

本文引用:哈玲梅,董化江,单娜娜,等.天麻素  
医学院学报,2015,32(5):395-397.

### 【基础研究】

## 天麻素对心肌缺血再灌注损伤大鼠血清内皮素-1水平的影响

哈玲梅<sup>1</sup>, 董化江<sup>2</sup>, 单娜娜<sup>3</sup>, 臧照辉<sup>4</sup>, 何文彤<sup>2</sup>

(1. 武警后勤学院附属医院急诊科, 天津 300162; 2. 武警后勤学院人体解剖学与组织胚胎学教研室 天津市遗体防腐与整形整容重点实验室, 天津 300162; 3. 武警后勤学院教育技术中心, 天津 300162; 4. 武警后勤学院研究生处, 天津 300162)

**摘要:** **目的** 探讨天麻素对心肌缺血再灌注损伤大鼠血清中内皮素-1(ET-1)水平的影响。**方法** Wistar 大鼠 50 只随机分为 5 组:假手术组、模型组、天麻素低剂量组、天麻素中剂量组、天麻素高剂量组,每组 10 只。假手术组大鼠开胸不结扎冠状动脉前降支;模型组大鼠开胸结扎前降支;天麻素低、中、高剂量组大鼠开胸结扎冠状动脉前降支,术前给予相应剂量的天麻素,经舌下静脉给药。放射免疫法测量 ET-1 血清学水平;反转录-聚合酶链反应、蛋白质免疫印迹法检测各组大鼠心肌组织中 ET-1 的表达情况。**结果** 与假手术组比较,模型组及天麻素低、中、高剂量组大鼠血清 ET-1 水平、心肌组织 ET-1 mRNA 及蛋白水平显著升高( $P<0.05$ );天麻素低、中、高剂量组大鼠血清 ET-1 水平、心肌组织 ET-1 mRNA 及蛋白水平均较模型组显著降低( $P<0.05$ ),且天麻素剂量越高其水平降低越明显( $P<0.05$ )。**结论** 天麻素进行干预后可有效降低心肌缺血再灌注损伤后内皮素-1 表达。

**关键词:** 天麻素;大鼠;心肌缺血再灌注损伤;内皮素-1

中图分类号: R542.2 文献标志码: A 文章编号: 1004-7239(2015)05-0395-03

### Effect of gastrodin on the level of endothelin-1 in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury

HA Ling-mei<sup>1</sup>, DONG Hua-jiang<sup>2</sup>, SHAN Na-na<sup>3</sup>, ZANG Zhao-hui<sup>4</sup>, HE Wen-tong<sup>2</sup>

(1. Department of Emergency, the Affiliated Hospital of Logistics University of CAPF, Tianjin 300162, China; 2. Department of Anatomy and Histoembryology, Logistics University of CAPF, the Key Laboratory of the Corrosion Protection and Mortal Remains of Tianjin, Tianjin 300162, China; 3. Department of Technique and Education, Logistics University of CAPF, Tianjin 300162, China; 4. Department of Graduated Students, Logistics University of CAPF, Tianjin 300162, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the effect of gastrodin on the level of endothelin-1 in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury. **Methods** Fifty Wistar rats were randomly divided into sham operation group, model group, low dose of gastrodin group, middle dose of gastrodin group and high dose of gastrodin group, 10 rats in each group. The rats in sham operation group were opened thoracic cavity without ligating anterior descending coronary, the rats in model group were opened thoracic cavity and ligated anterior descending coronary, while the rats in low, middle and high dose of gastrodin group were given corresponding dose of gastrodin by the sublingual vein before opening thoracic cavity and ligating anterior descending coronary. The level of serum endothelin-1 was detected by radioimmunoassay and the endothelin-1 in cardiac muscle tissue was detected by reverse transcription polymerase chain reaction and Western blot methods. **Results** Compared with sham operation group, the level of serum endothelin-1, endothelin-1 mRNA and endothelin-1 protein in cardiac muscle tissue were significantly higher in model group and low, middle and high dose of gastrodin group ( $P < 0.05$ ). The level of serum endothelin-1, endothelin-1 mRNA and endothelin-1 protein in cardiac muscle tissue in low, middle and high dose of gastrodin group were significantly lower than those in model group ( $P < 0.05$ ), and with the dose of gastrodin increasing, the reducing extent was more obvious ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** Gastrodin can reduce the expression of endothelin-1 in myocardial ischemia-reperfusion injury in rats effectively.

**Key words:** gastrodin; rat; myocardial ischemia-reperfusion; endothelin-1

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction,

**DOI:**10.7683/xxxyxb.2015.05.004

收稿日期:2014-03-10

**基金项目:**国家十一五科技支撑计划项目(编号:2007BAK38B05);  
武警后勤学院科研创新团队项目(编号:WHTD201308-2)

**作者简介:**哈玲梅(1974-),女,天津人,硕士,主治医师,研究方向:急危重病医学基础与临床研究。

通信作者:何文彤(1970-),女,江苏无锡人,学士,实验师,研究方向:人体解剖学教学及实验研究;E-mail: hwt777@163.com。

AMI)是冠状动脉急性、持续性缺血缺氧所引起的心肌坏死,本病发病凶险且病死率高,恢复冠状动脉血流治疗为主要治疗措施,然而血流恢复后再灌注造成的心肌损伤却远大于单纯缺血时的损伤<sup>[14]</sup>,因此,阐明心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI)具体机制,探索新的治疗途

径亟需解决。内皮素-1 (endothelin-1, ET-1) 为目前已知缩血管效应最强的物质之一,其所造成的无复流现象是最主要的损伤原因之一<sup>[5]</sup>。天麻为名贵中药之一,天麻素为其最有效成分,具有镇痛、镇静、降压、增加脑血流量、抑制炎症反应、扩血管等作用,对脑缺血再灌注损伤亦具有保护作用,还可增加外周及冠状动脉血流量<sup>[6-10]</sup>。本实验旨在利用 MIRI 大鼠模型阐明天麻素对 ET-1 的对抗作用及心肌保护效应。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 BL-410 生物心电记录系统(成都医疗器械公司),ET-1 多克隆抗体(上海西唐生物科技有限公司),甘油醛-3-磷酸(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(上海西唐生物科技有限公司),ET-1 放射免疫法(radioimmunoassay, RIA)试剂盒(上海西唐生物科技有限公司),天麻素注射液(西南药业有限公司,批号:20064391,规格 0.1 g · L<sup>-1</sup>)。

1.2 动物分组及模型制备 无特定病原体级成年健康 Wistar 大鼠 50 只,雌雄不计,体质量 250 ~ 300 g,军事医学科学院动物中心购买(合格证号:0050177),随机分 5 组,假手术组、模型组、天麻素低剂量组、天麻素中剂量组、天麻素高剂量组,每组 10 只。其中假手术组大鼠仅开胸不结扎冠状动脉前降支,余 4 组大鼠采用结扎冠状动脉前降支 30 min 制作缺血模型,剪断结扎线即为恢复血流重新灌注,再灌注时间为 2 h;天麻素低、中、高剂量组大鼠分别在手术前 20 min 舌下静脉给予天麻素 1 mL 加生理盐水 3 mL、天麻素 2 mL 加生理盐水 2 mL 及天麻素 4 mL;模型组大鼠给予 4 mL 生理盐水。本研究中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 血清 ET-1 活性的检测 各组大鼠在到达预期时间节点后即刻开胸右心房取血,经低温分离血清,严格按照 RIA 试剂盒说明书进行操作,检测血清 ET-1 水平。

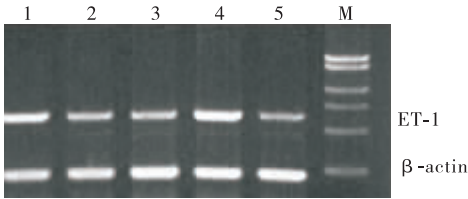
1.3.2 各组大鼠心肌组织 ET-1 mRNA 和蛋白表达检测 取各组大鼠结扎线下左心室游离壁和前下壁心肌组织(注意取材时应由同一人完成,取同一部位,避免取材误差),TRIzol 匀浆,分离提取总 RNA,紫外光检测样品吸光度(A),A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> 比值为

1.95 ~ 2.10,应用反转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测 ET-1 mRNA 表达;取结扎线下的心肌组织加入裂解液,研磨至组织无肉眼可见的碎片,运用 200 μL 裂解液冲洗研磨器,4 ℃ 低温离心 15 min,取上清;用蛋白免疫印迹法检测 ET-1 蛋白变化。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用单因素方差分析,P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

结果见图 1 和表 1。与假手术组比较,模型组及天麻素低、中、高剂量组大鼠血清 ET-1 水平、心肌组织 ET-1 mRNA 及蛋白水平显著升高(P < 0.05);天麻素低、中、高剂量组大鼠血清 ET-1 水平、心肌组织 ET-1 mRNA 及蛋白水平均较模型组降低(P < 0.05),且剂量越高降低越明显(P < 0.05)。



1:天麻素低剂量组;2:天麻素中剂量组;3:天麻素高剂量组;4:模型组;5:假手术组;M:Maker。

图 1 各组大鼠血清 ET-1 蛋白免疫印迹法结果

Fig. 1 Result of ET-1 detected by Western blotting in every group

表 1 各组大鼠血清 ET-1 水平、心肌组织 ET-1 mRNA 及蛋白水平比较

Tab. 1 Comparison of the levels of serum endothelin-1, endothelin-1 mRNA and endothelin-1 protein in cardiac muscle tissue of rats among the groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	血清 ET-1/( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	心肌组织 ET-1 mRNA	心肌组织 ET-1 蛋白
假手术组	10	29.58 ± 3.78	0.31 ± 0.16	0.36 ± 0.99
模型组	10	128.71 ± 1.50 <sup>a</sup>	0.90 ± 0.23 <sup>a</sup>	0.87 ± 0.23 <sup>a</sup>
天麻素低剂量组	10	101.69 ± 6.99 <sup>ab</sup>	0.78 ± 0.18 <sup>ab</sup>	0.74 ± 0.28 <sup>ab</sup>
天麻素中剂量组	10	88.82 ± 19.42 <sup>abc</sup>	0.66 ± 0.11 <sup>abc</sup>	0.63 ± 0.26 <sup>abc</sup>
天麻素高剂量组	10	69.66 ± 15.40 <sup>abcd</sup>	0.49 ± 0.24 <sup>abcd</sup>	0.58 ± 0.24 <sup>abcd</sup>

注:与假手术组比较<sup>a</sup>P < 0.05;与模型组比较<sup>b</sup>P < 0.05;与天麻素低剂量组比较<sup>c</sup>P < 0.05;与天麻素中剂量组比较<sup>d</sup>P < 0.05。

3 讨论

AMI 是因持久而严重的心肌缺血所致的部分心

肌急性坏死。在临床上常表现为胸痛、急性循环功能障碍以及反映心肌损伤、缺血和坏死等一系列特征性的心电图改变,临床表现常有持久的胸骨后剧烈疼痛、急性循环功能障碍、心律失常、心力衰竭、发热、白细胞计数和血清心肌损伤标志酶水平升高以及心肌急性损伤与坏死的心电图进行性演变,病情危重,病死率高<sup>[1-2,4,11]</sup>。AMI 最为有效的治疗手段即为恢复血流灌注,然而恢复血流后的再灌注损伤较单纯的缺血性损伤更为严重<sup>[3]</sup>。ET-1 为血管内皮细胞所释放,为目前所知的最为强劲的缩血管物质,具有强烈的收缩血管及促血管重塑作用<sup>[12-14]</sup>,其在调节血管开放、关闭及控制血流分布等方面起重要作用,大量文献证实 ET-1 在急性心肌缺血再灌注损伤的病理生理的整个过程中扮演着重要角色,因此对 ET-1 的干预已经成为防治 MIRI 改善预后的重要途径<sup>[1-2,15]</sup>。天麻为我国常用名贵中药,天麻素是天麻极其重要的有效成分之一,可减轻脑缺血再灌注损伤,抑制炎症反应,阻止血栓形成,且可有效降低外周血管阻力,增加动脉血管顺应性,有效对抗内皮素-1 强烈的缩血管效应<sup>[5-10]</sup>。基于前期的文献调研及预实验,课题组推测:天麻素可通过对抗某些生物活性物质,有效减轻缺血再灌注损伤。

本研究发现,ET-1 在 MIR 损伤过程中起十分重要的作用,但天麻素预处理后可显著抑制和降低 ET-1 的表达,对受损伤心肌起保护性作用,从而起到有效保护再灌注后受损伤心肌细胞的作用。

ET-1 受体抑制剂可以减轻缺血心肌的损伤程度,但 ET-1 受体抑制剂费用高昂,加之不良反应较大,至今尚未在临床广泛应用;而天麻素可替代 ET-1 受体抑制剂,在某些阶段抑制血清及心肌组织中 ET-1 的表达,间接对心肌起到保护作用。因此可尝试应用天麻素预处理来干预 ET-1 的表达,保护缺血再灌注损伤的受损心肌,但其具体的机制及其更为准确的时间节点需进一步研究。

参考文献:

[1] 董化江,单娜娜,罗悦晨,等. 左旋精氨酸对急性心肌缺血再灌注损伤大鼠内皮素-1 的影响[J]. 中国危重病急救医学,2011,23(12):731-733.

[2] 沈敬鸿. 中西医结合治疗急性心肌梗死 45 例疗效观察[J]. 中国中西医结合急救杂志,2010(4):238.

[3] 李志刚. 再次心肌梗死发生的高危因素分析[J]. 中国中西医结合急救杂志,2011(1):38-40.

[4] 薛辉,颜光涛,林季,等. 心肌缺血/再灌注损伤后瘦素的改变及机制初探[J]. 中国危重病急救医学,2010,23(11):680-683.

[5] 曹静,王红,李明霞,等. 内皮素-1 在缺氧性肺动脉高压新生大鼠肺组织中的表达变化及意义[J]. 中华实用儿科临床杂志,2013,28(20):1561-1565.

[6] 聂晶,杜亮,黄雯南,等. 天麻素对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 华西药理学杂志,2010,25(4):423-425.

[7] 林青,李秀芳,李文军,等. 天麻提取物对血小板聚集的影响[J]. 中国微循环,2006,10(1):33-35.

[8] 杨万兴,吕金胜,封永勇,等. 天麻醇提取液对动物急性炎症的影响[J]. 中国药业,2002,11(12):26-27.

[9] 黄丽亚. 天麻注射液上调抗氧化酶表达作用的实验研究[J]. 陕西中医,2006,27(2):242-243.

[10] 周敏,陆永利,郑世玲,等. 天麻素抗大鼠离体心肌缺血/再灌注损伤的作用[J]. 辽宁中医药大学学报,2009,11(12):180-181.

[11] 徐彤彤,刘世平,王晓珊. 瘦素预处理和缺血预处理在小鼠心肌缺血/再灌注损伤中的心肌保护机制[J]. 中国危重病急救医学,2010,22(8):105-108.

[12] 周英,王乐,李明霞,等. 缺氧诱导因子-1 $\alpha$  及其内皮素-1、肾上腺髓质素在缺氧性肺动脉高压新生大鼠中的变化[J]. 中华实用儿科临床杂志,2013,28(18):1384-1389.

[13] 张菁,余腊梅,胡义珍. 大鼠急性高血压后视网膜 RhoA、ROCK-2 和 ET-1 的表达及其相关性研究[J]. 眼科新进展,2011,31(5):419-422,426.

[14] 邹晓萍,董化江,单娜娜,等. 蕲麻正丁醇提取物对卵巢缺血再灌注损伤大鼠内皮素-1 的影响[J]. 新乡医学院学报,2014,31(9):682-684.

[15] Nelson J, Bagnato A, Batfifini B, et al. The endothelin axis: engineering role in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*,2003,3(2):110-116.

( 本文编辑:杨 博 英文编辑:杨 博)