

本文引用:雷杰,郑琼莉.葱白提取物对大鼠急性心肌缺血损伤保护作用的研究[J].湖南中医药大学学报,2018,38(7):746-749.

葱白提取物对大鼠急性心肌缺血损伤保护作用的研究

雷杰,郑琼莉*

(武汉市中西医结合医院心血管内科,湖北 武汉 430022)

[摘要] **目的** 观察葱白提取物对大鼠急性心肌缺血损伤的保护作用及可能的机制。**方法** 将40只大鼠随机分为假手术组、模型组、葱白提取物组、硝酸甘油组,每组10只,通过在体结扎冠状动脉前降支制备大鼠急性心肌缺血模型,使用HE染色后观察心肌组织病理形态学改变,采用ELISA法检测大鼠血清总抗氧化能力(T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和髓过氧化物酶(MPO)的活性及血清中丙二醛(MDA)、白介素-10(IL-10)、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平。**结果** 与模型组比较,各治疗组均能提高血清中T-AOC、GSH-Px活性及IL-10水平,降低MDA、IL-6、TNF- α 水平及MPO活性($P<0.01$, $P<0.05$)。**结论** 葱白提取物有抗大鼠急性心肌缺血作用,其机制可能与抗氧化损伤和抑制炎症反应有关。

[关键词] 葱白提取物;急性心肌缺血;保护作用;炎症反应;氧化损伤

[中图分类号]R285.5;R541

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.07.007

Protective Effect of Scallion Stalk Extract Against Acute Myocardial Ischemic Injury in Rats

LEI Jie, ZHENG Qiongli*

(Department of Cardiovascular Medicine, Wuhan Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Wuhan, Hubei 430022, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the protective effect of scallion stalk extract against acute myocardial ischemic injury in rats and its possible mechanism. **Methods** A total of 40 rats were equally and randomly divided into sham-operation group, model group, scallion stalk extract group, and nitroglycerin group. An acute myocardial ischemia model was prepared by ligation of the anterior descending branch of the coronary artery in rats. The histopathological morphology of myocardium was observed by HE staining. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to measure serum total antioxidant capacity (T-AOC), the activities of glutathione peroxidase (GSH-Px) and myeloperoxidase (MPO), and the serum levels of malondialdehyde (MDA), interleukin-10 (IL-10), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α). **Results** Compared with the model group, the two treatment groups had significantly higher serum T-AOC, GSH-Px activity, and IL-10 level, and significantly lower levels of MDA, IL-6, and TNF- α and MPO activity ($P<0.01$, $P<0.05$). **Conclusion** Scallion stalk extract has a protective effect against acute myocardial ischemia and its mechanism may be related to anti-oxidative damage and inhibition of inflammatory response.

[Keywords] scallion stalk extract; acute myocardial ischemia; protective effect; inflammatory response; oxidative damage

“急性心肌缺血”可出现胸部闷痛、胸痛彻背及喘息不得卧为主证,脉弦或结代等一系列症状。在中医学可归为“胸痹”“心痛”“厥心痛”。最早在《本

草纲目》菜部中有记载:“卒心急痛,牙关紧闭欲绝,以老葱白五茎去皮须,捣膏,以匙送入咽中,灌以麻油四两,但得下咽即苏。”提示仅使用单味中药葱白

[收稿日期]2017-09-24

[基金项目]武汉市卫生计生办科研项目(WZ14A06)。

[作者简介]雷杰,男,在读硕士研究生,研究方向:中西医结合治疗心血管疾病。

[通讯作者]*郑琼莉,女,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:中西医结合治疗心血管疾病,E-mail:327968044@qq.com。

治疗胸痹病,具有良好疗效。葱白提取物是从葱科植物细香葱(*Bulbus Allii Fistulosi*)成熟茎下端葱白中提取的一类活性成分,前期研究表明葱白可以有效抗氧化损伤、改善缺血心肌的能量代谢,具有良好的改善心肌缺血状态和减轻冠脉粥样硬化作用^[1-5]。因此,本研究建立急性心肌缺血大鼠模型,观察中药葱白提取物对心肌缺血大鼠血清总抗氧化能力(T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和髓过氧化物酶(MPO)的活性及血清中丙二醛(MDA)、白介素-10(IL-10)、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平的影响,探讨葱白提取物抗心肌缺血机制,为今后有效防治心肌缺血提供依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 受试药物 葱白提取物(批号:20150326),由武汉市中西医结合医院制剂中心生产,通过二氧化碳超临界萃取法制备,利用无菌的基础培养液稀释葱白提取物,使其终浓度为0.10 mg/mL的溶液;硝酸甘油片(生产批号:905028KL),由齐鲁制药有限公司提供,研碎后配制成1 mg/mL蒸馏水溶液。

1.1.2 动物 健康纯种SD大鼠40只,雄性,2~3月龄,体质量210~230 g,SPF级,购自南京斯科瑞生物科技有限公司提供,合格证编号:HNASLKJ20150976。

1.1.3 主要试剂与仪器 0.01mol/L的磷酸盐缓冲生理盐水(pH7.4)、清洁液、50%缓冲甘油封片液、 H_2O_2 、多聚赖氨酸处理载玻片、4%多聚甲醛、15%~30%蔗糖、酒精、EDTA、DAB、二甲苯、pH6.0枸橼酸缓冲液(武汉宇阳锋锐有限公司提供);T-AOC、GSH-Px、MPO、MDA、IL-10、IL-6和TNF- α Elisa试剂盒(南京建成生物工程研究所)。ECG-6951D型心电图机,上海光电子仪器有限公司;HX200动物人工呼吸机,成都春盟科技有限公司;powerlab/8 S型八导数据分析记录仪,澳大利亚埃德公司。

1.2 实验方法

1.2.1 模型制备 经腹腔注射3.5%戊巴比妥钠将大鼠麻醉,仰位固定于专用木板上,将大鼠与八导数据分析记录连接,记录一段正常心电图。随后将大鼠气管切开连接小型呼吸机及心电监护,并开胸制备急性心肌缺血模型,方法如下:胸部备皮,沿左胸骨中线切开线形皮肤约2~3 cm缺口,在第4肋间

开胸、扩胸,除去心包膜,挤出心脏,在左心耳根部和肺动脉圆锥交界处,穿细线结扎(假手术组不结扎,只置手术线)。心电图示II导联ST段明显抬高(0.2 mv),说明造模成功。

1.2.2 动物分组 40只大鼠按随机数字表法随机抽取10只作为假手术组,对其余30只大鼠进行急性心肌缺血模型制作,造模成功后按照随机数字表法将其随机分为模型组、葱白提取物组和硝酸甘油组,每组10只。

1.2.3 给药方法 于造模成功后在大鼠腹部中线偏左开口,找到十二指肠,用注射器于结扎后5 min灌胃给药。葱白提取物组按600 mg/kg给药,硝酸甘油组按80 mg/kg给药,假手术组和模型组给与相同体积的生理盐水,给药体积为2 mL/kg。

1.2.4 指标检测 (1)取大鼠心肌缺血3 h后腹主动脉血液3 mL,将其注入含有10%EDTA二钠45 μ L和胰肽酶60 μ L的试管中,混匀,3 000 r/min离心30 min,分离血浆,取上清,放置在-70 $^{\circ}$ C冰箱中保存待测。采用ELISA双抗体夹心法检测大鼠外周血清T-AOC、GSH-Px和MPO活性及MDA、IL-10、IL-6和TNF- α 水平,操作严格按照试剂盒说明进行。(2)解剖取出大鼠心脏,去除心包膜,用冰生理盐水洗净心腔,并用滤纸吸干积血,取心尖心肌组织,将心肌组织标本经4%多聚甲醛固定24 h后,用70%乙醇、85%乙醇、95%乙醇、无水乙醇梯度脱水,二甲苯透明,蜡块包埋,制成石蜡切片(5 μ m)、HE染色观察心肌组织。

1.3 统计学处理

全部数据均以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,采用SPSS 18.0软件进行分析。多组间均数比较用单因素方差分析,组间两两比较方差齐时用LSD检验,方差不齐时用Tamhane's T2检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HE染色显示心肌组织病理改变

使用HE染色,光镜下观察各组大鼠心肌细胞病理变化。假手术组:心肌病理形态未受到破坏,心肌纤维排列整齐,界限清晰,胞核居中,未见炎性浸润。模型组:心肌纤维大部分断裂,横纹模糊,细胞可见明显肿胀,有凋亡细胞伴有炎性浸润。与模型组比较,各治疗组:心肌纤维仅少量断裂,较为整齐,有少量炎性细胞浸润,心肌损伤减轻。见图1。

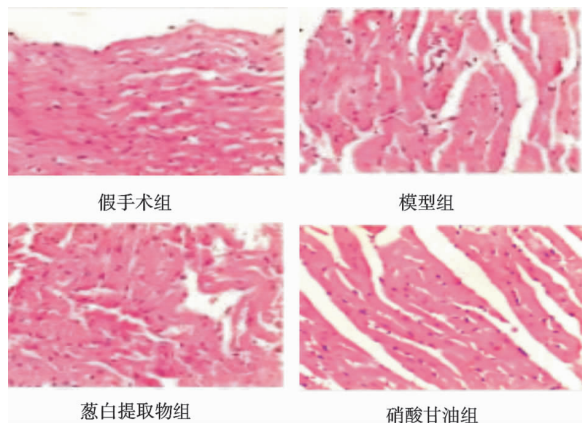


图1 各组大鼠心肌组织病理表现(HE,×200)

2.2 对大鼠血清氧化应激指标的影响

与假手术组比较,模型组 T-AOC、GSH-Px 活性明显降低,MDA 水平显著增高($P<0.01$);与模型组比较,各治疗组能显著提高 T-AOC、GSH-Px 活性

($P<0.01$, $P<0.05$),降低 MDA 水平($P<0.01$)。见表 1。

2.3 对大鼠血清炎症因子水平的影响

与假手术组比较,模型组血清 IL-10 水平显著下降,IL-6、TNF- α 水平及 MPO 活性显著增高($P<0.01$)。与模型组比较,各治疗组血清 IL-10 明显升高($P<0.01$, $P<0.05$),IL-6、TNF- α 水平及 MPO 活性明显降低($P<0.01$)。见表 2。

表1 对大鼠急性心肌缺血损伤血清氧化应激指标的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	T-AOC/U·mL ⁻¹	GSH-Px/U·mL ⁻¹	MDA/nmol·L ⁻¹
假手术组	10	6.63±0.37	167.4±19.15	5.12±0.15
模型组	10	3.05±0.15 ^{△△}	104.1±8.82 ^{△△}	13.44±1.38 ^{△△}
葱白提取物组	10	4.87±0.26*	282.92±23.15**	7.44±0.25**
硝酸甘油组	10	5.59±0.75**	251.85±16.73**	6.41±0.52**
F 值		115.20	209.60	240.10
P 值		<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1

注:与假手术组比较,△△ $P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.01$,* $P<0.05$ 。

表2 对大鼠血清炎症因子水平的影响

组别	n	IL-10/pg·mL ⁻¹	IL-6/pg·mL ⁻¹	TNF- α /pg·mL ⁻¹	MPO/U·g ⁻¹
假手术组	10	294.75±7.80	179.37±18.23	67.86±23.84	26.58±2.76
模型组	10	214.57±31.21 ^{△△}	367.89±53.36 ^{△△}	355.36±91.45 ^{△△}	37.60±8.44 ^{△△}
葱白提取物组	10	330.10±69.93**	235.56±9.87**	135.71±77.12**	17.30±7.96**
硝酸甘油组	10	286.39±66.08*	222.49±17.23**	153.57±53.32**	18.24±10.71**
F 值		9.12	74.04	34.59	13.82
P 值		0.000 1	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1

注:与假手术组比较,△△ $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

3 讨论

急性心肌缺血损伤发生机制尚未完全阐明,本文主要从氧化应激与炎症因子两方面来探讨辛温通阳中药-葱白提取物对急性心肌损伤的保护作用。急性心肌缺血时生成大量氧自由基,氧化与抗氧化失衡,T-AOC、GSH-Px 等酶的活性降低,总抗氧化能力减弱,其中不饱和脂肪酸产生脂质过氧化反应,过氧脂质进一步分解成 MDA,MDA 能使心肌细胞膜的结构和功能受损,心肌缺血则进一步加重^[6-7]。而细胞炎症因子也在心肌缺血损伤过程中起非常重要的作用,TNF- α 、IL-10、IL-6 均是重要的炎症介质。正常血清仅含有少量 TNF- α ^[8],急性心肌缺血损伤后,巨噬细胞、单核细胞可于短时间内释放大量 TNF- α ,并参与缺血损伤的发病过程^[9-10]。IL-10 是一种抗炎细胞因子,可抑制 TNF- α 、IL-6 等多种促炎细胞因子的产生,抑制炎症反应,减轻心肌损伤^[11]。IL-6 可作用于血管壁而引起血管壁的损伤,激活细

胞因子级联反应,促进氧自由基产生、活化中性粒细胞,从而诱导心肌细胞凋亡,加重心肌缺血损伤^[12]。而通过降低血清中 TNF- α 、IL-6 水平及升高 IL-10 水平能减轻缺血损伤后炎症反应,可降低急性心肌缺血大鼠心律失常发生率,使心肌组织形态损伤减轻,对心肌起保护作用^[13-15]。另有研究表明血清 MPO 具有增加白细胞数量、促使内皮黏附、增强内皮细胞的促凝血活性、促心肌细胞凋亡加速、减弱心肌收缩力^[16]等多种作用。

在中医学里冠心病急性心肌缺血属“胸痹”“厥心痛”等,其病机与“阳气微弱,闭塞不通”相关,《金匱要略·胸痹心痛短气病脉证治》:“夫脉当取太过不及,阳微阴弦,即胸痹而痛……以其阴弦故也”,具体来说,心气(阳)不足,寒湿内停,痰浊闭阻,痰瘀互结,终致胸阳不振,心脉痹阻,一旦胸中阳气不通,心之推动无力,最终痰瘀病理产物形成,从而形成心脉痹阻或心脉拘急,阳气不能濡养心脉而致心失血养。正如《丁甘仁医案》中说道:“阳气不到之处,即浊阴

凝聚之所”。仲景基于阳微阴玄的基本病机,确立了辛温通阳的治疗大法,而对于葱白的通阳作用,清代陈亮斯云:“葱白能通阳气……唯葱白味辛,能通阳气”。《集注》中也有记载:“葱白以升阳,云通者,一以温之而令阳气得入,一以发之而令阴气易散也。”现代药理研究也证实,葱白提取物能降低血清LDH、TNI、NO水平;清除血清CRP、MDA、SOD,减轻氧化应激反应;增加心肌供血等作用^[17]。本研究结果显示与模型组比较,葱白提取物组、硝酸甘油组心肌组织形态损伤减轻,血清中T-AOC、GSH-Px活性及IL-10水平较高,MDA、IL-6、TNF- α 水平及MPO活性较低,提示葱白提取物通过影响以上氧化与炎症因子对抗大鼠急性心肌缺血损伤。

综上所述,葱白提取物对大鼠急性心肌缺血损伤有保护作用,其可能机制是抑制缺血心肌过氧化反应,增强抗氧化能力;减轻炎症反应及细胞浸润,增加抗炎能力,这也与相关研究一致^[18-19]。但急性心肌缺血损伤过程十分复杂,是否除抗氧化、抗炎机制外还有其它因素参与;是否还有其它抗氧化、抗炎指标参与都还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 段刚峰,郑琼莉,郝建军,等.葱白提取物对急性心肌缺血大鼠心肌组织硫化氢的影响[J].时珍国医国药,2017,28(3):561-563.
- [2] 傅延龄,宋文杰.《伤寒论》中所用葱的品种及药用部位[J].中医杂志,2017,58(12):1073-1078.
- [3] 贺清,赵勇,覃佐涛,等.葱白提取物对心脑血管疾病作用的现代研究概况[J].中西医结合心脑血管病杂志,2016,14(9):970-972.
- [4] 柯于鹤,郝建军,郑琼莉,等.葱白提取物对动脉粥样硬化兔血脂代谢的影响[J].江西中医药大学学报,2017,4(29):79-80.
- [5] 朱旭,冯云霞,郝建军,等.葱白提取物对急性心肌缺血大鼠抗氧化作用的影响[J].河南中医,2014,34(4):625-627.
- [6] 陈艳芬,杨超燕,李坤平,等.布渣叶总黄酮对大鼠急性心肌缺血的保护作用及其机制[J].中草药,2013,44(8):1003-1007.
- [7] 刘璇,李正,华声瑜,等.生脉注射液抗大鼠心肌缺血再灌注损伤的药理学研究[J].中成药,2015,37(2):252-255.
- [8] AKER S, BELOS JOROW S, KONIETZKAL, et al. Serum but not myocardial TNF- α concentration is increased in pacing-induced heart failure in rabbits[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,2003,285(2): 463-466.
- [9] HE H, XU J, XU Y, et al. Cardioprotective effects of saponins from *Panax japonicus*, on acute myocardial ischemia against oxidative stress-triggered damage and cardiac cell death in rats[J]. Journal of Ethnopharmacology,2012,140(1):73-82.
- [10] EECKOUT E, KERN M J. The coronary no-reflow phenomenon:a review of mechanisms and therapies[J]. Eur Heart J, 2001,22(9):729-739.
- [11] 张洋,王明春,阿日棍,等.丹参(冻干)粉针对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的IL-6和IL-10的影响[J].中医药学报,2016,44(3):30-32.
- [12] BARTEE E, MOHAMED MR, MC FADDEN G. Tumor necrosis factor and in-terferon:cytokines in harmony [J]. Curr Opin Microbiol,2008,11(4):378-383.
- [13] 龚明玉,杜超,袁宝玉.灯盏花素对心肌缺血再灌注大鼠血清TNF- α 及IL-6的影响[J].时珍国医国药,2013,24(7):1615-1616.
- [14] 吴红彦,王虎平,肖艳娇,等.参参康心滴丸对急性心肌缺血大鼠心电图及血清NO,血浆ET与心肌TNF- α ,IL-6含量的影响[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(16):152-154.
- [15] 谷高玲,赵国安,孙海燕,等.冠心病患者细胞因子信号转导抑制剂1基因多态性的临床意义[J].中国医科大学学报,2013,42(5): 436-438.
- [16] 蒋磊,范金茹,陈彤,等.心痛方治疗急性心肌梗死痰瘀互结气郁证的临床疗效及对MPO的影响[J].湖南中医药大学学报, 2015,35(7):34-37.
- [17] 段刚峰,雷杰,郑琼莉.通阳中药葱白提取物对急性心肌缺血大鼠心肌MPO活性及心肌组织形态的影响[J].湖北中医药大学学报,2017,19(4): 13-15.
- [18] 高超,刘毅,杨强,等.抗TNF- α 中和抗体通过升高脂联素水平减轻小鼠心肌缺血/再灌注损伤的作用[J].心脏杂志,2012,24(3):281-286.
- [19] 李国前,陈淑增,王杰华,等.瑞舒伐他汀对大鼠脑缺血再灌注后炎症因子的影响研究[J].中国临床药理学杂志,2014,30(9):788-790.

(本文编辑 杨瑛)