

徐长卿内关穴位注射对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响*

孙平龙, 朱晓梅, 卫洪昌(上海中医药大学病理学教研室, 上海 200032)

摘要: 目的: 研究中药徐长卿内关穴位注射对实验性心肌缺血再灌注损伤的作用及其机制。方法: 建立心肌缺血再灌注损伤动物模型, A组动物由内关穴注入徐长卿注射液; B组动物肌注徐长卿注射液; C组动物静脉注射维拉帕米; D组动物内关穴注射生理盐水进行治疗。定时测定血液动力学指标, 实验结束时取血小板及心肌组织测定钙离子含量。结果: 徐长卿内关穴位注射可显著升高因缺血再灌注损伤所致动脉压和左室内压下降($P < 0.05$); 降低异常升高的LVEDP和 $-dp/dt_{max}$ 值($P < 0.05$), 减轻心肌细胞内钙超载。其对心肌舒张功能和钙离子作用与维拉帕米注射液相仿, 对于心肌收缩功能作用优于其余各组。结论: 徐长卿内关穴位注射抗心肌缺血再灌注损伤的作用可通过减轻心肌细胞内钙超载而改善心脏功能。

关键词: 徐长卿; 再灌注损伤; 钙离子; 心脏血液动力学; 大鼠; 内关穴位注射

中图分类号: R282.710.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2000)04-0212-04

Effects on myocardial ischemia re-perfusion injury treated by injection of *Radix Cynanchi Panticulati* (RCP) on Neiguan(PC6) acupoint in rat

SUN Ping-long, ZHU Xiao-mei, WEI Hong-chang (China Shanghai University of Traditional Chinese Medicine and Pharmacology, Shanghai 200032, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE: To Study the effects on myocardial ischemia re-perfusion injury treated by RCP on PC6 acupoint in rat. **METHODS:** Wistar rats were randomized into groups of RCP acupoint group(A); i. m. RCP group(B); verapamil group(C) and NS control group(D). Myocardial ischemia re-perfusion injury models were set up. The hemodynamics parameters of the blood pressure(BP), left ventricular end systolic pressure(LVESP), left ventricular end diastolic pressure(LVEDP) and $\pm dp/dt_{max}$ were recorded during the experiment. The intracellular free calcium of the serum platelets and myocardial cells were measured with fluorescent probe, fura-2 established 2h after myocardial ischemia re-perfusion injury models. **RESULTS:** In group A and group C, the concentration of calcium ion in myocardial cell were lower than that in group D($P < 0.01$). Group A was higher than group D in BP, LVESP and was lower in LVEDP, $-dp/dt_{max}$. Difference of the up-mentioned indexes between group A and group C appeared to be insignificant. **CONCLUSION:** PC6 acupoint injection by RCP might increase myocardial contractility and prevent calcium overlodad in myocardial ischemia reperfusion injury rat.

KEY WORDS: *radix cynanchi paniculati*; ischemia re-perfusion injury; calcium ion; hemodynamics; rat; PC6 acupoint injection

防治心肌缺血再灌注损伤所致的心功能低下, 减轻心肌损伤, 是当前一个重要研究课题。

缺血再灌注损伤机理与心肌细胞缺氧、自由基损伤和细胞内钙超负荷等因素有关。有资料表明中药徐长卿注射液防治冠心病心肌缺血有良

* 上海市教委资助课题(项目编号: 96C05)

好疗效;而针刺内关穴对缺血心肌有保护作用。本研究旨在应用中药(小剂量徐长卿注射液)和传统疗法(内关穴位注射)相结合的方法,探讨对心肌缺血再灌注损伤的保护作用及其机制,为临床防治心肌缺血再灌注损伤提供新的治疗手段及提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 药品和试剂

徐长卿注射液(上海曙光医院中药制剂室提供,批号:980914)。盐酸维拉帕米注射液(上海禾丰制药有限公司出品,批号:981001)。Fura-2 购自 Sigma 公司,II 型胶原酶购自 Worthington 公司。

1.2 动物与分组

Wistar 大鼠 40 只,雄性,体重 200~250g。以上动物由本校实验动物中心提供,按随机方法分为 4 组,每组 10 只动物。各组动物按我们以往报道的方法^[1]制造心肌缺血再灌注损伤动物模型,然后分组进行治疗。A 组为徐长卿内关组:双侧内关穴注入徐长卿注射液 0.2ml(生药 20mg/kg);B 组为徐长卿肌注组:im 徐长卿注射 1ml(生药 100mg/kg);C 组为维拉帕米组:1:5 葡萄糖注射液稀释后按 4mg/kg 剂量自股静脉缓慢注入维拉帕米。D 组为生理盐水对照组:内关穴位注射生理盐水 0.2ml。

1.3 实验方法

各组动物均在麻醉和全身抗凝状态下,分离右侧颈总动脉,插入 PE₅₀管至左心室,导管末端接压力传感器,连接于生理记录仪上;同时右股动脉插管记录动脉压;股静脉插管以备药物注射用。心电图 II 导联联结。输出信号经 A/D 转换输入计算机,经程序处理获得大鼠左室内压(LVESP)和左室舒张末压(LVEDP);左室内压最大上升(下降)变化速率($\pm dp/dt_{max}$)等心功能指标。实验共记录 6 次,分别为实验前,结扎冠状动脉 30min,再灌后 30min,再灌后 60min,再灌后 90min,再灌后 120min。定时测量记录心功能指标。各实验组均在冠状动脉结扎后 30min(血流复通时)进行分组治疗,大鼠内关穴取穴定位参见文献^[2]。

实验结束后,处死动物,取血分离血小板,另取左心室心肌 250mg 消化计数后进行钙离子浓度测定。细胞处理方法与测定步骤参见有关文献^[3,4]。所用仪器为双波长 F4500 荧光分光光度计(日本日立公司产品),本校科研测试中心负责测试。

1.4 统计学处理

实验数据用均数加减标准差表示,组间比较用 *t* 检验进行差别显著性检验。

2 结果

2.1 大鼠动脉血压变化情况 见表 1。

表 1 各组大鼠动脉收缩压(mmHg)变化情况($\bar{x} \pm sd$)

组别	例数	结扎前	结扎 30min	再灌 30min	再灌 60min	再灌 90min	再灌 120min
A	10	119±10	95±13*	108±11	91±14*	98±12*	102±11** #
B	10	120±8	94±10*	98±13*	88±17*	93±18*	96±16*
C	10	119±12	93±14*	110±16	96±13*	96±15*	89±13*
D	10	121±16	94±14*	100±13*	86±12*	87±14*	88±10*

* * 与结扎前相比, $P < 0.01$; # 与同时间对照组(D 组)相比, $P < 0.05$

各组大鼠冠状动脉结扎后,动脉收缩压显著下降,与结扎前相比差别非常显著($P < 0.01$),虽然在再灌注 30min 时,血压有所回升,但随即因再灌注损伤而使血压有所下降。内关穴位注射组(A 组)动脉收缩压下降幅度较少,在再灌 120min 时与生理盐水对照组(D 组)相比有明显差异($P < 0.05$),其余各组与 D 组相比,差异无显著意义($P > 0.05$)。

2.2 大鼠左室内压(LVESP)和左室舒张末压(LVEDP)变化情况 见表 2,表 3。

各组大鼠结扎前后 LVESP 差别非常显著,呈明显下降,内关穴位注射组(A 组)下降速度较其他几组为慢,但仅在再灌 120min 时, LVESP 为 144±13,与生理盐水对照组(D 组)相比,差别才有显著意义($P < 0.05$)。大鼠结扎前后 LVEDP 差别显著,各组心室舒张末压在冠状动

脉结扎后部有不同程度升高; A 组(徐长卿内关穴位注射组)与 C 组(维拉帕米组)在再灌注

90min 后, LVEDP 有所下降, 在再灌注 120min 时与对照组相比差别有显著意义($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠 LVESP(mmHg) 变化情况($\bar{x} \pm sd$)

组别	例数	结扎前	结扎 30min	再灌 30min	再灌 60min	再灌 90min	再灌 120min
A	10	150±18	127±8*	136±17	124±10*	130±18*	144±15 [#]
B	10	145±20	116±16**	128±15*	122±12**	125±17*	132±19*
C	10	149±14	119±9*	127±9*	115±13**	122±8**	129±17*
D	10	149±10	121±17**	129±22*	121±19**	123±20**	128±14**

* (**)与结扎前相比, $P < 0.05$ (0.01), # (**#)与同时间对照组(D 组)相比, $P < 0.05$ (0.01)。

2.3 大鼠左室内压最大上升(下降)变化速率($\pm dp/dt_{max}$)情况 见表 4, 表 5。

大鼠冠状动脉结扎前后+ dp/dt_{max} 的变化与血压与左室内压变化基本相一致。徐长卿内

关穴位注射组(A 组)虽较其他几组稍好, 但与生理盐水对照组(D 组)相比, 差别无显著意义($P < 0.05$), 其他治疗组与对照组相比也无显著差异。

表 3 各组大鼠 LVESP(mmHg) 变化情况($\bar{x} \pm sd$)

组别	例数	结扎前	结扎 30min	再灌 30min	再灌 60min	再灌 90min	再灌 120min
A	10	-6.5±3.2	-10.8±3.4*	-12.4±5.8*	-11.6±5.4*	-10.5±2.3 [#]	-10.6±3.4 [#]
B	10	-7.8±2.1	-12.3±5.7*	-11.5±4.0	-13.2±2.4**	-13.3±2.8**	-12.0±2.8*
C	10	-8.6±3.8	-11.5±2.4*	-13.3±4.9**	-10.0±3.5	-9.7±0.5	-9.5±4.1 [#]
D	10	-6.6±4.5	-12.8±2.6**	-13.0±9.2**	-13.3±8.8**	-14.1±5.5**	-14.8±3.8**

* (**)与结扎前相比, $P < 0.05$ (0.01); # (**#)与同时间对照组(D 组)相比, $P < 0.05$ (0.01)。

表 4 各组大鼠 + dp/dt_{max} (mmHg/s) 变化情况($\bar{x} \pm sd$)

组别	例数	结扎前	结扎 30min	再灌 30min	再灌 60min	再灌 90min	再灌 120min
A	10	4525±545	3865±585*	4285±774	3852±657*	3795±732*	3921±587*
B	10	4428±584	3788±451*	4108±672	3804±746*	3677±426*	3844±724*
C	10	4482±443	3884±544*	4076±576	3820±662*	3738±634*	3808±632*
D	10	4612±574	3846±602*	4134±842	3790±792*	3544±697*	3784±614*

* (**)与结扎前相比, $P < 0.05$ (0.01)

大鼠- dp/dt_{max} 的变化结果表明: 动物在结扎冠状动脉前后 30min 有显著差异($P < 0.01$)。在再灌注后 30min 后各组大鼠- dp/dt_{max} 值均有所回升。以后各组变化趋势分化。C 组与

A 组- dp/dt_{max} 值基本保持原状, 甚至有所回升(C 组)。D 组则进行性下降, 两者差别显著。B 组- dp/dt_{max} 在再灌注 30min 后各时间段均比 D 组为高, 但差别不显著($P > 0.05$)。

表 5 各组大鼠- dp/dt_{max} (mmHg/s) 变化情况($\bar{x} \pm sd$)

组别	例数	结扎前	结扎 30min	再灌 30min	再灌 60min	再灌 90min	再灌 120min
A	10	-2645±320	-2132±342**	-2362±422	-2110±452**	-2134±448** [#]	-2326±446 [#]
B	10	-2488±354	-2010±458**	-2274±496	-2034±524*	-2084±426*	-2292±454
C	10	-2588±420	-2114±398**	-2386±416	-2264±552	-2252±462 [#]	-2436±392 [#]
D	10	-2672±452	-2198±412**	-2394±334	-2018±476**	-1798±562**	-1854±472*

* (**)与结扎前相比, $P < 0.05$ (0.01); # (**#)与同时间对照组(D 组)相比, $P < 0.05$ (0.01)

2.4 各组大鼠钙离子含量变化情况 见表 6。

结果表明: 大鼠心肌细胞内钙离子含量各治疗组与生理盐水对照组(D 组)相比, 均有不同程度的降低。以维拉帕米治疗组(C 组)徐长卿内关穴位注射组(A 组)为好, 与生理盐水对

照组(D 组)相比, 差别有显著意义($P < 0.01$)。大鼠血小板内钙离子含量以生理盐水对照组(D 组)最高, 维拉帕米治疗组(C 组)最低, 两组差异显著($P < 0.05$)。徐长卿内关穴位注射组(A 组)和徐长卿肌肉注射组(B 组)与生理盐水

对照组(D组)相比,虽然血小板内钙离子含量较D组低,但无统计学意义($P > 0.05$)。

表6 各组大鼠钙离子含量($\text{mmol} \cdot \text{L}$)
变化情况($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	心肌细胞	血小板
A	10	198.2 ± 15.6**	114.3 ± 13.4
B	10	208.3 ± 18.8*	112.2 ± 15.8
C	10	170.8 ± 17.5**	102.7 ± 14.2*
D	10	224.6 ± 16.8	118.4 ± 12.3

* (**)与对照组(D组)相比, $P < 0.05$ (0.01)

3 讨论

中药徐长卿始载于《神农本草经》,其作用为祛风止痛,解毒消肿。现代药理研究已从中分离出多种有效成分,对各种疼痛有一定疗效^[5]。有报道电针内关穴对急性心肌缺血的动物可使缺血心肌内较多的微血管网开放,改善缺血状况^[6]。本研究结果显示:中药徐长卿配合内关穴位注射对大鼠冠状动脉结扎造成的心肌缺血再灌注损伤所导致的心功能低下,疗效优于单独使用,表现为能提高心肌的收缩力、提升左室内压与动脉血压、改善心脏的舒张功能。内关穴位注射徐长卿,合针、穴、药之功能,对心肌缺血再灌注损伤有很好的保护作用。有资料表明,大鼠心肌缺血/再灌注损伤时,血浆及心肌组织内皮素-1(ET-1)含量明显增加。增加的内皮素可直接作用于心肌细胞,抑制心肌能量代谢,参与心肌缺血/再灌注损伤的发病过程^[7]。而徐长卿等中药具有在体内拮抗ET-1的作用^[8]。可以减轻内皮素对机体的损伤,从而改善心功能。

有报道,心肌缺血时间20~40min再灌注损伤属于可逆性损伤,其损伤机理之一是心肌细胞内钙离子超负荷,细胞内钙离子浓度与细胞受损程度正相关^[9]。本实验结果证实:在心肌缺血再灌注损伤的情况下,心肌细胞内钙离子浓度升高,应用钙离子拮抗剂维拉帕米治疗有明显疗效,徐长卿无论肌注或穴位注射均能有效降低心肌细胞内钙离子浓度,减轻心肌细

胞内钙超载,保护心肌细胞,从而改善心肌的舒张功能,提高心肌收缩力。

近年来,对心肌缺血再灌注损伤的研究进展表明,心肌细胞即使短时间缺血,心肌在形态、机能、代谢均可发生不同程度异常,这些异常在血流恢复后并不能立即消失,可持续数小时至数天。主要表现为心肌收缩功能障碍,冠脉功能储备降低等。称之为心肌迟呆。小剂量徐长卿内关穴位注射可以缩短心肌迟呆时程,在整个实验过程中,应用中药徐长卿治疗的两组,各项心功能指标均有好转倾向,尤以A组为佳,可能与徐长卿能增加缺血心肌的冠脉血流量,改善心肌能量代谢的作用有关^[10]。其确切作用机制还有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] 卫洪昌,孙平龙,朱晓梅,等.不同治则治法对大鼠心肌缺血再灌注损伤的心肌超微结构和钙离子分布的比较研究[J].上海医学,1997,20(5):267.
- [2] 林文注,王佩.实验针灸学[M].上海:上海科学技术出版社,1994,286
- [3] Farmer B B, Manina M, Williams E S, et al. Isolation of calcium tolerant myocytes from adult rat hearts; review of the literature and description of a method[J]. Life Sci, 1984, 33(1): 1.
- [4] Qian L, A Altschuld, Stoke B T Stoke. Myocyte deenergization and intracellular free calcium dynamics[J]. Am J Physiol, 1988, 255(2): 162.
- [5] 楼凤昌,李霞,马琴玉,等.徐长卿中异丹皮酚的结构测定[J].中国药科大学学报,1989,20(3):167.
- [6] 罗明富,曹庆淑,刘俊岭,等.电针“内关”穴对家兔急性心肌缺血区微血管作用的透射电镜观察[J].针刺研究,1995,20(4):11.
- [7] 汤健,唐朝枢.内皮素[M].北京:北京医科大学、北京协和医科大学联合出版社,1994,267.
- [8] 王峰,杨连春,刘敏,等.抗蛇毒中草药拮抗ET-1和S6b作用的初步研究[J].中国中药杂志,1997,22(10):620
- [9] 金惠铭.病理生理学[M].北京:人民卫生出版社,1997.145.
- [10] 杨宗正.徐长卿的临床应用[J].江苏中医杂志,1983,(2):55.

收稿日期:2000-01-24