

冠心康对高脂血症大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

王丽娜¹, 张丽华², 杨峰³

(1. 郑州市金水区总医院心内科; 2. 郑州大学二附院心内科; 3. 郑州卫生健康职业学院, 河南省郑州市 450000)

[关键词] 冠心康; 高脂血症; 心肌缺血再灌注损伤; 细胞凋亡

[摘要] **目的** 探索冠心康对高脂血症大鼠心肌缺血再灌注损伤(MI/RI)的影响。**方法** 将SD雄性大鼠随机均分为3组:假手术组(10只)、模型组(10只)及冠心康组(10只)。利用高脂肪建立高脂血症大鼠模型,再采取可逆性冠状动脉左前降支结扎建立心肌缺血再灌注损伤模型并给予药剂干预。生物化学分析法检测干预后血脂水平,黏度计检测各组大鼠血液黏度,ELISA法检测血清白细胞介素10(IL-10)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、细胞间黏附分子1(ICAM-1)、丙二醛(MDA)水平,荧光法检测Caspase-3活性,TUNEL法检测心肌细胞凋亡率,Masson染色及HE染色观察心肌组织变化,Western blot检测心肌组织凋亡相关蛋白水平。**结果** 与假手术组相比,模型组大鼠甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDLC)、全血黏度、血浆黏度、TNF- α 、MDA、ICAM-1、细胞凋亡率、Caspase-3活性、Bax蛋白水平升高,而高密度脂蛋白胆固醇(HDLC)、IL-10、Bcl-2蛋白水平降低,心肌结构紊乱、损伤程度严重;与模型组相比,冠心康组大鼠TG、TC、LDLC、全血黏度、血浆黏度、TNF- α 、MDA、ICAM-1、细胞凋亡率、Caspase-3活性、Bax蛋白水平降低,HDLC、IL-10、Bcl-2蛋白水平升高,且大鼠心肌结构较整齐、损伤程度较低。**结论** 冠心康对高脂血症并心肌缺血再灌注损伤大鼠的心肌功能有保护作用,可能与降低血脂水平、炎症反应以及抑制心肌细胞凋亡有关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Protective effects of Guanxinkang on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats with hyperlipidemia

WANG Lina¹, ZHANG Lihua², YANG Feng³

(1. Department of Cardiology, Jinshui District General Hospital, Zhengzhou, Henan 450000, China; 2. Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450000, China; 3. Zhengzhou Health and Health Vocational College, Zhengzhou, Henan 450000, China)

[KEY WORDS] Guanxinkang; hyperlipidemia; myocardial ischemia/reperfusion injury; apoptosis

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effects of Guanxinkang on myocardial ischemia/reperfusion injury (MI/RI) in rats with hyperlipidemia. **Methods** SD male rats were randomly divided into three groups: sham operation group (10 rats), model group (10 rats) and Guanxinkang group (10 rats). The hyperlipidemia rat model was established by high fat, and the MI/RI model was established by reversible left anterior descending artery ligation and given drug intervention. The biochemical analysis method was used to detect the blood lipids levels after intervention. The blood viscosity in each group was detected by viscometer. The serum levels of interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and malondialdehyde (MDA) were detected by ELISA. Caspase-3 activity was detected by fluorescence method, and cardiomyocyte apoptosis rate was detected by TUNEL assay, and the changes of myocardial tissues were observed by masson staining and HE staining, and the levels of myocardial apoptosis-related proteins were detected by Western blot. **Results** Compared with sham operation group, the triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDLC), whole blood viscosity, plasma viscosity, TNF- α , MDA, ICAM-1, apoptosis rate, caspase-3 activity and Bax protein were increased while the levels of high density lipoprotein cholesterol (HDLC), IL-10 and Bcl-2 protein were decreased in model group, and myocardial structure was disordered and the

[收稿日期] 2019-01-03

[修回日期] 2019-03-04

[基金项目] 河南省科技攻关项目(152102510132)

[作者简介] 王丽娜, 硕士, 研究方向为心血管系统常见病多发病的诊疗, E-mail 为 owgrq51@163.com。通信作者张丽华, 硕士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为冠心病的基础和临床。

damage degree was severe. Compared with model group, the TG, TC, LDLC, whole blood viscosity, plasma viscosity, TNF- α , MDA, ICAM-1, apoptosis rate, caspase-3 activity and Bax protein level were decreased while the levels of HDLC, IL-10 and Bcl-2 protein were increased in Guanxinkang group, and the rat myocardial structure was relatively neat and the damage degree was low. **Conclusion** Guanxinkang has protective effects on myocardial function in rats with hyperlipidemia and myocardial ischemia/reperfusion injury, which may be related to lowering blood lipids levels and inflammatory reactions and inhibiting cardiomyocyte apoptosis.

高脂血症是指机体脂代谢紊乱所致血脂水平升高的一种疾病,是引发心血管疾病的重要危险因素之一^[1],会增加动脉粥样硬化及心肌缺血发生风险,氧化应激与炎症反应等作用机制也参与其中^[2-3]。心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia/reperfusion injury, MI/RI)的发生是多种因素作用结果,血脂水平升高、血液流动变形损害以及由此引发的动脉粥样硬化在缺血性心脏病中有着重要作用^[4]。随着人口老龄化,冠心病的发生率和死亡率逐年增加,虽然介入治疗术和各种心肌保护技术可以降低冠心病死亡率,但是心肌缺血再灌注损伤却无法完全避免^[5]。如何有效预防及治疗高脂血症心肌缺血再灌注损伤是近年来临床医师所关注的重点之一。冠心康是由生黄芪、益母草、全瓜蒌等中药组成,能降低高脂血症大鼠低密度脂蛋白水平以及抗动脉硬化作用^[6]。本文通过建立高脂血症心肌缺血再灌注损伤大鼠模型,探索冠心康对高脂血症心肌缺血再灌注损伤大鼠血脂、血流动力学、炎症反应及心肌组织细胞凋亡的影响以及可能存在的作用机制,为临床治疗高脂血症心肌缺血再灌注损伤提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 主要材料

高速冷冻离心机(德国耶拿)、光学显微镜(东莞市同创仪器有限公司)、全自动生物化学分析仪(贝克曼库尔特)、小动物呼吸机(众实迪创)、图像分析系统(基恩士)、高速离心机(德国耶拿)、切片机(莱卡)、超低温冰箱及多功能酶标仪(Thermo Scientific)。

丙二醛、胆固醇、蔗糖、胆酸盐、甲基硫氧嘧啶(国药集团化学试剂北京有限公司),血清甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)试剂盒(上海透景生命科技股份有限公司)。丙二醛(malondialdehyde,

MDA)、白细胞介素 10(interleukin-10, IL-10)和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)ELISA 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司),Caspase-3 活性试剂盒(荧光法)(艾美捷科技有限公司)。

冠心康药剂配方:生黄芪、益母草各 30 g,全瓜蒌 15 g,丹参、薤白、半夏各 12 g。冠心康药剂购于上海中医药大学附属龙华医院药剂科。

1.2 动物

4~5 周龄的 SPF 级 SD 雄性健康大鼠 30 只,体质量(180 \pm 20)g,来自于郑州大学基础医学实验教学中心,动物常规饲养,培育室温度 20~25 $^{\circ}$ C,湿度控制在 40%~50%,进行人工光照(12 h/昼、12 h/夜),全天自由饮水。

1.3 动物模型制备及实验分组

高脂大鼠模型制备:随机选取 20 只健康 SD 大鼠,在基础饲料喂养基础上给予高脂肪饮食的脂肪乳(30 份丙二醛、20 份猪油、10 份胆固醇、5 份蔗糖、2 份胆酸盐、1 份甲基硫氧嘧啶、32 份水),采用灌胃法,10 mL/(kg \cdot d)连续灌胃 14 天,就能建成高脂血症大鼠模型,随机均分为模型组与冠心康组。再选取 10 只健康 SD 大鼠进行常规饲料喂养,作为假手术组。

心肌缺血再灌注损伤大鼠模型制备:采取冠状动脉结扎缺血再灌注方法进行心肌缺血再灌注损伤模型建立。对大鼠进行腹腔注射 1%戊巴比妥钠,麻醉后采取仰卧位固定头部及四肢于手术台,连接心电电极并记录 II 导联心电图。大鼠颈部及胸前行手术备皮、切开气管并连接小动物呼吸机(呼吸机参数设置:呼吸频率 70 次/分,潮气量 9 mL/kg,呼吸比 1:2),从左侧第 3~4 肋间剪开大鼠皮肤,行钝性分离肌肉组织、打开胸腔、分离心包膜、轻挤压胸廓、暴露心脏,从左心耳、肺动脉圆锥间找出冠状动脉左前降支。5/0 号带弯钩尼龙缝线结扎分支起点外,在结扎时尼龙缝线与心肌间放置一根约 1 cm 细长棉线,此时缺血心肌表现出发绀、膨出迹象,记录此时心电图,有 2 个以上导联出现 ST 段抬高,T 波高耸、或者 QRS 波增高增宽与 T 融合,表明心肌缺血形成。结扎 30 min 后松开以形成

缺血冠状动脉再灌注,再灌注 120 min,此时心电图显示抬高的 ST 段已下降 1/2 以上,表明大鼠心肌缺血再灌注模型建成。结扎前心电图不正常、未观察到终点就死亡及造模不成功的大鼠均被剔除。在进行心肌缺血再灌注损伤手术前,假手术组与模型组大鼠均灌胃生理盐水(10 mL/kg),冠心康组大鼠灌胃冠心康(13 g/kg),三组共连续灌胃 14 天,假手术组大鼠的手术措施只穿线却不结扎冠状动脉,模型组与冠心康组大鼠手术措施相同,再灌注结束时,开始相关指标的检测。

1.4 标本留取及相关指标测定

连续药剂灌胃治疗后采取各组大鼠心脏血液,3 000 r/min 离心 15 min,制备血清,于-80 °C 保存,采用全自动生物化学分析仪检测 TG、TC、HDL、LDL;采用酶联免疫法检测血清 IL-10、TNF- α 、细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、MDA 水平。Caspase-3 试剂盒检测心肌组织的 Caspase-3 活性,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行;取大鼠左心室,置于 10% 甲醛中性溶液中固定,用做 HE 染色、Masson 染色、TUNEL 法检测;剩余心脏组织放于-80 °C 保存,用于 Western blot 检测心肌组织中与凋亡相关蛋白 (Bcl-2、Bax) 水平。

1.5 血液黏度测定

采用椎板式黏度计测量大鼠全血黏度及血浆黏度,将含有肝素抗凝全血 1 mL 置于血液黏度计的样品槽中,37 °C 时测定切变率在 1 s⁻¹、3 s⁻¹、30 s⁻¹、100 s⁻¹、200 s⁻¹ 电切度下的全血黏度;将肝素抗凝血以 3 500×g 离心 10 min,37 °C 取血浆用于测定血浆黏度。

1.6 HE 染色

取置于 10% 甲醛中性溶液中的心脏组织,经脱水、透明、浸蜡、包埋,以 8 μ m 厚度切片、脱蜡、复水、HE 染色、再次脱水及透明,中性树脂封片,光镜下观察心肌细胞形态结构变化。

1.7 Masson 染色

将已经固定的心肌组织进行常规石蜡包埋、切片及脱蜡,加入苏木精染色、水洗,Masson 立春红酸性染液染色,2% 冰醋酸漂洗,1% 磷钨酸漂洗,苯胺蓝染色,2% 冰醋酸漂洗,透明,封片观察。

1.8 TUNEL 法检测细胞凋亡

取各组大鼠的心肌组织进行石蜡包埋、切片,参考免疫组织化学试剂盒说明书在显微镜下观察并采集图像。随机选取 10 个视野,记录 100 个细胞中阳性细胞数,统计各组大鼠的心肌细胞凋亡率。

1.9 Western blot 检测

提取各组大鼠心肌组织的蛋白,调整各组提取的蛋白质浓度使各组蛋白质浓度保持相同,在经过 SDS-PAGE 电泳,将膜转移至 PVDF 膜,加入 Bax、Bcl-2、 β -actin 一抗,于 4 °C 条件下孵育过夜,再用 TBST 漂洗 40 min,分为 3 次漂洗,再加入经 HRP 标记的二抗继续孵育 1 h,根据 ECL 试剂盒说明书对蛋白条带进行显影、定影,观察各组蛋白条带成像情况,并进行蛋白条带分析。

1.10 统计学分析

采用 SPSS20.0 软件对所有数据进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示,若各组均满足正态分布且两组方差齐,组间差异则采用单因素方差分析;若不满足以上条件,则考虑非参数 Mann-Whitney U 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组血脂水平比较

与假手术组相比,模型组大鼠 TG、TC、LDL 水平升高,HDL 水平降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$);与模型组相比,冠心康组大鼠 TG、TC、LDL 含量降低,HDL 水平增加,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),冠心康组大鼠血脂水平与假手术组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$;表 1)。

表 1. 各组血脂水平比较 ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

Table 1. Comparison of blood lipids levels in each group ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

分组	n	TC	TG	HDL	LDL
假手术组	10	1.75 \pm 0.26	1.27 \pm 0.27	1.33 \pm 0.26	0.31 \pm 0.21
模型组	10	2.65 \pm 0.43 ^a	1.82 \pm 0.43 ^a	0.95 \pm 0.25 ^a	0.71 \pm 0.16 ^a
冠心康组	10	1.97 \pm 0.46 ^b	1.31 \pm 0.37 ^b	1.22 \pm 0.30 ^b	0.48 \pm 0.19 ^b

a 为 $P<0.05$,与假手术组相比;b 为 $P<0.05$,与模型组相比。

2.2 各组大鼠血液黏度比较

电切度为 1 s⁻¹、3 s⁻¹、30 s⁻¹ 时,模型组大鼠全血黏度显著高于假手术组 ($P<0.05$),冠心康组大鼠全血黏度低于模型组 ($P<0.05$);当电切度为 100 s⁻¹ 和 200 s⁻¹ 时各组大鼠全血黏度差异无统计学意义 ($P>0.05$)。模型组大鼠血浆黏度高于假手术组,冠心康组大鼠血浆黏度较模型组降低 ($P<0.05$);冠心康组大鼠全血黏度及血浆黏度与假手术组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$;表 2)。

2.3 各组大鼠血清 ICAM-1、TNF- α 、IL-10 及 MDA 变化情况

与假手术组相比,模型组大鼠的血清 ICAM-1、MDA、TNF- α 水平均显著升高,差异有统计学意义 ($P<0.05$),血清 IL-10 含量显著低于假手术组 ($P<$

0.05);与模型组相比,冠心康组大鼠血清 TNF- α 、ICAM-1、MDA 水平降低,而血清 IL-10 含量显著升高,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),且冠心康组大鼠血清 ICAM-1、MDA 及 IL-10 含量显著高于假手术组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$;表 3)。

表 2. 各组大鼠血液黏度比较 ($\bar{x}\pm s$, mPa·s)

Table 2. Comparison of blood viscosity of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, mPa·s)

分 组	全血黏度					血浆黏度
	1 s ⁻¹	3 s ⁻¹	30 s ⁻¹	100 s ⁻¹	200 s ⁻¹	
假手术组	18.67±2.23	12.56±2.34	5.85±0.82	4.39±0.44	3.79±0.51	0.66±0.18
模型组	24.11±2.61 ^a	14.58±1.64 ^a	6.87±0.42 ^a	4.54±0.37	3.95±0.32	0.89±0.17 ^a
冠心康组	19.15±2.48 ^b	12.34±1.99 ^b	5.51±0.47 ^b	4.28±0.32	3.67±0.31	0.72±0.11 ^b

a 为 $P<0.05$,与假手术组相比;b 为 $P<0.05$,与模型组相比。

表 3. 各组大鼠血清 ICAM-1、TNF- α 、IL-10、MDA 含量 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3. Levels of serum ICAM-1, TNF- α , IL-10 and MDA in each group ($\bar{x}\pm s$)

分 组	n	IL-10 (pg/L)	TNF- α (pg/L)	ICAM-1 (ng/L)	MDA (μ mol/L)
假手术组	10	42.74±5.31	16.37±2.69	168.97±10.76	5.97±0.61
模型组	10	22.69±6.49 ^a	56.46±6.75 ^a	259.31±12.77 ^a	36.45±4.61 ^a
冠心康组	10	54.76±5.47 ^{ab}	19.01±3.49 ^b	189.66±13.09 ^{ab}	9.88±0.73 ^{ab}

a 为 $P<0.05$,与假手术组相比;b 为 $P<0.05$,与模型组相比。

2.4 各组大鼠心肌组织凋亡情况

HE 染色可见假手术组大鼠心肌细胞质膜完整、心肌纤维分布均匀、无变性现象;模型组大鼠心肌细胞质膜受到破坏、细胞核固缩,心肌纤维紊乱,有部分出现断裂溶解迹象,胞间质水肿变性;冠心康组大鼠细胞质膜损伤程度较模型组减轻,心肌纤维较清晰(图 1)。Masson 染色可见模型组大鼠心肌组织结构紊乱,而冠心康组大鼠的心肌组织排列较模型组整齐(图 2)。TUNEL 检测各组大鼠心肌细胞凋亡情况,结果发现模型组和冠心康组大鼠心肌细胞凋亡率均显著高于假手术组 ($P<0.05$),而冠心康组大鼠细胞凋亡率显著低于模型组大鼠 ($P<$

0.05,图 3 和表 4)。心肌组织 Caspase-3 活性检测结果显示,模型组和冠心康组大鼠的心肌组织 Caspase-3 活性显著高于假手术组 ($P<0.05$),而冠心康组大鼠心肌组织 Caspase-3 活性明显低于模型组 ($P<0.05$)。收集各组大鼠心肌组织并提取蛋白,采用 Western blot 检测 Bax 和 Bcl-2 蛋白水平,结果表明,与假手术组相比,模型组及冠心康组大鼠心肌组织中 Bax 蛋白水平增加,而 Bcl-2 蛋白水平降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$);与模型组相比,冠心康组大鼠心肌组织中 Bax 蛋白含量降低,而 Bcl-2 蛋白水平增加,差异均有统计学意义 ($P<0.05$,图 4 和表 4)。

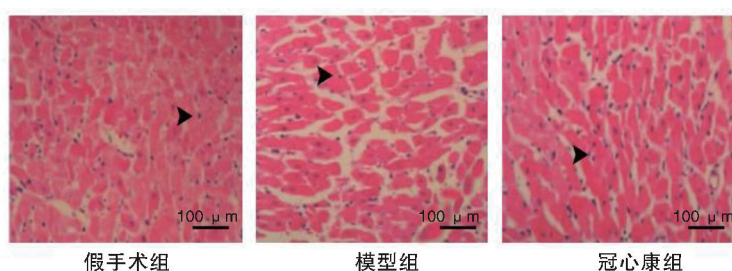


图 1. 大鼠心肌组织 HE 染色结果 黑色箭头所指为细胞核。

Figure 1. HE staining results of rat myocardial tissues

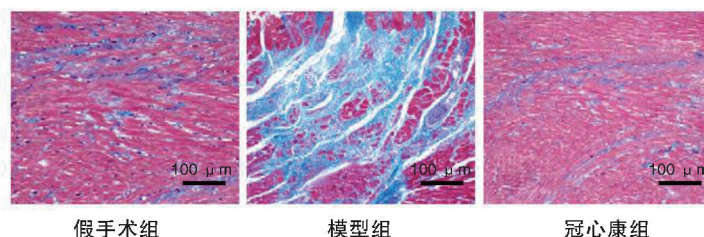


图 2. 大鼠心肌组织 Masson 染色结果

Figure 2. Masson staining results of rat myocardial tissues

表 4. 各组干预后大鼠心肌组织 Caspase-3 活性、凋亡率、Bax 与 Bcl-2 蛋白水平($\bar{x}\pm s$)Table 4. Caspase-3 activity, apoptosis rate and protein levels of Bax and Bcl-2 in rat myocardial tissues after intervention in each group ($\bar{x}\pm s$)

分 组	<i>n</i>	Caspase-3 活性	细胞凋亡率(%)	Bax 蛋白	Bcl-2 蛋白
假手术组	10	81.53±9.26	3.59±1.21	0.36±0.12	0.83±0.11
模型组	10	126.35±11.23 ^a	36.45±4.03 ^a	0.86±0.20 ^a	0.41±0.10 ^a
冠心康组	10	99.47±10.49 ^{ab}	15.48±1.14 ^{ab}	0.53±0.16 ^{ab}	0.60±0.13 ^{ab}

a 为 $P<0.05$, 与假手术组相比; b 为 $P<0.05$, 与模型组相比。

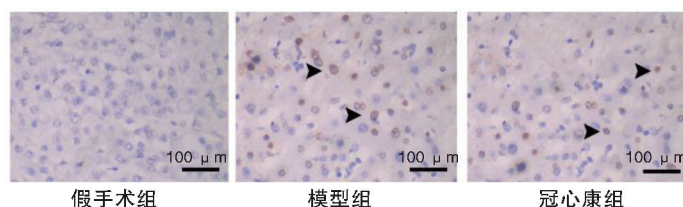


图 3. 大鼠心肌细胞 TUNEL 检测结果 黑色箭头所指为凋亡小体。

Figure 3. TUNEL detection results of myocardial cells in each group

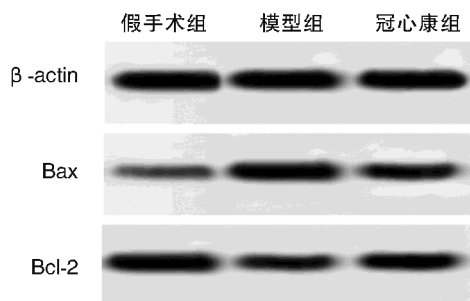


图 4. 各组大鼠心肌组织 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达

Figure 4. Protein expressions of Bax and Bcl-2 in myocardial tissues of rats in each group

3 讨 论

心肌缺血再灌注损伤为冠心病的一个病理环节,临床表现为气短、胸痛、乏力等,当发生心肌缺血再灌注损伤时机体氧自由基增多、钙离子超载、炎症反应、线粒体功能及能量代谢出现障碍,最终

使心肌组织细胞发生不可逆的损伤^[7]。冠心康具有活血化瘀、补虚驱邪、祛痰降浊等功效,有学者^[8]对高脂血症大鼠肝脏的胆固醇稳态分子表达进行研究,发现冠心康可以通过调节大鼠肝脏 LDLR 基因及蛋白水平来调节固醇稳态与血脂水平。本研究表明冠心康可以降低高脂血症心肌缺血再灌注损伤大鼠的 TG、TC、LDLC 水平,增加 HDLC 含量。HDLC、LDLC 含量变化是衡量血胆固醇水平的重要指标,LDL 氧化异构对动脉粥样硬化病变有促进作用^[9],而 HDL 具有抑制 LDL 氧化的作用。冠心康中黄芪具有健脾益气、增强丹参活血养血的功效,黄芪多糖、黄芪甲苷均有改善因心肌缺血再灌注导致心肌功能损伤的作用^[10-11]。丹参可以产生类似心肌缺血预适应的过程^[12],益母草对离体或在体心肌缺血再灌注有缺血预适应的心肌保护作用^[13],薤白有行气导滞、通脉散结及祛痰降浊的作用^[14],现代药理表明黄芪、薤白和丹参皆具备降低血脂之功效^[15-16]。全瓜蒌具有宽胸散结、清热涤痰

及润燥滑肠的作用,药物提取液中具有扩张心脏冠状动脉、增加血管血流量的作用^[17]。表明冠心康可以降低血脂、改善血脂代谢紊乱的作用,因为黄芪、薤白和丹参的药用成分都具有降低血脂的作用。

血脂水平过高、心肌缺血再灌注损伤都会产生血液流变学变化,刺激机体氧化应激及炎症反应,对组织器官造成损伤。本研究结果表明冠心康可以降低高脂血症心肌缺血再灌注损伤大鼠的血液黏度,减低 ICAM-1、TNF- α 、MDA 水平,增加 IL-10 含量。心肌缺血再灌注损伤常伴细胞黏附分子的表达水平升高,导致其介导的中性细胞及内皮细胞黏附、聚集和渗出,出现再灌注损伤^[18],而 ICAM-1 是细胞黏附分子家族的代表^[19]。ICAM-1 是参与细胞之间、细胞与胞外基质相互作用的分子,其含量增加可以反应器官的实质性损伤。MDA 是脂质代谢末端产物,其水平增加也能提示机体的损伤程度^[20]。有研究显示冠心康可以降低气虚痰瘀证动脉粥样硬化大鼠血清 TNF- α 等促炎因子水平^[21],还能降低心肌缺血大鼠 MDA 含量^[22]。本研究结果与前人基本相似,表明冠心康可以降低高脂血症心肌缺血再灌注损伤大鼠机体炎症反应以及氧化应激反应,可能是由于黄芪具有改善由心肌缺血再灌注损伤所致心肌损伤的功能,益母草对心肌功能受损具有保护作用,全瓜蒌具有扩张心脏冠状动脉、增加血管血流量的效果^[23]。

心肌细胞凋亡是心肌缺血再灌注损伤过程的重要环节,与心肌迟发性死亡可能存在密切关系^[24]。本研究结果表明冠心康能降低高脂血症心肌缺血再灌注损伤大鼠的心肌细胞凋亡率、Caspase-3 活性以及 Bax 蛋白水平,增加 Bcl-2 蛋白表达量。凋亡效应子(Caspase-3)在健康机体中常以无生物活性的蛋白酶方式存在于细胞质中,受到凋亡信号刺激后激活,使细胞向凋亡形态改变。凋亡是级联反应的结果,处于级联反应下游的 Caspase-3 为细胞凋亡的标志性因子^[25]。Bax 为促凋亡基因,Bcl-2 为抗凋亡基因,两者在调节细胞凋亡的过程中起着拮抗作用^[26]。梁燕等^[27]发现冠心康可以通过抑制缺血再灌注损伤大鼠心肌组织中 Caspase-3 活性来实现对心肌组织的保护作用。邱少波等^[28]发现中药复方冠心康能够增加 Bcl-2 表达,下调 Bax 的表达,实现对大鼠心肌缺血再灌注损伤心肌细胞的保护作用。本研究结果与前人研究基本一致,表明冠心康可以通过降低心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌组织中 Caspase-3 活性、Bax 蛋白表达量以及上调 Bcl-2 表达量来抑制心肌组织凋亡。

综上所述,冠心康可以降低高脂血症心肌缺血再灌注损伤大鼠血脂水平,通过降低 ICAM-1 水平降低血液黏度;可以降低 TNF- α 和 MDA 的水平、增加 IL-10 含量来减轻炎症反应及氧化应激反应;还可以降低高脂血症心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌组织中 Bax 蛋白水平,增加 Bcl-2 蛋白水平,抑制心肌组织细胞凋亡,来实现对心肌功能的保护作用。

[参考文献]

- [1] 朱美林,贾连群,杨关林,等.脾虚状态对高脂血症大鼠肝脏胆固醇代谢的影响及机制研究[J].中华中医药杂志,2015,30(8):2712-2716.
- [2] 韩婕,叶平.对升高血浆高密度脂蛋白胆固醇水平的新认识[J].中华心血管病杂志,2017,45(2):99-101.
- [3] 宋光耀,任路平.血脂紊乱对糖尿病心血管并发症的影响及处理[J].中国糖尿病杂志,2016,8(3):135-137.
- [4] 张苗苗,毛雯,仝其广,等.缺血后适应对在体大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及其机制[J].中华心血管病杂志,2016,44(7):616-620.
- [5] Kumar N, Mudgal J, Parihar VK, et al. Sesamol treatment reduces plasma cholesterol and triacylglycerol levels in mouse models of acute and chronic hyperlipidemia [J]. *Lipids*, 2013, 48(6): 633-638.
- [6] 徐华英,王建茹,王凤,等.冠心康对 ApoE^{-/-}动脉粥样硬化小鼠血清血脂及炎症微环境的影响[J].中国中医急症,2017,26(9):1509-1513.
- [7] 陈福晖,刘达兴,容松.心肌缺血再灌注损伤发生机制的研究进展[J].安徽医药,2017,21(12):2145-2148.
- [8] 章怡祎,刘萍,张娜,等.冠心康对高脂血症大鼠肝脏胆固醇稳态分子表达的动态影响[J].上海中医药杂志,2016,50(11):69-73.
- [9] 张诗岚,杜晓,刘玲,等.高密度脂蛋白胆固醇水平与高密度脂蛋白功能:孰是孰非?[J].中国动脉硬化杂志,2017,25(1):90-94.
- [10] 邢晓雪,李玲燕,高慧,等.黄芪甲苷对心脏缺血再灌注损伤的保护作用研究现状[J].中国临床药理学杂志,2016,32(18):1726-1728.
- [11] 于胜男,曹琼丹,鲁美丽,等.黄芪多糖对糖尿病大鼠心肌细胞凋亡的影响[J].中药药理与临床,2015,31(4):102-105.
- [12] 翟昌林,黎莉,张运.丹参酮 II A 对大鼠心肌缺血预适应保护中脂联素表达的影响[J].中华中医药学刊,2012,30(8):1849-1851.
- [13] 徐玉平,钱海兵,朱依淳.益母草碱对急性心肌梗死大鼠的影响[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(17):113-116.

- 动脉介入围手术期心血管事件的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2016, 24(3): 281-284.
- [6] 田浩明, 李舍予. 长期血糖控制与糖尿病慢性血管并发症: 循证治疗三十年[J]. 中国糖尿病杂志, 2016, 8(11): 641-644.
- [7] 李玲, 杨家悦, 祝祥云, 等. 血清胰腺再生蛋白水平预测2型糖尿病及其慢性并发症发生的价值[J]. 中国全科医学, 2016, 19(2): 159-163.
- [8] 马晓静, 包玉倩, 周健, 等. 不同糖代谢状态人群糖化血清白蛋白与HbA1c的相关性分析[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2010, 26(6): 452-455.
- [9] 王毅方, 黄辉, 彭贵成, 等. 空腹血糖、糖负荷后2h血糖和HbA1c对糖尿病的诊断价值[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2015, 31(5): 443-446.
- [10] 范玲, 钟慧琴, 常向云, 等. 社区2型糖尿病患者糖化血红蛋白达标率及影响因素分析[J]. 重庆医学, 2015, 44(21): 2967-2970.
- [11] Aso Y, Inukai T, Tayama K, et al. Serum concentrations of advanced glycation endproducts are associated with the development of atherosclerosis as well as diabetic microangiopathy in patients with type 2 diabetes[J]. Acta Diabetol, 2000, 37(2): 87.
- [12] Selvin E, Marinopoulos S, Berkenblit G, et al. Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus[J]. Ann Intern Med, 2004, 141(6): 421-431.
- [13] Rendell M, Paulsen R, Eastberg S, et al. Clinical use and time relationship of changes in affinity measurement of glycosylated albumin and glycosylated hemoglobin[J]. Am J Med Sci, 1986, 292(1): 11-14.
- [14] 姚海木, 沈德良, 赵晓燕, 等. 血清总胆红素对心绞痛患者经皮冠状动脉介入治疗后的预后价值研究[J]. 中国全科医学, 2015, 18(4): 408-412.
- [15] 高爱滨, 魏兆丽. 老年2型糖尿病肾病患者血清胆红素、胱抑素C水平变化及意义[J]. 山东医药, 2017, 57(14): 63-65.
- [16] 冯丽帅, 马旭, 王建波. 严重的糖尿病血管病变的发生机制及其动物模型制作进展[J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(3): 327-331.
- [17] 黄子芮, 潘黎明, 李俊明. 内质网应激在糖尿病心血管并发症发生中作用的研究进展[J]. 山东医药, 2016, 56(30): 102-104.
- [18] 商书霞, 刘晓耕, 吕飞, 等. 2型糖尿病增殖期视网膜病变患者血清胆红素、镁离子水平变化及意义[J]. 山东医药, 2016, 56(46): 24-26.
- (此文编辑 许雪梅)

(上接第742页)

- [14] 赖全魁, 陶瑞林, 赵雨佳, 等. 中药薤白抗癌防癌作用研究概述[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(24): 4811-4816.
- [15] 李艳敏, 范颖, 刘焯, 等. 基于黄酮有效组分探讨黄芩、葛根分煎与合煎对糖尿病大鼠降糖降脂作用的影响[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(7): 1644-1646.
- [16] 高莹, 杨积武. 栝蒌薤白半夏汤合丹参饮对痰浊血瘀型冠心病患者血脂及血小板功能的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2011, 405(2): 307-308.
- [17] 王燕萍, 彭丹虹, 刘晓琪, 等. 瓜蒌薤白半夏汤治疗胸痹的Meta分析[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(10): 2051-2056.
- [18] 尚艳文, 唐红, 韦馨, 等. 抗ICAM-1液态氟碳微球靶向结合损伤心肌细胞的体内外实验及其抗炎作用研究[J]. 西部医学, 2013, 25(4): 487-492.
- [19] Wang Q, Zhu J, Wang L, et al. GW26-e1336 myocardial protection by miR-126 against ischemia/reperfusion injury through suppression of GSK-3 β [J]. J Am Coll Cardiol, 2015, 66(16): C40-C40.
- [20] Yu X, Deng L, Wang D, et al. Mechanism of TNF- α autocrine effects in hypoxic cardiomyocytes: initiated by hypoxia inducible factor 1 α , presented by exosomes[J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 53(6): 848-857.
- [21] 褚田明, 刘萍, 章怡祎, 等. 冠心康对气虚痰瘀证动脉粥样硬化大鼠炎症相关因子的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2015, 29(3): 50-52.
- [22] 覃红, 程体娟, 杨军英, 等. 冠心康对大鼠实验性心肌缺血的保护作用[J]. 中药新药与临床药理, 2003, 14(6): 378-380.
- [23] 蒋文波, 金玉, 季海刚, 等. 中西医结合对不同心肌梗死溶栓危险评分组不稳定型心绞痛患者血瘀证积分的干预作用[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(5): 1983-1987.
- [24] Lin HL, Liu TY, Wu CW, et al. 2-Methoxyestradiol-induced caspase-3 activation and apoptosis occurs through G(2)/M arrest dependent and independent pathways in gastric carcinoma cells[J]. Cancer, 2015, 92(3): 500-509.
- [25] Choudhary GS, Al-Harbi S, Almasan A. Caspase-3 activation is a critical determinant of genotoxic stress-induced apoptosis[J]. Methods Mol Biol, 2015, 1219: 1-9.
- [26] Sharifi S, Barar J, Hejazi MS, et al. Doxorubicin changes Bax/Bcl-xl Ratio, Caspase-8 and 9 in breast cancer cells[J]. Adv Pharm Bull, 2015, 5(3): 351-359.
- [27] 梁燕, 邱少波, 刘萍. 冠心康对缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞形态结构和Caspase-3活性的影响[J]. 上海中医药杂志, 2014, 48(2): 68-71.
- [28] 邱少波, 梁燕, 刘萍. 中药复方冠心康对大鼠缺血再灌注损伤心肌细胞Bcl-2/Bax表达的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2012, 10(10): 1216-1218.
- (此文编辑 许雪梅)