

毛郁金醋酸乙酯提取物对大鼠心肌缺血再灌注损伤的治疗作用

石冰卓¹, 郝春华², 张蕊², 周福军², 侯文彬², 王习著³, 臧成旭³, 王维亭^{2*}, 赵专友², 汤立达^{2*}

1. 天津医科大学, 天津 300000

2. 天津药物研究院有限公司, 天津 300193

3. 桂林八加一药业股份有限公司, 广西 桂林 541000

摘要: **目的** 研究毛郁金醋酸乙酯提取物 (CAEE) 对大鼠心肌缺血再灌注损伤的治疗作用。**方法** 采用大鼠冠脉前降支结扎释放制备心肌缺血再灌注损伤模型, 造模成功大鼠随机分为 7 组, 即模型组, CAEE (生药) 0.5、1、2、4 g/kg 组, 地奥心血康组, 单硝酸异山梨酯组, 每组 10 只, 另设假手术组 10 只。各组连续治疗给药 7 d。测定各组大鼠心肌梗死范围及心脏功能、心脏构型指标, 测定血清肌酸激酶同工酶 (CK-MB)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性, 测定血清氧化应激因子超氧化物歧化酶 (SOD)、还原型谷胱甘肽 (GSH)、丙二醛 (MDA) 水平, 观察心肌组织病理学变化。**结果** 与模型组相比, CAEE 1、2、4 g/kg 组减小心肌梗死范围、增加射血分数 (EF); CAEE 2、4 g/kg 增加左室内压最大上升速率 (+LVdp/dt_{max}), CAEE 4 g/kg 增加左室内压最大下降速率 (-LVdp/dt_{max}); CAEE 可不同程度降低 CK-MB、LDH 心肌酶水平; 可调节氧化/抗氧化平衡, 提高 SOD/MDA、GSH/MDA 值, 并使心肌细胞肿胀和炎性细胞浸润减轻。**结论** CAEE 对心肌缺血再灌注损伤具有治疗作用, 其机制可能与调节氧化/抗氧化平衡有关。

关键词: 毛郁金; 醋酸乙酯提取物; 心肌缺血再灌注; 心肌梗死; 心肌酶; 抗氧化

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)03-0633-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.03.019

Therapeutical effect of *Curcuma aromatica* ethylacetate extracts on myocardial ischemia reperfusion injury in rats

SHI Bing-zhuo¹, HAO Chun-hua², ZHANG Rui², ZHOU Fu-jun², HOU Wen-bin², WANG Xi-zhu³, ZANG Cheng-xu³, WANG Wei-ting², ZHAO Zhuan-you², TANG Li-da²

1. Tianjin Medical University, Tianjin 300000, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Co., Ltd., Tianjin 300193, China

3. Guilin BJY Pharmaceutical Co., Ltd., Guilin 541000, China

Abstract: Objective To investigate the effect of *Curcuma aromatica* ethylacetate extracts (CAEE) on myocardial ischemia reperfusion injury in rats. **Methods** The myocardial ischemia-reperfusion (I/R) injury model was established by the ligation and release of descending coronary artery in rats. I/R rats were equally divided into seven groups (i.e model group, four CAEE groups with 0.5, 1, 2, and 4 g/kg, two positive control groups with Di'ao Capsule or isosorbide mononitrate) with 10 rats in each group. In addition, 10 rats without I/R were arranged as Sham group. Each group was treated with corresponding drugs once daily for 7 d. The myocardial infarction area, cardiac function and cardiac geometric alteration were measured. Serum LDH and CK-MB were measured by chemical method and enzyme linked immunosorbent assays. The oxidative stress cytokines involving serum SOD, MDA, and GSH were measured by chemical methods. The myocardial tissue lesion was observed by histopathology. **Results** Compared with model group, myocardial infarction area was decreased in CAEE group with 1, 2, and 4 g/kg (crude drug), and the ejection fraction (EF) and the left ventricular pressure maximum rise/fall rates (\pm LVdp/dt_{max}) were increased in different degree treated with CAEE. Serum CK-MB and LDH were decreased in CAEE group. The oxidation/anti-oxidation balance can be adjusted by CAEE administration, the ratios of

收稿日期: 2017-10-10

基金项目: 重大新药创制资助项目 (2017ZX09301046)

作者简介: 石冰卓 (1991—), 男, 在读硕士生, 主要从事心血管药理学研究。Tel: (022)84845240 E-mail: 1432333504@qq.com

*通信作者 王维亭 (1974—), 男, 研究员, 主要从事心血管药理学研究。Tel: (022)84845240 E-mail: wangwt@tjpr.com

汤立达 (1963—), 男, 研究员, 主要从事新药药理、新靶点药物分子设计及新药发现研究。

Tel: (022)23006908 E-mail: tangld@tjpr.com

serum SOD/MDA and GSH/MDA were increased accompanying with trend increasing of SOD and GSH. The light microscopic myocardial tissue edema levels and inflammatory cell infiltration were significantly lightened in the CAEE group than the model group. **Conclusion** CAEE showed therapeutic benefits on rats in myocardial ischemia-reperfusion injury via the potential mechanism of balance status of oxidation and anti-oxidation.

Key words: *Curcuma aromatica* Salisb.; ethylacetate extracts; myocardial ischemia-reperfusion; myocardial infarction; myocardial enzyme; anti-oxidation

毛郁金为姜科植物毛郁金 *Curcuma aromatica* Salisb. 的干燥根茎, 主要分布于我国广东、广西等地。毛郁金所含化学成分多样, 其醇提物、醋酸乙酯萃取物主要含有倍半萜类挥发油成分和姜黄素类成分等^[1-5]。该药材味辛、微苦, 性温, 入肝、脾经, 其根入药具有行气解郁、凉血破瘀和利胆作用, 用于治疗胸闷胁痛、胃腹胀痛、黄疸、吐血、尿血、月经不调、癫痫等病症。药理研究表明毛郁金具有镇痛、止血、抗炎、免疫抑制等作用。近年来研究表明, 毛郁金的乙醇提取物治疗给药对大鼠具有明显的调血脂作用^[6], 预防给药对大鼠心肌缺血再灌注损伤有良好的保护作用^[7]。关于毛郁金醋酸乙酯提取物 (*Curcuma aromatica* ethylacetate extracts, CAEE) 治疗给药, 对心肌缺血再灌注损伤方面的研究未见报道。本研究采用大鼠冠脉左前降支结扎释放制备心肌缺血再灌注损伤模型, 观察 CAEE 治疗方式给药, 对心肌缺血再灌注损伤的治疗作用, 并从抗氧化损伤角度初步探讨其作用机制, 为新药研发提供初步实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

SD 大鼠, SPF 级, 雄性, 体质量 240~294 g, 平均 (265.0±11.8) g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 动物生产许可证号 SCXK (京) 2012-0001。

1.2 主要药品、试剂和仪器

CAEE, 棕黄色浸膏, 每克样品相当于生药材 6.04 g, 含莪术酮 5.56%, 天津药物研究院有限公司中药和健康产品研究中心提供, 批号 20150226; 地奥心血康软胶囊, 成都地奥制药集团有限公司生产, 批号 140210; 单硝酸异山梨酯片, 鲁南贝特制药有限公司生产, 批号 07141258。肌酸激酶同工酶 (CK-MB) ELISA Kit, Cusabio 公司产品, 批号 I21014796; 乳酸脱氢酶 (LDH) 测试盒 (批号 20150609)、SOD 试剂盒 (WST-1 法, 批号 20150618)、微量还原型谷胱甘肽 (GSH) 试剂盒 (批号 20150610)、丙二醛 (MDA) 测试盒 (批号

20150617), 南京建成生物工程研究所产品。MP150 多导生理信号采集系统, 美国 Biopac system Inc 产品; Vevo 770™-120 多普勒超声仪, Visual Sonics 公司产品; Rayto RT-6100 全自动酶标仪, 雷杜生命科学股份有限公司产品; TS100 显微镜成像系统, 日本 Nikon 公司产品。

2 方法

2.1 模型制备

按照本实验室前期建立的实验方法并修正制备模型^[8]。大鼠 ip 3%戊巴比妥钠 (60 mg/kg) 麻醉。胸部前外侧去毛, 常规消毒。切开皮肤、肌层, 肌层进行荷包缝合。左侧第 4 肋间隙开胸, 以环形钩拉出心脏。在左心耳下方 3~4 mm 处的冠脉前降支位置, 以 6/0 无损伤丝线穿线, 并置直径 1.6 mm 尼龙线, 连同冠状动脉前降支一起结扎, 另一端留于体外备用。将心脏放回胸腔, 排空胸腔内空气, 关闭胸腔 (假手术组动物仅在相应冠脉位置穿线, 不进行结扎, 其他手术过程与结扎动物相同)。结扎 30 min 后小心移除尼龙线进行再灌注。缝合肌层及皮肤, im 青霉素, 每天 1 次, 连续 3 d。与正常 II 导联心电图比较, 冠脉结扎后 30 min, ST 段抬高 0.1 mV 以上者为缺血成功; 再灌注后 10 min, 抬高的 ST 段下降 30%以上者为再灌注成功。不满足上述缺血或缺血再灌注标准的动物表明造模不成功, 从实验中剔除。

2.2 分组与给药

选取造模成功的大鼠 70 只, 按 ST 段心肌缺血程度随机分为 7 组, 每组 10 只。分别为模型组, CAEE (生药) 0.5、1、2、4 g/kg 组, 地奥心血康组, 单硝酸异山梨酯组, 另设假手术组 10 只。假手术组和模型组 ig 给予 0.5%羧甲基纤维素钠 (CMC-Na); CAEE 4 个剂量的受试药组分别 ig 给予 CAEE (以 0.5% CMC-Na 配制) 0.5、1、2、4 g/kg (生药); 地奥心血康组 ig 给予地奥心血康 (以 0.5% CMC-Na 配制), 剂量为 60 mg/kg (相当于临床等效量), 单硝酸异山梨酯组 ig 单硝酸异山梨酯 (以 0.5% CMC-Na 配制), 剂量为 6 mg/kg (相当于临床

等效量)。再灌注后 2 h 开始给药, 给药体积为 10 mL/kg, 每天 1 次, 连续 7 d。

2.3 检测指标

2.3.1 心肌梗死范围测定 实验结束后, 每组取 8 只大鼠心脏, 以生理盐水冲洗, -20 °C 进行冷冻处理。在结扎线下将心脏均匀切成 1 mm 厚的切片, 置 1% 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)37 °C 染色 5 min, 经病理图像分析系统测定心肌梗死范围(梗死区占左心室面积的百分比)。

2.3.2 多普勒心脏构型及心功能测定 给药结束后, 以 Vevo 770™-120 多普勒超声仪 17.5 MHz 探头测量超声心动图, 在左室短轴解剖位获取 M 模式图像并储存, 通过离线工作站软件测定舒张期的室间隔厚度(IVSd)、左室内径(LVIDd)、后壁厚度(LVPWd)和收缩期的室间隔厚度(IVSs)、左室内径(LVIDs)、后壁厚度(LVPWs), 并计算射血分数(EF)。

2.3.3 左室压最大上升/下降速率(±LVdp/dt_{max})测定 超声测定结束后, 将 SPR-320NR (2F) Millar 压力导管沿颈动脉逆向插管至左心室, 经 MP150 多导生理信号采集系统采集数据, 以 AcqKnowledge v.3.9.1 软件测量左室压最大上升速率(+LVdp/dt_{max})、左室压最大下降速率(-LVdp/dt_{max})。

2.3.4 血清心肌酶测定 实验结束后, 大鼠经腹主动脉取血, 4 °C、3 000 r/min 离心 10 min, 取上层血清酶联免疫及化学法测定血清 CK-MB、LDH。

2.3.5 氧化应激因子测定 实验结束后, 大鼠经腹主动脉取血, 4 °C、3 000 r/min 离心 10 min, 取上层血清, 化学法测定 SOD、MDA、GSH。

2.3.6 组织病理学观察 实验结束后, 每组取 2 只大鼠心脏, 用生理盐水冲洗后, 置 4% 甲醛固定。取心脏冠脉结扎部位以下, 以冠状位切取组织, 进行石蜡包埋, 制作石蜡切片, 切片厚度 5 μm, 常规 HE 染色, 显微镜进行病理观察。

2.4 统计方法

采用 SPSS version 21 进行统计分析, 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析比较组间差异性, 两组间比较采用 LSD 法。

3 结果

3.1 对心肌梗死范围的影响

CAEE 0.5、1、2、4 g/kg 治疗 7 d 后, 能不同程度缩小心肌梗死范围, 与模型组比较, 梗死范围分别下降 12.8% ($P > 0.05$)、21.6% ($P < 0.05$)、25.6%

($P < 0.05$)、27.5% ($P < 0.05$)。阳性对照药地奥心血康和单硝酸异山梨酯亦分别使梗死范围下降 23.4% ($P < 0.05$)、28.2% ($P < 0.01$)。经线性拟合计算, CAEE 1.7 g/kg 减小心肌梗死范围的程度可达到临床等效剂量地奥心血康的效果。结果见表 1。

表 1 CAEE 对大鼠心肌缺血再灌注损伤后心肌梗死范围的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of CAEE on myocardial infarction area in myocardial ischemia reperfusion rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 (生药)/(g·kg ⁻¹)	心肌梗死范围/%
假手术	—	0.0 ± 0.0
模型	—	27.3 ± 5.4 ^{###}
CAEE	0.5	23.8 ± 6.4
	1	21.4 ± 7.8*
	2	20.3 ± 6.7*
	4	19.8 ± 5.0*
地奥心血康	0.060	20.9 ± 5.4*
单硝酸异山梨酯	0.006	19.6 ± 5.6**

与假手术组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
^{###} $P < 0.001$ vs Sham group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

3.2 对心功能的影响

3.2.1 对 EF 的影响 模型组心肌缺血再灌注损伤后 7 d, EF 明显降低, 较假手术组下降 28.8% ($P < 0.001$)。CAEE 0.5、1、2、4 g/kg 连续给药 7 d 后, 使下降的 EF 分别增加了 17.0% ($P > 0.05$)、43.1% ($P < 0.05$)、57.8% ($P < 0.01$)、67.4% ($P < 0.001$)。阳性对照药地奥心血康和单硝酸异山梨酯亦可增加 EF, 分别使下降的 EF 增加了 46.3% ($P < 0.05$)、86.7% ($P < 0.001$)。结果见表 2。

3.2.2 对 ±LVdp/dt_{max} 的影响 与假手术组比较, 模型组 ±LVdp/dt_{max} 明显降低 ($P < 0.001$)。CAEE 0.5、1、2、4 g/kg 连续给药 7 d 后, 使下降的 +LVdp/dt_{max} 分别增加了 32.7% ($P > 0.05$)、44.3% ($P > 0.05$)、56.0% ($P < 0.05$)、70.5% ($P < 0.01$); 使下降的 -LVdp/dt_{max} 增加了 36.1% ($P > 0.05$)、39.6% ($P > 0.05$)、41.2% ($P > 0.05$)、65.6% ($P < 0.05$)。阳性对照药地奥心血康和单硝酸异山梨酯使下降的 +LVdp/dt_{max} 分别增加 56.9% ($P < 0.05$)、86.2% ($P < 0.001$); 使下降的 -LVdp/dt_{max} 分别增加 45.7% ($P > 0.05$)、76.3% ($P < 0.01$)。结果见表 2。

表 2 CAEE 对大鼠心肌缺血再灌注损伤后心功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of CAEE on cardiac function in myocardial ischemia reperfusion rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (生药)/(g·kg ⁻¹)	EF/%	+LVdp/dt _{max} /(mmHg·s ⁻¹)	-LVdp/dt _{max} /(mmHg·s ⁻¹)
假手术	—	75.6 ± 7.3	4 946 ± 670	-4 820 ± 635
模型	—	53.8 ± 11.2 ^{###}	3 768 ± 560 ^{###}	-3 611 ± 758 ^{###}
CAEE	0.5	57.5 ± 12.3	4 153 ± 802	-4 047 ± 1 193
	1	63.2 ± 5.5*	4 290 ± 837	-4 090 ± 729
	2	66.4 ± 8.7**	4 428 ± 473*	-4 109 ± 585
	4	68.5 ± 8.2***	4 598 ± 535**	-4 404 ± 583*
地奥心血康	0.060	63.9 ± 6.4*	4 438 ± 529*	-4 163 ± 560
单硝酸异山梨酯	0.006	72.7 ± 7.6***	4 784 ± 604***	-4 534 ± 725**

与假手术组比较: ^{###}*P* < 0.001; 与模型组比较: **P* < 0.05 ***P* < 0.01 ****P* < 0.001
^{###}*P* < 0.001 vs Sham group; **P* < 0.05 ***P* < 0.01 ****P* < 0.001 vs model group

3.3 对左室构型的影响

3.3.1 对室间隔 (IVS) 的影响 大鼠心肌缺血再灌注损伤后 7 d, 模型组 IVSs 较假手术组变薄 32.8% (*P* < 0.001), CAEE 4 g/kg 连续给药 7 d 后, 使变薄的 IVSs 增厚 83.1% (*P* < 0.001)。阳性对照药地奥心血康和单硝酸异山梨酯使变薄的 IVSs 增厚 55.4% (*P* < 0.05) 和 69.2% (*P* < 0.01)。大鼠心肌缺血再灌注损伤后 7 d IVSd 无明显变化, CAEE 各剂量组对 IVSd 无明显影响。结果见表 3。

3.3.2 对 LVPWs、LVPWd 的影响 大鼠心肌缺血再灌注损伤后 7 d, 模型组 LVPWs 较假手术组变薄 17.2% (*P* < 0.05), CAEE 4 g/kg 连续给药 7 d 后, 能使 LVPWs 变薄的程度减轻 (*P* < 0.05)。

大鼠心肌缺血再灌注损伤后 7 d LVPWd 变化不明显, CAEE 对 LVPWd 无明显影响。结果见表 3。

3.3.3 对 LVIDd、LVIDs 的影响 缺血再灌注损伤后模型组 LVIDs 明显增加, 较假手术组增加了 31.1% (*P* < 0.001)。CAEE 0.5、1、2、4 g/kg 连续给药 7 d 后, 使扩张的 LVIDs 分别缩小了 13.4% (*P* > 0.05)、43.7% (*P* > 0.05)、53.6% (*P* < 0.05)、58.0% (*P* < 0.05)。阳性对照药地奥心血康和单硝酸异山梨酯亦使扩张的 LVIDs 分别缩小 35.7% (*P* > 0.05) 和 66.1% (*P* < 0.05)。缺血再灌注损伤后模型组 LVIDd 变化不明显, CAEE 各剂量组对 LVIDd 无明显影响。结果见表 3。

表 3 CAEE 对大鼠心肌缺血再灌注损伤后 IVS、LVPW、LVID 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of CAEE on IVS, LVPW, and LVID in myocardial ischemia reperfusion rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (生药)/(g·kg ⁻¹)	IVS/mm		LVPW/mm		LVID/mm	
		IVSd	IVSs	LVPWd	LVPWs	LVIDd	LVIDs
假手术	—	1.15 ± 0.18	1.98 ± 0.28	1.85 ± 0.27	2.90 ± 0.45	6.65 ± 0.76	3.60 ± 0.66
模型	—	1.08 ± 0.37	1.33 ± 0.34 ^{###}	1.65 ± 0.31	2.40 ± 0.59 [#]	6.67 ± 0.60	4.72 ± 0.49 ^{###}
CAEE	0.5	1.06 ± 0.13	1.56 ± 0.18	1.68 ± 0.31	2.67 ± 0.46	6.68 ± 1.20	4.57 ± 1.08
	1	0.93 ± 0.23	1.60 ± 0.35	1.76 ± 0.37	2.77 ± 0.60	6.58 ± 0.98	4.23 ± 0.52
	2	0.99 ± 0.17	1.60 ± 0.39	1.60 ± 0.45	2.52 ± 0.44	6.70 ± 0.72	4.12 ± 0.46*
	4	1.08 ± 0.25	1.87 ± 0.38 ^{***}	1.89 ± 0.44	2.94 ± 0.39*	6.77 ± 0.57	4.07 ± 0.43*
地奥心血康	0.060	1.13 ± 0.16	1.69 ± 0.34*	1.59 ± 0.33	2.70 ± 0.46	6.75 ± 0.78	4.32 ± 0.50
单硝酸异山梨酯	0.006	1.02 ± 0.15	1.78 ± 0.28 ^{**}	1.82 ± 0.27	2.76 ± 0.38	7.02 ± 0.79	3.98 ± 0.74*

与假手术组比较: [#]*P* < 0.05 ^{###}*P* < 0.001; 与模型组比较: **P* < 0.05 ***P* < 0.01 ****P* < 0.001
[#]*P* < 0.05 ^{###}*P* < 0.001 vs Sham group; **P* < 0.05 ***P* < 0.01 ****P* < 0.001 vs model group

3.4 对血清心肌酶的影响

模型组缺血再灌注后 7 d, 心肌酶 LDH、CK-MB 活性均明显升高 ($P < 0.001$)。CAEE 1、2、4 g/kg 治疗 7 d 后, 可使 CK-MB 不同程度降低 ($P < 0.05$ 、0.01); CAEE 2、4 g/kg 治疗 7 d 后, 还可使 LDH 不同程度下降 ($P < 0.05$ 、0.01)。结果见表 4。

表 4 CAEE 对大鼠心肌缺血再灌注损伤后心肌酶的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of CAEE on myocardial enzyme in myocardial ischemia reperfusion rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (生药)/(g·kg ⁻¹)	CK-MB/(ng·mL ⁻¹)	LDH/(U·L ⁻¹)
假手术	—	0.67±0.21	427.7±70.1
模型	—	1.24±0.36 ^{###}	500.1±56.0 ^{###}
CAEE	0.5	1.11±0.32	493.4±21.9
	1	0.98±0.25*	484.6±32.7
	2	0.94±0.19*	478.5±39.6*
	4	0.89±0.29**	456.6±60.5**
地奥心血康	0.060	0.96±0.22*	468.8±35.1**
单硝酸异山梨酯	0.006	0.85±0.20**	451.0±51.2 ^{###}

与假手术组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$
^{###} $P < 0.001$ vs Sham group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group

表 5 CAEE 对大鼠心肌缺血再灌注损伤后氧化应激因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effect of CAEE on oxidative stress factor in myocardial ischemia reperfusion rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (生药)/(g·kg ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)	GSH/(μmol·L ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)	SOD/MDA 值	GSH/MDA 值
假手术	—	257.3±55.1	65.1±21.4	5.87±2.12	50.4±21.7	12.0±4.0
模型	—	198.5±42.3	44.7±16.0	8.22±2.48	28.0±14.8 ^{###}	5.8±2.2 ^{###}
CAEE	0.5	210.3±72.5	51.9±17.8	7.50±2.34	31.1±16.1	7.5±3.0
	1	221.5±51.3	52.4±17.4	6.85±1.43	32.9±7.5	8.1±3.4
	2	243.5±37.0	57.1±20.2	6.43±1.92	41.9±16.4*	9.7±5.3*
	4	248.9±37.8	58.0±17.4	6.14±1.69	42.8±11.5*	9.8±2.3**
地奥心血康	0.060	245.1±53.3	55.4±18.1	6.35±1.81	41.1±12.6*	10.1±6.9
单硝酸异山梨酯	0.006	234.4±42.9	51.6±16.7	6.92±2.03	36.6±12.0	8.0±3.5

与假手术组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
^{###} $P < 0.001$ vs Sham group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

病发生与发展与氧化应激损伤、心肌细胞内钙离子超载、心肌细胞凋亡与自噬、线粒体功能与能量发生代谢障碍, 以及细胞炎性因子等方面有着密切的关系^[9]。

本实验采用缺血再灌注大鼠心肌梗死模型, 结果表明 CAEE 治疗给药 7 d 后, 与模型组相比心肌梗死范围明显缩小, EF 与 $\pm LVdp/dt_{max}$ 不同程度增

3.5 对氧化应激因子的影响

大鼠缺血再灌注损伤 7 d 后, 模型组的 SOD/MDA 值、GSH/MDA 值明显下降 ($P < 0.001$), 提示氧化/抗氧化系统失衡。CAEE 2、4 g/kg 治疗 7 d 后, 可使 SOD/MDA 值较模型组分别增加 49.6% ($P < 0.05$)、52.9% ($P < 0.05$); 可使 GSH/MDA 值较模型组分别增加 67.2% ($P < 0.05$)、69.0% ($P < 0.01$)。结果见表 5。

3.6 对心肌组织病变的影响

大鼠心肌缺血再灌注损伤 7 d 后, 假手术组心肌纤维染色均匀, 细胞排列整齐, 胞质染色均匀, 核呈圆形或椭圆形, 染色质分布均匀, 间质无炎细胞浸润, 未出现心肌坏死病变; 模型组心肌缺血区, 心肌细胞间隙加宽, 心肌细胞体积增大, 有空泡现象, 间质与细胞水肿明显, 细胞核固缩, 心肌纤维排列失去正常结构, 呈明显的波浪状, 白细胞在间质中沉积严重, 出现炎细胞浸润现象; CAEE 2、4 g/kg 组均可明显改善缺血心肌细胞的损伤, 使心肌纤维排列趋于规则, 空泡变性减弱, 细胞水肿明显减轻, 炎性细胞浸润大量减少, 结果见图 1。

4 讨论

心肌缺血再灌注损伤由多种因素造成, 确切的发病机制尚未完全明确。目前报道的研究中认为本

加, 表明 CAEE 可以保护心肌免受缺血再灌注损伤, 有效改善心脏的收缩功能与舒张功能。

模型组大鼠心肌缺血再灌注损伤 7 d 后, 收缩期左室室壁厚度 (IVSs、LVPWs) 变薄, 收缩期 LVIDs 增大, 该心肌重塑与心脏构型变化受心肌肥厚以及心肌收缩力多重因素调节^[10], 在心肌梗死早期心肌收缩力影响可能占主要地位。心肌重塑及心脏构型

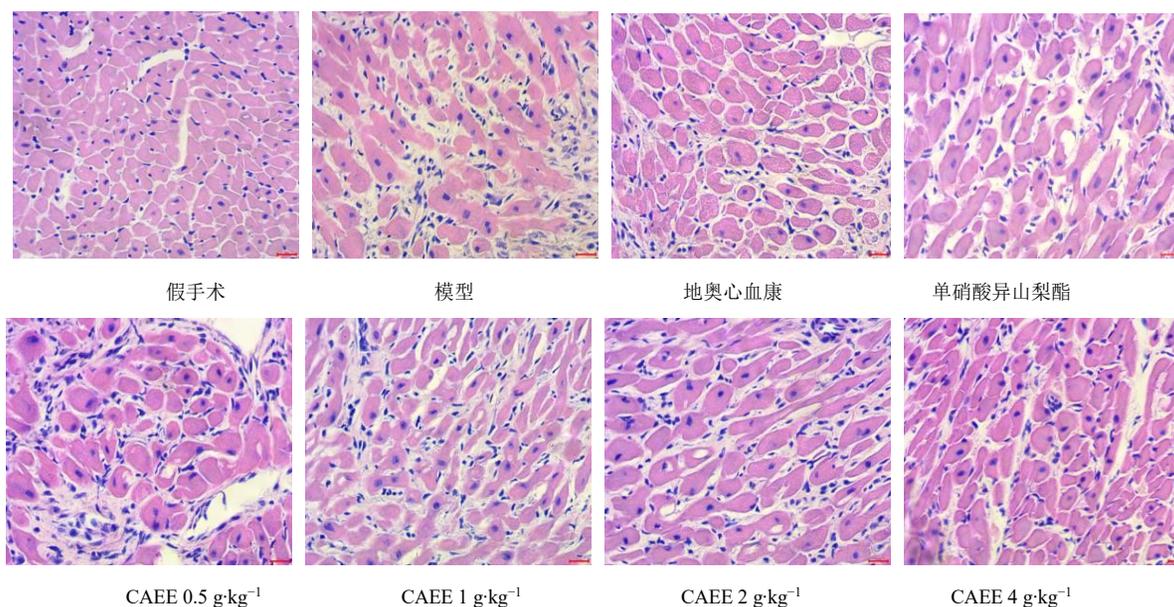


图 1 CAEE 对心肌组织病变的影响 (HE, $\times 200$)

Fig. 1 Effect of CAEE on pathological changes of myocardia tissues in myocardial ischemia reperfusion rats (HE, $\times 200$)

变化与心肌收缩力及心功能互为因果, 相互影响。CAEE 治疗后, 可使扩张的 LVIDs 缩小, 能使 IVSs、LVPWs 变薄的程度有所减轻, 表明 CAEE 可能具有改善心肌重塑、纠正扩张的心脏构型作用。

心肌组织中含有多种特异性较高的酶, 心肌损伤或者坏死后, 心肌细胞膜通透性增加或者破裂, 这些酶不同程度地释放到血清中, 各种酶的释放可加重缺血对心肌的损伤^[11], 从而形成“损伤-酶释放-再损伤”恶性循环。心肌酶谱中, CK-MB 特异性较高, 发病后出现较早, 是目前诊断心肌梗死与判断疗效较好的指标之一; LDH 特异性弱, 但持续时间较长, 作为急性心肌梗死后期的诊断与疗效指标亦有优势。本实验结果表明, CAEE 可不同程度降低血清 CK-MB、LDH 的活性, 提示 CAEE 对心肌具有明显的保护作用, 可减少心肌酶的漏出, 可能在“损伤-酶释放-再损伤”循环机制中显示有益效应。

心肌缺血再灌注时, 通过黄嘌呤氧化酶途径和激活白细胞产生的自由基在损伤过程中发挥重要作用。心肌中积累的自由基不能及时排除, 就会攻击心肌细胞, 最终造成心肌的损伤。MDA 是脂质过氧化终末代谢产物, 其含量反应脂质过氧化程度及氧自由基的含量。SOD、GSH 以及谷胱甘肽过氧化酶 (GSH-Px) 等组成了体内抗自由基氧化损伤的酶防御体系, 对体内氧化/抗氧化平衡稳态的维持具有重要意义。SOD 是一种特定生物催化功能的蛋白

质, 是主要自由基清除酶之一, 其体内活性可反应组织抗氧化防御体系的能力。正常时, 细胞内 SOD 使氧自由基转变成过氧化氢 (H_2O_2), 再通过 GSH、GSH-Px 的作用还原成水和分子氧, 从而清除自由基^[12-13]。本实验用 MDA、SOD、GSH 及其比值作为心肌缺血氧化/抗氧化平衡状态的检测指标, 研究显示, CAEE 对 SOD、GSH 活性有提高趋势, 同时有降低 MDA 含量的趋势, 而 SOD/MDA 值、GSH/MDA 值变化更加显著。表明 CAEE 可以改善氧化/抗氧化平衡, 促进氧自由基的清除, 减轻氧化应激造成的心肌损伤。CAEE 通过氧化/抗氧化平衡途径减轻心肌缺血再灌注损伤, 与文献报道的 CAEE 预防给药 7 d 对氧化应激因子影响的结果相似^[7]。

组织病理学观察显示, CAEE 可明显改善缺血心肌细胞的损伤, 减轻细胞水肿, 减少炎性细胞浸润, 提示心肌损伤得到明显减轻。

本实验采用治疗给药的方式, 确保动物模型构建成功的同时, 与临床疾病状态及药物实际应用情况更加接近。研究表明, CAEE 可有效改善心肌缺血再灌注损伤, 能够改善心功能, 缩小心肌梗死范围, 具有很大开发价值。对于 CAEE 在抗炎机制、改善心肌能量代谢机制, 以及抗心肌细胞凋亡机制等方面的研究, 还需进一步探讨。

参考文献

- [1] 黄艳, 柴玲, 蒋秀珍, 等. 毛郁金的化学成分研究

- [J]. 中草药, 2014, 45(16): 2307-2311.
- [2] 蒋秀珍, 黄艳, 林霄, 等. 毛郁金脂溶性成分的GC-MS分析 [J]. 广西中医药, 2014, 37(2): 75-78.
- [3] 梁冰, 覃兰芳, 赖茂祥, 等. 高效液相色谱法测定广西壮药毛郁金中姜黄素的含量 [J]. 广西科学, 2012, 19(2): 149-151.
- [4] 林娟, 王述, 周福军, 等. 毛郁金化学成分的分离与鉴定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2016, 33(11): 850-853.
- [5] 柴玲, 刘布鸣, 林霄, 等. 毛郁金挥发油化学成分的GC-MS分析 [J]. 中药材, 2012, 35(7): 1102-1104.
- [6] 吴尤娇, 黄敏桃, 黄云峰, 等. 毛郁金乙醇提取物降血脂作用研究 [J]. 广西科学, 2015, 22(2): 130-134.
- [7] 王秋月, 冯洁, 莫叶勤, 等. 毛郁金醇提物对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用 [J]. 华西药学杂志, 2017, 32(3): 244-246.
- [8] 郑海娟, 王维亭, 郝春华, 等. 地奥心血康对大鼠心肌缺血再灌注损伤的治疗作用 [J]. 天津医药, 2015, 43(5): 491-495.
- [9] 黄欣玮, 赵桂峰, 毛静远. 中药复方防治心肌缺血再灌注损伤机制的研究进展 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(23): 2773-2776.
- [10] Wang W T, Zhao Z Y, Han Y M, *et al.* Effects of Astragaloside IV derivative on heart failure in rats [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(1): 48-53.
- [11] Thangaiyan R, Chellam R, Selvaraj S, *et al.* Effect of ursolic acid on cardiac marker enzymes, lipid profile and macroscopic enzyme mapping assay in isoproterenol-induced myocardial ischemic rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(11): 3971-3977.
- [12] Khatua T N, Padiya R, Karnewar S, *et al.* Garlic provides protection to mice heart against isoproterenol-induced oxidative damage: Role of nitric oxide [J]. *Nitric Oxide*, 2012, 27(1): 9-17.
- [13] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(1): 44-84.