



麝香保心丸对一次性力竭运动大鼠心肌损伤标记物和 C 反应蛋白的影响

陈金良^{1*}, 刘征¹, 张晶², 车鹏程³, 李海军¹, 李芳¹, 卢凡¹, 程庆强¹

(1. 中国人民解放军第 281 医院, 河北 秦皇岛 066100; 2. 秦皇岛市第一医院, 河北 秦皇岛 066101;
3. 河北联合大学医学院, 河北 唐山 063000)

【摘要】 目的 探讨麝香保心丸对一次性力竭运动大鼠心肌损伤标记物和 C 反应蛋白的影响。**方法** 选择雄性 Wistar 大鼠 52 只, 随机分成实验组和对照组, 每组 26 只。两组大鼠每天自由进食饮水相同, 实验组大鼠每天麝香保心丸 2 粒 (每粒 22.5 mg) 分 2 次灌胃, 共两周。两组均接受力竭游泳运动, 制成力竭运动动物模型, 分别测定和比较两组大鼠血清和心肌组织肌酸激酶 (CK)、肌酸激酶同工酶 (CK-MB)、肌钙蛋白 T (TnT)、B 型脑钠肽 (BNP) 和 C 反应蛋白 (CRP) 水平。**结果** 大鼠平均力竭运动游泳时间实验组较对照组明显延长 ($P < 0.01$)。实验组血清和心肌组织 CK、CK-MB、TnT、BNP 和 CRP 水平均明显低于对照组 ($P < 0.05$)。**结论** 麝香保心丸可显著降低力竭运动大鼠血清和心肌中 CK、CK-MB、TnT、BNP 和 CRP 水平, 能够减轻力竭运动后心肌损伤。

【关键词】 大鼠; 力竭运动; 麝香保心丸; 心肌损伤标记物; C 反应蛋白

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2015) 05-0509-04

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2015.05.013

Influence of Shexiangbaixinwan on myocardial injury markers and C-reactive protein after a single bout of exhaustive exercise in rats

CHEN Jin-liang¹, LIU Zheng¹, ZHANG Jing², CHE Peng-cheng³, LI Hai-jun¹, LI Fang¹, LU Fan¹, CHENG Qing-qiang¹

(1. Department of Cardiology, No. 281 Hospital of PLA, Qinhuangdao 066100, China;

2. Department of Cardiology, People's Hospital of Qinhuangdao City, Qinhuangdao, Hebei 066000;

3. Hebei University School of Medicine, Tangshan City, Hebei 063000)

【Abstract】 Objective To observe the influence of a Chinese traditional medicine, Shexiangbaixinwan, on myocardial injury markers and C-reactive protein in exhaustively exercised rats. **Methods** A total of 52 male 11-12 week old Wistar rats were divided randomly into two groups: the experimental ($n = 26$) and control groups ($n = 26$). The two groups of rats took food and water freely. The experimental group of rats was given Shexiangbaixinwan (2 capsules per day) for two weeks. Following a single bout of exhaustive swimming (≥ 2 hrs), the serum and myocardial CK, CK-MB, TnT, BNP and CRP in both groups were determined and compared. **Results** Compared with the control group, the exhaustive swimming time of the experimental group was significantly prolonged ($P < 0.01$). The levels of serum and myocardial CK, CK-MB, TnT, BNP and CRP in the experimental group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$ for all). **Conclusions** The Chinese traditional medicine Shexiangbaixinwan can significantly decrease the levels of rat serum and myocardial CK, CK-MB, TnT, BNP and CRP after a single bout of exhaustive swimming, and can alleviate myocardial injury.

【Key words】 Chinese medicine, Shexiangbaixinwan; Rat; Exhaustive swimming; Myocardium injury, markers; C-reactive protein

[基金项目] 河北省科学技术发展计划项目 (编号: 112761169)。

[通讯作者] 陈金良 (1965 -), 男, 主任医师, 医学博士。研究方向: 冠心病治疗。E-mail: cj281yy@163.com

力竭运动训练可通过引起心肌代谢和心肌细胞通透性异常,导致心肌损伤坏死,从而对心肌产生不利影响^[1]。因此,如何防治力竭运动对心肌造成的损伤,保护心肌功能和增强运动能力,成为新的研究热点。本研究通过观察中成药麝香保心丸对一次性力竭游泳运动大鼠心肌损伤标记物和炎症因子的影响,探讨其对心肌损伤的防治作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选择 11 ~ 12 周龄清洁级雄性 Wistar 大鼠 52 只,体重(200 ± 15) g,由河北医科大学实验动物中心提供[SCXK(冀)2003-1-003],实验在河北联合大学实验动物中心完成[SYXK(冀)2010-0038]。同次实验的各组大鼠均为同窝大鼠,分笼饲养,自由进食饮水,饲养室环境温度(21 ± 4)℃,相对湿度 48% ~ 56%,光照时间每天 12 h。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组

随机分成对照组和实验组,每组 26 只。两组大鼠每天自由进食饮水相同,实验组大鼠给予麝香保心丸(上海和黄药业生产,批号 140314;每粒 22.5 mg)灌胃,每次 1 粒,每天 2 次,共两周。两组均接受一次性力竭运动游泳。

1.2.2 动物模型制备

两组大鼠分别在长 100 cm、宽 50 cm、高 50 cm 的玻璃游泳槽中游泳,水深 40 cm,水温(31 ± 1)℃。正式实验前 1 d 进行 1 次适应性游泳运动 10 min。后将各组大鼠投入游泳槽中,自入水至游泳力竭的时间即游泳持续时间(短于 2 h 的大鼠除外)。游泳时尾部负重自身体重 2% 的负荷,力竭标准按 Thomas 报道的文献^[2]:大鼠游泳动作明显失调,且不能再坚持,沉入水下 10 s 不能自主上浮。短时间内力竭的大鼠,捞出休息 5 min,继续游泳,运动时间不少于 2 h。

1.2.3 样本采集

两组动物力竭性游泳后即刻,分离穿刺右颈静脉采血 4 mL,以 3000 r/min 离心 15 min 后取上清液 -70℃ 保存备检。然后将大鼠脱颈椎处死,迅速切取心脏,生理盐水洗去心腔内血液,剔除多余脂肪,剪下左心室肌 20 mg 剪碎,加 2 mL 生理盐水,放入玻璃匀浆管进行匀浆、离心,取上清液 -70℃ 保存备检。

1.2.4 血清和心肌组织实验指标检测方法

以下列方法检测两组大鼠血清和心肌组织的肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、肌钙蛋白 T(troponin T, TnT)、脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)和 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)。CK、CK-MB 用免疫抑制法检测,TnT 应用酶联免疫法(Cusabio 型酶联免疫测定仪),BNP 由 Triage 快速定量监测仪测定,CRP 应用电化学发光法(罗氏 601 测定仪)测定。试剂盒由南京建成生物工程公司提供。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 13.0 软件包,结果计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组大鼠力竭游泳运动时间

两组大鼠均完成力竭游泳运动,对照组大鼠平均力竭游泳运动时间为(4.16 ± 1.04) h,实验组为(5.26 ± 1.12) h,两组在运动时间方面差异有显著性($P < 0.05$)。游泳运动前喂养麝香保心丸的大鼠耐受游泳运动时间相对延长,运动耐力增强。

2.2 两组大鼠血清中 CK、CK-MB、TnT、BNP 和 CRP 水平

表 1 显示,实验组力竭运动心肌损伤各项指标和 CRP 水平均低于对照组(P 均 < 0.05),说明麝香保心丸能够有效地减轻力竭运动对大鼠心肌造成的损伤。

表 1 对照组和实验组力竭运动后血清 CK、CK-MB、TnT、BNP 和 CRP 水平($\bar{x} \pm s, n = 26$)

Tab. 1 The changes of serum CK, CK-MB, TnT, BNP and CRP after exhaustive exercise in the rats

组别 Groups	CK /IU/L	CK-MB /IU/L	TnT/ μ g/L	BNP /ng/L	CRP /mg/dL
对照组 Control	1168.2 ± 447.6	218.9 ± 113.6	2.14 ± 0.73	73.25 ± 21.14	7.38 ± 3.53
实验组 Experimental	619.8 ± 193.3 *	108.7 ± 42.8 *	0.86 ± 0.19 *	36.77 ± 12.31 *	3.52 ± 0.86 *

注: * $P < 0.05$, 与对照组比较。

Note. * $P < 0.05$, compared with the control group.

2.3 两组大鼠心肌中 CK、CK-MB、TnT、BNP 和 CRP 水平

表 2 显示,实验组大鼠在力竭运动后心肌组织中 CK 等各项指标和 CRP 的活性均明显低于对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.05$)。由于力竭运动可造成心

肌损伤,心肌细胞内这些酶大量释放,致使心肌中酶的活性升高,而应用麝香保心丸后可使心肌细胞内心肌酶和 CRP 释放减少,进一步说明其可减轻力竭运动对大鼠心肌造成的损伤,对心肌可以起到保护作用。

表 2 对照组和实验组力竭运动后心肌组织 CK、CK-MB、TnT、BNP 和 CRP 水平 ($\bar{x} \pm s$, $n = 26$)

Tab. 2 The changes of myocardial CK, CK-MB, TnT, BNP and CRP after exhaustive exercise in the rats

组别 Groups	CK /IU/L	CK-MB /IU/L	TnT / μ g/L	BNP /ng/L	CRP /mg/dL
对照组 Control	174.9 $\pm$ 60.2	23.2 $\pm$ 7.9	1.07 $\pm$ 0.22	55.47 $\pm$ 19.66	3.16 $\pm$ 1.03
实验组 Experimental	71.5 $\pm$ 18.4 *	19.4 $\pm$ 4.2 *	0.49 $\pm$ 0.13 *	20.35 $\pm$ 10.42 *	1.76 $\pm$ 0.49 *

注: * $P < 0.05$, 与对照组比较。

Note. * $P < 0.05$, compared with the control group.

3 讨论

已有研究^[3-5]证明,力竭运动或强负荷军事训练后可导致机体血清 CK、CK-MB、TnT、BNP 和 CRP 水平增高。动物实验也表明^[6,7],大鼠力竭游泳运动后血 CK 及 CK-MB 增高,心肌细胞凋亡增多,血 CK 及 CK-MB 与心肌细胞凋亡呈平行的动态变化,可以反映早期心肌细胞凋亡情况。临床上也已应用 CK、CK-MB、肌钙蛋白(T 和 I)H 和 BNP 做为判定心肌损伤的特异性指标,近年来发现 CRP 与心肌损伤有关^[4,5]。因此可以将血 CK、CK-MB、TnT、BNP 做为心肌损伤标记物和 CRP 做为间接反应或帮助观察药物防治心肌损伤的效果指标。

本实验结果显示,应用麝香保心丸的大鼠一次性力竭游泳运动后血清和心肌组织中 CK、CK-MB、TnT、BNP 和 CRP 等浓度明显低于对照组的大鼠。就力竭运动引起血清和心肌 CK、CK-MB、TnT、BNP 和 CRP 活性增高的机制而言,可能系力竭运动导致心肌细胞内代谢产物的积累和渗透压增高,激素分泌加强;长时间运动使心肌缺氧,致使心肌细胞能量代谢障碍,导致亚细胞结构对高能磷酸化合物的竞争,使心肌细胞膜的结构变化造成心肌细胞膜通透性损伤性改变,最终出现心肌细胞内酶释放入血液增多^[6-8]。许思毛等^[9]应用电镜观察了大负荷跑台运动对大鼠心肌细胞膜 Na^+ - K^+ 泵、 Ca^{2+} 泵与肌质网 Ca^{2+} 泵活性的影响及其与心肌超微结构变化的关系。结果显示,运动后 24 h 肌质网 Ca^{2+} 泵活性显著减低,线粒体和肌原纤维结构明显损伤,肌细胞及肌质网肿胀,说明高强度运动可导致心肌微结构损伤。Smith 研究^[10]发现,力竭运动后即刻和 24 h,心肌由于缺血缺氧致使与心肌损伤的相关炎症因子分泌增多,与本实验中大鼠力竭运动后 CRP 显著升高

意义相似。

本研究中,在力竭游泳运动前喂养麝香保心丸的大鼠,之后血液和心肌组织的酶学标记物和炎症因子 CRP 明显低于对照组 (P 均 < 0.05),说明麝香保心丸可减低力竭运动大鼠的心肌酶和炎症因子活性。麝香保心丸由人工麝香、人参提取物、肉桂、苏和香、蟾酥、冰片、人工牛黄组成,药理作用是多方面的^[11]:①麝香具有强心作用,能够对抗异丙肾上腺素兴奋心脏的作用,通过抑制心肌细胞的自律性使心率减慢,因而减少心肌氧耗;②人参提取物人参茎叶总皂甙对心肌有直接保护作用,并具有保护心肌毛细血管内皮细胞及减轻线粒体损伤的作用;③肉桂有扩张冠脉、降低血管阻力,其成分桂皮醛具有抗血小板药和抗凝血酶作用,因此可促进心肌微循环,保障心肌血供;④动物实验发现苏合香有增强心肌耐缺氧能力的作用,对狗实验性心肌梗塞有减慢心率、增加冠脉血流和降低心肌耗氧作用,对兔、大鼠血小板聚集有显著抑制作用;⑤蟾酥成分蟾毒配基类通过抑制心肌细胞膜上的 Na^+ - K^+ -ATP 酶,使心肌细胞内 Na^+ 增高, Ca^{2+} 通过 Na^+ - Ca^{2+} 交换进入细胞内,从而使心肌收缩力增强;⑥另外两种成分牛黄具有强心和镇静作用;冰片可防止冠脉痉挛,能够减轻缺血所致的心肌损伤。中医认为此组方具有补气、芳香开窍、益气温阳和理气止痛功效,对应西医为扩张冠状动脉改善冠脉供血,增加心输出量;改善缺血心肌的代谢,减慢心率降低心肌耗氧;抑制心肌纤维化,减轻心肌和血管炎症反应^[12];在改善心功能同时,降低血浆 BNP 浓度。麝香保心丸还可通过抑制纤维蛋白原,有效抑制动脉壁炎症反应,使 CRP 及 P-选择素水平降低,降低冠状动脉的炎症损害进而保护血管内皮功能^[13,14],减少心血管事件发生。许多基础和临床应用研究证明麝香保心丸是安

全有效的^[15]。

总之,本研究结果进一步表明,麝香保心丸可明显降低大鼠力竭运动时血清和心肌中 CK、CK-MB、TnT、BNP 和 CRP 的水平,对力竭运动时具有防治心肌损伤和保护心脏功能作用。

参 考 文 献

- [1] 王晓伟,曹雪滨. 力竭性运动对心脏影响的研究进展[J]. 医学研究与教育, 2012, 29(2): 60-63.
- [2] Thomas DP, Marshall KI. Effects of repeated exhaustive exercises on myocardial subcellular membrane structure [J]. J Sports Med, 1988, 9(4): 257-264.
- [3] Tian Y, Nie J, Tong TK, et al. Changes in serum cardiac troponins following a 21-km run in junior male runners [J]. J Sports Med Phys Fitness, 2006, 46(3): 481-488.
- [4] 陈金良,张晶,樊欣娜,等. 新兵强负荷训练后血清心肌损伤标记物和 C 反应蛋白的变化[J]. 解放军医药杂志. 2014, 26(4): 103-105.
- [5] Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, et al. Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays [J]. N Engl J Med, 2009, 361(9): 858-867.
- [6] 吴广礼,容俊芳,温进坤,等. 过度训练致大鼠心肌和肾组织细胞凋亡及山莨菪碱干预的影响[J]. 解放军医学杂志, 2007, 32(1): 68-71.
- [7] 黄泼泼,刘江伟,张波,等. 沙漠干热环境下中暑大鼠的心肌酶及心肌组织形态学改变[J]. 中国实验动物学报, 2014(2): 11-15.
- [8] 王福文,胡志力,赵敬国,等. 反复力竭性运动后大鼠血清 cTnI 和心肌组织形态学的改变 [J]. 心脏杂志, 2011, 23(2): 197-199.
- [9] 许思毛,刘涛波,苏全生. 大负荷运动对大鼠心肌细胞膜钠钾泵、钙泵与肌浆网钙泵活性的影响 [J]. 体育科学, 2010, 30(12): 82-86.
- [10] Smith LL. Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress [J]. Med Sci Sports Exerc, 2000, 32(2): 317-331.
- [11] 王仙,徐传新,朱慧娟. 麝香保心丸的心血管系统药理作用研究进展 [J]. 中国药房, 2012, 23(43): 4114-4115.
- [12] 韩凌,陈金良,周文燕,等. 麝香保心丸联合曲美他嗪对冠心病心力衰竭患者血管内皮功能及血浆脑钠肽影响临床研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2010, 8(12): 1431-1433.
- [13] 张武宁,彭雪梅,高晓东,等. 麝香保心丸对 2 型糖尿病合并慢性心力衰竭患者心功能及 BNP 的影响 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2012, 4(3): 234-236.
- [14] 张勇,唐海沁,李瑾. 麝香保心丸治疗冠心病的 Meta 分析 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2012, 4(1): 13-17.
- [15] 魏姗姗,詹常森,邓中平. 麝香保心丸安全性研究概述 [J]. 中成药, 2015, 37(5): 1080-1082.

[收稿日期] 2015-04-13

(上接第 508 页)

3 讨论

脑卒中是一种常见的急症、重症。Zea-Longa 线栓法被广泛用于实验性局灶脑缺血模型的建立。对于模型成功与否的评价,普遍采用行为学评分以及 TTC 染色法,而对于该模型,大鼠脑血流量的变化则鲜有报道。大鼠行为学评分具有主观性,TTC 染色法虽能客观评价模型的成功性,但却需处死大鼠后取得结果,从而阻碍了后续实验的进行。同时消耗了大量的样本、试剂等。若采用大鼠脑血流量变化为评价标准,则避免浪费过多的样本,且能实时监测大鼠脑部变化,更具客观性。本实验以此为背景,制备了大鼠脑缺血模型,使用血流检测仪实时监测大鼠术前、术后即刻以及缺血 24 h 的脑部血流变化。同时以大鼠行为学评分为辅助标准,以脑梗死面积率为金标准,分析大鼠脑血流变化与脑梗死面积率间的关系。研究表明,大鼠脑梗死面积率与血

流减少量呈正相关。因此,大鼠脑血流量变化可以作为一种客观的评价标准应用于缺血模型成功的评价。

参 考 文 献

- [1] Koizumi J, Yodaide Y, Nakazawa T, et al. Experimental studies of ischemic brain edema: A new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area [J]. Jpn J Stroke, 1986, 8(1): 1-8.
- [2] Zea-Longa E, Weinstein P, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke. 1989, 20(1): 84-91.
- [3] 李晶,郭利平. 线栓法制备大鼠局灶性脑缺血模型的研究进展 [J]. 天津中医药大学学报, 2008, 27(1): 54-56.
- [4] 朱继,万东,唐文渊. 改良线栓法制备大鼠局灶脑缺血模型 [J]. 第四军医大学学报, 2008, 29(8): 685-687.
- [5] 赵浩,李永宁,王任直,等. 大鼠局灶性脑缺血模型的有效制备[J]. 中国实验动物学报, 2009, 17(6): 432-436.

[收稿日期] 2015-05-12