

丹参毛状根对麻醉大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

吕冬梅, 王 岚, 梁日欣, 袁 媛, 黄璐琦*
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 研究丹参毛状根对麻醉大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用。方法: 采用大鼠冠脉结扎致心肌缺血模型。结果: 丹参毛状根能显著降低缺血所致室速(VT), 室颤(VF)的发生率, 降低血浆乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)增高程度, 提高超氧化物歧化酶(SOD)活性, 与丹参药材比较无显著性差异。结论: 丹参毛状根具有和丹参相似的药理作用, 为其进一步的研究与开发利用, 提供了实验依据。

[关键词] 丹参毛状根; 大鼠; 心肌缺血再灌注损伤; 保护作用

[中图分类号] 285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)03-0027-03

Protection on Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury in Anesthetized Rat by *Salvia miltiorrhiza* Hairy Root

LV Dong-mei, WANG Lan, LIANG Ri-xin, YUAN Yuan, HUANG Lu-qi*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medicinal Sciences, Beijing 100700, China)

[收稿日期] 2008-06-23

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973)项目(2006CB504700); 国家高新技术研究发展计划(863)项目(2007AA02Z104)

[通讯作者] * 黄璐琦, Tel: (010) 64014411-2955; E-mail: huangluqi@263.net

[**Abstract**] The protection on myocardial ischemia and reperfusion injury in intact rats by *Salvia miltiorrhiza* hairy root was investigated. The result showed that the protection induced by *Salvia miltiorrhiza* hairy root reduced the incidence of ventricular tachycardia (VT) and ventricular fibrillation (VF) during the period of ischemia and reperfusion, the rise of plasma level of LDH, MDA decreased and the activity of SOD increased. However, there is no significant different between the hairy root and *Salvia miltiorrhiza*.

[**Key words**] *Salvia miltiorrhiza* hairy root; rat; myocardial ischemia and reperfusion injury; protection

许多天然药物是植物次生代谢产物或植物生物转化产物。这些产物可来源于种植的植物或培养的植物细胞或器官。随着天然药用植物资源的匮乏, 培养植物细胞和器官来获取植物药显得越来越重要。毛状根培养是 80 年代发展起来的基因工程和细胞工程相结合的一项新技术, 它是将发根农杆菌的 Ri 质粒中含有的 T-DNA 转化到植物细胞中的 DNA 上, 使植物细胞诱导产生毛状根; 作为一种有效的长期保持物种优良性状的方式, 毛状根越来越多地被人们作为实验材料^[1]。本文选取丹参毛状根作为研究对象, 采用大鼠冠脉结扎动物模型, 观察其对麻醉大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用, 从药效学角度, 证实其是否具有丹参原药材的药理作用。

1 材料

1.1 药物及试剂 由发根农杆菌菌株 *Agrobacterium rhizogenes* 15834 诱导的丹参叶片形成的毛状根(中国林业科学院邱德有教授提供), 继代于 6, 7-V 培养基上, 培养 6 周后收获, 用于实验研究。

丹参毛状根浸膏: 称取 530 g 毛状根粉末, 75% 乙醇回流提取, 减压回收, 所得浸膏 247.08 g, 按药典方法检测丹酚酸 B 含量 5.0%, 丹参酮 II_A 含量为 0.06%。

河北丹参药材(*Salvia miltiorrhiza* Bge.): 购于河北灵寿县。

丹参药材浸膏: 称取 600 g 丹参药材粉末, 75% 乙醇回流提取, 减压回收, 所得 319.14g 浸膏, 按药典方法检测丹酚酸 B 含量 5.4%, 丹参酮 II_A 含量为 0.12%。

超氧化物歧化酶(SOD) 试剂盒, 批号: 20071026; 乳酸脱氢酶(LDH) 试剂盒, 批号: 20071024; 丙二醛(MDA) 试剂盒, 批号: 20071025, 均由南京建成生物工程研究所提供; 硝基蓝四氮唑(N-BT), 购于北京科海军事生物科技发展中心, 批号 071120。

1.2 动物 雄性 Wistar 大鼠, 体重(220~260) g, 由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提

供, 合格证号: SCXK-(军)2002-001。

1.3 仪器 MP-100 型多导生理记录仪, 美国 Biopac 公司; DH-140B 动物人工呼吸机, 浙江医科大学仪器厂。

2 方法

2.1 实验分组 大鼠 55 只随机分为 5 组, 每组 10 只。①模型对照组: 灌胃蒸馏水, 10 mL·kg⁻¹, ②丹参药材组(DY): 2.8 生药 g·kg⁻¹。③丹参毛状根小剂量组(HS): 1.4 生药 g·kg⁻¹。④丹参毛状根中剂量组(HM): 2.8 生药 g·kg⁻¹。⑤丹参毛状根大剂量组(HL): 5.6 生药 g·kg⁻¹。每日灌胃 1 次, 连续 7 d。

2.2 实验模型^[2] 各组大鼠灌胃给药 7 d, 末次给药后 1 h, 用乌拉坦(1.2 g·kg⁻¹ ip) 麻醉, 稳定 5 min, 气管切开, 行人工呼吸, 呼吸频率 45~50 次·min⁻¹, 暴露左颈总动脉, 插动脉套管以监测动脉血压。四肢皮下插电极, 记录 II 导联心电图(ECG), 血压和 ECG 均同步记录于多导生理记录仪。手术部位剪毛, 常规消毒皮肤, 于胸骨左缘 3~4 肋间隙打开胸腔及心包膜, 使心脏暴露于胸腔外; 在肺动脉圆锥左缘, 左心耳跟部下缘 1~2 mm 处, 用 5/0 无损伤缝合针经冠状动脉左前降支下浅层穿线, 然后将心脏放回胸腔, 稳定数分钟后进行结扎, 立即观察 ECG 改变, 记录室速(VT)、室颤(VF) 的发生率。实验结束后, 腹主动脉采血, 分离血清测 LDH、MDA、SOD。然后, 迅速摘取心脏, 按文献^[3] 方法, 左心室称重后, 将其切成 1~2 mm 的心肌薄片, 浸于 N-BT 溶液中染色 30 min, 非缺血区的心肌组织为深蓝, 缺血区心肌不染色。按称重法计算心肌梗塞面积。

2.3 统计分析 应用 SPSS 13.0 统计软件, 所有实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 室速(VT), 室颤(VF) 发生率(%) 比较使用费歇尔精确卡方检验, 酶学指标用单因素方差分析。

3 结果

3.1 丹参毛状根对大鼠冠脉结扎所致心律失常及梗塞面积的影响 HS 组能降低 VT 发生率, 与模型

组比较有显著性差异 ($P < 0.05$); DY, HL 组能降低 VF 的发生率, 使心肌梗塞面积显著缩小, 与模型组比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。丹参毛状根与丹参药材相比无显著性差异, 结果见表 1。

表 1 对大鼠冠脉结扎所致心律失常及心肌梗塞面积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	VT 发生率 (%)	VF 发生率 (%)	梗塞面积 (%)
模型组	—	88.9	66.7	$37.71 \pm 5.11^{2)}$
丹参药材组	2.8	50.0	10.0 ¹⁾	$17.33 \pm 4.28^{1)}$
毛状根组	5.6	54.5	9.1 ¹⁾	$21.63 \pm 2.88^{1)}$
	2.8	54.5	18.2	25.76 ± 4.88
	1.4	36.4 ¹⁾	18.2	31.98 ± 4.67

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 丹参毛状根对大鼠冠脉结扎血清酶活性的影响 HM, HL 组能降低 LDH 含量, 与模型组相比有显著差异 ($P < 0.05$); HL, DY 组能使 MDA 含量降低, 与模型组相比有显著差异 ($P < 0.01, P < 0.05$); DY 和毛状根组 3 个剂量组都能提高 SOD 活性, 与模型组相比差异显著 ($P < 0.01$), 其中 HL 效果最明显 ($P < 0.001$); 毛状根与丹参药材比差异不显著, 见表 2。

表 2 对大鼠冠脉结扎血清 SOD, MDA, LDH 酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	LDH ($\text{prot U} \cdot \text{g}^{-1}$)	MDA ($\text{prot nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$)	SOD ($\text{prot U} \cdot \text{mg}^{-1}$)
模型组	—	$3\ 983.98 \pm 683.97$	$4.93 \pm 1.15^{4)}$	$175.47 \pm 3.83^{5)}$
丹参药材组	2.8	$3\ 794.83 \pm 887.49$	$4.14 \pm 0.89^{1)}$	$179.56 \pm 2.39^{2)}$
毛状根组	5.6	$3\ 283.64 \pm 779.43^{1)}$	$3.79 \pm 0.29^{2)}$	$181.35 \pm 2.98^{3)}$
	2.8	$3\ 360.57 \pm 634.52^{1)}$	4.25 ± 0.73	$179.72 \pm 3.79^{2)}$
	1.4	$3\ 724.13 \pm 543.15$	4.46 ± 0.99	$179.39 \pm 3.90^{2)}$

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$; 与丹参组比较⁴⁾ $P < 0.05$, ⁵⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

心肌缺血是心血管疾病发生的重要因素, 及时恢复血流仍是治疗缺血性心脏病的主要措施^[4-5]。丹参作为传统活血化瘀中药, 临床上广泛用于心脑血管疾病的治疗。而丹参毛状根是否与丹参原药材一样具有活血化瘀之功效和治疗作用, 迄今尚无报道。

本研究采用大鼠冠脉结扎致心肌缺血模型, 观察了丹参毛状根对心肌缺血性损伤的保护作用, 实验结果证明: 丹参毛状根能显著降低冠脉缺血所致 VT, VF 的发生率, 降低血浆 LDH MDA 增高程度, 提高 SOD 活性, 与丹参药材比较无显著性差异, 结果提示丹参毛状根具有和丹参相似的药理作用, 为其进一步的研究与开发利用, 提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] Christie A M Peebles, Susan I Gibson, Jacqueline V Shanks, et al. Long-term maintenance of a transgenic *Catharanthus roseus* hairy root line [J]. Biotechnol Prog, 2007, 23: 1517-1518.
- [2] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991. 938-940.
- [3] 王世平, 陈玉华, 徐端正, 等. 丹参酮 II_A 磺酸钠对心肌梗塞血液动力学和心肌梗塞范围的作用[J]. 上海第一医学院学报, 1980, 7(5): 374-376.
- [4] 吴立玲. 心血管病病理生理学[M]. 北京: 北京医科大学出版社, 2000. 13-17.
- [5] 陈修. 心血管药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 544-545.