

龙甲血脉通胶囊对大鼠心肌缺血及心肌缺血再灌注损伤的保护作用

王玉妹¹, 李欢², 宋东伟¹, 张腾¹, 周晓棉³

1. 天津生物工程职业技术学院, 天津 300462

2. 齐齐哈尔大学, 黑龙江 齐齐哈尔 161006

3. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016

摘要: **目的** 探讨龙甲血脉通胶囊对大鼠心肌缺血及心肌缺血再灌注损伤的保护作用。**方法** 采用垂体后叶素和异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌缺血模型, 考察龙甲血脉通胶囊对心肌缺血作用的保护; 采用手术致大鼠心肌缺血再灌注损伤模型, 考察龙甲血脉通胶囊对心肌缺血再灌注损伤的保护作用。**结果** 龙甲血脉通胶囊(1.60、0.80、0.40 g/kg)能够显著降低垂体后叶素诱导的心肌缺血大鼠15 s、30 s时T波高度; 能够显著降低异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌缺血5、10、20、30 min S-T段偏移高度。龙甲血脉通胶囊(1.60、0.80、0.40 g/kg)能够显著降低血清丙二醛(MDA)水平, 显著升高超氧化物歧化酶(SOD)水平, 显著降低缺血再灌注损伤大鼠的心肌梗死区面积占缺血区面积的比例。**结论** 龙甲血脉通胶囊具有保护心肌缺血及抗心肌缺血再灌注损伤的作用。

关键词: 龙甲血脉通胶囊; 心肌缺血; 心肌缺血再灌注损伤; 垂体后叶素; 异丙肾上腺素; 血清丙二醛; 超氧化物歧化酶

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2013)01-0025-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.01.007

Protection of Longjia Xuemaitong Capsule on myocardial ischemia and myocardial ischemia-reperfusion injury in rats

WANG Yu-shu¹, LI Huan², SONG Dong-wei¹, ZHANG Teng¹, ZHOU Xiao-mian³

1. Tianjin Vocational College of Bioengineering, Tianjin 300462, China

2. Qiqihar University, Qiqihar 161006, China

3. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: **Objective** To observe protective effects of Longjia Xuemaitong Capsule on myocardial ischemia and cardiac reperfusion injury. **Methods** Using the myocardial ischemia model of rats induced by pituitrin and isoproterenol, the effects of Longjia Xuemaitong Capsule on myocardial ischemia were investigated. Moreover, using the myocardial ischemia-reperfusion injury model of rats induced by operation, the protective effects of Longjia Xuemaitong Capsule on myocardial ischemia-reperfusion injury were observed. **Results** At the doses of 1.60, 0.80, 0.40 g/kg, Longjia Xuemaitong Capsule could significantly reduce the T wave height at 15 and 30 s in the ischemia rats induced by pituitrin as well as the offset height of S-T segment at 5, 10, 20, and 30 min in ischemia rats induced by isoproterenol. Longjia Xuemaitong Capsule at the doses of 1.60, 0.80, and 0.40 g/kg could significantly decrease the malondialdehyde (MDA) level in serum, increase the superoxide dismutase (SOD) level, and obviously decrease the percentage that the infarct area accounted for the ischemic area in the myocardial ischemia-reperfusion injury of rats. **Conclusion** Longjia Xuemaitong Capsule could protect the myocardial ischemia and myocardial ischemia-reperfusion injury.

Key words: Longjia Xuemaitong Capsule; myocardial ischemia; myocardial ischemia-reperfusion injury; pituitrin; isoproterenol; malondialdehyde; superoxide dismutase

龙甲血脉通胶囊组方为鳖甲、三七、水蛭、地龙等, 具有软坚散结、通筋活络的功效, 用于心血瘀阻、房室传导阻滞、心肌梗死等症。药理

研究表明龙甲血脉通胶囊具有抗心脏房室传导阻滞和活血化瘀作用^[1]。本实验从受试动物心电图T波高度、ST段位移、心脏血清丙二醛(MDA)水

收稿日期: 2012-11-06

作者简介: 王玉妹(1981—), 女, 天津宝坻人, 讲师, 硕士, 研究方向为药理学、药剂学。Tel: (022) 66339105 E-mail: wys522@163.com

平、心脏血清超氧化物歧化酶(SOD)水平、心肌梗死面积方面考察了龙甲血脉通胶囊抗心肌缺血及心肌缺血再灌注损伤作用,为其应用于临床提供实验依据。

1 仪器与材料

JY8001 电子天平(上海精科天平仪器厂), JA1003 电子天平(上海精科天平仪器厂), DH—1 动物人工呼吸机(浙江医学大学医疗器械实验厂), RM6240CD 型多道生理信号采集处理系统(成都仪器厂)。

龙甲血脉通胶囊(上海艾克药业有限公司,批号 20040906,规格 0.4 g/粒,相当于生药材 2.14 g);盐酸异丙肾上腺素(上海禾丰制药有限公司,批号 4E20001);垂体后叶素注射液(上海禾丰制药有限公司,批号 030805);复方丹参片(广州白云山制药股份有限公司,规格 0.33 g/片);SOD 试剂盒(批号 20041214)、MDA 试剂盒(批号 20041124)(南京建成生物工程研究所);伊文氏蓝、2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)(Sigma 公司)。

Wistar 大鼠,180~280 g,清洁级,由沈阳药科大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(辽)2003-008。

2 方法

2.1 对垂体后叶素所致大鼠心肌缺血的保护作用

健康大鼠(弃去心律失常及 T 波异常者)50 只,雌雄各半,每组 10 只,分为 5 组,分别为模型组,龙甲血脉通胶囊高、中、低剂量(1.60、0.80、0.40 g/kg)组,复方丹参片(0.26 g/kg)阳性对照组。模型组 *po* 给予 0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na),受试药物及阳性对照组均用 0.5% CMC-Na 配制所需质量浓度,给药容积为 10 mL/kg。给药组动物均连续 *po* 7 d,1 次/d,于末次给药后 1 h,以 20%乌拉坦(1.2 g/kg) *ip* 麻醉,记录标 II 导联心电图, *iv* 垂体后叶素 0.7 U/kg(15 s 内注完),记录 0 s、15 s、30 s、1 min、2 min、5 min 时心电图变化。测量造模前、后各时间点 T 波高度变化率,并进行显著性检测^[2]。

T 波高度变化率=(时间点的 T 波高度-0 s 时间点的 T 波高度)/0 s 时间点的 T 波高度

2.2 对异丙肾上腺素所致大鼠心肌缺血的保护作用

50 只大鼠,雌雄各半,每组 10 只,分为 5 组,分别为模型组、龙甲血脉通胶囊高、中、低剂量(1.60、0.80、0.40 g/kg)组,复方丹参片(0.26 g/kg)

阳性对照组。模型组 *po* 等溶剂的 0.5% CMC-Na。受试药物及阳性对照组均用 0.5% CMC-Na 配制所需质量浓度,给药容积为 10 mL/kg,连续给药 7 d,实验动物于末次给药后 30 min,用 20%乌拉坦(1.2 g/kg) *ip* 麻醉,背位固定,用针型电极和 RM6240CD 型多道生理信号采集处理系统相连记录标 II 导联心电图。*sc* 异丙肾上腺素,剂量 2 mg/kg,诱发大鼠急性心肌缺血。观察造模后 5、10、20、30 min 心电图 ST 段偏移基线的高度。以偏移均值为衡量心肌损伤的观察指标,各给药组与模型组进行比较,并进行差异的显著性检测(灵敏度 1 mV=20 mm)。

2.3 对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

60 只大鼠随机分为 6 组,每组 10 只,分别为假手术组,模型组,龙甲血脉通胶囊高、中、低剂量(1.60、0.80、0.40 g/kg)组,复方丹参片(0.26 g/kg)阳性对照组。给药组临用前用 0.5% CMC-Na 配制,给药容积为 10 mL/kg,假手术组和模型组分别 *po* 给予等容积的 0.5% CMC-Na,给药 7 d,1 次/d。大鼠于末次给药后 1 h 用 20%乌拉坦(1.0 g/kg) *ip* 麻醉处理后进行实验。将大鼠背位固定,做气管插管,接人工呼吸机,调节潮气量(0.60~1.25 mL)、呼吸频率(66~114 次/min),描记正常 II 导联心电图后,自大鼠左侧第四肋间打开胸腔,剪破心包膜。模型组及各给药组于冠状动脉前降支下置一根缝合线,稳定 10 min 并记录一段心电图,若稳定后心电图仍不正常者弃之,用槽状聚乙烯管(槽面向外)结扎左冠状动脉前降支,造成心肌梗死。以心电图显示 ST 抬高或降低,有的可伴有 T 波抬高或降低,为结扎成功标志。阻断血流 45 min,剪断结扎线,实现再灌注 150 min,造成心肌缺血再灌注模型。假手术组只灌注不结扎。再灌注结束后,大鼠颈动脉取血,按试剂盒说明检测血清 MDA 和 SOD 水平值。采血后,经颈静脉注入 0.01 mol/L 伊文氏蓝(3 mL/kg)进行染色。染色后取出心脏,去除心房和右心室,用生理盐水洗净左心室残留液,置于-20℃的冰箱 20 min 后取出,于心脏纵垂直切成 2 mm 的均匀薄片,预温 37℃,0.03 mol/L TTC 溶液中染色 30 min。将切片置于 10%甲醛溶液中固定 24 h,观察,蓝色为非梗死区,白色为梗死区,红色+白色为缺血区。测量并计算梗死区面积占缺血区面积的比例。

2.4 统计分析

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 对垂体后叶素所致大鼠心肌缺血的保护作用

与模型组比较, 龙甲血脉通胶囊高、中、低剂

量均能显著降低垂体后叶素诱导的心肌缺血大鼠 15 s、30 s 时 T 波高度。实验结果有一定的剂量相关性, 见表 1。

表 1 龙甲血脉通胶囊对垂体后叶素所致大鼠心肌缺血的保护作用

Table 1 Protection of Longjia Xuemaitong Capslue on myocardial ischemia in rats induced by pituitrin

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	T 波高度变化率/%				
		15 s	30 s	1 min	2 min	5 min
模型	—	66±10	74±12	3±1	2±1	1±0
龙甲血脉通胶囊	0.40	57±7*	64±7*	3±1	2±1	1±0
	0.80	54±9*	60±10*	3±1	2±1	1±0
	1.60	50±7**	58±6**	2±2	1±0	1±0
复方丹参片	0.26	51±11**	60±12*	3±1	2±1	2±1

与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs model group

3.2 对异丙肾上腺素所致大鼠心肌缺血的保护作用

与模型组比较, 龙甲血脉通胶囊高、中、低剂量

均能显著降低异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌缺血 S-T 段偏移高度。实验结果有一定的剂量相关性, 见表 2。

表 2 龙甲血脉通胶囊对异丙肾上腺素所致大鼠心肌缺血的保护作用

Table 2 Protection of Longjia Xuemaitong Capslue on myocardial ischemia in rats induced by isoproterenol

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	S-T 段位移/mV			
		5 min	10 min	20 min	30 min
模型	—	0.104±0.026	0.107±0.023	0.108±0.026	0.105±0.021
龙甲血脉通胶囊	0.40	0.082±0.014*	0.080±0.018*	0.086±0.015*	0.089±0.010*
	0.80	0.083±0.025*	0.089±0.022*	0.087±0.020*	0.085±0.015*
	1.60	0.062±0.013**	0.065±0.009**	0.068±0.017**	0.066±0.015**
复方丹参片	0.26	0.084±0.013*	0.082±0.012*	0.086±0.017*	0.087±0.008*

与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs model group

3.3 对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

与模型组比较, 龙甲血脉通胶囊高、中、低剂量均能显著降低大鼠血清 MDA 水平, 显著升高 SOD 水平; 能显著降低缺血再灌注损伤后心肌梗死区占缺血区面积比例。实验结果有一定的剂量相关性, 见表 3、4。

4 讨论

急性心肌缺血时, 心电图表现为 T 波高耸或倒置, ST 段偏移。ST 段抬高程度与心肌血流量减少和氧张力下降密切相关^[3]。药物诱导大鼠急性心肌缺血的方法国内报道较多的是用垂体后叶素诱导大鼠实验性心肌缺血以及用异丙肾上腺素皮下注射或腹腔注射诱导大鼠心肌缺血或心肌坏死^[4-9]。龙甲血脉通胶囊能显著降低垂体后叶素诱导的心肌缺血大

鼠 15 s、30 s 时 T 波高度; 显著降低异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌缺血 S-T 段偏移高度, 表明龙甲血脉通胶囊对垂体后叶素、异丙肾上腺素所致的大鼠心肌缺血具有保护作用。

目前认为心肌缺血及心肌缺血再灌注损伤与再灌后产生的大量氧自由基有关, 在心肌缺血时儿茶酚胺在缺血区大量积蓄, 经代谢可产生大量的氧自由基; 而清除氧自由基的超氧化物歧化酶 (SOD) 活性降低, 导致氧自由基堆积, 并与生物膜上不饱和脂肪酸反应发生脂质过氧化, 使膜脂质过氧化产物丙二醛 (MDA) 增多, 破坏了细胞膜的结构和功能, 使胞浆酶释放增多, 加速了心肌细胞损害程度, 出现严重的心律失常^[10-11]。实验发现, 龙甲血脉通胶囊能显著降低梗死区面积比例, 显著降低缺血及

表3 龙甲血脉通胶囊对心肌缺血及再灌注损伤大鼠 SOD 和 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Effect of Longjia Xuemaitong Capslue on serum SOD and MDA levels in myocardial ischemia reperfusion injury rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	SOD/ (U·L ⁻¹)	MDA/ (nmol·mg ⁻¹)
假手术	—	160±16	8.857±1.443
模型	—	139±16 ^{△△}	10.871±1.202 ^{△△}
龙甲血脉通	0.40	152±8*	9.659±0.735*
胶囊	0.80	157±12**	9.412±1.465*
	1.60	158±11**	9.044±1.505**
复方丹参片	0.26	154±13*	9.529±0.921*

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与假手术组比较: $\Delta P<0.05$

$\Delta\Delta P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group, $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$ vs Sham group

表4 龙甲血脉通胶囊对大鼠心肌缺血再灌注损伤心肌梗死面积的影响

Table 4 Effect of Longjia Xuemaitong Capslue on area of myocardial infarction induced by myocardial ischemia-reperfusion injury of rats

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	梗死区面积/缺血区面积
模型	—	50.28%±6.21%
龙甲血脉通	0.40	41.62%±6.07%*
胶囊	0.80	38.57%±7.49%*
	1.60	35.16%±8.81%**
复方丹参片	0.26	38.12%±7.34%*

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

再灌注损伤后大鼠心脏血清丙二醛水平, 显著升高超氧化物歧化酶水平, 提示龙甲血脉通胶囊具有对心肌缺血再灌注具有保护作用, 其抗脂质过

氧化作用可能是作用机制之一。

参考文献

- [1] 王玉姝, 孙尚建, 周晓棉, 等. 龙甲血脉通胶囊的抗心脏房室传导阻滞及活血化瘀作用研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(1): 66-69.
- [2] 陈奇. 中药药理实验方法学 [M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 44.
- [3] Angell C S, Lakatta E G, Weisfeldt M L, et al. Relationship of intramyocardial oxygen tension and epicardial ST segment changes following acute coronary artery ligation: effects of coronary perfusion pressure [J]. Cardiovasc Res, 1975, 9(1): 12-18.
- [4] 周雅萍, 刘 强. 桃核承气汤对垂体后叶素致大鼠急性心肌缺血的保护作用 [J]. 江西中医药, 2010(6): 64-65.
- [5] 李 佳, 李洪磊, 唐慧慧. 天麻多糖对垂体后叶素致急性心肌缺血大鼠的保护作用 [J]. 中国医院用药评级与分析, 2010, 10(9): 818-821.
- [6] 郑为超, 陈铎葆, 张 雷, 等. 红花总黄素对垂体后叶素致大鼠急性心肌缺血保护作用的实验研究 [J]. 中国医药科技, 2005, 12(1): 36-37.
- [7] 王秋红, 匡海学, 吴 伦, 等. 二氢槲皮素对异丙肾上腺素致大鼠心肌缺血的保护作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17): 177-181.
- [8] 董六一, 邵 旭, 江 勤, 等. 牡荆素对大鼠实验性心肌缺血损伤的保护作用及其机制 [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1378-1383.
- [9] 颜天华, 社保生, 杨 伟, 等. 红景天苷对异丙肾上腺素致大鼠急性心肌缺血的影响 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2008, 13(5): 531-534.
- [10] Guarnieri C, Flamigni F, Calderara C M. Role of oxygen in the cellular damage induced by re-oxygenation of hypoxic heart [J]. J Mol Cell Cardiol, 1980, 12(8): 797-808.
- [11] 韩永鹏, 安 芸. 丹红注射液对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(5): 388-390.