

态学特点,决定着肾脏疾病的预后,小管间质病变的严重程度与肾小球滤过率的下降密切相关^[7]。有关研究证实,不伴有肾小管间质纤维化的肾脏疾患,肾功能恶化甚至肾小球硬化进展缓慢^[8]。肾小管间质纤维化的过程包括肾小管细胞的丧失和细胞外基质(ECM)的积聚^[9]。肾小管间质中的肌成纤维细胞(myofibroblast, MyoF)是合成细胞外基质I型和III型胶原的主要细胞,是肾纤维化中使细胞外基质沉积增多的主要原因之一^[10],是肾间质纤维化的重要机制之一^[11]。MyoF可来自成纤维细胞,也可由肾小管上皮细胞转化而来,能特异性表达间充质细胞的标志物 α -SMA和Vim,而正常肾小管上皮细胞可表达CK^[12]。在肾组织无损伤或仅发生轻度损伤时肾小管上皮细胞仍表达CK,随着肾小管上皮细胞损伤逐渐加重,CK的表达开始减弱,与此同时可见部分损伤的肾小管上皮细胞表达 α -SMA、Vim,并逐渐增强,以后出现III型胶原的表达,使肾间质中基质增多,发生纤维化。本实验证实,应用补肾活血法组方的中药,可抑制肾小管上皮细胞肌成纤维细胞转分化,使MyoF的表达减少,抑制纤维细胞的活化,从而抑制肾间质纤维化的形成和发展。

References

[1] Bohle A, Muller G A, Wehrmann M, *et al.* Pathogenesis of chronic renal failure in the primary glomerulopathies, renal vasculopathies and chronic interstitial nephritides [J]. *Kidney Int*, 1996, 49: 2.

- [2] Healy E, Hugh R B. Role of tubule epithelial cells in pathogenesis of tubulointerstitial fibrosis induced by glomerular disease [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 1998, 7: 525.
- [3] Zhang D N. *The Study of TCM Nourishing Kidney and Activating blood* (中医补肾活血法研究) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1997.
- [4] Yang J, Liu Y. Delayed administration of hepatocyte growth factor reduces renal fibrosis in obstructive nephropathy [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003, 284: 349-357.
- [5] Frazier K S, Paredes A, Dube P, *et al.* Connective tissue growth factor expression in the rat remnant kidney model and association with tubular epithelial cells undergoing transdifferentiation [J]. *Vet Pathol*, 2000, 37: 328-335.
- [6] Lan H Y. Tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation mechanisms in proximal tubule cells [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2003, 12: 25-29.
- [7] Yang J, Liu Y. Blockage of tubular epithelial to myofibroblast transition by hepatocyte growth factor prevents renal interstitial fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13: 96-107.
- [8] Jinde K, Nikolic-Paterson D J, Huang X R, *et al.* Tubular phenotypic change in progressive tubulointerstitial fibrosis in human glomerulonephritis [J]. *Am J Kidney Dis*, 2001, 38: 761-769.
- [9] Eddy A A. Molecular insights into renal interstitial fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 1996, 7: 2495-2508.
- [10] Badin C, Mounier K, Costa A M, *et al.* A role of myofibroblast during normal tissue repair and excessive scarring: Interest of their assessment in nephropathies [J]. *Histol Histopathol*, 2000, 15: 269-280.
- [11] Hewitson T D, Becker G J. Interstitial in IgA glomerulonephritis [J]. *Am J Nephrol*, 1995, 15: 111-117.
- [12] Ng Y Y, Huang T P, Yang W C, *et al.* Tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation in progressive tubulointerstitial fibrosis in 5/6 nephrectomized rats [J]. *Kidney Int*, 1998, 54: 864-876.

复方缬苕滴丸对犬急性心肌缺血的保护作用

王磊¹, 彭仁琇¹, 杨静¹, 薛存宽^{2*}

(1. 武汉大学医学院药理学系, 湖北 武汉 430071; 2. 华中科技大学同济医学院老年医学研究所, 湖北 武汉 430077)

随着社会的发展,冠心病已日益成为影响人类健康的重要疾病之一。缬草 *Valeriana officinalis* L. 作为一种中药,其抗心肌缺血的作用已早有报道^[1]; 川芎嗪是川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的一种有效成分,广泛用于脏器缺血再灌注损伤的防治^[2]。本研究欲对两者合剂复方缬苕滴丸的抗心肌缺血作用进行研究,并探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物: 健康杂种犬,体重 7~13 kg,雌雄不拘,

由武汉大学医学院实验动物中心提供。

1.2 药物: 复方缬苕滴丸(VLC, 含川芎嗪约1%),湖北省老年医学研究所提供,批号 20020323; 阳性对照药复方丹参滴丸,天津天士力制药公司产品,批号 20020317; 硝基四氮唑红(TTC),批号 940824,EMK进口,上海化学试剂采购供应站分装; 葡萄糖氯化钠注射液,武汉滨湖双鹤药业有限责任公司生产,批号 020815; 盐酸利多卡因注射液,上海复星朝晖药业有限公司产品,批号 020906。

* 收稿日期: 2003-06-06

作者简介: 王磊(1976-),男,河南省漯河人,硕士在读,主要从事生化药理与心血管药理的研究。

Tel (027) 87331565 E-mail wanglei138@yahoo.com.cn

1.3 仪器: MacLab /8e 八道生理记录仪,澳大利亚生产; DH- 150 型动物用小型呼吸机,由浙江医科大学医学仪器厂生产。

1.4 结扎部位的确立: 方法I : 结扎左冠状动脉前降支中下 1/3制作心梗模型^[3]。方法II : 结扎冠状动脉左缘支中点同时,结扎其对角支中点建立急性心梗动物模型。分别用方法I 和II 制备缺血模型,结果发现方法II 与方法I 比较,具有动物死亡率低、心梗指数稳定、结扎效果确切等优点,故本实验采用方法II 研究 VLC 抗心肌缺血作用。

1.5 造模及给药: 犬 ip 3% 戊巴比妥钠溶液 30 mg/kg 麻醉,固定于狗台上。分离股静脉并插管,术中采用葡萄糖氯化钠溶液持续静滴。于颈部正中切口,分离颈总动脉,监测动脉血压。暴露气管,行气管插管,进行机械通气(呼吸机参数: 呼吸频率 18~20 次/分,潮气量为 140~160 mL/次)。动物右侧卧位,经 3、4 肋间切开进入胸腔,打开心包,充分暴露左室侧壁。待动物血压呼吸稳定后,按文献方法^[4]稍加改进,制备 13 点心外膜电极,测心外膜心电图。实验分为模型组; VLC 8、15、32.5 mg/kg 组;复方丹参滴丸 13.25 mg/kg 组,每组 4 只动物。结扎前经插管给药(3 mL/kg),模型组给等体积生理盐水。测结扎前心外膜心电图,取血分离血清测乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸磷酸激酶(CPK)活性。1 h 后,静脉给利多卡因 2 mL/kg,两步结扎法进行冠脉结扎^[5],结扎左缘支及对角支中点。完全结扎后出现 ST 段抬高,缺血区呈青紫色。术后吸净胸腔积血,行胸腔闭式引流,分层关闭胸腔。分别于术后 3、6、12 h 再次给药(模型组给生理盐水); 6 h 测心外膜

心电图; 18 h 处死动物,处死前测各标测点心外膜心电图,并取血测 LDH、CPK 活性。处死后,取出心脏,洗净瘀血,去除心房及右心室,将左心室切成厚度约 1 cm 的心肌片,置于 1% TTC 中,37℃ 水浴中染色 10 min,凡未染红部分为缺血区,将其用小刀剔出,称质量,计算心梗指数。

心梗指数 = 梗死区湿质量 / 左室湿质量

2 结果

2.1 VLC 对心电图、血清心肌酶及心梗指数的影响: VLC 小剂量组 ST 段升高总幅度(ΣST, 6 h)升高超过 2 mV 的导联数(NST, 6 h)病理性 Q 波导联数(NQ, 6 h; NQ, 18 h)分别较对照组下降 67%、52%、61%、47%;大剂量组各指标分别下降 66%、52%、58%、47% (P < 0.05)。CPK 值: 各组结扎前均无明显差异,18 h VLC 大、小剂量组较模型组分别下降 57%、74%;两组 LDH 值较模型组分别降低 43%、45% (P < 0.05);两组心梗指数较模型组分别下降 56%、61% (P < 0.05)。以上各值均与丹参组无明显差异,结果见表 1 和 2。心肌染色结果显示缺血区未染色,呈白色。

2.2 VLC 对犬心率的影响: 结扎犬冠脉造成急性

表 1 VLC 对 ΣST、NST、NQ 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Table 1 Effect of VLC on ΣST, NST, and NQ ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组 别	剂 量 /(mg·kg ⁻¹)	ΣST/mV		NST/个		NQ/个	
		6 h		6 h		6 h	8 h
模型	-	29.70±13.30		6.80±1.70		7.75±3.10	10.00±3.46
VLC	8、15	9.80±4.90 [*]		3.25±0.96 [*]		3.00±0.83 [*]	5.25±0.50 [*]
	32、50	10.00±6.50 [*]		3.25±1.50 [*]		3.25±1.50 [*]	5.25±0.96 [*]
丹参	13.25	7.20±2.50 [*]		2.25±1.50 [*]		2.25±1.50 [*]	3.00±1.73 [*]

与模型组比较: * P < 0.05

* P < 0.05 vs model group

表 2 VLC 对血清 CPK、LDH 及心梗指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Table 2 Effect of VLC on CPK, LDH, and infarction index in serum ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组 别	剂 量 /(mg·kg ⁻¹)	CPK/(U·L ⁻¹)		LDH/(U·L ⁻¹)		心梗指数 /%
		缺血前	缺血后 18 h	缺血前	缺血后 18 h	
模型	-	925±192	16 933±3 573	106±20	429±106	14.40±6.30
VLC	8、15	648±228	4 172±1 926 [*]	107±9	239±10 [*]	5.63±0.44 [*]
	32、50	883±211	7 153±1 698 [*]	102±13	245±92 [*]	6.32±0.72 [*]
丹参	13.25	667±144	7 680±2 233 [*]	93±18	281±59 [*]	6.40±1.48 [*]

与模型组比较: * P < 0.05

* P < 0.05 vs model group

心梗后,模型组心率较结扎前变化不明显,12 h 时心率加快 (P < 0.05)。VLC 大剂量组结扎后心率变化不明显 (P > 0.05),说明其可减慢心梗后的心率加快,对心脏起保护作用;小剂量组虽能缩小心梗面积,但对心梗后心率加快无减缓作用。结果见表 3。

3 讨论

犬急性心肌缺血模型的建立一般采用结扎冠状动脉前降支刚分出第一对角支之下的方法,但结果显示此方法心梗范围较大,平均占左室质量的 35%^[6]。实验中首先结扎冠状动脉前降支中下 1/3

表 3 VLC对犬结扎后心率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=4$)

Table 3 Effect of VLC on heart rate of dogs after ligation ($\bar{x} \pm s, n=4$)

组别	剂量 /(mg·kg ⁻¹)	心率/(次·min ⁻¹)				
		缺血前	缺血后 1 h	缺血后 3 h	缺血后 6 h	缺血后 12 h
模型	-	138±15	113±12	136±12	173±35	197±14
VLC	8.15	146±16	134±19	154±20	199±27	189±17
	32.50	166±19	144±19	140±27	154±29	167±32
丹参	13.25	151±21	144±40	140±53	146±70	144±37

与缺血前比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs before ischemia

处(方法I),但结果显示,无论从心肌酶还是心肌梗指数上观察,结扎效果均不确切,动物死亡率较高。本实验参照在结扎兔左冠状动脉左缘支基础上^[7],同时结扎对角支中点,建立心梗模型(方法II)。结果可见,此法造成心梗面积较小,对心脏血流动力学影响轻微,因此,减少了心律失常发生,提高了动物生存率,且评价结果可靠,故本实验选择方法II进行药物实验。但此法同时存在一定不足,由于心梗面积小,药物对血流动力学的作用无法明显体现;另外,不同种属之间,冠状动脉结构也存在一定差异。

心外膜心电图已成为心血管药理研究中一种常用方法,心电图上ΣST表示心肌损伤程度,NST表示心肌损伤范围,NQ表示心肌梗死范围^[7]。CPK,LDH在心梗的评价中具有重要价值。John等^[8]提出在所有酶及细胞成分中,CPK是衡量心梗面积的最佳指标。本实验结果显示,VLC具有明显抗心肌缺血作用。王万铁等^[2]报道,川芎嗪抗心肌缺血再灌注损伤与提高机体内NO,降低ET水平有关。缬草可通过减慢心率,降低血压及扩张冠脉以降低心肌耗氧,对急性心肌缺血起保护作用^[1]。VLC由缬草提取物(主要含有挥发油和环烯萜)和川芎提取物(主要含有挥发油、阿魏酸和川芎嗪)组成,因此,本组方可能从多个方面抑制心肌缺血损伤。VLC中川芎嗪的质

量分数约为1%,但其抗心肌缺血作用近似于川芎嗪单体。这说明缬草与川芎具有协同作用。VLC保护心肌缺血的具体作用机制仍在进一步研究中。

References

[1] Zhang B H, Meng H P, Wang T, *et al.* Effect of *Valeriana officinalis* L. extract on cardiovascular system [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1982, 17(5): 382-384.

[2] Wang W T, Xu Z J, Lin L N, *et al.* Effect of ligustrazine on nitric oxide and endothelin in the reperfusion injury after myocardial ischemia in rabbits [J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 2001, 17(3): 230-234.

[3] Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Methodology in Pharmacological Experiments* (药理实验方法学) [M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.

[4] Cinca J, Mont L, Carreno A, *et al.* Coronary constriction induced by muscarinic receptor stimulation in pigs [J]. *Cardio-vasc Res*, 1996, 32: 311-319.

[5] Hu Y S, Chen H, Guan Y F, *et al.* Effect of Shengxiangsu Pill on acute myocardial infarction in dogs [J]. *China J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 2000, 17(2): 99-101.

[6] Barros L F M, Chagas A C P, Luz P L D, *et al.* Magnesium treatment of acute myocardial infarction: effect on necrosis in an occlusion/reperfusion dog model [J]. *Int J Cardiol*, 1995 (48): 3-9.

[7] Li Y K, Wang Q M. *Methodology in Pharmacological Experiment on Chinese Materia Medica* (中药药理实验方法学) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1991.

[8] Kjekshus J K, Sobel B E. Depressed myocardial creatine phosphokinase activity following experimental myocardial infarction in rabbit [J]. *Circ Res*, 1970, 27: 403-414.

射干的抗病毒实验研究

韩 杨¹,孔 红²,李宜平^{1*}

(1. 长春中医学院,吉林 长春 130021; 2. 吉林大学第三临床医院,吉林 长春 130021)

射干为鸢尾科植物射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC. 的根茎。其味苦、性寒,能清热解毒、消痰利咽。用于热毒痰火郁结、咽喉肿痛、痰涎壅盛、咳

嗽、气喘。本实验研究其体内、体外抗病毒作用。

1 材料

1.1 药物与试剂:射干 60% 乙醇提取物原液,由

* 收稿日期: 2003-05-08
作者简介: 韩 杨 (1959-),女,吉林省长春市人,长春中医学院基础医学部副教授,主要从事药理学研究。
Tel (0431) 6172352 E-mail hanyang_369@yahoo.com.cn