

华佗再造丸对大鼠心肌缺血再灌注所致心肌梗死的保护作用

刘声波¹, 李欣志², 林成仁², 王杨慧², 王敏² (1. 广州白云山奇星药业有限公司, 广东 广州 510310; 2. 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091)

摘要: **目的** 观察华佗再造丸对大鼠心肌缺血再灌注所致心肌梗死的保护作用。**方法** 复制大鼠心肌缺血再灌注致心肌梗死模型, 以硝基四氮唑蓝(N-BT)为染色剂, 观察华佗再造丸对心肌梗死程度, 并检测其对超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)的影响。**结果** 与模型组比较, 华佗再造丸高、中、低剂量组能明显减轻心肌梗死程度, 缩小梗死面积, 降低梗死区质量, 降低梗死区占心室及心脏百分比, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 同时血清 SOD 活性升高, MDA 含量降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 华佗再造丸对心肌缺血所致心肌梗死有确切的保护作用, 其机制与其抗氧化自由基作用有关。

关键词: 华佗再造丸; 心肌梗死; 缺血再灌注损伤; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)05-0536-03

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.05.004

Myocardial Protection from Ischemia-Reperfusion Injury by *Huatuozai* Pills in Rats

LIU Shengbo¹, LI Xinzhiz², LIN Chengren², WANG Yanghui², WANG Min² (1. Guangzhou Baiyunshan Qixing Pharmaceutical Co., Ltd., Guangzhou 510310 Guangdong, China; 2. Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

Abstract: **Objective** To observe the protective effect of *Huatuozai* pills on the myocardial infarction in rats induced by ischemia-reperfusion. **Methods** In this experiment, ischemia/reperfusion-induced myocardial infarction model was established. With nitro blue tetrazolium(N-BT) as the stain, we observed the effect of *Huatuozai* pills on the extent of myocardial infarction, superoxide dismutase(SOD) activity and malondialdehyde(MDA) content. **Results** Compared with the model group, *Huatuozai* pills in the dosage of 7, 3.5, 1.75 g crude drug/kg body weight had significant effect on reducing myocardial infarction degrees, infarct size, infarct mass and the percentage of ventricular infarction, increasing serum SOD activity, and decreasing MDA content, the differences being statistically significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** *Huatuozai* pills have certain protective effect on myocardial infarction induced by myocardial ischemia, and the mechanism is probably connected with the antioxidation.

Keywords: *Huatuozai* pills; Myocardial infarction; Ischemia-reperfusion injury; Superoxide dismutase; Malondialdehyde

华佗再造丸由川芎、吴茱萸、冰片等药物组成, 是历经 200 多年临床应用的经验方, 为《中国药典》收载品种, 具有活血化瘀、化痰通络、行气止痛的功效, 临床多用于治疗痰瘀阻络所致之中风恢复期和后遗症^[1]。临床观察^[2-4]表明, 华佗再造丸对冠心病心绞痛有较好的预防和治疗作用。因此, 本研究观察

华佗再造丸对大鼠心肌缺血再灌注所致心肌梗死的保护作用, 以期对华佗再造丸治疗缺血性心脏病的临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物 Wistar 大鼠, 清洁级, 雄性, 体质量

收稿日期: 2014-05-07

作者简介: 刘声波, 男, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 中药新药和名优中成药二次开发。E-mail: shengboqixing@21cn.com。

基金项目: 广州市海珠区科技计划项目(2009-Z-001)。

240~260 g, 北京维通利华实验动物技术有限公司, 动物许可证号: SCXK(京)2002-0003。

1.2 药物 华佗再造丸, 实验用其提取物, 为黑褐色稠膏, 每克稠膏约相当于生药 0.63 g, 广州白云山奇星药业有限公司, 批号: 060320; 合心爽片, 天津田边制药有限公司, 批号: 0501017; 通心络胶囊, 每克约相当于生药 1.4 g, 石家庄以岭药业股份有限公司, 批号: 060109。

1.3 仪器 SC-3 型呼吸机, 上海医疗设备厂; MPIAS-500 多媒体彩色病理图文分析系统, 北京平利洋医疗设备有限公司; UV-120-02 型紫外可见分光光度计, 日本岛津公司。

1.4 分组、给药及模型复制 大鼠随机分为 7 组: 假手术组, 模型组, 合心爽组(10 mg·kg⁻¹), 通心络组(1.2 g·kg⁻¹), 华佗再造丸高、中、低剂量组(7, 3.5, 1.75 g·kg⁻¹), 通心络和华佗再造丸均为生药量。药物以生理盐水配至所需浓度, 十二指肠给药。假手术组和模型组给予等量生理盐水。

模型复制: 大鼠以戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(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 min⁻¹, 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, 穿线后稳定 10 min 结扎, 按上述剂量十二指肠给药, 关腹; 40 min 后剪断结扎线, 进行再灌注, 缝合胸壁, 动物恢复自主呼吸。假手术组大鼠手术时只穿线后不结扎。

再灌注 120 min 后, 腹主动脉取血, 测定血清超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量; 心脏结扎线以下横切 5 片, 硝基四唑蓝(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, 以固定象距测量总心肌面积及梗死心肌面积, 观察心肌梗死程度。

1.5 统计学处理方法 数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用 SPSS13.0 统计软件, 用单因素方差分析方法进行组间比较。

2 结果

2.1 华佗再造丸对心肌梗死程度的影响 模型组梗死区占心室及心脏百分比分别为 30.5 % 及 26.0 %; 华佗再造丸高、中、低剂量组心肌梗死程度明显减轻, 梗死面积缩小, 梗死区质量减轻, 梗死区占心室及心脏百分比降低, 与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$); 合心爽组及通心络组心肌梗死

程度减轻, 梗死面积缩小, 梗死区质量减轻, 梗死区占心室及心脏百分比降低, 与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.01$), 见表 1。

表 1 华佗再造丸对心肌梗死程度的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 1 The effect of Huotuo Zaizao pills on the extent of myocardial infarction

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	心肌总面积 /mm ²	梗死区面积 /mm ²	梗死区质量 /g	梗死区百分比/%	
					占心室	占心脏
模型组		323.21 ± 19.17	98.63 ± 14.65	0.244 ± 0.040	30.5 ± 3.6	26.0 ± 3.1
合心爽组	0.01	324.41 ± 21.10	73.52 ± 9.34**	0.175 ± 0.029**	22.6 ± 3.2**	19.6 ± 2.7**
通心络组	1.2	323.91 ± 23.89	66.40 ± 14.01**	0.155 ± 0.033**	20.5 ± 4.2**	17.3 ± 3.5**
华佗再造丸低剂量组	1.75	328.25 ± 15.40	79.73 ± 13.94*	0.187 ± 0.038**	24.2 ± 3.9**	20.8 ± 3.3**
华佗再造丸中剂量组	3.5	332.65 ± 24.12	75.83 ± 12.23**	0.174 ± 0.027**	22.8 ± 3.1**	19.5 ± 2.7**
华佗再造丸高剂量组	7	319.39 ± 12.11	59.42 ± 12.88**	0.143 ± 0.036**	18.7 ± 4.4**	15.8 ± 3.7**

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.2 华佗再造丸对血清 SOD 活性、MDA 含量的影响

模型组血清 SOD 活性明显降低, MDA 含量明显升高, 与假手术组比较差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$); 华佗再造丸高、中、低剂量组 SOD 活性明显升高, 中、低剂量组 MDA 含量明显降低, 与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。合心爽组及通心络组 SOD 活性明显升高, MDA 含量明显降低, 与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 华佗再造丸对血清 SOD 活性、MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 2 The effect of Huotuo Zaizao pills on serum SOD and MDA

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	SOD/U·mL ⁻¹	MDA/nmol·mL ⁻¹
假手术组		238.2 ± 9.9	5.28 ± 0.75
模型组		203.4 ± 12.0 ^{##}	6.53 ± 1.61 [#]
合心爽组	0.01	216.8 ± 12.3*	5.41 ± 0.30*
通心络组	1.2	214.6 ± 8.3*	5.33 ± 0.80*
华佗再造丸低剂量组	1.75	215.9 ± 9.4*	5.00 ± 0.70*
华佗再造丸中剂量组	3.5	215.8 ± 9.1*	5.29 ± 0.78*
华佗再造丸高剂量组	7	214.9 ± 10.2*	6.18 ± 1.19

注: 假手术组比较, * $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$ 。

3 讨论

心肌缺血后再灌注损伤常发生于临床冠脉搭桥术后及心肌梗死溶栓治疗后, 心肌缺血一定时间造成心肌损伤后, 可引起心脏功能的抑制, 而再灌注不仅无益于心脏功能的恢复, 反而会加重已有的心肌损伤, 从而导致心肌梗死的发生或进一步加重。一般认为, 心肌缺血再灌注损伤的机制与心肌能量代谢障碍、氧自由基大量产生、细胞内钙离子超载及血管内皮细胞分泌的一系列内皮因子等因素有关。

SOD 是机体氧化及抗氧化平衡的重要因素,MDA 则反映机体内脂质过氧化程度。SOD 活性降低,MDA 含量增高,间接反映了氧自由基的形成及对心肌损伤,前者反映机体清除氧自由基的能力,后者则反应机体细胞受自由基攻击的严重程度。研究^[5]表明,氧自由基清除剂对心肌缺血再灌注损伤有确切的保护作用。

本研究采用实验性大鼠心肌缺血再灌注模型观察华佗再造丸的药理作用。结果表明,心肌缺血再灌注损伤可导致心肌梗死发生,心肌梗死区面积占心室及心脏总面积的 30.5 %和 26.0 %;同时,血清 SOD 活性明显降低,MDA 含量明显升高,说明大鼠心肌缺血再灌注模型复制成功。华佗再造丸高、中、低剂量组均能明显减轻心肌梗死程度,缩小梗死面积,减轻梗死区质量,梗死区占心室及心脏百分比明显降低,同时,血清 SOD 活性明显升高,MDA 含量明显降低,说明华佗再造丸对心肌缺血再灌注所

致心肌梗死有确切的保护作用。提示华佗再造丸抗心肌缺血再灌注损伤作用可能与其能提高血清 SOD 活性、降低 MDA 含量,以增加机体清除氧自由基的能力有关。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(1 部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 692-693.
- [2] 王付伟. 华佗再造丸治疗冠心病心绞痛的临床研究[J]. 河北中医, 2005, 27(9): 698-670.
- [3] 刘克英, 秦培森, 卜现春, 等. 华佗再造丸治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病心绞痛疗效观察[J]. 中药材, 1999, 22(6): 320-322.
- [4] 方素钦. 华佗再造丸治疗冠心病心绞痛患者 63 例的临床观察[J]. 福建中医药, 1990, 21(1): 2-3.
- [5] 曲丽霞. 益气化痰汤对急性心肌梗死再灌注后心肌微血管保护作用的研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2006, 13(5): 303-305.

(编辑: 梁进权)

补肾清毒方对 HBV 转基因小鼠 HBV-DNA、IFN- γ 、IL-17A 的影响

刘亚敏, 徐秋英, 沈 强, 陈俊贤, 冯志瑀, 彭皓均, 曾征伦(广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 观察补肾清毒方对 HBV 转基因小鼠外周血乙肝病毒 DNA(HBV-DNA)、干扰素- γ (IFN- γ)及白介素-17A(IL-17A)的影响。**方法** 将 50 只 HBV 转基因小鼠随机分为模型组, 补肾清毒方高、中、低剂量组, 拉米夫定组, 另取 10 只非 HBV 转基因小鼠为正常对照组。采用荧光定量 PCR 方法检测药物干预前后小鼠外周血 HBV-DNA 水平; 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测药物干预前后小鼠血清 IL-17A 及 IFN- γ 的水平。**结果** 与正常对照组比较, 模型组 IL-17A 显著升高($P < 0.01$), IFN- γ 也明显升高($P < 0.05$)。与模型组比较, 各药物干预组小鼠血清 IL-17A 水平不同程度降低($P < 0.01$), 其中以补肾清毒方高剂量组和中剂量组降幅最为明显($P < 0.01$), 并且随用药时间的延长 IL-17A 水平进一步降低; 各药物干预组血清 IFN- γ 水平升高($P < 0.05$), 其中以补肾清毒方高、中剂量组升高最为显著($P < 0.01$), 且随用药时间延长有所提高。与模型组比较, 各药物干预组小鼠外周血 HBV-DNA 变化不大($P > 0.05$)。**结论** 补肾清毒方对乙肝有一定的治疗作用, 其作用机理可能与升高 IFN- γ 水平、降低 IL-17A 表达有关。

关键词: 补肾清毒方; HBV 转基因小鼠; 慢性乙型肝炎; 外周血乙肝病毒 DNA; 干扰素- γ ; 白介素-17A

中图分类号: 285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)05-0538-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.05.005

收稿日期: 2014-05-08

作者简介: 刘亚敏, 女, 博士, 教授, 研究方向: 中医药防治病毒性疾病。Email: 787474027@qq.com。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81173255); 广州中医药大学中医临床基础学科国家特色重点学科项目。