

# 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

赵润英<sup>1\*</sup>, 郝伟<sup>1</sup>, 孟祥军<sup>1</sup>, 赵丽妮<sup>1</sup>, 李昭<sup>1</sup>, 王俊平<sup>1</sup>, 丁双双<sup>2</sup>, 魏巍<sup>2</sup>  
(1. 沈阳医学院, 沈阳 110034; 2. 沈阳博瑞生物技术有限公司, 沈阳 110034)

**[摘要]** 目的:观察阿魏酸川芎嗪对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响,并探讨其可能的分子机制。方法:将 60 只雄性 SD 大鼠随机分成 5 组:假手术组、缺血再灌注组、川芎嗪(4 mg·kg<sup>-1</sup>)组、阿魏酸川芎嗪低剂量(4 mg·kg<sup>-1</sup>)组、阿魏酸川芎嗪高剂量(8 mg·kg<sup>-1</sup>)组;采用结扎左冠状动脉前降支 30 min、再灌注 120 min 的方法复制大鼠心肌缺血再灌注模型;各组大鼠于再灌注前 10 min 分别颈 iv 给药;于再灌注结束后,进行血清生化指标及心肌组织学检测。结果:阿魏酸川芎嗪能显著降低血清中肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)和心肌钙蛋白 I(cTnI)、丙二醛(MDA)的水平,提高总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性,缩小心肌梗死范围,增加 Bcl-2 蛋白的表达,减少 Bax 蛋白的表达,降低 Bcl-2/Bax 的比值和心肌细胞凋亡指数,与缺血再灌注组比较,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );阿魏酸川芎嗪部分指标优于川芎嗪( $P < 0.05$ ),且呈现剂量依赖性。结论:阿魏酸川芎嗪对大鼠心肌缺血再灌注损伤具有良好保护作用;阿魏酸川芎嗪抗心肌细胞凋亡的机制可能与其上调 Bcl-2 基因和下调 Bax 基因表达有关。

**[关键词]** 阿魏酸川芎嗪; 心肌缺血再灌注损伤; 细胞凋亡; Bcl-2 基因; Bax 基因

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0230-05

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120731.1040.006.html>

**[网络出版时间]** 2012-07-31 10:40

**[收稿日期]** 20120515(352)

**[基金项目]** 沈阳市科技局科技计划项目(F10-149-9-16)

**[通讯作者]** \* 赵润英,教授,从事心血管药理研究,Tel:024-62215687,E-mail:zry933@126.com

- [10] Viatte L, Lesbordes-Brion J C, Lou D Q, et al. Deregulation of proteins involved in iron metabolism in hepcidin-deficient mice [J]. *Blood*, 2005, 105(12):4861.
- [11] Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, et al. Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferrremia and is concentrated in ferroportin-containing organs [J]. *Blood*, 2005, 106(6):2196.
- [12] Pap anikolaou G, Tzilianos M, Christakis J I, et al. Hepcidin in iron overload disorders [J]. *Blood*, 2005, 105(10):4103.
- [13] Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin [J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(9):1271.
- [14] Kemna E, Pickkers P, Nemeth E, et al. Time course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS [J]. *Blood*, 2005, 106(5):1864.
- [15] Wrighting D M, Andrews N C. Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3 [J]. *Blood*, 2006, 108(9):3204.
- [16] Verga M V, Vujic M, Kessler R, et al. STAT3 mediates hepatic hepcidin expression and its inflammatory stimulation [J]. *Blood*, 2007, 109(1):353.
- [17] Pietrangelo A, Dierssen U, Valli L, et al. STAT3 is required for IL-6-gp130-dependent activation of hepcidin *in vivo* [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(1):294.
- [18] 万德光,彭成,赵军宁. 四川道地中药材志 [M]. 成都:四川出版集团四川科学技术出版社,2005:492.
- [19] 夏德洪,奚蕾,沈伟生,等. 黄芪对放射性肺损伤干预作用及对 TGF- $\beta_1$ , IL-1 表达影响的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(8):1079.
- [20] 陈晓宁. 黄芪总皂苷的药理研究 [J]. *数理医药学杂志*, 2005, 18(6):602.

[责任编辑 何伟]

# Protective Effects and Molecular Mechanism of Ligustrazine and Ferulate on Myocardial Ischemia-reperfusion Injury in Rats

ZHAO Run-ying<sup>1\*</sup>, HAO Wei<sup>1</sup>, MENG Xiang-jun<sup>1</sup>, ZHAO Li-ni<sup>1</sup>,  
LI Zhao<sup>1</sup>, WANG Jun-ping<sup>1</sup>, DING Shuang-shuang<sup>2</sup>, WEI Wei<sup>2</sup>

(1. Shenyang Medical College, Shenyang 110034, China;

2. Shenyang Borey Biotechnology Limited Company, Shenyang 110034, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the protective effect of ligustrazine and ferulate on myocardial ischemia-reperfusion injury and probe into its possible molecular mechanism in rats. **Method:** Sixty male rats were randomly divided into five groups: sham-operation group, ischemia-reperfusion group, ligustrazine (4 mg·kg<sup>-1</sup>) group, ligustrazine + ferulate low dose (4 mg·kg<sup>-1</sup>) group, ligustrazine + ferulate high dose (8 mg·kg<sup>-1</sup>) group. The rat model with ischemia-reperfusion injury was established with 30 min of myocardial ischemia and followed by 120 min reperfusion. The rats were treated for 10 min before reperfusion through jugular vein injection. After the reperfusion was finished, the biochemical indicators in serum and histological index in myocardium were investigated. **Result:** Compared with ischemia-reperfusion group, ligustrazine and ferulate could lower the level of creatine kinase isoenzyme (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH), cardiac troponin I (cTnI) and malondialdehyde (MDA) in blood, increase the activity of total-superoxide dismutase (T-SOD) in blood, reduce the myocardial infarction size, increase the expression of Bcl-2 protein, decrease the expression of Bax protein, reduce the myocardial apoptosis index and Bcl-2/Bax ratio ( $P < 0.01$ ); all indicators for ligustrazine and ferulate showed dose-dependently superior to ligustrazine ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Ligustrazine and ferulate had a well protective effect on rats with myocardial ischemia-reperfusion injury. Anti-apoptotic effect was related to up-regulate the expression of Bcl-2 and down-regulate the expression of Bax by ligustrazine and ferulate.

**[Key words]** ligustrazine ferulate; myocardial ischemia-reperfusion injury; apoptosis; Bcl-2 gene; Bax gene

心肌缺血再灌注损伤 (myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI) 目前仍是冠状动脉再通术 (溶栓、PTCA 或搭桥术) 后一个重要的并发症, 也是致死原因之一。其病因复杂, 发生机制尚未完全阐明。已有学者提出, 细胞凋亡是再灌注损伤发病机制中的一个重要环节, 通过干预凋亡基因的表达阻断细胞凋亡过程以减轻再灌注损伤已成研究热点<sup>[1]</sup>。川芎嗪 (ligustrazine, LZ) 和阿魏酸 (ferulic acid, FA) 是活血化瘀中药川芎和当归的有效成分, 二者对 MIRI 均具有保护作用<sup>[2-6]</sup>, 并在配伍应用中表现出明显的协同效果<sup>[7]</sup>。阿魏酸川芎嗪 (ligustrazine ferulate, LF) 是本课题组以阿魏酸和川芎嗪结构为基础合成的阿魏酸盐类化合物。曾有研究结果显示, 阿魏酸川芎嗪在抗血小板聚集方面表现出较好的药理活性, 且作用强于川芎嗪<sup>[8]</sup>, 但对 MIRI 的作用鲜有报道。本课题组已完成的研究表明, 阿魏酸川芎嗪能够提高缺血再灌注 (ischemia-

reperfusion, I/R) 大鼠的心肌收缩力, 增加心室顺应性, 改善心脏功能, 体现了其对 MIRI 的保护作用。本文拟观察阿魏酸川芎嗪对 I/R 大鼠心肌细胞凋亡及凋亡相关基因表达的影响, 旨在探讨其心肌保护作用机制与凋亡调控基因的关系。

## 1 材料

**1.1 动物** 健康雄性 SD 大鼠 60 只, 体重 250 ~ 300 g, 中国医科大学实验动物部提供。动物许可证号 SCXK(辽)2008-0005。

**1.2 仪器** DXI-800 全自动化学发光免疫分析系统 (美国 Beckman-Coulter 公司), 7180 全自动生化分析仪 (日本 Hitachi 公司), Mivnt 图像分析系统 (上海光学仪器研究所), BL-420F 生物机能实验系统和 HX-100E 小动物呼吸机 (成都泰盟科技有限公司)。

**1.3 药品与试剂** 盐酸川芎嗪注射液 (安徽省立药业有限公司, 20 g·L<sup>-1</sup>); 阿魏酸川芎嗪注射液 (沈

阳医学院药物化学教研室, 20 g·L<sup>-1</sup>); 肌酸激酶同工酶 (CK-MB)、乳酸脱氢酶 (LDH)、心肌钙蛋白 I (cTnI)、丙二醛 (MDA) 和总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 试剂盒, 伊文思蓝和 TTC 染液 (南京建成生物工程研究所); TUNEL 细胞凋亡原位检测试剂盒 (瑞士 Roche 公司); Bcl-2, Bax 检测试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司)。

## 2 方法

**2.1 动物分组及给药** 大鼠 60 只, 随机分成假手术组、模型组、川芎嗪组 (4 mg·kg<sup>-1</sup>)、阿魏酸川芎嗪低、高剂量组 (4, 8 mg·kg<sup>-1</sup>), 每组 12 只。各组于再灌注前 10 min 颈 iv 给药。

**2.2 心肌 I/R 模型的建立** 参照刘永平等<sup>[9]</sup>的方法, 并加以改良: 大鼠 20% 乌拉坦 50 mg·kg<sup>-1</sup> ip 麻醉, 仰卧固定。四肢皮下插入针形电极, 连接 BL-420F 生物机能实验系统, 记录 II 导联心电图。右颈静脉置管用于输液给药。气管插管, 接呼吸机。距胸骨左缘 0.5 cm 处, 从第 3 至第 5 肋切皮行 1 cm 切口, 分离肌层, 剪断第 3、4 肋骨, 开胸, 用小拉钩牵拉胸壁, 撕开心包膜, 充分暴露心底部, 在左心耳与肺动脉圆锥之间找到结扎标志血管左冠状静脉。3/8 弧 4 × 12 圆针穿 4/0 缝线 (预先将一个由带凹槽的相聚聚乙烯管制成的小环穿在缝线上), 在左心耳根部下方 2 mm 处, 以深 1.5 ~ 2 mm, 宽 2 ~ 3 mm 穿过心肌表层, 结扎左冠状动脉前降支, 以心电图显示 ST 段抬高、QRS 波高大增宽为结扎成功标志。阻断左冠状动脉 30 min, 在凹槽部剪断缝线, 再灌注 120 min, 造成心肌 I/R 模型 (假手术组只穿线不结扎)。

**2.3 心肌损伤标志物和氧化应激相关指标的检测** 再灌注结束后, 右颈动脉采血 4 mL。血清采用比色法测定 CK-MB, LDH, 化学发光免疫分析法检测 cTnI 等心肌损伤标志物的水平; 用 TBA 法检测 MDA, T-SOD 等氧化应激相关指标的含量或活性。

**2.4 心肌梗死范围和心肌梗死抑制率的检测** 右颈动脉采血后, 经颈静脉注入 5% 伊文思蓝 1.5 mL, 待大鼠口唇蓝染后, 取出心脏, 剔除心房和右室, 吸净左室残留液体。将左室标本置于 -20 °C 冰箱冻存 20 min 后取出, 自心尖向心底平行房室沟方向切出相等厚度的 5 片心肌片, 每片计算上、下两面的面积。将切片置预温 37 °C, 1% TTC 磷酸缓冲液中染色 30 min。肉眼可观察到: 非缺血区呈蓝色、缺血梗死区呈苍白色, 缺血未梗死区呈砖红色。然后, 将切片置于 10% 中性甲醛液中固定 24 h, 检测心肌梗死范围: 分别测定蓝色、红色、白色区域面积。左心室

面积 (left ventricle, LV) 为蓝色、红色和白色面积之和; 缺血区面积 (area at risk, AAR) 为红色和白色面积之和; 梗死区面积 (Infarct size, IS) 为白色面积。分别计算缺血区面积百分比和梗死区面积百分比。

$$\text{缺血区面积} = \text{AAR/LV} \times 100\%$$

$$\text{梗死区面积} = \text{IS/AAR} \times 100\%$$

**2.5 心肌细胞凋亡指数与凋亡相关基因表达的检测** 将左室心肌组织于 4% 甲醛 (pH 7.4) 中固定 48 h (4 °C) 后置于 75% 乙醇中, 然后常规石蜡包埋, 于心肌梗死区中部沿左室轴线每隔 1 mm 连续切取 5 张 3 ~ 4 μm 厚的切片, 烤干备用。

**2.5.1 TUNEL 法检测心肌凋亡细胞** 应用末端脱氧核糖核苷酸转移酶介导 dUTP 缺口末端标记法 (TdT-mediated dUTP nickend labeling, TUNEL) 标记心肌细胞凋亡细胞核。应用末端脱氧核糖核苷酸转移酶 (TdT) 在凋亡细胞断裂的 DNA 的 3'-羟基 (3'-OH) 末端催化掺入荧光素-12-脱氧三磷酸尿苷 (FITC-12-dUTP), 加入荧光显色剂和 DAPI 显色 (严格按试剂盒说明书操作)。在荧光显微镜下, 当波长为 465 ~ 495 nm 时, 凋亡细胞核呈绿色, 波长为 330 ~ 380 nm 时, 所有细胞核呈蓝色。在每张玻片上随机选择 6 个 40 倍高倍镜视野, 统计绿核细胞总数和蓝核细胞总数, 然后计算细胞凋亡指数 (Apoptotic index, AI)。

$$\text{AI} = \text{凋亡细胞总数/心肌细胞总数} \times 100\%$$

**2.5.2 免疫组化法检测心肌组织 Bcl-2, Bax 蛋白** 应用链霉素蛋白-过氧化物酶 (Streptavidin peroxidase, SP) 免疫组化法, 以 Bcl-2, Bax 抗体为一抗进行免疫组化染色, 加 DAB 显色 (严格按试剂盒说明书操作)。在光学显微镜下, 细胞核染成棕色的为阳性细胞。计数 6 个 40 倍高倍镜视野中, Bcl-2, Bax 阳性细胞数, 计算平均阳性细胞表达指数 (Positive express index, PEI), 再求 Bcl-2/Bax 蛋白表达阳性细胞比值。

$$\text{PEI} = \text{阳性细胞数/计数细胞总数} \times 100\%$$

**2.6 统计学处理应用** 应用 SPSS 13.0 软件, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 3 个及以上组间差异采用方差分析, 有统计学意义时, 再用 Dunnett 法进行多个样本均数的两两比较。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 心肌损伤标志物和氧化应激相关指标** 与假手术组比较, 模型组血液 CK-MB, LDH, cTnI, MDA 等水平提高的同时, T-SOD 活性降低 (P < 0.01)。与模型组比较, 川芎嗪组与阿魏酸川芎嗪各组均能

显著降低血清中 CK-MB, LDH, cTnI 等心肌损伤标志物的水平,减少 MDA 含量和提高 T-SOD 的活性 ( $P < 0.01$ ),差异显著。见表 1。

表 1 阿魏酸川芎嗪对心肌损伤标志物和氧化应激相关指标的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

分组	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	CK-MB	LDH	cTnI	MDA	T-SOD
		/U·L <sup>-1</sup>	/U·L <sup>-1</sup>	/μg·L <sup>-1</sup>	/nmol·L <sup>-1</sup>	/U·L <sup>-1</sup>
假手术	-	517.9 ± 28.8 <sup>1)</sup>	2 296.3 ± 240.8 <sup>1)</sup>	1.42 ± 0.38 <sup>1)</sup>	3.38 ± 1.62 <sup>1)</sup>	104.50 ± 8.37 <sup>1)</sup>
模型	-	921.9 ± 43.0	4 496.8 ± 257.5	8.66 ± 3.45	11.05 ± 7.19	62.03 ± 9.01
川芎嗪	4	775.4 ± 65.4 <sup>1)</sup>	3 286.1 ± 476.6 <sup>1)</sup>	7.05 ± 2.32 <sup>1)</sup>	9.33 ± 3.38 <sup>1)</sup>	76.67 ± 14.36 <sup>1)</sup>
阿魏酸川芎嗪	4	721.2 ± 34.7 <sup>1,2)</sup>	3 092.7 ± 225.2 <sup>1,2)</sup>	5.37 ± 1.06 <sup>1,2)</sup>	8.16 ± 5.87 <sup>1,2)</sup>	81.40 ± 10.24 <sup>1,2)</sup>
	8	689.6 ± 57.1 <sup>1,2)</sup>	2 705.2 ± 286.4 <sup>1,2,3)</sup>	4.18 ± 1.52 <sup>1,2)</sup>	6.08 ± 4.04 <sup>1,2,3)</sup>	89.24 ± 11.63 <sup>1,2,3)</sup>

注:与模型组比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与川芎嗪组比<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ;与阿魏酸川芎嗪低剂量组比<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ 。

**3.2 心肌梗死范围** 除假手术组未见缺血区以外,各组大鼠的心肌缺血面积无明显差异;与模型组比较,川芎嗪组与阿魏酸川芎嗪各组大鼠心肌梗死范围均明显缩小( $P < 0.01$ ),均差异显著。见表 2。

表 2 阿魏酸川芎嗪对心肌梗死范围和梗死抑制率的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

分组	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	AAR/LV	IS/AAR
		%	
假手术	-	0.00	0.00
模型	-	44.25 ± 6.62	40.34 ± 6.45
川芎嗪	4	43.21 ± 4.26	32.91 ± 3.15 <sup>1)</sup>
阿魏酸川芎嗪	4	46.12 ± 7.54	26.51 ± 3.54 <sup>1,2)</sup>
	8	43.93 ± 6.18	24.36 ± 4.78 <sup>1,2)</sup>

注:与模型组比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与川芎嗪组比<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ 。

### 3.3 心肌细胞凋亡的检测

**3.3.1 TUNEL 法细胞核荧光染色** 假手术组心肌细胞凋亡极少,模型组心肌细胞凋亡数量明显增多,AI 明显提高,二者差异显著( $P < 0.01$ );川芎嗪组与阿魏酸川芎嗪各组心肌细胞凋亡数量

明显减少,AI 明显降低,与模型组比较,有显著性差异( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),说明川芎嗪与阿魏酸川芎嗪对心肌细胞凋亡均具有明显的抑制作用。见表 3。

**3.3.2 免疫组化法检测凋亡相关基因 Bcl-2, Bax 蛋白表达** 假手术组仅有极少数散在的 Bcl-2, Bax 蛋白阳性细胞;与假手术组比较,模型组 Bax 蛋白阳性细胞数明显增多( $P < 0.01$ )的同时, Bcl-2 蛋白阳性细胞也略有增加,说明缺血再灌注时促进凋亡和抑制凋亡的机制同时启动,但 Bcl-2/Bax 比值的显著下降( $P < 0.05$ ),则表明缺血再灌注损伤促进了心肌细胞凋亡;与模型组比较,阿魏酸川芎嗪各组的 Bcl-2 蛋白阳性细胞明显增多, Bax 蛋白阳性细胞数明显减少, Bcl-2/Bax 的比值提高显著( $P < 0.01$ ),说明阿魏酸川芎嗪抑制细胞凋亡的机制与其上调凋亡抑制基因 Bcl-2 的表达和下调凋亡促进基因 Bax 的表达有关。而川芎嗪对 Bax 基因表达无明显影响,这可能是阿魏酸川芎嗪抗心肌细胞凋亡作用强于川芎嗪的原因之一。见表 3。

表 3 阿魏酸川芎嗪对心肌细胞凋亡指标的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

分组	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	AI/%	PEI/%		Bcl-2/Bax
			Bcl-2	Bax	
假手术	-	0.35 ± 0.06 <sup>2)</sup>	0.24 ± 0.03 <sup>2)</sup>	0.30 ± 0.03 <sup>2)</sup>	0.83 ± 0.03 <sup>2)</sup>
模型	-	20.01 ± 8.67	6.62 ± 1.68	20.01 ± 7.75	0.32 ± 0.05
川芎嗪	4	17.55 ± 8.02 <sup>1)</sup>	9.48 ± 2.44 <sup>1)</sup>	19.56 ± 5.41	0.43 ± 0.03 <sup>1)</sup>
阿魏酸川芎嗪	4	13.23 ± 4.15 <sup>2,3)</sup>	11.31 ± 1.92 <sup>2,3)</sup>	15.13 ± 5.33 <sup>2,3)</sup>	0.62 ± 0.08 <sup>2,3)</sup>
	8	11.72 ± 2.58 <sup>2,3)</sup>	12.86 ± 3.37 <sup>2,3)</sup>	13.28 ± 3.14 <sup>2,3)</sup>	0.96 ± 0.12 <sup>2,3,4)</sup>

注:与模型组比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与川芎嗪组比<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ ;与阿魏酸川芎嗪低剂量组比<sup>4)</sup>  $P < 0.01$ 。

以上检测结果显示:阿魏酸川芎嗪各组的血清生化学和心肌组织学指标中部分指标优于川芎嗪组

( $P < 0.05$ ),说明阿魏酸川芎嗪对心肌缺血再灌注损伤的保护作用和抗细胞凋亡作用强于川芎嗪。同

时阿魏酸川芎嗪的作用有一定剂量依赖性。

#### 4 讨论

冠状动脉再通术,包括药物溶栓疗法、血管成形术或血管搭桥术等,是目前治疗冠心病急性心肌梗死行之有效的办法。随着冠状动脉再通术的发展,MIRI 日益受到关注。新近分子心血管病学的研究进展发现,细胞凋亡是早期轻度缺血,特别是再灌注过程中心肌细胞的主要死亡方式。MIRI 能产生大量的氧自由基(oxygen free radical, OFR), OFR 在与脂质发生过氧化反应,形成 MDA 等脂质过氧化物,引起心肌细胞氧化应激损伤的同时,还会诱导心肌细胞大量凋亡<sup>[10-12]</sup>。细胞凋亡是程序性细胞死亡,其发生受多种基因调控,如 Bcl-2 家族、Caspase 家族、Fas 等。Bcl-2 基因家族具有促进和抑制凋亡两种活性,其中 Bcl-2 是凋亡抑制基因, Bax 是凋亡促进基因, Bcl-2/Bax 是反映心肌生存能力的重要指标<sup>[13-15]</sup>。本文利用大鼠心肌缺血再灌注模型研究发现,阿魏酸川芎嗪能够明显提高血清 T-SOD 的活性、减少 MDA 的含量,增加 Bcl-2 蛋白、减少 Bax 蛋白表达,降低 Bcl-2/Bax 和心肌细胞凋亡指数,还能降低血清中 CK-MB, LDH, cTnI 等心肌损伤特异指标的水平,缩小心肌梗死范围,说明阿魏酸川芎嗪对缺血再灌注损伤的心肌具有良好的保护作用。其机制可能是通过提高抗氧化酶的活性,清除 OFR,在抑制脂质过氧化反应、减少心肌细胞氧化应激损伤的同时,通过上调凋亡抑制基因 Bcl-2 和下调凋亡促进基因 Bax 的表达,来抑制心肌细胞凋亡,从而减轻 MIRI。阿魏酸和川芎嗪在临床上广泛应用于缺血性心脑血管疾病的治疗,并取得了较好的疗效,本课题组以阿魏酸和川芎嗪结构为基础合成的阿魏酸川芎嗪,对 MIRI 的保护作用强于川芎嗪,因此,可以预见其在急性心肌梗死采用冠状动脉再通术救治中,通过干预凋亡基因的表达阻断细胞凋亡过程以减轻心肌再灌注损伤会有较好的应用前景。

#### [参考文献]

[1] Zhao Z Q, Morris C D, Budde J M, et al. Inhibition of myocardial apoptosis reduces infarct size and improves regional contractile dysfunction during reperfusion [J]. *Cardiovas Res*, 2003, 59: 132.  
[2] 李萍, 李洪, 贺冬林, 等. 川芎嗪注射液对小鼠缺血再灌注心肌的保护作用[J]. *中国医院药学杂志*, 2006,

26(1): 32.  
[3] 余乐涵, 赵小曼, 李华, 等. 川芎嗪对缺血再灌注后心肌细胞凋亡的影响[J]. *江西医学院学报*, 2006, 46(3): 27.  
[4] 陆一敏, 万福生, 唐三保. 川芎嗪对儿茶酚胺诱导大鼠心肌损伤时 Bcl-2 和 Fas 蛋白表达的影响[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(2): 197.  
[5] 刘季春, 万力, 邵立建, 等. 阿魏酸钠对离体大鼠心脏的药理性预适应保护作用及机制[J]. *中国药理学通报*, 2007, 23(5): 618.  
[6] 傅颖君, 何明. 阿魏酸钠对心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用及其机制[J]. *药学学报*, 2004, 39(5): 325.  
[7] 杨家荣, 张密霞, 常亮堂, 等. 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[J]. *中草药*, 2008, 39(7): 1054.  
[8] 谭载友, 江涛, 唐春萍, 等. 阿魏酸川芎嗪的抗血小板聚集作用[J]. *中国新药杂志*, 2003, 12(7): 529.  
[9] 刘永平, 龚明玉, 周晓慧, 等. 黄芩茎叶总黄酮抑制大鼠心肌缺血再灌注时细胞凋亡的研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(12): 146.  
[10] Pchejetski D, Kunduzova O, Dayon A, et al. Oxidative-stress dependent sphingosine kinase-1 inhibition mediates monoamine a-oxidase associated cardiac cell apoptosis[J]. *Circ Res*, 2007, 100: 41.  
[11] 吕纪华, 贺敏, 黄建春, 等. 玉郎伞黄酮对心肌缺血再灌注损伤心肌组织 ATP 酶和凋亡蛋白的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(13): 162.  
[12] 吴青, 陶红凯. 缺血再灌注诱导心肌细胞凋亡及凋亡相关基因表达的研究[J]. *中国心血管病研究杂志*, 2004, 2(11): 905.  
[13] Yang E, Korsmeyer S J. Molecular thanatopsis: A discourse on the Bcl-2 family and cell death[J]. *Blood*, 1996, 88(z): 386.  
[14] Cook S A, Sugden P H, Clerk A. Regulation of bcl-2 family proteins during development and in response to oxidative stress in cardiac myocytes: association with changes in mitochondrial membrane potential [J]. *Circ Res*, 1999, 85(10): 940.  
[15] Yang B, Johnson T, Thomas, et al. Expression of apoptosis-related genes and Proteins in expermental chronic renal scarring[J]. *J Am Soc Nephrology*, 2001, 12(2): 275.

[责任编辑 何伟]