

加味生脉散对急性心肌缺血再灌注 损伤大鼠的保护作用

任钧国, 马晓斌, 林成仁, 王扬慧, 李鸿海, 王敏, 李军梅, 刘建勋*
(中国中医科学院西苑医院实验研究中心, 北京 100091)

[摘要] 目的: 研究加味生脉散对急性心肌缺血再灌注损伤大鼠的保护作用。方法: 采用冠状动脉结扎法复制急性心肌缺血再灌注损伤大鼠模型, 经十二指肠给予不同剂量的加味生脉散水煎液, NBT 染色法检测心肌梗死面积, 计算心肌梗死程度; 检测血清 SOD 活性与 MDA、NO 含量。结果: 加味生脉散能明显降低大鼠心肌梗死程度, 降低血清 MDA 含量, 升高血清 SOD 活性与 NO 含量。结论: 加味生脉散对急性心肌缺血再灌注损伤大鼠具有一定的保护作用, 该作用可能与其抗氧化作用、升高血清 NO 含量有关。

[关键词] 加味生脉散; 生脉散; 心肌缺血再灌注损伤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)02-0078-03

Protective Effect of Jiawei Shengmaisan Against Acute Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury in Rats

REN Jun-guo, MA Xiao-bin, LIN Cheng-ren, WANG Yang-hui, LI Hong-hai, WANG Min, LI Jun-mei, LIU Jian-xun*
(Center for Experimental Research, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate protective effect of Jiawei Shengmaisan against acute myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. **Methods:** The acute myocardial ischemia/reperfusion injury in rats was induced by ligating the anterior descending coronary artery in SD rats and administered different dosage jiawei shengmaisan decoction into duodenum, myocardial infarction degree (MID) was calculated by detecting myocardial infarction area with nitroblue tetrazolium (NBT) assay, SOD activities and MDA、NO contents were detected with biochemical assay. **Results:** Jiawei shengmaisan can significantly decreased MID and MDA contents in serum, increased SOD activities and NO contents in serum. **Conclusions:** The results showed that Jiawei shengmaisan has protective effect against acute myocardial ischemia/reperfusion injury in rats, which may be relate to its antioxygen action and NO.

[Key words] Jiawei Shengmaisan; Shengmaisan; myocardial ischemia/reperfusion injury

生脉散由人参、麦冬、五味子 3 味中药组成, 具有益气养阴, 生津敛汗的功效, 在心血管疾病临床研究中应用广泛, 其中对冠心病疗效较好^[1]。冠心病

的中医证型分布规律研究显示, 虚证是冠心病的主要证型, 同时夹杂痰湿、热盛、血瘀气滞等证型, 虚证多以气虚、阴虚为主^[2-3], 为此, 我们在生脉散的基础上增加了丹参、延胡索两味活血化瘀药组成了加味生脉散, 为验证该方的有效性与合理性, 本文研究了该方对急性心肌缺血再灌注损伤大鼠的保护作用, 为临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

[收稿日期] 2009-08-07

[基金项目] 国家十一五科技支撑计划(2006BAI08B04-08)

[通讯作者] * 刘建勋, Tel: (010) 62835601, Fax: (010) 62874049; E-mail: liujx0324@sina.com.cn

1.1 药物与试剂 人参药材为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根(购自吉林抚松东方参业股份有限公司),麦冬为百合科植物麦冬 *Opiopogon japonicus*(Thunb.) Ker-Gawl. 的干燥块根(购自雅安三九中药材科技产业化有限公司),五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis*(Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实(购自雅安三九中药材科技产业化有限公司),丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎(由天津天士力研究院提供),延胡索为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎(购自浙江中药材市场仙芬购销站),经中国中医科学院中药研究所胡世林研究员鉴定。加味生脉散水煎液:分别取人参、麦冬、五味子、丹参、延胡索,常规制备水煎液,均浓缩至一定浓度,按 1:2:1:1:1 的用量混合,4℃ 储存备用。盐酸硫氮卓酮片,天津田边制药有限公司,批号:0802007,规格:30 mg/片。SOD,MDA,NO 试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所,批号分别为:20071226,20071225,20071222。

1.2 仪器 动物呼吸机(ALC-V8 上海奥尔科特生物科技有限公司);数字医学分析图像系统(IDA2000 中科院北京空海科技发展有限公司)。

1.3 动物 SD 大鼠,雄性,180~220 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号:SCXK(京)2002-2003。

1.4 方法 取大鼠 64 只,按体重均匀分为假手术组、模型组、盐酸硫氮卓酮片组(0.01 g·kg⁻¹)、加味生脉散组(7.5,3.75,1.88,0.94,0.47 生药 g·kg⁻¹),每组 8 只。大鼠以戊巴比妥钠 ip 麻醉(45 mg·kg⁻¹),仰位固定,切开气管,插入气管插管,接呼吸机行人工呼吸(32 次/min,呼吸比值 1:3);开胸,断 3~4 肋,打开心包膜,暴露心脏,于冠状动脉左前降支根部穿线(0 号缝合线),备结扎用;开腹,分离十二指肠,备给药用;穿线后稳定 10 min 结扎,给予受试药物后关腹;40 min 后剪断结扎线,实现再灌注,缝合胸壁,动物恢复自主呼吸。再灌注 120 min 后结束试验,腹主动脉取血,常规制备血清,按试剂盒方法检测血清 SOD 活性与 MDA、NO 含量;心脏结扎线以下横切 5 片,N-BT 染色(染色后色斑不明显者淘汰),采用多媒体彩色病理图文分析系统分析 N-BT 染色心脏切片,以固定象距测量总心肌面积及梗死心肌面积,按照梗死心肌面积/总心肌面积 ×

100% 计算心肌梗死程度。

1.5 统计学方法 所有实验数据用均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 16.0 SPSS 统计分析软件进行方差分析,各组间比较用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 对急性心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌梗死程度的影响 从表 1 可知,7.5,3.75,1.88,0.94 g·kg⁻¹ 加味生脉散能明显降低急性心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌梗死程度($P < 0.05$, $P < 0.01$),0.47 g·kg⁻¹ 没有统计学差异($P > 0.05$)。

表 1 对急性心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌梗死程度的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	梗死程度(%)
模型组	-	30.26 ± 4.57
盐酸硫氮卓酮片组	0.01	22.14 ± 3.57 ²⁾
加味生脉散组	7.50	26.94 ± 2.33 ¹⁾
	3.75	23.80 ± 5.67 ¹⁾
	1.88	24.01 ± 2.80 ²⁾
	0.94	24.66 ± 3.93 ¹⁾
	0.47	28.58 ± 5.56

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (下同)

表 2 对急性心肌缺血再灌注损伤大鼠血清 SOD 活性和 MDA,NO 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	SOD(U·mL ⁻¹)	MDA(nmol·mL ⁻¹)	NO(μmol·L ⁻¹)
假手术组	-	359.08 ± 51.32 ²⁾	5.31 ± 0.69 ²⁾	49.51 ± 9.23 ¹⁾
模型组	-	287.89 ± 46.87	7.67 ± 0.99	35.51 ± 10.41
盐酸硫氮卓酮片组	0.01	343.15 ± 36.98 ¹⁾	6.04 ± 1.21 ²⁾	46.65 ± 6.51 ¹⁾
加味生脉散组	7.50	316.52 ± 29.57 ¹⁾	6.82 ± 1.46	41.63 ± 9.05
	3.75	339.75 ± 44.30 ¹⁾	6.18 ± 0.67 ¹⁾	45.52 ± 7.62 ¹⁾
	1.88	337.32 ± 40.44 ¹⁾	6.04 ± 0.75 ²⁾	39.60 ± 10.74
	0.94	298.45 ± 48.36	6.66 ± 0.68	37.35 ± 12.83
	0.47	298.37 ± 12.22	6.58 ± 1.48	37.65 ± 10.36

2.2 对急性心肌缺血再灌注损伤大鼠血清 SOD 活性和 MDA,NO 含量的影响 从表 2 可知,模型组大鼠的血清 SOD 活性较假手术组显著降低($P < 0.05$),与模型组比较,3.75,1.88 g·kg⁻¹ 加味生脉散能明显升高血清 SOD 活性($P < 0.05$),0.94,0.47 g·kg⁻¹ 没有统计学差异($P > 0.05$)。模型组大鼠的血清 MDA 含量较假手术组显著升高($P < 0.01$),与模型组比较,3.75,1.88 g,0.94 g·kg⁻¹ 加味生脉散

能明显降低血清 MDA 含量 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 7.5, 0.94, 0.47 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 没有统计学差异 ($P > 0.05$)。模型组大鼠的血清 NO 含量较假手术组显著降低 ($P < 0.05$), 与模型组比较, 3.75 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 加味生脉散能明显升高血清 NO 含量 ($P < 0.05$), 其他剂量没有统计学差异 ($P > 0.05$)。

3 讨论

急性心肌梗死、冠心病等缺血性心脏病是危害人类身体健康最主要的一类疾病。心肌缺血再灌注损伤是它们发病的主要病理机制, 心肌梗死程度(面积)是心肌缺血再灌注损伤程度的重要标志。本实验结果显示, 加味生脉散能明显降低急性心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌梗死程度, 表明该方对大鼠急性心肌缺血再灌注损伤具有明显的保护作用。

心肌缺血再灌注时, 由于氧自由基产生过多以及抗氧化酶(如 SOD, GSH-Px)活性降低, 引发链式脂质过氧化反应, 损伤细胞膜、细胞器乃至细胞核酸, 导致细胞坏死、凋亡。所以, 氧自由基损伤是心肌缺血再灌注损伤其发生的主要机制之一^[4]。MDA 作为脂质过氧化反应的产物, 是了解氧自由基致组织细胞损伤的重要指标之一。SOD 可有效地清除超氧阴离子自由基, 从而进一步阻断毒性更强的羟自由基的产生。因此, MDA 含量的变化可以反映氧自由基对机体造成的损伤程度, 血液中 SOD 的活性可以反映机体抗氧化活性。本实验发现, 加味生脉散能明显降低血清 MDA 含量; 升高血清 SOD 活性, 提示其对大鼠急性心肌缺血再灌注损伤保护作用的机制可能与抑制脂质过氧化过程, 提高内源性抗氧化酶活性, 从而减轻氧自由基对心肌的损伤有关。

NO 在心肌缺血再灌注损伤中具有重要的作用, 它可以清除自由基, 抗血小板和中性粒细胞聚集, 减轻心肌细胞钙超载, 抗心肌细胞凋亡, 对心肌细胞起到保护作用^[5]。本实验发现, 加味生脉散能明显升高血清 NO 含量, 提示其保护缺血心肌的机制

可能与增加 NO 合成有关。

另外, 本实验还发现, 加味生脉散对所有药效指标的量效关系不甚明显, 比如该方在 0.94 ~ 7.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 范围内能明显降低急性心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌梗死程度, 但各剂量之间的作用程度差别不大; 从分子指标来看, 7.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的加味生脉散对 MDA, NO 并没有明显作用。分析原因, 可能存在两方面: 一方面是随着剂量的增加, 方剂药效成分的吸收代谢可能受到影响, 并不呈现线性关系; 另一方面, 可能与心肌梗死面积的敏感性有关, 即随着剂量的增加, 心肌梗死面积的改善变化不是十分明显。

心肌缺血再灌注损伤的病理机制非常复杂, 不仅与氧自由基、NO 有关, 还与中性粒细胞聚集、心肌细胞钙超载等有关。本实验的初步研究结果显示, 加味生脉散对急性心肌缺血再灌注损伤大鼠具有明显的保护作用, 该作用可能与其清除自由基、增加 NO 作用有关, 为临床应用生脉散加味方提供了实验依据, 其详细的作用机制有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 朱贤慧, 陈晓虎. 生脉散应用于冠心病研究概况[J]. 江苏中医药, 2005, 26(12): 68.
- [2] 吴 旸, 王 轩, 崔 杰, 等. 348 例冠心病患者中医证候特点因子分析[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(2): 392.
- [3] 吴焕林, 阮新民, 杨小波, 等. 319 例冠心病患者证候分布规律分析[J]. 中国中西医结合杂志, 2007, 27(6): 498.
- [4] Moens AL, Claeys MJ, Timmermans JP, et al. Myocardial ischemia/reperfusion injury, a clinical view on a complex pathophysiological process[J]. Int J Cardiol, 2005, 100(2): 179.
- [5] Jones SP, Bolli R. The ubiquitous role of nitric oxide in cardioprotection[J]. J Mol Cell Cardiol, 2006, 40(1): 16.