

芒果苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

王 超, 王国贤

(辽宁医学院药理学教研室, 辽宁省锦州市 121001)

[关键词] 内科学; 芒果苷; 缺血再灌注损伤; 氧自由基; 乳酸脱氢酶; 髓过氧化物酶; 心肌超微结构

[摘要] 目的 探讨芒果苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及机制。方法 48 只 SD 大鼠随机分为 6 组: 假手术组、缺血再灌注模型组、芒果苷 10 mg/kg、20 mg/kg 和 40 mg/kg 剂量组、地奥心血康组, 分别给予相应剂量芒果苷、地奥心血康或等容量的生理盐水灌服 21 d, 末次给药后 1 h 采用左冠状动脉前降支结扎 40 min 再灌 120 min 建立在体大鼠心肌缺血再灌注模型。假手术组完成模型全部操作只穿线不结扎。电镜观察心肌超微结构改变, 测定心肌组织髓过氧化物酶, 观察中性粒细胞浸润; 检测血清乳酸脱氢酶活性; 分别检测心肌组织超氧化物歧化酶和丙二醛含量。结果 芒果苷可以改善心肌缺血再灌注大鼠心肌超微结构, 芒果苷小剂量组就能使超氧化物歧化酶活力升高, 心肌组织髓过氧化物酶、丙二醛、乳酸脱氢酶含量降低。结论 芒果苷对缺血再灌注损伤的心肌具有保护作用, 其机制可能与提高超氧化物歧化酶活性, 增强心肌抗氧化能力, 减轻氧自由基损伤, 稳定细胞膜, 减轻心肌组织中性粒细胞浸润有关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Cardioprotective Effects of Mangiferin on Myocardial in Schemia Reperfusion Injury in Rats

WANG Chao, and WANG Guo-Xian

(Department of pharmacology Jinzhou Medical College, Jinzhou 121001, China)

[KEY WORDS] Mangiferin; Ischemia/Reperfusion; Oxygen Free Radical; Lactate Dehydrogenase; Myeloperoxidase; Ultrastructure of Myocardium

[ABSTRACT] **Aim** To study the effect and possible mechanism of mangiferin on myocardial ischemia reperfusion (MIR) injury in rats. **Methods** Forty-eight SD rats were randomly divided into six groups: sham group, model group, mangiferin groups of 10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/kg and Diaoxin xue kang group. Each group were injected with corresponding concentrations of mangiferin, Diaoxin xue kang or equal volume of saline gastrogavaged for 21 d. One hour after the last administration myocardial ischemia reperfusion models were obtained by ligated left anterior descending coronary artery 40 minutes and followed by 120 minutes reperfusion and sham group was given all the procedures except ligation. Ultrastructure of myocardium with TEM and infiltration of polymorpho nuclear neutrophils (PMN) in myocardium with myeloperoxidase (MPO) were observed; serum activity of lactate dehydrogenase (LDH), myocardial activity of superoxide dismutase (SOD) and contents of malondialdehyde (MDA) were detected respectively. **Results** Mangiferin could improve myocardial pathology and ultrastructure in mangiferin 10 mg/kg group the activities of SOD was higher ($P < 0.05$); the contents of MPO, MDA, LDH were significantly lower ($P < 0.05$). **Conclusion** Mangiferin can protect MIR. The myocardial protective mechanism of it may be realized by enhancing the activation of SOD activity, enhancing myocardial antioxidant capability, stabilizing myocardial cellular membrane and alleviating infiltration of polymorphonuclear neutrophils (PMN) in myocardium.

芒果叶药材资源丰富, 其主要有效成分为芒果苷。现代药理研究表明, 芒果苷具有抗氧化、抗衰老、抗炎等多方面药理活性。本文采用结扎大鼠左冠状动脉前降支建立心肌缺血再灌注模型, 从而研究芒果苷对大鼠心肌缺血再灌注 (myocardial ischemia reperfusion, MIR) 损伤的保护作用。研究这种保护作用是否体现在抗氧化、抗中性粒细胞浸润为其

进一步深入开发此药以及缺血性心血管疾病的治疗提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

芒果苷是由广西中医学院邓家刚教授赠送, 生产批号为 2006-11-06。由广西中医学院药化学教研室从漆树科植物芒果的叶提取分离, 为一淡黄色粉末, 纯度为 98.39% 以上。实验时将芒果苷溶于加热的三蒸水中配成所需浓度分别为 4 g/L、2 g/L 和 1 g/L。地奥心血康胶囊由成都地奥制药集团有限公司

[收稿日期] 2008-05-12 [修回日期] 2008-08-05

[作者简介] 王超, 硕士, 研究方向为心血管药理学, 联系电话为 13236879094, E-mail 为 tan357@163.com。王国贤, 硕士研究生导师, 联系电话为 15941628797。

司生产,每颗 100 mg,批号为 0710018,实验时溶于加热的三蒸水中配成浓度为 4 g/L。髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。BSM-7105K 床边监护仪(上海光电医川电子仪器有限公司);DH150 动物人工呼吸机(浙江大学医学仪器厂);超声细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司);UV751GD 紫外/可见分光光度计(上海分析仪器厂);7170A 日本全自动生物化学分析仪(日本)。

1.2 实验动物及分组

选用普通级 SD 雄性成年大鼠 48 只,体重 250~300 g,由辽宁医学院实验动物中心提供,动物中心许可证号:SCXK 辽 2003-2008。将 48 只大鼠选用随机数字表法分为 6 组。假手术组、模型组、芒果苷高剂量组、芒果苷中剂量组、芒果苷低剂量组和地奥心血康组。正常组与模型组给予等容量三蒸水灌胃,芒果苷高、中、低剂量组分别给予浓度为 4 g/L、2 g/L 和 1 g/L 芒果苷灌胃,地奥心血康组给予浓度为 4 g/L 剂量灌胃,各组动物均按每天 10 mL/kg 连续灌胃 21 d。

1.3 大鼠心肌缺血再灌注损伤模型制备方法

参考文献[1]制备大鼠心肌缺血再灌注损伤模型。取 SD 雄性成年大鼠 48 只,以乌拉坦(1 g/kg)腹腔注射麻醉大鼠。除假手术组冠状动脉左前降支只穿线不结扎外,其余各组结扎冠状动脉左前降支,缺血 40 min 时,松解结扎线,再灌注 120 min。依肢体 Ⅱ导联心电图的 ST 段抬高及恢复作为判断冠状动脉断流及再通的指标。

1.4 主要观察指标及检测方法

实验结束后,颈总动脉取血 2 mL,离心 10 min (2.5 kr/min),分离血清,−20℃保存待测。严格按照试剂盒操作测定 LDH。

SOD、丙二醛和 MPO 的测定,取出并溶解冰冻的心肌组织,在冰冷的生理盐水中漂洗,除去血液,滤纸拭干,称重。放入 5 mL 小烧杯内加入 9 倍体积的生理盐水用眼科小剪尽快剪碎组织块,放入超声细胞粉碎机 5 s/次,间隔 10 s 反复 3~5 次制成 10% 心肌匀浆。将制好的匀浆用 3 kr/min 离心 10 min 放入 4℃冰盒待测。严格按照试剂盒操作测定。

取缺血区心肌组织经 3% 戊二醛固定 2 h 后,锇酸固定,丙酮脱水,以包埋剂环氧树脂包埋聚合,超薄切片,电子显微镜下进行心肌超微结构的观察。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 11.0 统计软件进行统计学处理。所有数据采用表示。组间比较采用单因素方差分析及 LSD-t 检验进行统计学处理。 $P < 0.05$ 认为差异有显著性, $P < 0.01$ 认为差异有非常显著性。

2 结果

2.1 模型成功建立

结扎冠状动脉左前降支,心电图 Ⅱ导联表现为 ST 段抬高,再灌注后抬高的 ST 段有所下降符合心肌缺血再灌注心电图的表现,说明模型成功(图 1)。

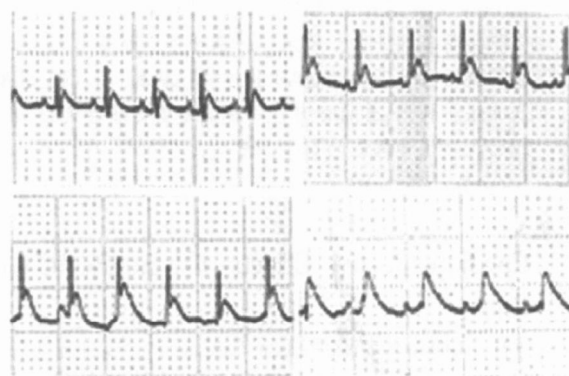


图 1 芒果苷对心肌缺血再灌注损伤大鼠心电图 Ⅱ导联影响

左上为正常大鼠 Ⅱ导联心电图;右上为结扎冠状动脉当时大鼠 Ⅱ导联心电图;左下为结扎冠状动脉 25 分钟大鼠 Ⅱ导联心电图;右下为再灌后大鼠 Ⅱ导联心电图。

2.2 各组大鼠心肌组织中超氧化物歧化酶、丙二醛、髓过氧化物酶及血清中乳酸脱氢酶含量的变化

如表 1 所示,模型组心肌组织 SOD 活性明显低于正常组($P < 0.01$),丙二醛、MPO 含量和血清 LDH 含量明显高于正常组($P < 0.01$);芒果苷大剂量组、中剂量组及地奥心血康组 SOD 活性显著高于模型组($P < 0.01$),丙二醛、MPO 及血清中 LDH 含量显著低于模型组($P < 0.01$);芒果苷小剂量组 SOD 活性高于模型组($P < 0.05$),丙二醛、MPO 及血清中 LDH 含量低于模型组;芒果苷大剂量组较地奥心血康组 SOD 活性明显升高($P < 0.01$),丙二醛、MPO 及血清中 LDH 含量明显降低($P < 0.01$);芒果苷中剂量组与地奥心血康组 SOD、丙二醛、MPO 及血清中 LDH 活性差异无显著性($P > 0.05$);芒果苷小剂量组较地奥心血康组 SOD 活性降低($P < 0.05$);丙二醛、MPO 及血清中 LDH 活性升高;芒果苷大剂量组与芒果苷中小剂量组 SOD、丙二醛、MPO 及血清中 LDH 活性之间差异具有显著性($P < 0.01$)。

表 1. 芒果苷对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌超氧化物歧化酶、丙二醛、髓过氧化物酶及血清中乳酸脱氢酶含量的变化

分 组	剂量 (mg/kg)	超氧化物歧化酶 (U/mg)	丙二醛 (nmol/mg)	乳酸脱氢酶 (U/L)	髓过氧化物酶 (U/g)
假手术组	0	493.46 ± 15.51 ^b	11.90 ± 1.11 ^b	2625.81 ± 314.09 ^b	0.21 ± 0.09 ^b
模型组	0	356.62 ± 18.44 ^a	20.15 ± 1.52 ^a	4149.35 ± 201.04 ^a	0.87 ± 0.06 ^a
芒果苷组	40	452.73 ± 11.13 ^{ab}	14.09 ± 0.83 ^{ab}	3174.51 ± 395.62 ^{ab}	0.35 ± 0.05 ^{ab}
芒果苷组	20	395.49 ± 19.60 ^{ab}	16.59 ± 2.00 ^{ab}	3550.33 ± 187.35 ^{ab}	0.64 ± 0.09 ^{ab}
芒果苷组	10	377.17 ± 20.07 ^{ac}	18.49 ± 1.20 ^{ac}	3853.90 ± 252.83 ^{ac}	0.78 ± 0.11 ^{ac}
地奥心血康组	40	398.27 ± 19.63 ^{ab}	16.43 ± 2.09 ^{ab}	3529.22 ± 191.49 ^{ab}	0.56 ± 0.07 ^{ab}

a 为 $P < 0.01$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.01$, c 为 $P < 0.05$, 与模型组比较。

2.3 心肌超微结构改变

假手术组心肌细胞电镜下可见肌丝排列整齐, 肌节明暗带清晰线粒体饱满嵴致密排列规则。模型组肌丝排列疏松、紊乱, 局部肌丝呈断裂溶解状, 肌丝明暗带模糊不清。线粒体排列紊乱、肿胀、大小不等; 线粒体嵴不清晰; 线粒体空泡形成。表明心肌损伤时主要表现在线粒体和肌丝的形态结构的改变。

芒果苷不同剂量保护组较模型组损伤有不同程度的减轻。镜下可见肌丝排列整齐、肌节明暗带清晰可见, 少数肌丝溶解, 线粒体有少数空化, 芒果苷中剂量组闰盘结构不清晰, 部分线粒体空化形成。芒果苷小剂量保护组线粒体排列紊乱, 嵴不清晰, 局部线粒体空化, 有空泡形成。地奥心血康组与芒果苷中剂量组差别不大, 部分线粒体空化形成(图 2)。

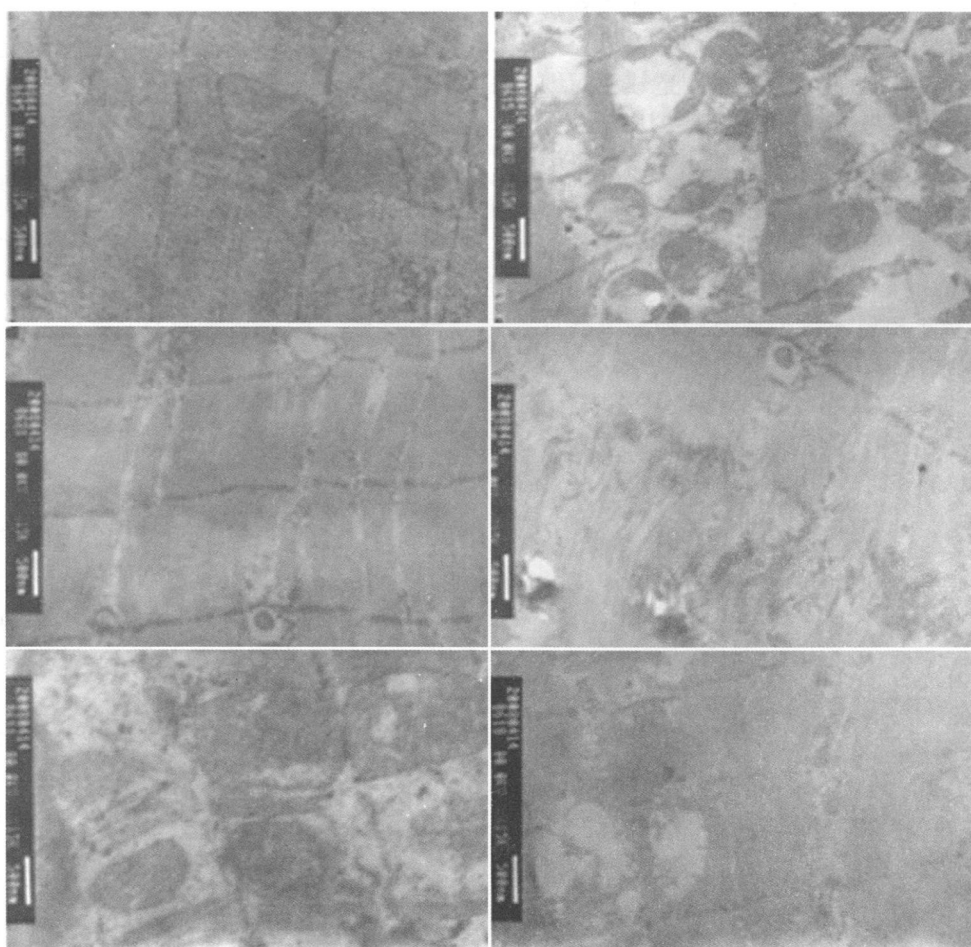


图 2. 芒果苷对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌超微结构影响(×15000)

左上为假手术组心肌超微结构; 右上为模型组心肌超微结构; 左中为芒果苷高剂量组心肌超微结构; 右中为芒果苷中剂量组心肌超微结构; 左下为芒果苷低剂量组心肌超微结构; 右下为地奥心血康组心肌超微结构。

3 讨论

心肌缺血再灌注损伤与氧自由基、炎症细胞浸润有关^[2]。氧自由基与中性粒细胞浸润是非常重要的两个损伤机制。缺血再灌注时可促进氧自由基及炎性介质活化、释放,造成心肌组织细胞严重损伤。有研究表明自由基介导的氧化应激是导致心肌缺血再灌注损伤的主要致病机制,SOD为氧自由基的主要清除酶^[3]而及早有效地进行抗氧化治疗能明显减轻心肌损伤并改善心功能状态。从实验结果看出芒果苷各剂量组能明显降低MIR大鼠心肌中的丙二醛含量;增强SOD的活性,这表明芒果苷能有效清除氧自由基。同时芒果苷各剂量组能使MIR大鼠血清中LDH含量减少,这表明芒果苷具有保护缺血心肌的作用。自由基广泛存在与人体的各组织中,特别是心肌缺血后活化的中性粒细胞大量聚集在缺血区,加速了自由基的生成。芒果苷能清除血清和心肌中的自由基可能是保护心肌的重要原因之一。大量研究表明中性粒细胞浸润在心肌缺血再灌注损伤的病理发展中扮演重要角色。中性粒细胞在缺血再灌注过程中聚集心肌,通过一系列机制造成组织细胞的损伤和功能的丧失。本研究结果表明心肌缺血再灌注后MPO值显著升高,说明心肌组织有大量中性粒细胞浸润,芒果苷低剂量保护组MPO明显降低($P < 0.05$),说明芒果苷保护组可明显减轻中性粒细胞的浸润,可通过抑制心肌内中性粒细胞浸润减轻炎症反应来拮抗心肌缺血再灌注损伤抑制炎症反应,从而起到保护作用。

目前国内外学者对中药防治心血管疾病进行了大量研究,研究表明中药制剂或有效成分提取物对

缺血再灌注损伤具有保护作用。芒果叶药材资源丰富,其主要有效成分为芒果苷。芒果苷属双苯吡酮类黄酮类化合物,现代药理研究表明,芒果苷具有抗氧化、抗衰老、抗炎^[4,5]等多方面药理活性。芒果苷具有避免活性氧(ROS)的产生、清除超氧阴离子的产生($O_2^{\cdot-}$)、抑制脂质过氧化反应、提高脂质过氧化物(LPO)含量的作用;同时芒果苷能抑制诱导型NO合成酶及肿瘤坏死因子 α 水平。以上研究表明芒果苷在抗氧化、抗炎等方面具有重要作用,提示芒果苷在冠状动脉粥样硬化性心脏病的预防上具有重要价值,本研究结果表明应用芒果苷不仅对心肌产生抗氧化作用,而且能够抑制缺血再灌注过程中心肌内的中性粒细胞浸润,减轻心肌缺血再灌注损伤,并且芒果苷高剂量组与地奥心血康组相比具有显著差异,提示芒果苷能用于缺血性心血管疾病的

[参考文献]

- [1] 齐志敏,王倩,张莹. 大鼠心肌缺血再灌注损伤实验模型开胸方法的研究[J]. 中国临床康复, 2004, 30(8): 6 620-621.
- [2] 储岳峰,柯永胜,俞国华,等. 大鼠心肌缺血再灌注损伤对心肌细胞膜Na⁺K⁺-ATP酶亚基基因表达的影响与意义[J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15(3): 173-175.
- [3] 赵艳芳,秦永文,王学敏,等. 曲美他嗪对大鼠缺血再灌注心肌线粒体的保护作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2005, 13(2): 171-174.
- [4] 黄华艺,钟鸣,孟刚,等. 芒果苷对大鼠脑组织过氧化脂质损伤的保护作用[J]. 广西科学, 2000, 7(2): 128-130.
- [5] Leiro JM, Alvarez E, Arranz JA, et al. In vitro effects of mangiferin on superoxide concentrations and expression of the inducible nitric oxide synthase, tumour necrosis factor alpha and transforming growth factor beta genes [J]. Biochem Pharmacol, 2003, 65(8): 1 361-371.

(此文编辑 李玲玲)