

复方玫瑰胶囊对家兔心肌缺血再灌注损伤的实验研究

张艳萍^{1*}, 姚凝², 邓毅², 刘建鸿², 王昕²

(1. 甘肃中医学院附属医院, 甘肃 兰州 730020; 2. 甘肃中医学院, 甘肃 兰州 730000)

[摘要] 目的: 探讨复方玫瑰胶囊对家兔心肌缺血再灌注损伤的保护作用。方法: 以家兔心肌组织中一氧化氮合酶(NOS)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)为指标进行实验观察。结果: 复方玫瑰胶囊对心肌缺血再灌注损伤家兔心肌组织中NOS与GSH-PX的升高有显著作用($P < 0.01$)。结论: 复方玫瑰胶囊通过对NOS与GSH-PX含量的影响, 对再灌注心肌损伤有保护作用。

[关键词] 复方玫瑰胶囊; 心肌缺血再灌注损伤; 一氧化氮合酶; 谷胱甘肽过氧化物酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)04-0045-02

本实验观察了复方玫瑰胶囊对心肌缺血再灌注损伤家兔心肌组织中的一氧化氮合酶(NOS)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)变化的影响, 以期为中医药治疗此病提供有意义的线索。

1 材料与方

1.1 动物 青紫蓝家兔40只, 雌雄兼用, 体重 2.4 ± 0.1 kg, 由兰州生物制品研究所提供(合格证: 医动字第14-004号)。

1.2 药物 复方玫瑰胶囊由红玫瑰24g, 百合24g, 黄芪30g, 地龙18g, 公丁香9g, 当归12g组成。将原药材按比例称取, 共100g, 加水600mL, 煎煮, 得煎液218mL, 再加水400mL, 煎煮得煎液243mL, 合并煎液, 共得煎液461mL, 浓缩至20mL, 加吸收剂8g, 得半流体型12.6g, 低温干燥2h, 得固体9.262g。即制备成功, 此药物1g相当于生药10.753g。地奥心血康为成都地奥制药集团有限公司生产(批号: (91)卫药准字Z-51号)。用温生理盐水配成体积分数为50%的混悬液。

1.3 试剂及仪器 NOS及GSH-PX测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所(批号2001-04-11); VIS-7220型分光光度计, 北京第二光学仪器厂生产; 电热恒温水浴锅, H. H. S21-4型, 上海医疗器械五厂生产; 800型离心沉淀器, 上海手术器械厂生产。

1.4 实验方法

1.4.1 心肌缺血再灌注损伤家兔模型制作 动物用25%乌拉坦麻醉(4mL/kg), 仰位固定, 沿胸骨左缘剪断2-3肋软骨, 用小开胸器撑开胸腔切口, 可见搏动的的心脏, 剪开心包, 用止血钳将左心耳提起, 用持针器将小弯针在冠状动脉前降支根部(离冠状动脉起始约3~5mm)穿一丝线结扎之, 并同时结扎入1cm长硅胶管一根, 使家兔心肌缺血, 观察40min, 然后将结扎丝线剪断, 使实验家兔心肌开始再灌注, 观察90min。

1.4.2 分组及给药方法 实验家兔共分5组: 假手术组、模型组、复方玫瑰胶囊小剂量组、复方玫瑰胶囊大剂量组及地奥心血康对照组, 每组8只。其中假手术组只做家兔开胸、暴露心脏、剪开心包并在冠状动脉前降支根部穿线, 但并不结扎; 其余各组均按上述方法造模。假手术组与模型组以等量温生理盐水于实验家兔心肌缺血30min时灌胃, 其余各组均在实验家兔心肌缺血30min时用温生理盐水溶解实验药物成混悬液灌胃, 分别给予复方玫瑰胶囊小剂量(0.286g/kg)、复方玫瑰胶囊大剂量(0.858g/kg)以及地奥心血康(21mg/kg)。

1.4.3 NOS、GSH-PX测定方法 心肌缺血再灌注90min时取动物心脏, 于结扎线下5mm处取心肌组织约0.1g, 按一定比例加入冰生理盐水, 并置于冰水混合液中进行组织匀浆研磨, 然后置于2500rpm离心20min, 用吸管吸出上清液备用。测定方法按照试剂盒说明书严格操作。

1.4.4 统计学分析方法 所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表

[收稿日期] 2005-06-22

[基金项目] 甘肃省教育厅资助科研项目(00B-10)

[通讯作者] 张艳萍, Tel: (0931) 8623085; E-mail: zhangyp160@sina.com

示, 各组之间用 F 检验判断比较差异的显著程度。组间两两比较, 方差齐性用 LSD 检验, 方差不齐性用 $enmtt's T3$ 法检验。

2 结果

2.1 对心肌缺血再灌注损伤实验家兔心肌组织中 NOS 含量的影响 实验结果表明, 心肌缺血再灌注损伤模型组家兔心肌组织中 NOS 含量明显下降, 与假手术组比较有显著性差异 ($P < 0.01$), 复方玫瑰小剂量组、复方玫瑰大剂量组及地奥心血康组家兔心肌组织中 NOS 均明显升高, 与模型组相比较, 均有显著性差异 ($P < 0.01$); 复方玫瑰小剂量组、复方玫瑰大剂量组与地奥心血康组相比, 无显著性差异 ($P > 0.05$)。(见表 1)

表 1 对心肌缺血再灌注损伤家兔心肌组织中 NOS 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量	组织 NOS(U/mgprot)
假手术组	—	3.719 ± 0.218 ¹⁾
模型组	—	0.137 ± 0.035
复方玫瑰胶囊小剂量组	0.286g/kg	2.847 ± 0.116 ¹⁾
复方玫瑰胶囊大剂量组	0.858g/kg	2.913 ± 0.135 ¹⁾
地奥心血康组	21mg/kg	3.015 ± 0.138 ²⁾

注: 与模型组比较, ¹⁾ $P < 0.01$ (下同)。

2.2 对心肌缺血再灌注损伤实验家兔心肌组织中 GSH-PX 含量的影响 实验结果表明, 心肌缺血再灌注损伤模型组家兔心肌组织中 GSH-PX 含量明显下降, 与假手术组相比较有显著性差异 ($P < 0.01$); 各组家兔用药后心肌组织中 GSH-PX 含量明显升高, 与模型组相比, 均有显著性差异 ($P < 0.01$); 复方玫瑰胶囊小剂量组、复方玫瑰胶囊大剂量组与地奥心血康组疗效之间无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

3 讨论

心肌缺血再灌注损伤在临床中比较常见。因心肌再灌注时产生的大量的氧自由基不能被清除, 细胞膜磷脂中多聚不饱和脂肪酸和脂肪酸的不饱和双键极易受到氧自由基攻击, 导致脂质过氧化反应,

表 2 对心肌缺血再灌注损伤家兔心肌组织中 GSH-PX 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量	组织中 GSH-PX(U/mgprot)
假手术组	—	67.314 ± 3.230 ¹⁾
模型组	—	23.182 ± 1.924
复方玫瑰胶囊小剂量组	0.286g/kg	49.638 ± 1.328 ¹⁾
复方玫瑰胶囊大剂量组	0.858g/kg	51.997 ± 1.591 ¹⁾
地奥心血康组	21mg/kg	54.395 ± 1.478 ¹⁾

激起自由基的链锁增殖反应, 形成一系列的脂质自由基及其降解产物一丙二醛(MDA)^[1], 将进一步引起膜的流动性降低, 通透性增高, 线粒体肿胀, 溶酶体破坏及溶酶体酶的释放^[2,3], 更进一步加重了心肌细胞的损伤, 加快了细胞死亡。

血管内皮细胞在一氧化氮合酶(NOS)作用下合成并释放的一氧化氮(NO), 是一种内皮源性舒张因子, 其活性可以直接影响后者的生成含量, 而后者可使局部血管扩张并抑制血小板聚集; 此外还具有心肌保护作用, 其机制至今尚未完全清楚。

实验结果证实, 复方玫瑰胶囊具有明显升高家兔心肌缺血再灌注损伤时心肌组织内 NOS 含量及 GSH-PX 含量, 达到保护缺血再灌注心肌细胞, 减轻缺血受损细胞在再灌注时更进一步损伤甚至死亡的目的。复方玫瑰胶囊是否还作用于其它致病因子, 产生协同保护作用, 有待于进一步深入探讨。

[参考文献]

[1] Shatos MA, Doherty JM, Stupp DC, et al. Oxygen free radicals generated during anoxia followed by reoxygenation reduce the synthesis of tissue-type plasminogen activator inhibitor-1 in human endothelial cell culture[J]. J Biol Chem, 1990, 256 (33): 20443-20448.

[2] 邵耕. 现代冠心病[M]. 北京: 北京医科大学, 中国协和医科大学联合出版社, 1995. 60.

[3] 刘德麟. 分子网络紊乱与调节[M]. 北京: 清华大学出版社, 1999. 63.