

沉香醇提取物对大鼠气滞血瘀心肌缺血的保护作用

王灿红¹, 彭德乾³, 刘洋洋¹, 余章昕¹, 郭鹏^{2*}, 魏建和^{1, 2*}

1. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所海南分所 海南省南药资源保护与开发重点实验室和国家中医药管理局沉香可持续利用重点研究室, 海南 海口 570311

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所 中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室和濒危药材繁育国家工程实验室, 北京 100193

3. 海南医学院药学院, 海南 海口 571199

摘要: 目的 研究沉香醇提取物对大鼠气滞血瘀心肌缺血损伤的保护作用及机制。方法 大鼠随机分成6组: 对照组、模型组、野生沉香醇提取物(2.84 g/kg)组和通体沉香醇提取物低、中、高剂量(0.71、1.42、2.84 g/kg)组, 每天1次, 连续ig给药7 d, 对照组和模型组ig等体积蒸馏水。除对照组外, 采用sc异丙肾上腺素(ISO)联合冰水浸泡诱导大鼠气滞血瘀心肌缺血模型, 检测生化指标全血黏度(WBV)、血浆比黏度(PSV), 血清中肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)活性; 观察心电图及心肌病理损伤情况; 检测血浆中脂质过氧化物(LPO)、过氧化氢(H₂O₂)、总抗氧化能力(T-AOC)和过氧化氢酶(CAT)的水平; 酶联免疫法(ELISA)检测血清中细胞因子5-羟色胺(5-HT)、内皮素(ET)、血栓素B₂(TXB₂)及前列腺素E₂(PGE₂)的分泌水平。结果 与模型组比较, 通体沉香醇提取物各剂量组均能显著降低WBV和PSV, 改善心电图的异常, 显著降低心电图ST段的抬高($P < 0.05, 0.01$); 中、高剂量组显著降低血清中心肌酶CK、LDH、ALT和AST活性($P < 0.05, 0.01, 0.001$); 各剂量组明显减轻心肌组织的病理损伤程度; 高、中剂量组均显著降低LPO和H₂O₂水平, 升高T-AOC和SOD水平($P < 0.05, 0.01, 0.001$); 高剂量组显著降低5-HT水平, 各剂量组均显著降低ET、TXB₂和PEG₂水平($P < 0.05, 0.01, 0.001$)。同等剂量下通体沉香醇提取物与野生沉香醇提取物作用相当。结论 通体沉香醇提取物对大鼠气滞血瘀心肌缺血有保护作用, 其作用机制与抗氧化、改善血管微循环、调节内皮细胞生长及调节细胞因子的分泌有关。

关键词: 沉香醇提取物; 气滞血瘀; 异丙肾上腺素; 心肌缺血; 血液黏度; 抗氧化作用

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2019)07-1279-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.07.004

Protective effect of agarwood alcohol extracts on myocardial ischemia injury in rats with qi stagnation and blood stasis

WANG Canhong¹, PENG Deqian³, LIU Yangyang¹, YU Zhangxin¹, GUO Peng², WEI Jianhe^{1, 2}

1. Hainan Provincial Key Laboratory of Resources Conservation and Development of Southern Medicine & Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine for Agarwood Sustainable Utilization, Hainan Branch Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Haikou 570311, China

2. Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, National Engineering Laboratory for Breeding of Endangered Medicinal Materials, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

3. School of Pharmacy, Hainan Medical College, Haikou 571199, China

Abstract: Objective To investigate the cardioprotective effect and its mechanism of agarwood alcohol extract on qi stagnation blood stasis myocardial ischemia injury in rats. **Methods** Rats were randomly divided into six groups: control group, model group, wild

收稿日期: 2018-10-25

基金项目: 海南省自然科学基金(817290); 海南省重大科技计划项目(ZDKJ2016004); 海南省自然科学基金(217291)

第一作者: 王灿红(1986—), 女, 硕士, 研究实习生, 研究方向为中药药效活性成分评价及作用机制研究。Tel: 13095339137

E-mail: xinzhuangjianpo@163.com

*通信作者: 郭鹏, 男, 研究员, 硕士生导师, 研究方向为心血管药理学研究。Tel: (010)57833235 E-mail: pguo@implad.ac.cn

魏建和, 男, 研究员, 博士生导师, 研究方向为药用植物基因资源、分子育种及次生代谢产物调控研究。Tel: (010)57833016

E-mail: wjianh@263.net

agarwood ethanol extract (2.84 g/kg) group and low, medium and high dose (0.71, 1.42, 2.84 g/kg) groups of agarwood alcohol extract produced by whole-tree agarwood-inducing technique (WTAAE). Rats were ig administrated corresponding drug once a day for 7 d. Rats in control and model group were ig administrated with distilled water of equal volume. Myocardial ischemia injury rat model was established by injecting with isoproterenol (ISO) and stimulated with ice water. The whole blood and plasma specific viscosity (WBV and PSV) were measured by viscometer. The activities of creatine kinase (CK), lactic dehydrogenase (LDH), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were measured in serum. Electrocardiograph (ECG) and myocardial pathological injury were observed. The plasma levels of lipid peroxide (LPO), hydrogen peroxide (H_2O_2), total antioxidant capacity (T-AOC) and catalase (CAT) were measured. The secreted levels of 5-hydroxytryptamine (5-HT), endothelin (ET), thromboxane B_2 (TXB_2) and prostaglandin E_2 (PGE_2) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared with model group, WTAAE could significantly reduce WBV and PSV, improve ECG abnormalities, and significantly reduce ST segment elevation ($P < 0.05, 0.01$); The activities of serum myosin CK, LDH, ALT and AST were significantly decreased in the middle and high dose groups ($P < 0.05, 0.01$ and 0.001); The pathological damage degree of myocardium was significantly reduced in each dose group; LPO and H_2O_2 levels were significantly decreased in the middle and high dose group, and T-AOC and SOD levels were increased ($P < 0.05, 0.01$ and 0.001); 5-HT levels were significantly decreased in the high dose group, and ET, TXB_2 and PGE_2 levels were significantly decreased in each dose group ($P < 0.05, 0.01$ and 0.001). At the same dosage, WTAAE had the same effect as that of wild agarwood. **Conclusion** WTAAE shows a significantly protective effect on myocardial ischemia in rats, and its mechanism is related to the antioxidant activity, regulation of vascular microcirculation, endothelial growth and cytokines secretion.

Key words: agarwood alcohol extracts; *qi* stagnation and blood stasis; isoproterenol; myocardial ischemia; blood viscosity; antioxidant effect

心肌缺血是心脏由于供血和供氧不足引起的一种病理状态,是心脏疾病发生的初始阶段,其发病率和死亡率随着我国人口老龄化进程的加剧而呈逐年上升趋势,严重影响人类的身体健康和生活质量^[1]。目前,心肌缺血的西医临床治疗仍以药物治疗为主要手段,但随着中医药的不断深入研究,许多中药及其有效成分在防治心肌缺血方面已取得很大进展,它们通过缓解血栓和血小板聚集等方法在改善心脏血液流变学、清除自由基、干预炎症反应、抑制细胞凋亡、调节缩血管因子5-羟色胺(5-HT)、内皮素(ET)、血栓烷素 B_2 (TXB_2)、前列腺素 E_2 (PGE_2)等方面发挥重要作用,且具有疗效稳定、毒副作用小的特点^[2]。因此,具有活血化瘀、益气养阴、补血通络作用的中药已成为抗心肌缺血中药药理研究的热点。

国产沉香为瑞香科植物白木香 *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg. 含树脂的木材,主产于海南、广东、广西、云南等地。沉香味辛、苦,性微温,归脾、胃、肾经,具有行气止痛、温中止呕、纳气平喘之功效,主治胸腹胀满疼痛、胃寒呃逆呕吐及肾虚气逆喘急^[3]。沉香为名贵中药已有千余年药用历史,有“药中黄金”之称。药用记载始见于梁代陶弘景的《名医别录》,被列为上品,“悉治风水毒肿,去恶气”^[4]。五代时期李珣著的《海药本草》新增功效记载曰:“沉香主心腹痛,霍乱,中恶邪,鬼疰,清人神,

并宜酒煮服之;诸疮肿宜入膏用”^[5]。现代研究表明,沉香有镇痛^[6]、抗炎^[7]、抗氧化^[8]、镇静安神^[9]等较广泛的药理活性,但受天然沉香资源稀缺、价格昂贵的影响,其现代药理研究还相对薄弱。本课题组首次发明的“通体结香技术”已在国内外广泛应用,大批量产出的优质沉香已供应中医药临床和大健康产业应用,同时也为药效机制的研究提供了丰富的原料^[10-11]。

有研究报道,八味沉香胶囊、八味沉香散、蒙药八味沉香胶囊、藏药八味沉香散对心肌缺血有保护作用^[12-15],但沉香本身的心脏保护及作用机制研究尚未见报道。本研究采用盐酸异丙肾上腺素注射液(ISO)联合冰水浸泡诱导大鼠气滞血瘀心肌缺血损伤模型,评价通体沉香醇提物对心肌缺血损伤病症结合模型的保护作用及机制,为沉香心脏保护作用的深入研究、临床应用及用于心脑血管疾病等医药产品的研制提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

健康雄性SD大鼠,体质量(200±20)g,购自北京维通利华实验动物有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(京)2016-0006,饲养于中国医学科学院药用植物研究所SPF级动物房,温度20~24℃,湿度52%~58%,白昼光照周期12 h/12 h,自由饮水和摄食,适应性喂养3 d后进行实验。

1.2 受试药物

野生沉香醇提取物、通体沉香醇提取物,均由中国医学科学院药用植物研究所海南分所提取、制备,制备方法见参考文献^[16],使用前用蒸馏水配制成不同浓度的药液,备用(每天配制1次)。

1.3 主要试剂

ISO,上海禾丰制药有限公司,批号H31021344;乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)试剂盒,购于北京中生北控生物工程有限公司;脂质过氧化物(LPO)、过氧化氢(H₂O₂)、总抗氧化能力(T-AOC)、过氧化氢酶(CAT)试剂盒,购于南京建成生物工程有限公司;5-HT、ET、TXB₂、PGE₂ ELISA试剂盒购于北京博胜经纬生物科技有限公司;4%多聚甲醛购于索莱宝生物科技有限公司;乌来糖,购于上海国药集团试剂有限公司,生理盐水及其他试剂均为化学分析纯。

1.4 主要仪器

SB-1000 旋转蒸发仪(东京 Rikakikai 公司);MP150 多导(16道)生理记录仪(美国 BIOPAC Systems);CU600 电热恒温水浴箱(上海益恒实验仪器有限公司);Labofuge 400R 离心机(德国 Heraeus 公司);AU480 全自动生化仪(美国 Beckman Coulter 公司);MQX 200 微孔板扫描酶标仪(美国 BioTek instrument);AL104-IC 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);LVDYIIIULTRA+CP 血液流变仪(美国 Brookfield 公司)。

2 方法

2.1 分组、给药及造模

36只大鼠随机分成6组:对照组、模型组、野生沉香醇提取物(2.84 g/kg)组和通体沉香醇提取物低、中、高剂量(0.71、1.42、2.84 g/kg)组。受试药物组 ig 给予相应剂量药物,20 mL/kg,1次/d;对照组和模型组 ig 等体积蒸馏水,连续给药7 d。除对照组外,其他组大鼠 ig 后分别置于冰水中浸泡10 min,1次/d,连续7 d。第6、7天,除对照组外,各组在给药1 h后分别 sc ISO,剂量分别为2、1 mg/kg,连续2 d,制备大鼠气滞血瘀心肌缺血模型。

2.2 心电图检测

末次给药后,ip 乌来糖溶液麻醉后,仰卧位固定,连接生物信号系统电极。除对照组外,各组动物分别 sc ISO(1 mg/kg),记录造模后1、5、10和20 min时的心电图,并分析T波及ST段的变化。

2.3 血液黏度检测

腹主动脉取血,采用EDTA-K2抗凝管抗凝全血,部分抗凝血用于检测全血黏度(WBV),剩余分离血浆,采用血液黏度计分别检测WBV和血浆比黏度(PSV)。

2.4 心脏组织病理学检测

取血后迅速摘取心脏,置于提前预冷的生理盐水灌注后,小心剪取左心室心尖缺血坏死部位,置4%多聚甲醛溶液中固定,按照常规脱水、石蜡包埋、切片5 μm厚度、苏木精-伊红染色,在高倍显微镜(×400)下观察并拍照。

2.5 血清心肌酶检测

腹主动脉取血,3 000 r/min离心15 min,取上清;根据心肌酶试剂盒操作说明,利用全自动生化仪分别检测心肌酶CK、LDH、ALT和AST的水平。

2.6 血浆中氧化损伤指标的检测

腹主动脉取血,采用EDTA-K2抗凝管抗凝血分离血浆,3 000 r/min离心15 min,吸取上清,冻存于-80℃;按照试剂盒操作说明检测LPO、H₂O₂、T-AOC和SOD水平。

2.7 血清中细胞因子5-HT、ET、TXB₂和PGE₂水平检测

腹主动脉取血,3 000 r/min离心15 min,取上清;用ELISA法,按照血管细胞因子试剂盒操作说明,分别检测5-HT、ET、TXB₂和PGE₂水平。

2.8 统计学处理

采用统计分析软件SPSS 17.0对数据进行处理,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析one-way ANOVA,对各组间差异采用Tukey's post hoc test计算,进行组间多重比较。

3 结果

3.1 对气滞血瘀心肌缺血大鼠血液黏度的影响

由表1可知,与对照组比较,模型组大鼠WBV在140 s⁻¹和50 s⁻¹时显著增加,PSV也显著增加($P < 0.05$ 、 0.01);与模型组比较,通体沉香醇提取物和野生沉香醇提取物WBV在95 s⁻¹和50 s⁻¹时均显著降低,同时PSV也显著降低($P < 0.05$ 、 0.01),其中通体沉香醇提取物作用呈现剂量相关性,且同等剂量的通体沉香醇提取物与野生沉香醇提取物作用相当。

3.2 对气滞血瘀心肌缺血大鼠心电图ST段的影响

由图1和表2可知,与对照组比较,心肌缺血模型大鼠心电图ST段显著升高($P < 0.01$),心电图发生异常,表明模型制备成功;与模型组比较,通体沉香醇提取物和野生沉香醇提取物组均显著降低ISO所致

表1 通体沉香醇提取物对气滞血瘀心肌缺血大鼠血液黏度的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 1 Effects of WTAAE on blood viscosity of myocardial ischemia rats with *qi* stagnation and blood stasis ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	WBV/(mPa·s)				PSV/(mPa·s)
		185 s ⁻¹	140 s ⁻¹	95 s ⁻¹	50 s ⁻¹	
对照	—	10.12±1.42	12.50±1.51	20.77±3.90	32.60±2.24	30.93±0.61
模型	—	11.02±0.62	14.36±0.96*	22.64±1.62	41.67±1.77**	36.07±2.67**
野生沉香醇提取物	2.84	10.74±1.03	13.84±2.51	19.32±3.60 [#]	38.34±1.39 [#]	31.29±1.56 [#]
通体沉香醇提取物	0.71	10.60±1.63	13.90±1.12	19.35±2.67 [#]	39.93±0.79 [#]	33.01±2.30 [#]
	1.42	9.87±0.52 [#]	14.78±1.37	20.54±1.94 [#]	39.54±0.81 [#]	31.69±3.07 [#]
	2.84	9.84±0.85 [#]	13.35±1.82	19.43±2.74 [#]	38.73±2.94 [#]	31.08±2.91 [#]

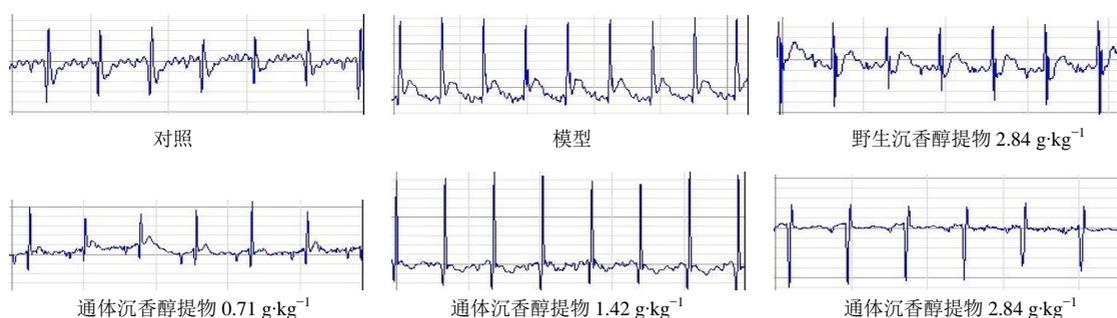
与对照组比较:* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$;与模型组比较:[#] $P < 0.05$ [#] $P < 0.01$ * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ [#] $P < 0.01$ vs model group

图1 通体沉香醇提取物对气滞血瘀心肌缺血大鼠心电图的影响

Fig. 1 Effects of WTAAE on ECG in myocardial ischemia rats with *qi* stagnation and blood stasis表2 通体沉香醇提取物对气滞血瘀心肌缺血大鼠心电图ST段的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 2 Effects of WTAAE on ST segment of ECG in myocardial ischemia rats with *qi* stagnation and blood stasis ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	△ST值/mV			
		造模后 1 min	造模后 5 min	造模后 10 min	造模后 20 min
对照	—	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01
模型	—	0.22±0.05**	0.23±0.07**	0.25±0.04**	0.22±0.05**
野生沉香醇提取物	2.84	0.13±0.03 [#]	0.13±0.03 [#]	0.12±0.03 [#]	0.12±0.02 [#]
通体沉香醇提取物	0.71	0.16±0.05 [#]	0.18±0.05 [#]	0.16±0.05 [#]	0.15±0.03 [#]
醇提取物	1.42	0.14±0.06 [#]	0.14±0.05 [#]	0.13±0.05 [#]	0.12±0.04 [#]
	2.84	0.12±0.05 [#]	0.13±0.04 [#]	0.13±0.04 [#]	0.12±0.03 [#]

与对照组比较:** $P < 0.01$;与模型组比较:[#] $P < 0.05$ [#] $P < 0.01$ ** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ [#] $P < 0.01$ vs model group

的大鼠心电图ST段的异常升高($P < 0.05, 0.01$),但20 min内心电图的ST段异常升高仍未恢复到正常水平。

3.3 对气滞血瘀心肌缺血大鼠血清中心肌酶的影响

由表3可知,与对照组比较,模型组大鼠心肌酶CK、LDH、AST和ALT水平均显著升高($P < 0.05, 0.01$),说明心脏组织发生了明显的损伤;与模型组比较,通体沉香醇提取物中、高剂量组和野生沉香醇

提取物组均显著降低心肌酶的水平($P < 0.05, 0.01, 0.001$),其中通体沉香醇提取物作用呈现剂量相关性,且同等剂量通体沉香醇提取物作用略优于野生沉香醇提取物。

3.4 对气滞血瘀心肌缺血大鼠心肌病理损伤的影响

由图2可知,对照组大鼠心肌组织横纹肌基本正常,无变性、坏死等;模型组横纹肌组织出现多灶性、大片心肌变性、坏死,炎症细胞浸润及细胞脂肪

表3 通体沉香醇提取物对气滞血瘀心肌缺血大鼠血清中心肌酶的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effects of WTAAE on myocardial enzyme in serum of myocardial ischemia rats with qi stagnation and blood stasis($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	CK/(U·L ⁻¹)	LDH/(U·L ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)
对照	—	1 060.06±246.40	1 467.25±298.84	31.68±3.49	127.77±18.93
模型	—	1 324.83±159.45**	1 975.00±324.96*	39.16±4.35**	160.06±24.28**
野生沉香醇提取物	2.84	865.03±218.81 [#]	1 392.43±482.06 ^{##}	32.58±6.90 [#]	132.13±27.15 [#]
通体沉香醇提取物	0.71	1 027.63±304.10	1 976.43±519.54 [#]	39.04±3.77	158.19±16.98
	1.42	943.43±278.33 [#]	1 572.29±454.83 ^{##}	33.83±4.32 [#]	135.51±15.40 [#]
	2.84	650.54±130.51 ^{###}	1 142.86±287.76 ^{###}	32.91±4.15 ^{##}	110.60±14.51 ^{###}

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01; 与模型组比较: [#]P<0.05 ^{##}P<0.01 ^{###}P<0.001

*P<0.05 **P<0.01 vs control group; [#]P<0.05 ^{##}P<0.01 ^{###}P<0.001 vs model group

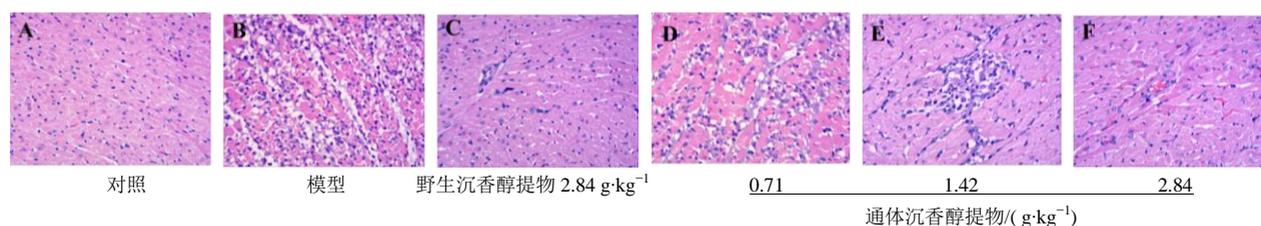


图2 通体沉香醇提取物对气滞血瘀心肌缺血大鼠心肌病理损伤的影响(×400)

Fig. 2 Effects of WTAAE on myocardial pathological injury of myocardial ischemia rats with qi stagnation and blood stasis (×400)

变性;与模型组比较,各沉香醇提取物给药组横纹肌组织的坏死、炎症浸润及脂肪变性程度等均显著减轻,通体沉香呈现剂量相关性,且同等剂量通体沉香醇提取物作用与野生沉香醇提取物相当。

3.5 对心肌缺血大鼠血浆中氧化损伤指标的影响

由表4可知,与对照组比较,模型组大鼠血浆中LPO和H₂O₂水平显著增加,而T-AOC和SOD水平显著降低(P<0.05、0.01、0.001);与模型组比较,野生沉香醇提取物均显著降低LPO和H₂O₂水平,升高SOD水平(P<0.05、0.001),通体沉香醇提取物高、中剂量组均显著降低LPO和H₂O₂水平,升高T-AOC

和SOD水平(P<0.05、0.01、0.001),其中通体沉香作用呈剂量相关性,且同等剂量通体沉香醇提取物与野生沉香醇提取物作用相当。

3.6 对气滞血瘀心肌缺血大鼠血清中细胞因子的影响

由表5可知,与对照组比较,模型组大鼠血清中致痛神经递质5-HT、ET、TXB₂和PEG₂含量均显著增加(P<0.05);与模型组比较,野生沉香醇提取物均显著降低5-HT、ET、TXB₂水平(P<0.05、0.001),通体沉香醇提取物高剂量组显著降低5-HT水平,各剂量组均显著降低ET、TXB₂和PEG₂水平(P<0.05、

表4 通体沉香醇提取物对气滞血瘀心肌缺血大鼠血浆中氧化损伤指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effects of WTAAE on indexes of oxidative damage in plasma of myocardial ischemia rats with qi stagnation and blood stasis ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	LPO/(μmol·L ⁻¹)	H ₂ O ₂ /(mmol·L ⁻¹)	T-AOC/(mmol·L ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)
对照	—	4.64±1.10	96.45±52.80	2.11±0.12	21.39±0.50
模型	—	9.73±2.72***	317.20±90.75***	1.88±0.19**	19.15±3.09*
野生沉香醇提取物	2.84	5.10±1.91 ^{###}	102.36±20.75 ^{###}	1.96±0.13	22.07±0.44 [#]
通体沉香醇提取物	0.71	8.21±2.49	148.89±48.15 ^{###}	1.86±0.12	21.32±0.37 [#]
	1.42	6.20±1.81 [#]	136.84±60.94 ^{###}	2.10±0.19 [#]	21.26±0.60 [#]
	2.84	4.99±0.89 ^{###}	119.96±53.46 ^{###}	2.10±0.14 ^{##}	21.48±1.10 [#]

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001; 与模型组比较: [#]P<0.05 ^{##}P<0.01 ^{###}P<0.001

*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001 vs control group; [#]P<0.05 ^{##}P<0.01 ^{###}P<0.001 vs model group

表5 通体沉香醇提取物对气滞血瘀心肌缺血大鼠血清中细胞因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Fig. 5 Effects of WTAAE on cytokines in serum of myocardial ischemia rats with qi stagnation and blood stasis ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	5-HT/(ng·mL ⁻¹)	ET/(Eu·L ⁻¹)	TXB ₂ /(ng·L ⁻¹)	PGE ₂ /(ng·L ⁻¹)
组别	—	12.90±2.61	0.08±0.02	19.17±2.49	22.55±7.00
对照	—	16.22±3.25*	0.12±0.04*	23.08±2.72*	32.21±8.61*
模型	2.84	7.01±3.55###	0.08±0.02#	18.05±3.83#	26.98±8.88
野生沉香醇提取物	0.71	17.00±2.57	0.08±0.03#	14.54±3.56###	22.51±9.29#
通体沉香	1.42	15.33±5.06	0.07±0.03#	14.16±3.59###	19.68±8.66#
醇提取物	2.84	12.59±1.72#	0.06±0.20###	12.98±3.67###	18.55±8.11###

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$ #### $P < 0.01$ * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$ #### $P < 0.001$ vs model group

0.01、0.001)。通体沉香醇提取物作用呈现剂量相关性,且同等剂量通体沉香醇提取物作用略优于野生沉香醇提取物。

4 讨论

中医认为,缺血性心脏病的基本病机为“本虚标实,气虚、气滞血瘀”,主要病机属于心脉痹阻,即“不通则痛,不荣则痛”^[17]。针对气滞、血瘀、痰浊而调畅气机、活血化瘀、豁痰泄浊;虚则补之,权衡气血阴阳之不足,纠正脏腑之偏衰,补气温阳。所以常采用“行气活血、活血化瘀、散瘀通滞、补气养血”等作为常用治疗方法^[18]。沉香为常用理气药,行气止痛;主治心腹痛,临床常用于治疗各类心血管疾病。因此,本研究采用冰水浴7 d联合sc ISO 2 d建立大鼠气滞血瘀心肌缺血病症结合模型^[19],评价了通体沉香醇提取物的心肌保护疗效及作用机制。

ISO是建立急性心肌缺血模型的经典方法,注射其可激活心肌细胞 β_1 受体,使心脏过度兴奋,心肌需氧量增加;同时激活 β_2 受体,冠状动脉扩张,冠脉压力下降,从而导致心肌缺血、缺氧,是评价心肌保护药常用的心肌缺血损伤模型之一^[20]。评判ISO造成心肌缺血模型的成立有多个指标,如心电图ST段升高、心率异常、心肌酶升高、心肌病理损伤等^[21]。本研究结果显示,ISO可导致模型大鼠的心电图异常改变,心电图ST段显著抬高、心肌酶水平异常升高、心肌组织出现大片变性、坏死,炎症细胞浸润及细胞脂肪变性损伤,表明心肌缺血模型制备成功。

心肌缺血可改变心肌细胞膜的通透性,使细胞内的心肌酶大量释放入血,临床多以血清中心肌酶的异常作为诊断心肌缺血的依据^[13,22]。心肌缺血过程中心肌组织中氧自由基LPO、H₂O₂、MDA等的生成增多、清除自由基能力和抗氧化T-AOC、SOD、CAT等水平下降,导致氧自由基堆积使心肌细胞膜中不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应,造成组织氧

化损伤^[23];严重则破坏心肌细胞功能和结构的完整性,造成心肌细胞水肿、坏死、炎症细胞浸润等病理损伤^[24]。本研究结果显示,通体沉香醇提取物能够显著降低心肌酶CK、LDH、AST及ALT活性和脂质过氧化物水平、升高抗氧化能力及抗氧化物酶水平,减轻ISO所致的心肌组织的病理损伤程度,发挥显著心肌保护作用。

中医学认为气与血之间关系密切,“气为血之帅,血为气之主;血为气母,气行则血行,气滞则血瘀”。血液的正常运行有赖于心气的推动、肺气的宣降、肝气的疏泄,任何原因引起的气机的停滞,都会导致血液瘀滞,血瘀证与血液微循环障碍、血液黏度升高、血栓形成、血管内皮细胞功能及能量代谢异常等多重病理生理改变有关^[25-26]。在外周组织,5-HT是一种强血管收缩剂和平滑肌收缩刺激剂,ET也具有强烈的缩血管作用,它们的异常升高均加速血小板凝集,增加血液黏度,甚至导致血栓形成^[27]。TXB₂和PGE₂是花生四烯酸环氧酶代谢途径的主要产物,具有收缩血管、促进血小板的聚集、贴附及活化的作用,是临床诊断和客观反映血液循环系统障碍的重要评价指标^[28]。本研究结果显示,气滞血瘀心肌缺血模型大鼠的WBV、PSV及血液中内皮细胞因子5-HT、ET、TXB₂和PGE₂水平均显著升高,说明模型大鼠的血液微循环和内皮细胞功能发生异常;而通体沉香醇提取物能够显著拮抗此障碍,通过改善血液流变学和微循环系统发挥心肌保护作用。

本研究发现,通体沉香醇提取物可通过降低大鼠血液黏度、改善心电图异常、拮抗心肌酶异常升高、减轻心肌组织病理损伤来发挥心肌保护作用,其作用机制与抗氧化应激、改善血液微循环及调节血管内皮生长和调节因子相关,这为沉香心肌保护作用的深入研究及其临床用于治疗缺血性心脑血管疾

病等提供参考依据。

参考文献

- [1] Buja L M. Myocardial ischemia and reperfusion injury [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2005, 14(4): 170-175.
- [2] 张涵, 吕圭源, 陈素红, 等. 中药有效部位抗心肌缺血作用机制研究进展 [J]. *江西中医学院学报*, 2013, 19(1): 85-88.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [4] 梁·陶弘景. 名医别录 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986.
- [5] 编委会. 海药本草(第5卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 396.
- [6] 李红念, 梅全喜, 林焕泽, 等. 沉香叶与沉香药材镇痛作用的对比研究 [J]. *时珍国医国药*, 2012, 23(8): 1958-1959.
- [7] 林焕泽, 李红念, 梅全喜. 沉香叶与沉香药材抗炎作用的对比研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2013, 31(3): 548-549.
- [8] 熊礼燕, 李丽月, 林励, 等. 沉香挥发油对H₂O₂致PC12细胞氧化损伤的保护作用 [J]. *中药新药与临床药理*, 2014, 25(1): 28-32.
- [9] Wang S, Wang C H, Peng D Q, et al. Agarwood essential oil displays sedative-hypnotic effects through the GABAergic system [J]. *Molecules*, 2017, 22(12): E2190.
- [10] Liu Y Y, Chen H Q, Yang Y, et al. Whole-tree agarwood-inducing technique: An efficient novel technique for producing high-quality agarwood in cultivated *Aquilaria sinensis* trees [J]. *Molecules*, 2013, 18(3): 3086-3106.
- [11] 张玉, 闫号, 徐雪峰. 关于海南沉香种植现状的调查 [J]. *生物技术世界*, 2016, 13(3): 75.
- [12] 李月玲, 杨玉梅, 钱立娜, 等. 八味沉香胶囊对心肌缺血大鼠心肌形态结构和NF-κB表达的影响 [J]. *中国医院药学杂志*, 2011, 31(12): 959-961.
- [13] 李永芳, 杨梅, 寇毅英, 等. 八味沉香散对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌缺血损伤的保护作用 [J]. *中药药理与临床*, 2008, 24(2): 63-65.
- [14] 李月玲, 杨玉梅, 钱立娜, 等. 蒙药八味沉香胶囊对大鼠心肌缺血的保护作用 [J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(4): 831-832.
- [15] 杨梅, 李永芳, 寇毅英, 等. 藏药八味沉香50%醇提取物对急性心肌缺血大鼠作用的研究 [J]. *新中医*, 2011, 43(9): 97-99.
- [16] 王灿红, 王帅, 彭德乾, 等. 沉香醇提取物对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. *中国现代中药*, 2017, 19(8): 1091-1096.
- [17] 黄婷, 李绍旦, 高路, 等. 中医药防治心肌缺血再灌注损伤的研究进展 [J]. *医学信息*, 2018, 31(4): 31-33, 37.
- [18] 李敬文, 尚坤. 冠心病心肌缺血病证动物模型构建方法与评价的研究进展 [J]. *中国民族民间医药*, 2016, 25(14): 34-36.
- [19] 王婷婷, 贾乘, 宁天一, 等. 两种气滞血瘀证造模方法的比较 [J]. *中华中医药学刊*, 2013, 31(1): 157-158.
- [20] Song F, Li H, Sun J Y, et al. Protective effects of cinnamic acid and cinnamic aldehyde on isoproterenol-induced acute myocardial ischemia in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 150(1): 125-130.
- [21] Diego J M, Antzelevitch C. Acute myocardial ischemia: Cellular mechanisms underlying ST segment elevation [J]. *J Electrocardiol*, 2014, 47(4): 486-490.
- [22] Zhang T Z, Yang S H, Du J. Protective effects of berberine on isoproterenol-induced acute myocardial ischemia in rats through regulating HMGB₁-TLR4 axis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 849783.
- [23] Giordano F J. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(3): 500-508.
- [24] 潘志伟, 王秋娟, 杨娟, 等. 淫羊藿苷对异丙肾上腺素致大鼠急性心肌缺血的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2007, 23(5): 622-625.
- [25] 金末淑. 艾灸膈俞穴对寒凝血瘀证模型大鼠血液流变学的实验研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2009.
- [26] 秦书芝. 三首活血化瘀方药对气滞血瘀模型大鼠红细胞膜生物学指标的研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2014.
- [27] 陈思宇. 艾灸膈俞穴对寒凝血瘀证模型大鼠内皮素及自由基的影响 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2009.
- [28] 张鄂. 艾灸膈俞穴对寒凝血瘀证模型大鼠血栓素A及前列环素的影响 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2010.