细胞增殖是许多心血管疾病的共同致病因素。近年来越来越多的研究肯定了羧苯磺酸钙对糖尿病性心肌病、冠心病等心肌损伤均有显著的保护作用^[8-10];且相较于传统链激酶等溶栓治疗存在诸多禁忌,羧苯磺酸钙的应用更为广泛。本实验结果表明,急性心肌梗死发生后5组大鼠血浆中内皮素浓度均明显升高,提示内皮素可能参与了心肌梗死的发生发

展;与模型组比较,羧苯磺酸钙中、高剂量组和阳性对照组大鼠心肌梗死后血浆内皮素的浓度显著降低($P < 0.05$),羧苯磺酸钙低剂量组差异无统计学意义($P > 0.05$)。

综上所述,合适剂量的羧苯磺酸钙可通过降低内皮素的释放、抑制血管收缩以及降低毛细血管通透性、血液黏滞性和血小板活性,显著降低心肌梗死时特异性标志物的浓度,在大鼠急性心肌梗死发生的早期发挥保护心肌细胞的作用。其具体作用机制仍需后续研究进一步探讨。

参考文献

- [1] 张成珍,张玉侠.羧苯磺酸钙的应用进展[J].医药导报,2012,31(9):1181.
- [2] Szlavay L, Repa I, Lengye I, et al. Effects of intravenous streptokinase and CLS 2210 (calcium dobesilate) on the biochemical markers of early acute myocardial infarction: a historic comparison with both studies[J]. *Angiology*, 1992, 43(9):741.
- [3] Huttel K, Hollenberg NK. Effect of CLS 2210 (calcium dobesilate) on survival and myocardial infarction size in the rat: influence of dose and duration of treatment[J]. *Cardiology*, 1992, 80(1):28.
- [4] 岳玉武.急性心肌梗死生化标志物研究进展[J].内蒙古医学杂志,2013,45(4):460.
- [5] 肖继明,陈锐华,徐军,等.急性心肌梗死患者血浆中早内皮素的动态变化及意义[J].医学研究生学报,2007,20(3):331.
- [6] 廖昌龙,李启运,李雄根.尿激酶和链激酶对大鼠血小板功能的影响[J].中国病理生理杂志,2002,18(4):426.
- [7] 李智,于晓风,曲绍春,等.西洋参叶20s-原人参三醇组皂苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].吉林大学学报,2009,35(1):51.
- [8] 赵玉勤,朱锐,吴校林,等.羧苯磺酸钙治疗高血压性心脏病72例[J].医药导报,2013,32(8):1025.
- [9] 张伟河.羧苯磺酸钙在冠脉慢血流中的应用[J].中国伤残医学,2013,21(11):491.
- [10] 李波,高美娟,张洁,等.2,5-二羧苯磺酸钙对糖尿病大鼠心肌保护作用的研究[J].山东大学学报:医学版,2009,47(10):9.

(收稿日期:2014-04-14 修回日期:2014-11-05)

(编辑:邹丽娟)

《中国药房》杂志——《中国科学引文数据库》(CSCD)源期刊,欢迎投稿、订阅