

川芎嗪、阿魏酸及其配伍对心肌缺血再灌注模型大鼠的保护作用及对黏附分子的影响

杨家荣¹, 张密霞², 常亮堂², 庄朋伟², 李慧颖², 冯 英², 张艳军²

(1. 天津市第一中心医院 药剂科, 天津 300192; 2. 天津中医药大学, 天津 300193)

摘要:目的 观察川芎嗪、阿魏酸及其配伍对心肌缺血再灌注模型大鼠的保护作用。方法 122只SD大鼠随机分为对照组、模型组、假手术组、盐酸川芎嗪高、低剂量(18、9 mg/kg)组,阿魏酸高、低剂量(3、1.5 mg/kg)组及盐酸川芎嗪(9 mg/kg)配伍阿魏酸(1.5 mg/kg)组,舌下iv给药3 d。末次给药后5 min,制备大鼠心肌缺血再灌注模型。再灌注6 h检测血清肌酸磷酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)水平,再灌注24 h检测缺血半暗带黏附分子表达。结果 与假手术组比较,模型组血清CK、LDH显著升高($P < 0.05$);心脏微血管内皮细胞表达黏附分子水平升高。各用药组不同程度降低血清CK、LDH水平,减少心肌组织E选择素、P选择素、ICAM-1 mRNA表达,其中盐酸川芎嗪配伍阿魏酸作用显著。结论 川芎嗪、阿魏酸及其配伍均可以通过抑制内皮细胞黏附分子E选择素、P选择素、ICAM-1 mRNA表达减轻心肌缺血再灌注损伤,其中盐酸川芎嗪配伍阿魏酸作用显著。

关键词:心肌缺血再灌注; 川芎嗪; 阿魏酸; 黏附分子

中图分类号: R286.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)07-1054-03

随着人们生活水平的不断提高和人类寿命的延长,心血管疾病的发病率呈不断升高趋势,心肌梗死及其溶栓后的缺血再灌注损伤严重威胁着人类的健康。近年来,白细胞在缺血再灌注损伤中的作用越来越受到重视,白细胞内皮细胞黏附是白细胞经内皮迁移游出,在组织间募集的关键步骤,是白细胞导致缺血再灌注损伤,发挥病理学效应的先决条件。

在前期的实验中发现^[1],川芎嗪、阿魏酸可以不同程度降低体外培养人心脏微血管内皮细胞细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、P选择素、E选择素 mRNA的表达,在本实验中选用川芎嗪、阿魏酸单独及配伍给药,观察其对心肌缺血再灌注模型大鼠的保护作用及对黏附分子的影响。

1 材料与方法

1.1 动物:SD大鼠122只,雄性,体质量(220±10)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号:SCX(京)2007-0001。

1.2 实验药品:盐酸川芎嗪,质量分数98.5%,批号07030-A;阿魏酸,质量分数98%,批号20070108,均由天津市一方科技有限公司提供;黄芩苷,天津中医药大学提取,质量分数91%。

1.3 实验试剂:肌酸磷酸激酶(CK)试剂盒、乳酸脱氢酶试剂盒(LDH)由中生北控生物科技股份有限公司提供。TRNzol总RNA提取试剂盒:F5120,天根生化科技(北京)有限公司产品;TaKaRa

Primescript™ RT Reagent Kit (Perfect Real Time); BK601; TaKaRa SYBR® Premix Ex Taq™ (Perfect Real Time); BK4403,均为宝生物工程(大连)有限公司产品。

1.4 实验仪器:300半自动生化分析仪,荷兰威图; ML795 Power Lab多通道生理记录仪,澳大利亚; UVPC2401型分光光度计,日本岛津公司; Allegra™ 64R Centrifuge离心机,Beckman,美国; ABI 7300定量PCR仪,美国; DM530核酸蛋白分析仪(DNA/RNA Protein Analyzer),Beckman,美国。

1.5 动物分组及给药:122只大鼠随机分为:对照组、模型组、假手术组、盐酸川芎嗪高、低剂量(18、9 mg/kg)组,阿魏酸高、低剂量(3、1.5 mg/kg)组,盐酸川芎嗪(9 mg/kg)配伍阿魏酸(1.5 mg/kg)组,假手术组10只,其余各组每组16只。对照组、模型组、假手术组给予生理盐水,各给药组于造模前2 d每天舌下iv给药0.25 mL/100 g,于第3天给药后造模。

1.6 大鼠心肌缺血再灌注模型的制备^[2,3]:乙醚麻醉后,将大鼠仰卧位固定于手术台上,术前舌下iv药物,于左胸第3~5肋间打开胸腔暴露心脏,在左心耳与动脉圆锥之间,左冠状动脉起始处稍往下约4 mm,用0/7带线缝合针穿过心肌浅层,打一活结(第2个结为活结)结扎冠状动脉造成心肌缺血,关闭胸腔,将丝线线头留于胸腔外,检测心电图,30

收稿日期:2007-11-16

基金项目:天津市教育委员会基金资助项目(01-21002)

作者简介:杨家荣(1968—),女,天津人,学士,副主任药师,主要研究方向为中药的合理使用。

min 后松开结扎线,行心肌再灌注,再次检测心电图。其中假手术组只穿线不结扎,对照组大鼠不进行手术处理。造模过程中死亡大鼠剔除,动物存活率为 65.6%。实验动物模型成功标准:在心肌缺血再灌注过程中伴有心电图 ST 段变化或 QRS 波增宽;NBT 染色法将心脏染色后可见明显的缺血/坏死区。

1.7 指标检测方法

1.7.1 生化指标:再灌后 6 h 眼内眦取血,3 000 r/min 离心 15 min,取血清,半自动生化分析仪检测 CK、LDH。

1.7.2 RT-PCR 检测:再灌后 24 h 摘取心脏,立即冻于液氮,根据试剂盒说明书用 RT-PCR 法检测半暗带 ICAM-1、P 选择素、E 选择素 mRNA 的表达。PCR 引物由上海生物工程技术服务有限公司合成,ICAM-1^[4],正向引物:5'-CGTGGCGTC-TTACACCT-3',反向引物:5'-TTAGGGCCTCC-TGAGC-3',产物 80 bp;E 选择素^[5],正向引物:5'-GGCGATTCAACAAGGAAG-3',反向引物:5'-TCTCTCGTCATTCCACATGC-3',产物 200 bp;P 选择素^[6],正向引物:5'-CAATAAGACTCT-CACGGCGGAGGC-3',反向引物:5'-CAGGTG-TAGCTCCCAATGGTCTCG-3',产物 231 bp; β -actin^[3],正向引物:5'-AGAGGGAAATCGTG-CGTGAC-3',反向引物:5'-CGATAGTGATGA-CCTGACCGT-3',产物 138 bp。

1.8 统计学方法:用 SPSS 10.0 软件包进行统计学处理,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,方差分析用 F 检验,组间比较用 q 检验。

2 结果

2.1 对心肌缺血再灌注大鼠血清 CK、LDH 水平的影响:结扎冠状动脉左前降支 30 min,再灌注 6 h 后,模型组与假手术组、对照组比较,血清 CK、LDH 均显著升高 ($P < 0.05$)。假手术组与对照组比较,CK、LDH 水平升高,且差异显著 ($P < 0.05$)。与模型组比较,各用药组除盐酸川芎嗪高剂量外,均可降低血清 CK 水平,盐酸川芎嗪配伍阿魏酸组、盐酸川芎嗪低剂量组与模型组比较,差异显著 ($P < 0.05$),其中,盐酸川芎嗪配伍阿魏酸作用明显;除盐酸川芎嗪高、低剂量组外,各给药组均可降低血清 LDH 水平,其中,盐酸川芎嗪配伍阿魏酸、阿魏酸低剂量组与模型组比较差异显著 ($P < 0.05$),作用明显,结果见表 1。

2.2 对心肌缺血再灌注大鼠心肌缺血半暗带黏附

分子表达的影响:RT-PCR 仪上检测各样本黏附分子表达,根据 Ct 值(每个反应管内的荧光信号到达设定的域值时所经历的循环数)以假手术组为标准,计算各组基因表达为假手术组的倍数,表达倍数 =

$$2^{-[(\text{Ct 用阿魏酸} - \text{Ct 用} \beta\text{-actin}) - (\text{Ct 假手术组} - \text{Ct 假手术组} \beta\text{-actin})]}$$

与假手术组比较,模型组 E 选择素、P 选择素、ICAM-1 mRNA 表达均升高。各用药组与模型组比较,盐酸川芎嗪配伍阿魏酸组可显著降低 E 选择素、P 选择素、ICAM-1 mRNA 表达,结果见表 2。

表 1 川芎嗪、阿魏酸及其配伍对心肌缺血再灌注大鼠血清 CK、LDH 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of ligustrazine, ferulic acid, and their compatibility on CK and LDH levels in serum of ischemia-reperfusion rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	CK/ (U · L ⁻¹)	LDH/ (U · L ⁻¹)
对照	—	171.69 ± 58.95 [*]	53.23 ± 19.88 [*]
假手术	—	333.30 ± 104.95 [*]	233.90 ± 62.55 [*]
模型	—	493.63 ± 159.24 [*]	479.80 ± 214.81 [*]
盐酸川芎嗪	18	484.00 ± 151.42 [*]	461.93 ± 130.13 [*]
	9	337.83 ± 106.61 [*]	461.00 ± 189.88 [*]
阿魏酸	3	444.27 ± 199.08	393.80 ± 92.36
	1.5	490.17 ± 206.47 [*]	290.63 ± 163.30 [*]
盐酸川芎嗪+阿魏酸	9+1.5	285.10 ± 113.14 [*]	298.89 ± 83.14 [*]

与假手术组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

^{*} $P < 0.05$ vs Sham group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

表 2 川芎嗪、阿魏酸及其配伍对心肌缺血再灌注大鼠心肌黏附分子表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

Table 2 Effects of ligustrazine, ferulic acid, and their compatibility on expression of adhesion molecules in myocardium of ischemia-reperfusion rats ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	E 选择素	P 选择素	ICAM-1
模型	—	2.71 ± 1.42	2.93 ± 1.46	1.64 ± 1.31
盐酸川芎嗪	18	2.82 ± 0.53	2.43 ± 1.32	2.47 ± 1.43
	9	1.22 ± 0.21	1.16 ± 0.71	0.79 ± 0.67
阿魏酸	3	1.55 ± 1.78	3.00 ± 3.30	1.12 ± 0.63
	1.5	4.10 ± 3.24	4.51 ± 4.43	4.87 ± 4.30 [*]
盐酸川芎嗪+阿魏酸	9+1.5	0.64 ± 0.25 [*]	0.88 ± 0.01 [*]	0.77 ± 0.12 [*]

与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

^{*} $P < 0.05$ vs model group

3 讨论

心肌再灌注损伤发生的机制主要有:钙离子超载、氧自由基损伤、白细胞激活、内皮细胞自稳态调节失控、血管紧张素加重心肌损伤等。其中白细胞与血管内皮细胞的相互黏附和作用是调节白细胞浸润,引起缺血再灌注损伤的重要环节。缺血区白细胞与内皮细胞的活化及表面黏附分子的表达则是引起白细胞在局部浸润、发挥细胞毒作用的先决条件。

在心肌缺血再灌注损伤中活化的内皮细胞释放 ICAM-1、P 选择素、E 选择素,三者介导白细胞与内皮细胞的黏附。缺血再灌注后白细胞黏附和聚集于缺血组织的血管中,大量白细胞机械性阻塞微血管限制再灌注,活化的中性粒细胞(PMN)释放大量的毒性物质如超氧阴离子、 H_2O_2 及酶类物质,还释放大量炎性介质和细胞因子,吸引更多的白细胞进入组织,形成恶性循环,从而加剧缺血再灌注损伤。因此有效地控制白细胞内皮细胞的黏附,可能成为预防及治疗缺血再灌注损伤的有效方法。

本研究结果表明,心肌缺血再灌注后可引起血清中 CK、LDH 显著升高($P<0.05$)。各用药组中盐酸川芎嗪低剂量组,阿魏酸高低剂量组及盐酸川芎嗪配伍阿魏酸组均可降低血清 CK 水平,其中盐酸川芎嗪配伍阿魏酸作用最好。阿魏酸高、低剂量组及盐酸川芎嗪配伍阿魏酸组均可降低血清 LDH 水平,其中,盐酸川芎嗪配伍阿魏酸及阿魏酸低剂量作用显著。以上结果表明在所选单体中除川芎嗪高剂量组外各用药组均可减轻心肌缺血再灌注损伤。

进一步通过 RT-PCR 法检测缺血半暗带 ICAM-1、P 选择素、E 选择素 mRNA 的表达,来探讨各用药组减轻心肌缺血再灌注损伤的机制。与假手术组比较,模型组 E 选择素、P 选择素、ICAM-1

mRNA 表达均升高。各用药组与模型组比较,盐酸川芎嗪配伍阿魏酸组可以显著降低 E 选择素、P 选择素、ICAM-1 mRNA 表达。

通过本实验,优选出川芎嗪和阿魏酸的配伍,可减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤,其作用机制之一可能为抑制内皮细胞黏附分子 ICAM-1、E 选择素、P 选择素 mRNA 表达。

参考文献:

- [1] 王 静, 张密霞, 庄朋伟, 等. 川芎嗪、阿魏酸对心脏微血管内皮细胞白细胞黏附的影响[J]. 天津中医药大学学报, 2007, 26(3): 146-149.
- [2] 徐江平, 孙莉莎, 吴航宇, 等. 丹酚酸 B 对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. 中国药理学杂志, 2003, 38(8): 595-597.
- [3] Zacharowski K, Olbrich A, Otto M, et al. Effects of the prostanoid EP3-receptor agonists M8B28767 and GR63799X on infarct size caused by regional myocardial ischaemia in the anaesthetized rat[J]. Br J Pharmacol, 1999, 126(4): 849.
- [4] Invernica G, Pontib D, Corsinia E, et al. Human microvascular endothelial cells from different fetal organs demonstrate organ-specific CAM expression[J]. Exp Cell Res, 2005, 308: 273-282.
- [5] Callera G E, Montezano A C, Touyz R M, et al. ETA receptor mediates altered leukocyte-endothelial cell interaction and adhesion molecules expression in DOCA-Salt rats[J]. Hypertension, 2004, 43: 872-879.
- [6] Zeiffer U, Schober A, Lietz M, et al. Neointimal smooth muscle cells display a proinflammatory phenotype resulting in increased leukocyte recruitment mediated by P-selectin and chemokines[J]. Circ Res, 2004, 94: 776-784.

积雪草苷大鼠在体肠吸收动力学研究

黄怀鹏, 刘彩霞

(河北平安健康集团, 河北 石家庄 050021)

摘要:目的 研究积雪草苷的在体肠吸收机制。方法 采用大鼠在体肠灌流试验,利用 HPLC 法测定积雪草苷的量,分别研究药物浓度和吸收部位对积雪草苷吸收的影响。结果 在 25~100 $\mu\text{g/mL}$, 小肠吸收速率常数(K_a)和表观吸收系数(P_{app})无显著性差异。各肠段的 K_a 和 P_{app} 有显著性差异,十二指肠、空肠、回肠、结肠的 K_a 分别为 (0.0298 ± 0.0043) 、 (0.0365 ± 0.0076) 、 (0.0335 ± 0.0081) 、 $(0.0070 \pm 0.0015) \text{ min}^{-1}$, P_{app} 分别为 $(3.42 \pm 0.63) \times 10^{-3}$ 、 $(4.02 \pm 1.07) \times 10^{-3}$ 、 $(3.79 \pm 0.77) \times 10^{-3}$ 、 $(1.72 \pm 0.43) \times 10^{-3} \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ 。结论 一定范围的药物浓度对积雪草苷的 K_a 和 P_{app} 无影响,其吸收机制为被动扩散。

关键词: 积雪草苷; 液相色谱法; 肠吸收动力学

中图分类号: R285.61

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)07-1056-03

积雪草为伞形科植物积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urban 的干燥全草,积雪草始载于《神农本草经》,具有清热利湿、解毒消肿之功效。积雪草含有积

雪草苷、羟基积雪草苷、积雪草酸、羟基积雪草酸等多种三萜类化合物,积雪草苷为积雪草中的主要活性成分^[1]。本研究采用大鼠在体肠灌流的方法建立

收稿日期:2008-01-15

基金项目:河北省中小企业创新基金(C7C1303192001)

作者简介:黄怀鹏(1971—),男,河北省石家庄市人,博士,副研究员,硕士生导师,主要研究方向为中药新药研究与开发,发表论文40余篇,参编专著3部,获省部级奖励3项,申请专利10项。Tel: (0311) 86109893 E-mail: huang71526@163.com

川芎嗪、阿魏酸及其配伍对心肌缺血再灌注模型大鼠的保护作用及对黏附分子的影响

作者：[杨家荣](#)，[张密霞](#)，[常亮堂](#)，[庄朋伟](#)，[李慧颖](#)，[冯英](#)，[张艳军](#)
作者单位：[杨家荣\(天津市第一中心医院药剂科, 天津, 300192\)](#)，[张密霞, 常亮堂, 庄朋伟, 李慧颖, 冯英, 张艳军\(天津中医药大学, 天津, 300193\)](#)
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39(7)
被引用次数：3次

参考文献(6条)

1. [王静;张密霞;庄朋伟](#) [川芎嗪、阿魏酸对心脏微血管内皮细胞白细胞黏附的影响](#)[期刊论文]-[天津中医药大学学报](#) 2007(03)
2. [徐江平;孙莉莎;吴航宇](#) [丹酚酸B对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用](#)[期刊论文]-[中国药学杂志](#) 2003(08)
3. [Zacharowsk K;Olbrich A;Otto M](#) [Effects of the prostanoid EP3-receptor agonists M&B28767 and GR63799X on infarct size caused by regional myocardial ischaemia in the anaesthetized rat](#)[外文期刊] 1999(04)
4. [Invernicia G;Pontib I;Corsinia E](#) [Human microvascular endothelial cells from different fetal organs demonstrate organ-specific CAM expression](#)[外文期刊] 2005(2)
5. [Callera G E;Montezano A C;Touyz R M](#) [ETA receptor mediates altered leukocyte-endothelia cell interaction and adhesion molecules expression in DOCA-Salt rats](#)[外文期刊] 2004(4)
6. [Zeiffer U;Sehofer A;Lietz M](#) [Neointimal smooth muscle cells display a proinflammatory phenotype resulting in increased leukocyte recruitment mediated by P-selectin and chemokines](#)[外文期刊] 2004

本文读者也读过(5条)

1. [潘赞红. 金鑫. PAN Zanhong. JIN Xin](#) [川芎嗪与阿魏酸配伍对大鼠心肌缺血再灌注损伤心肌的保护作用](#)[期刊论文]-[天津医药](#)2008, 36(10)
2. [蔡晶晶. 燕翼. 杨莉. 谢佳佳. 胡广全. 吴爵非. 宾建平](#) [小鼠心肌缺血再灌注模型制备及其超声分子成像研究](#)[期刊论文]-[中国超声医学杂志](#)2010, 26(7)
3. [邹捍东. 吴灵渝. 周青山. 黄海波. 侯炜. Zou Han-dong. Wu Ling-xi. Zhou Qing-shan. Huang Hai-bo. Hou Wei](#) [阿魏酸对兔失血性休克腹腔脏器再灌注损伤的保护作用](#)[期刊论文]-[中国临床康复](#)2006, 10(43)
4. [吕青兰. 袁灿. 张华莉. 陈广文. 王尧玲. 邓恭华. 涂自智. 肖献忠](#) [用cDNA芯片检测大鼠心肌缺血预适应后基因表达谱的改变](#)[期刊论文]-[中国动脉硬化杂志](#)2003, 11(3)
5. [胡燕月. 阮琴. 何新霞. 徐叶芬](#) [川芎嗪和阿魏酸对大鼠离体心脏血流动力学的影响](#)[期刊论文]-[浙江师范大学学报\(自然科学版\)](#) 2004, 27(4)

引证文献(3条)

1. [窦颖辉. 王丽. 何广卫. 吴强. 范国荣. 杭太俊](#) [反相高效液相色谱法测定\(E\)-3-\(4-\(\(3, 5, 6-三甲基吡嗪-2-基\)甲氧基\)-3-甲氧基苯基\)丙烯酸在SD大鼠血浆中的浓度](#)[期刊论文]-[药学实践杂志](#) 2012(1)
2. [赵润英. 郝伟. 孟祥军. 赵丽妮. 李昭. 王俊平. 丁双双. 魏巍](#) [阿魏酸川芎嗪对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及分子机制研究](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2012(19)
3. [赵润英. 郝伟. 孟祥军. 李昭. 赵丽妮. 马明洋. 丁双双](#) [阿魏酸川芎嗪后处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2012(19)

论文]-[中国医科大学学报](#) 2012(11)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200807032.aspx