[3] 朱卫丰, 张亚红. 肉桂酸透皮吸收的实验研究 [J]. 中成药, 2003, 25(6): 443.
[4] 杨祖贻, 裴 瑾. 赤芍和赤芍肉桂复方在小鼠血浆中芍药苷浓度比较 [J]. 中国药理与临床, 2004, 20(5): 4.
[5] Smith C K, Moore C A. Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde, and cinnamic alcohol [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2000, 168(3): 189.
[6] Sapienza P P, Ikeda G J, Warr P I, *et al*. Tissue distribution and excretion of ^{14}C-labelled cinnamic aldehyde following sirngle and multiple oral administration in male Fischer 344 rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 1993, 31(4): 253.
[7] Yuan J H, Dieter M P, Bucher J R, *et al*. Toxicokinetics of cinnamaldehyde in F344 rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 1992, 30(12): 997.
[8] 张玉杰, 杨 洁, 邹晓翠, 等. 黄连肉桂药对配伍对黄连总碱大鼠小肠吸收的影响 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(15): 1521.

地奥心血康对心肌缺血再灌注损伤的保护作用及机制研究

陈 虹[1], 朱鲲鹏[1], 张 真[2], 于 雷[2], 康 毅[3*], 刘 欣[4*]
(1. 武警医学院附属医院 药剂科, 天津 300162; 2. 地奥集团 学术部, 四川 成都 600041; 3. 天津医科大学 药理学教研室, 天津 300070; 4. 天津医科大学 病理生理教研室, 天津 300070)

摘 要: 目的 观察地奥心血康 (DAXXK) 对大鼠心肌缺血再灌注 (IR) 损伤的保护作用和作用机制。方法 采用大鼠心肌缺血再灌注损伤模型, 观察 DAXXK 不同剂量组心肌缺血再灌注损伤所致 ECG 的 ST 段变化、心律失常出现和持续时间、心律失常评分、心肌梗死面积和心肌形态学指标的变化。TUNEL 法检测心肌细胞凋亡, 免疫组化法检测凋亡相关蛋白 Fax、FasL 表达情况, 比色法测定心肌组织抗氧化能力, RT-PCR 法检测心肌 Mn-SOD mRNA 表达, ELISA 法检测血管内皮分泌功能。结果 与模型组相比, DAXXK 各组, ECG 中 ST 段抬高幅度显著降低, 心律失常评分明显降低, 心律失常发生的开始时间明显推后, 持续时间明显缩短, 心肌梗死面积明显缩小, 心肌细胞肿胀和炎性细胞浸润减少, 心肌细胞凋亡减少, 心肌总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 活力增强, Mn-SOD mRNA 表达增加, 血管内皮功能改善。上述作用呈剂量依赖性。结论 DAXXK 对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用与其抗氧化损伤、抑制心肌细胞凋亡以及改善血管内皮功能有关。

关键词: 地奥心血康; 心肌缺血再灌注; 氧化损伤; 细胞凋亡; 内皮功能
中图分类号: R286.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)12-2018-06

Protection and mechanism of Dí ao Xinxue Kang against myocardial ischemia-reperfusion injury in rats

CHEN Hong[1], ZHU Kun-peng[1], ZHANG Zhen[2], YU Lei[2], KANG Yi[3], LIU Xin[4]
(1. Department of Pharmacy, Affilliated Hospital, Medical University of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China; 2. Department of Academic, DÍ AO Group, Chengdu 600041, China; 3. Department of Pharmacology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 4. Department of Pathophysiology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract: Objective To observe the cardioprotective effect of Dí ao Xinxue Kang (DAXXK) and to explore the mechanisms on myocardial ischemia-reperfusion (I/R) injury in rats. **Methods** The myocardial ischemia reperfusion injury model was established by the ligation of left descending coronary artery for 30 min and reperfusion for 120 min in rats. By using it, the effects of DAXXK different dosage groups on the ST segment of ECG, onset and duration of ventricular arrhythmia (VA), the score of arrhythmia, and the effects on myocardial infarction size and morphologic change after myocardial injury in rats were observed. Myocardial apoptosis was detected using TUNEL method. Expressions of apoptosis-associated protein Fas and FasL were measured using the immunohistochemical method. Total-superoxide dismutase (T-SOD) was detected by spectrophotometer. NO and ET-1 in serum were detected by ELISA. Mn-SOD mRNA was measured by RT-PCR method. **Results** Compared with I/R group, DAXXK with dose-dependent brought

收稿日期: 2010-01-28
作者简介: 陈 虹 (1961—), 女, 江苏人, 学士, 副主任药师, 主要研究方向为中草药药理学和临床药学。
Tel: (022) 60578892 E-mail: chenhongyiliao@163.com
* 通讯作者 康 毅 Tel: (022) 23542523 E-mail: kangy@tijmu.edu.cn
刘 欣 Tel: (022) 23542745 E-mail: liuxin@tijmu.edu.cn

down the ST segment, decreased score of arrhythmia, diminished myocardial infarction size and decreased myocardial swelling, interstitial hemorrhage, and inflammatory cell infiltration, as well as a markedly improved cardiac function. Compared with I/R group, apoptosis was decreased, positive indexes of Fas and FasL were lessened. The myocardial antioxidative activity after myocardial I/R injury was increased and vascular endothelial function was improved by DAXXK in a dose-dependent manner. **Conclusion** DAXXK could protect myocardium against I/R injury. The protective mechanisms could involved in the myocardial antioxidative activity, antiapoptosis action, and improvement of vascular endothelial function.

Key words: Dí ao Xinxue Kang (DAXXK); myocardial ischemia-reperfusion; oxidative injury; apoptosis; endothelial function

地奥心血康 (Dí ao Xinxue Kang, DAXXK) 是《中国药典》收载的中药成方制剂, 为薯蓣科植物黄山药 *Dioscorea Panthaica* Prain et Burkill、穿龙薯蓣 *Dioscorea nipponica* Makino 的根茎提取物[1]。研究表明其具有活血化瘀、行气止痛、宣痹通阳、补益气血等功能。已有研究表明 DAXXK 能够减轻实验性缺氧心肌细胞的钙超载, 保护缺氧心肌[2], 同时可使高脂血瘀大鼠的高切变率下全血黏度、低切变率下全血黏度、全血还原黏度、血浆黏度明显降低, 并能降低其血清总胆固醇和甘油三酯水平[3]。本实验旨在心肌缺血再灌注损伤模型中, 评价 DAXXK 对心肌缺血再灌注损伤的保护作用, 并从抗氧化损伤、抗细胞凋亡以及改善内皮功能角度探讨 DAXXK 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂: DAXXK, 浅棕黄色粉末, 含甾体总皂苷不少于 35%, 由地奥集团学术部提供, 实验前配制成所需浓度溶液使用。复方丹参片, 石家庄市华药药业股份有限公司生产, 批号 20030211; 台盼蓝生物染色剂, 北京瀛海精细化工厂; 2, 3, 5-氯化三苯基四氮唑 (TTC), 中国医药集团上海化学试剂公司生产; 超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、黄嘌呤氧化酶 (XOD) 测试盒, 南京建成生物工程研究所; PCR 试剂盒 (TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver. 3.0)、PCR 引物, 宝生物工程 (大连) 有限公司。β-actin 引物序列: 上游引物 5′-TGACGGGGTCACCCACACTGTGCCCATCTA-3′, 下游引物 5′-CTAGAAGCATTGCGGTGGACGATGGAGGG-3, 扩增产物长度为 666 bp。Mn-SOD 引物序列: 上游引物 5′-GACCTGCCTTACGACTATGG-3′, 下游引物 5′-GACCTTGCTCCTTATTGAAGG-3′, 扩增产物长度为 358 bp。大鼠内皮素-1 (ET-1) 酶联免疫吸附测试盒, Adlitteram Diagnostic Laboratories, NO 试剂盒 (硝酸还原酶法), 南京建成生物工程研究所。兔抗 Fas 多克隆抗体, 武汉博士德生物工程有限公司。兔抗 FasL 多克隆抗体, Santa Cruz, 美国。过氧化物酶标记的链霉卵白素 (Streptavidin/Peroxidase) 染色试剂盒 (兔 SP 检测试剂盒), 北京中杉金桥生物技术有限公司。原位细胞凋亡检测试剂盒, Roche, 德国。髓过氧化物酶 (MPO) 测试盒, 南京建成生物工程研究所。

1.2 动物与分组: 健康 Wistar 大鼠, 雄性 60 只, 体质量 250~ 300 g, 中国医学科学院放射医学研究所实验动物中心提供, 合格证号: 0000691。将动物随机分为模型组, 假手术组, DAXXK (600、400、200 mg/kg) 组, 复方丹参片 (2 g/kg) 组。各组采用 ig 给药方式, 连续 7 d, 末次给药 24 h 后, 实施手术。

1.3 造模方法[4]: 25% 乌拉坦 (4 mL/kg) ip 麻醉大鼠, 仰卧位固定于手术台。连接常规心电图, 标准Ⅱ导联监测心电图。颈部正中切开, 暴露气管和左侧颈动脉, 常规连接动物人工呼吸机和动脉血压并连续监测。沿胸骨体左缘纵行切断第 2~ 5 胸肋关节, 暴露壁层胸膜, 剪开心包膜, 暴露心脏。以左冠状静脉为标志, 用缝合针穿丝线从左心耳下缘水平进针, 经冠状动脉左前降支下方于肺动脉圆锥旁出针。丝线两端共同穿过一下端为球形的聚乙烯小管形成活结, 拉紧活结造成冠脉左前降支供应区域心肌缺血, 行 30 min 冠脉结扎缺血, 再灌注 120 min, 为心肌缺血再灌注损伤模型。假手术组手术操作如前, 但不结扎冠脉。

1.4 观察指标

1.4.1 ST 段抬高情况: 记录肢体标准Ⅱ导联心电图, 观察记录心肌缺血和再灌注期间 ST 段的变化。

1.4.2 心律失常评价: 记录心肌缺血 30 min 内室性心律失常 (VA), 包括室性早搏 (VPC), 室性心动过速 (VT) 出现的时间, 持续时间及室颤 (VF) 出现频率。心律失常按文献评分方法[5]计算。

1.4.3 心肌梗死评价[6]: 再灌注 120 min 立即结扎冠状动脉, 并经股静脉推注 0.6% 台盼蓝溶液 2

mL。迅速剪下心脏, 在 4 ℃ 生理盐水中洗净残血和染料后, 滤纸吸干。置冰箱 – 20 ℃ 冷冻 20 min 后取出, 标本沿左室长轴切成 1 mm 厚的切片, 未被染为蓝色的为危险区 (AAR), 将其置于 1% TTC 溶液中染色 20 min, 灰白色为梗死区 (IS), 用电子天平分别称质量, 计算 IS 与 AAR 的比值。

1.4.4 抗氧化损伤能力的检测: 用黄嘌呤氧化酶法测定心肌总 SOD (T-SOD) 活性, 计算心肌 Mn-SOD 活性。RT-PCR 法检测心肌 Mn-SOD mRNA 水平。生化法测定心肌组织中 XOD 和 MDA 水平。

1.4.5 原位末端标记法检测细胞凋亡: 标本取材同 1.4.3 项, 24 h 后常规石蜡包埋, 用石蜡切片机垂直于心肌长轴, 于石蜡块的心尖对侧心肌组织部位进行常规切片, 厚度为 5 μm。每只大鼠观察 2 张切片, 分别以不加 TdT 酶者为阴性对照, 以脱氧核糖核酸酶 (10 μg/mL) 消化的切片为阳性对照。以凋亡阳性细胞核数和总细胞核数之比计算心肌细胞凋亡指数 (apoptotic index, AI)。

1.4.6 心肌凋亡相关基因表达产物检测: 采用免疫组化方法测定凋亡相关基因 Fax、FasL 的表达产物。计算心肌组织 Fas 与 FasL 蛋白阳性染色指数 (positive index, PI)。

1.4.7 心肌形态学变化: 采用 HE 染色法观察心肌形态变化。

1.5 统计学处理: 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据处理以 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析, 并以 LSD 法进行多组间两两比较。

2 结果

2.1 DAXXK 抗心肌缺血再灌注损伤作用

2.1.1 ECG 的 ST 段变化: 除假手术组外, 其余各组在缺血期的 ST 段均呈进行性抬高, 至缺血 30 min 达峰值, DAXXK 高、中剂量组 ST 段抬高幅度均显著低于模型组 ($P < 0.01$), 再灌注后各组 ST 段均逐步恢复至缺血前水平, 结果见表 1。

2.1.2 心律失常评价: 缺血期模型组频发多源性 VPC, 出现时间早, 持续时间长, VPC 发生率为 100%。与之相比, DAXXK 能显著推迟 VPC 出现时间 ($P < 0.01$), 缩短持续时间 ($P < 0.01$)。模型组 VT 出现时间早, 持续时间长, 发生率为 100%。DAXXK 可显著推迟 VT 出现时间 ($P < 0.01$); VT 持续时间显著缩短 ($P < 0.01$), 缺血期, 模型组 VA 评分为 3.75 ± 0.45, 与模型组比较, DAXXK 组的 VA 评分下降, 见表 2。

2.1.3 形态学变化: 模型组心肌缺血范围明显大于假手术组。与模型组相比, DAXXK 200、400 mg/kg 组的 IS/AAR 值明显降低 ($P < 0.01$、0.05)。表明地奥心血康能缩小缺血再灌注后心肌缺血范围, 见表 3。模型组大鼠心肌在光镜下表现为心肌纤维肌横纹消失, 肌束断裂, 心肌细胞严重混浊变性, 大部分心肌细胞膜不完整, 胞质嗜酸性变, 细胞核溶解消失, 可见大量红细胞渗出及炎细胞浸润。DAXXK 各组的 HE 染色可见到心肌纤维肌横纹欠

表 1 DAXXK 对缺血再灌注损伤大鼠 ST 段的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Effect of DAXXK on ST segement after myocardial ischemic reperfusion injury in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组 别	剂量/ (g·kg^{-1})	结扎前 ST 段/mV	缺血期 ST 段/mV			再灌注期 ST 段/mV	
			0 min	15 min	30 min	30 min	120 min
假手术	–	0.105±0.048	0.111±0.024	0.113±0.033	0.112±0.041	0.109±0.045	0.110±0.045
模型	–	0.107±0.023	0.206±0.030##	0.393±0.038##	0.472±0.082##	0.120±0.019	0.102±0.019
DAXXK	0.6	0.093±0.037	0.136±0.023*#	0.178±0.047**##	0.221±0.048**##	0.108±0.011	0.087±0.014
	0.4	0.109±0.038	0.184±0.071*#	0.202±0.055*#	0.265±0.055*#	0.129±0.012	0.111±0.032
	0.2	0.088±0.016	0.201±0.064	0.282±0.046	0.385±0.092	0.118±0.020	0.095±0.024
复方丹参片	2.0	0.109±0.053	0.185±0.034	0.279±0.088	0.370±0.027	0.117±0.023	0.094±0.016

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与假手术组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$, 下表同。图 2、4 同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *vs* model group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ *vs* Sham group, following tables are same. Figs 2 and 4 are same

表 2 DAXXK 对缺血再灌注损伤大鼠心律失常的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Effect of DAXXK on arrhythmia after myocardial I/R injury in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组 别	剂量/ (g·kg^{-1})	VPC/min		VT/min		心律失常评分
		出现时间	持续时间	出现时间	持续时间	
模型	–	3.82±1.33	21.69±4.79	6.81±1.84	17.26±2.97	3.75±1.45
DAXXK	0.6	14.07±3.29**	9.64±3.65**	18.88±1.76**	7.54±1.79**	2.25±1.18**
	0.4	10.07±4.21*	15.11±3.40**	10.04±2.59**	10.54±3.11**	2.75±0.69*
	0.2	5.07±3.28	18.76±7.99	11.98±1.65**	12.31±2.74**	3.12±3.51
复方丹参片	2.0	4.24±2.73	19.04±3.58	12.44±3.78**	14.32±2.94**	2.99±3.35

表 3 DAXXK 对缺血再灌注损伤大鼠心肌缺血和梗死面积的影响 ($\bar{x}\pm s$, n= 10)

Table 3 Effect of DAXXK on ischemic and infarction size after myocardial I/R injury in rats ($\bar{x}\pm s$, n= 10)

组 别	剂量/(g·kg^{-1})	IS/mg	AAR/mg	(IS/AAR)/%
假手术	–	88.12±19.44	182.48±30.50	48.59±9.83
DAXXK	0.6	38.41± 5.34**	179.58±20.27	21.38±2.72**
	0.4	40.45± 3.07*	178.54±29.34	22.65±3.99*
	0.2	68.33± 6.79	180.70±15.96	38.89±8.65
复方丹参片	2.0	68.29± 6.65	179.70±15.96	38.86±7.55

清晰, 少量肌束断裂, 心肌细胞轻度混浊变性, 大部分心肌细胞膜完整, 胞质轻度嗜酸性变, 大部分心肌细胞核膜清晰, 可见少量渗出的红细胞, 中度炎细胞浸润。提示 DAXXK 能明显改善缺血再灌注损伤造成的心肌形态学变化, 见图 1。

2.2 DAXXK 抗心肌缺血再灌注损伤的作用机制: 根据 2.1 结果, 本实验研究了 DAXXK (600、400 mg/kg) 抗心肌缺血再灌注损伤的作用机制。

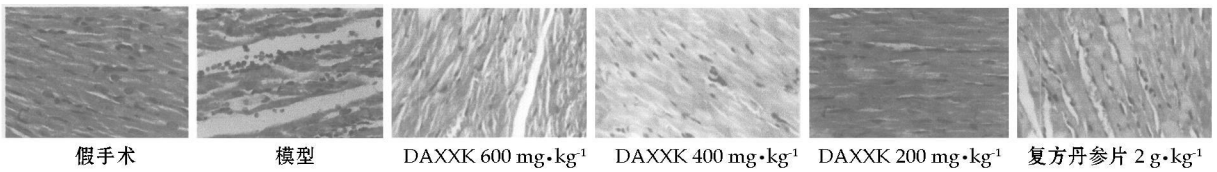

图 1 DAXXK 对缺血再灌注损伤大鼠心肌组织病理学改变的影响

Fig. 1 Effect of DAXXK on change of myocardium tissue pathology in I/R injury in rats

2.2.1 DAXXK 提高心肌抗氧化损伤能力: 除假手术组外, 模型组大鼠心肌组织 T-SOD 及 Mn-SOD 活性均处于较低水平 (P< 0.05), 而 DAXXK 处理的大鼠, 心肌组织中 T-SOD 及 Mn-SOD 活性均较模型组显著升高 (P< 0.05), 其余各实验组与模型组之间无显著差异, 见表 4。

表 4 DAXXK 对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌 T-SOD 及 Mn-SOD 活性的影响 ($\bar{x}\pm s$, n= 10)

Table 4 Effect of DAXXK on activity of myocardial T-SOD and Mn-SOD of myocardial I/R injury in rats ($\bar{x}\pm s$, n= 10)

组 别	剂量/(g·kg^{-1})	T-SOD/(U·mg^{-1})	Mn-SOD/(U·mg^{-1})
模型	–	140.78±11.08	44.17±10.19
假手术	–	169.76± 5.45*	81.49±10.21**
DAXXK	0.4	162.26± 6.41*	76.49±17.57**
	0.6	158.67±14.21*	59.67± 3.36*

模型组大鼠心肌组织 Mn-SOD mRNA 表达处于较低水平, 而 DAXXK 组心肌组织中 Mn-SOD mRNA 表达量较模型组均显著增加 (P< 0.05), 见图 2。

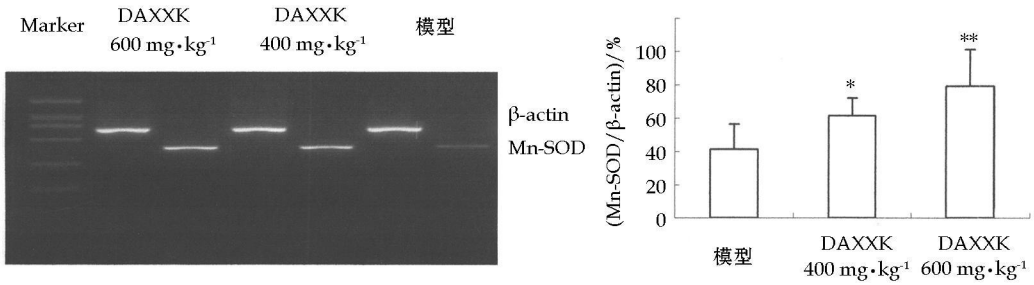

图 2 DAXXK 对大鼠心肌 Mn-SOD mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, n= 5)

Fig. 2 Effect of DAXXK on expression of myocardial Mn-SOD mRNA in rats ($\bar{x}\pm s$, n= 5)

2.2.2 DAXXK 抑制心肌缺血再灌注诱导心肌细胞凋亡: 经 TUNEL 染色, 凋亡心肌细胞核呈棕黄色, 非凋亡心肌细胞核呈蓝色。模型组约有 1/3 细胞发生凋亡, DAXXK 组的 AI 较模型组减少 1/3, 具有显著差异 (P< 0.01), 见图 3 和 4。

免疫组化染色结果证实, Fas 或 FasL 阳性细胞的胞膜或胞浆有棕黄色颗粒。与模型组比较, DAXXK 组 Fas 或 FasL 的 PI 明显降低 (P< 0.01), 分别为模型组的 77%、74%, 见图 4 和 5。

与模型组比较, DAXXK 组大鼠心肌组织中 XOD 活力和 MDA 水平明显降低 (P < 0.05), 见表 5。

2.2.3 DAXXK 改善血管内皮功能: 再灌注 120

表 5 DAXXK 对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌 XOD 和 MDA 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, n= 10)

Table 5 Effect of DAXXK on myocardial XOD and MDA of myocardial I/R injury in rats ($\bar{x}\pm s$, n= 10)

组 别	剂量/(g·kg^{-1})	XOD/(U·g^{-1})	MDA/(nmol·mg^{-1})
模型	–	94.21±12.69	2.01±0.17
DAXXK	0.4	75.24± 5.11**	1.64±0.18**
	0.6	79.29± 7.77**	1.78±0.11*

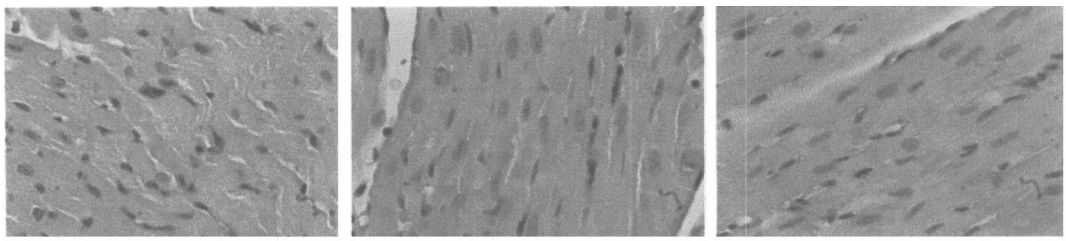

图 3 DAXXK 对大鼠心肌细胞凋亡的影响

Fig. 3 Effect of DAXXK on cardiocyte apoptosis in rats

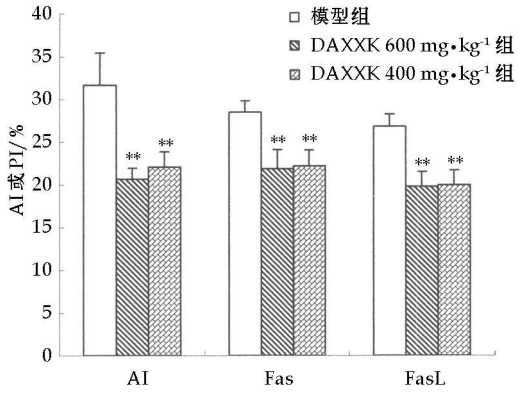

图 4 DAXXK 对大鼠心肌细胞凋亡和 Fas、FasL 的影响

Fig. 4 Effect of DAXXK on cardiocyte apoptosis and Fas, FasL in rats

min 后各组大鼠血清 ET-1 水平均显著增加 ($P<0.01$)，但 DAXXK 组血清 ET-1 增加程度较再灌注组明显降低 ($P<0.01$)，见表 6。结扎前，DAXXK 组大鼠血清 NO 水平明显高于模型组 ($P<0.05$)，说明 DAXXK 可增加基础状态下的血清 NO 水平。与结扎前比较，再灌注 120 min 后各组大鼠血清 NO 水平均显著降低 ($P<0.01$)，但与模型组比较，DAXXK 组血清 NO 水平仍处于较高水平 ($P<0.01$)，提示 DAXXK 能较好地保留损伤后血清 NO 水平，见表 6。再灌注 120 min 后各组大鼠血清 ET-1/NO 值均显著升高 ($P<0.01$)，但与模型组比较，DAXXK 组血清 ET-1/NO 值明显处于较低水平 ($P<0.01$)，提示 DAXXK 可于再灌注损伤后维

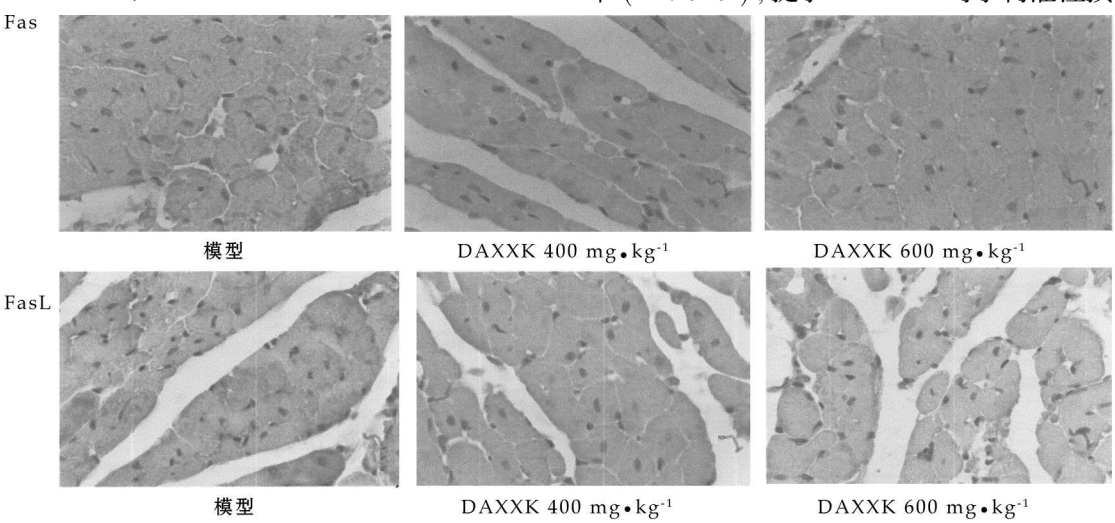

图 5 大鼠心肌 Fas 和 FasL 染色的结果

Fig. 5 Stainning of Fas, and FasL in myocardium of rats

表 6 DAXXK 对心肌缺血再灌注大鼠血清 ET-1 和 NO 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 6 Effect of DAXXK on level of ET-1 and NO in serum of myocardial I/R injury in rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组 别	剂量/(g·kg⁻¹)	ET-1/(ng·mL⁻¹)		NO/(μmol·L⁻¹)		ET-1/NO	
		缺血前	再灌 120 min	缺血前	再灌 120 min	缺血前	再灌 120 min
模型	–	2.92±0.51	4.10±0.30**	11.88±2.46	7.21±1.29**	0.252 6±0.067 3	0.579 0±0.157 1**
DAXXK	0.4	2.90±0.54	3.50±0.34**##	14.85±2.00#	10.23±0.82**##	0.200 5±0.052 8	0.344 8±0.049 2**##
	0.6	2.67±0.44	3.21±0.49**##	15.09±2.82#	11.18±2.52**##	0.183 4±0.049 0#	0.310 5±0.069 5**##

与缺血前比较：** $P<0.01$；与模型组比较：# $P<0.05$ ## $P<0.01$

** $P<0.01$ *vs* preischemia; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ *vs* model group

持血清 ET-1 与 NO 之间的平衡接近基础状态。

3 讨论

甾体总皂苷广泛存在于薯蓣科、百合科、豆科等植物中,其中在甾体总科植物中的量丰富,具有祛痰、脱敏、抗炎、抗肿瘤,改善心肌缺血、降低血黏滞度、减少血小板聚集、降低甘油三酯水平等作用[7]。以甾体总皂苷为有效成分的药物,如地奥心血康(软) 胶囊已应用于临床预防和治疗冠心病、心绞痛等,疗效确切,但其作用机制尚不清楚。

本研究证实,地奥心血康(600、400 mg/kg) 能有效降低缺血再灌注损伤所致 VT 和 VF 的发生率,推迟其发生时间,缩短持续时间,并缩小心肌梗死面积,明显改善缺血再灌注造成的心肌细胞肿胀,细胞核碎裂,肌束断裂,间质充血,炎性细胞浸润等损害,其作用呈剂量相关性。本实验证实地奥心血康抗心肌缺血再灌注损伤的作用机制是多途径实现的。本实验虽然没有直接测定损伤后心肌组织中的 ROS 生成量,但 XOD 活性的降低、MDA 的减少、抗氧化酶 SOD 活性的增强以及 Mn-SOD mRNA 表达量的增加,可间接地说明地奥心血康可降低心肌长时间 I/R 损伤所造成的氧化应激水平。Fas/FasL 系统是体内直接启动细胞凋亡的死亡信号传导系统[8]。Fas 为死亡受体,FasL 是 Fas 的天然配体,是一种相对分子质量约为 40 000 的Ⅱ型跨膜蛋白,属于 TNF 家族成员,主要表达于被激活的 T 细胞和 B 细胞。曾有报道[9]大鼠心肌 I/R 后心肌细胞 Fas 基因的 mRNA 水平及蛋白表达均显著增加,分别于再灌注后 24 h 和 48 h 达到峰值。本研究模型组大鼠心肌凋亡细胞明显增加,再次证实了 I/R 损伤诱发心肌细胞凋亡的结论。同时首次发现地奥心血康亦可通过抑制 Fas 及 FasL 的表达而减少 I/R 损伤后的心肌细胞凋亡。血管内皮不仅具有重要分泌功能,同时也是心血管保护的重要屏障之一。研究发现心肌模型损伤中,地奥心血康能显著改善血管内皮功能紊乱,提示其作用机制与保护内皮相关。而血管内皮功能与心肌细胞凋亡和心肌抗氧化能力均具相关性。

本研究进一步证实地奥心血康可通过抗氧化损伤、抑制心肌细胞凋亡以及改善血管内皮功能等多种途径实现对大鼠缺血再灌注损伤心肌的保护作用。

参考文献:

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.

[2] 高卫真, 王 玮, 范晓静, 等. 薯蓣皂苷对培养乳鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用 [J]. 中国分子心脏病学杂志, 2008, 8(2): 72-74.

[3] 刘忠荣, 邹文俊, 王若竹, 等. 地奥心血康十年临床应用概述及疗效分析 [J]. 中国医药学报, 2004, 19(10): 620-622.

[4] 刘遂心, 孙 明, 李 彤. 缺氧对心肌细胞内游离钙离子浓度和细胞 Ca^{2+} ATPase 表达影响及甾体总皂甙的干预作用 [J]. 中华心血管病杂志, 2004, 32(9): 841-843.

[5] Curtis M J, Walker M J. Quantification of arrhythmias using scoring systems: an examination of seven scores in an *in vivo* model of regional myocardial ischemia [J]. *Cardiovasc Res*, 1988, 22(9): 656-665.

[6] Hagar J M, Hale S L, Kloner R A. Effect of preconditioning ischemia on reperfusion arrhythmias after coronary artery occlusion and reperfusion in the rat [J]. *Cir Res*, 1991, 68(1): 61-68.

[7] 唐世蓉, 杨如同, 潘福生, 等. 中国甾体总属植物中的甾体皂苷及甾体皂苷元 [J]. 植物资源与环境学报, 2007, 16(2): 64-67.

[8] Nitobe J, Yamaguchi S, Okuyama M, *et al*. Reactive oxygen species regulate FLICE inhibitory protein (FLIP) and susceptibility to Fas-mediated apoptosis in cardiac myocytes [J]. *Cardiovasc Res*, 2003, 57(1): 119-128.

[9] 张光谋, 王文锋, 王光平, 等. 心肌缺血损伤大鼠心肌细胞凋亡与 Fas、FasL 基因表达的变化 [J]. 解剖科学进展, 2009, 15(1): 35-39.