

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00175

舒血宁对脓毒症大鼠心肌的保护作用

毛燕飞, 孙璐璐, 廖兴志, 邓小明*

第二军医大学长海医院麻醉科, 上海 200433

[摘要] **目的** 探讨舒血宁注射液对脓毒症损害的大鼠心肌是否具有保护作用。**方法** 将30只SD大鼠随机分为假手术组(Sham组)、脓毒症组(CLP组)与舒血宁注射液组(SXN组),CLP组与SXN组采用大鼠盲肠结扎穿孔术制造脓毒症模型。SXN组于盲肠结扎穿孔术前1h经腹腔注射0.3 ml/kg舒血宁注射液,Sham组和CLP组于相同时间点给予0.3 ml/kg生理盐水。术后6h时经腹主动脉取血行肌钙蛋白T(TnT)、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素(IL)-1 β 检测;取部分心肌匀浆,制成10%心肌组织悬液,测定超氧化物歧化酶(SOD)活性与丙二醛(MDA)含量;部分心肌行H-E染色观察病理变化。**结果** 与CLP组比较,舒血宁可显著降低CLP后血浆TnT、TNF- α 与IL-1 β 水平以及心肌组织MDA含量,并使心肌SOD活性增强($P < 0.05$ 或 0.01);组织学观察可见舒血宁可明显改善脓毒症大鼠心肌充血、水肿及炎性细胞浸润等病理改变。**结论** 舒血宁对脓毒症大鼠心肌损伤具有保护作用,其机制可能与其对心肌氧自由基的清除作用及对炎性介质的影响有关。

[关键词] 舒血宁;脓毒症;盲肠结扎穿孔术;心肌损伤

[中图分类号] R 631 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)02-0175-04

Protective effects of *Shuxuening* injection on myocardial injury in rats with sepsis

MAO Yan-fei, SUN Lu-lu, LIAO Xing-zhi, DENG Xiao-ming*

Department of Anesthesiology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To investigate whether *Shuxuening* injection has a protective effect on myocardial injury in rats with cecal ligation and puncture(CLP)-induced sepsis. **Methods** Thirty SD rats were randomly allocated to Sham group, CLP group and *Shuxuening* group (SXN group). In the *Shuxuening* group, *Shuxuening* injection was intraperitoneally injected at a dose of 1 mg(0.3 ml)/body weight 1 h before CLP challenge. The sham and CLP groups received an equal volume of saline injection (0.3 ml/kg) at the same time points. Six hours later, the blood samples were obtained from abdominal aorta to determine the contents of TnT, TNF- α , and IL-1 β . Meanwhile, MDA contents and SOD activities in myocardial tissues were also tested and the pathologic changes of the myocardial tissue were observed by H-E staining. **Results** Compared with CLP group, the serum contents of TnT, TNF- α , and IL-1 β and myocardial tissue MDA were decreased in *Shuxuening* group; and the myocardial tissue SOD activities were significantly increased in *Shuxuening* group ($P < 0.05$ or 0.01). Microscope observation showed that the degrees of myocardial congestion, edema, and inflammatory cell infiltration were greatly improved in the *Shuxuening* group compared with in the CLP group. **Conclusion** Our results suggest that *Shuxuening* can protect against CLP-induced myocardial injury in rats, probably through scavenging free radical and inhibiting release of inflammatory mediators.

[Key words] *Shuxuening*; sepsis; cecal ligation and puncture; myocardial injury

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(2):175-178]

脓毒症(sepsis)是由感染引起的全身炎性反应综合征(system inflammatory response syndrome, SIRS),是导致多器官功能障碍(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)的常见原因^[1],其中约有40%的脓症患者心肌受累,表现为心功能不全^[2-3]。既往研究显示,氧自由基(oxygen free radi-

cal, OFR)损伤在脓毒症导致的心肌损伤中起重要作用^[4-5]。舒血宁是药用植物银杏之银杏叶提取物,其主要成分包括银杏叶黄酮苷、银杏叶内酯及银杏新内酯等。银杏叶提取物是一种较强的自由基清除剂^[6-7],它可以清除体内的自由基,抑制细胞膜脂质发生过氧化反应而保护细胞膜。本实验旨在观察舒

[收稿日期] 2010-08-22 **[接受日期]** 2011-01-12

[作者简介] 毛燕飞, 博士生. E-mail: spingmao2005@163.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81873484, E-mail: xmdeng@anesthesia.org.cn

血宁是否对脓毒症损害的大鼠心肌具有保护作用,为其临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 主要药物及试剂 舒血宁注射液购自上海新先锋药业有限公司(国药准字 Z20043734;产品批号:091109;规格:5 ml/支),折合银杏叶提取物为 17.5 mg(含总黄酮醇苷 4.2 mg,银杏内酯 0.70 mg)。丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 1 β (interleukin 1- β , IL-1 β)及肌钙蛋白 T(TnT)酶联免疫吸附检测试剂盒购自晶美生物工程有限公司。

1.2 动物分组及模型制备 清洁级健康成年雄性 Sprague-Dawley(SD)大鼠 30 只(购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司),体质量 200~220 g,随机分为 3 组,每组 10 只,分笼饲养,自由饮水。盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP)模型的制备参考文献[8]。脓毒症组(CLP 组)于盲肠结扎穿孔术前 1 h 注射 0.3 ml/kg 生理盐水;舒血宁注射液组(SXN 组)于盲肠结扎穿孔术前 1 h 腹腔注射 0.3 ml/kg 舒血宁注射液;假手术组(Sham 组)仅开

腹、关腹与复苏,不进行盲肠结扎穿孔术,于术前 1 h 腹腔注射 0.3 ml/kg 生理盐水。

1.3 检测指标 各组动物观察至 6 h 时经腹主动脉取血,置入由乙二胺四乙酸(EDTA)+二巯基丙醇处理的血浆管和普通血清管内,4℃离心 15 min,分别提取上清液行 TnT、TNF- α 、IL-1 β 检测;取左室心肌 100 mg 匀浆,制成 10%心肌组织悬液,离心取上清,羟胺法测定 SOD 活性,比色法测定 MDA 含量,液体标本均保存于 -20℃ 冰箱内待检。取右心室部分心肌置于 10% 甲醛溶液中固定,石蜡包埋后常规切片, H-E 染色,光镜下观察病理变化。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 12.0 统计软件分析数据,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析比较组间差异。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 各组病理学改变 光镜下病理观察显示: Sham 组心肌纤维排列整齐,心肌及间质未见明显病理改变;CLP 组可见灶性心肌纤维断裂、间质水肿,局部少量炎细胞浸润,间质血管淤血;SXN 组虽可见心肌坏死灶等上述病理改变,但程度轻 CLP 组有所减轻(图 1)。

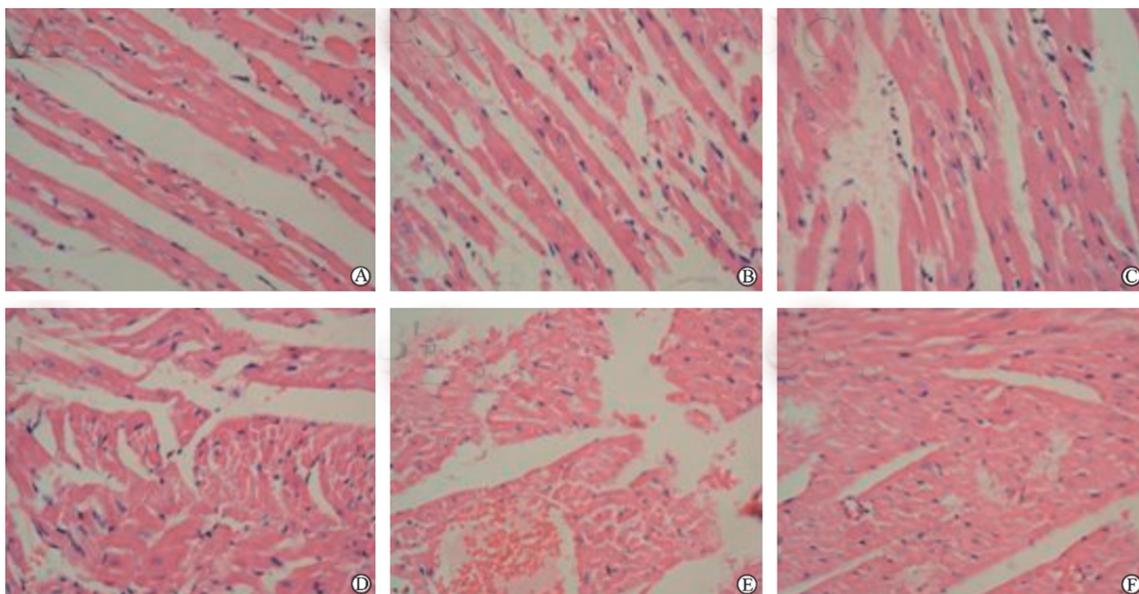


图 1 3 组大鼠心肌组织形态学变化

Fig 1 Cardiac morphological changes in three groups (H-E staining)

A, D: Sham group; B, E: CLP group; C, F: SXN group. Original magnification: $\times 200$

2.2 MDA 含量及 SOD 活性检测 3 组大鼠心肌组织 MDA 含量与 SOD 活性比较见表 1。盲肠结扎穿孔 6 h 后,CLP 组和 SXN 组与 Sham 组相比较,SOD 活性降

低,而 MDA 含量增高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。SXN 组与 CLP 组相比,MDA 明显降低,SOD 增高,两者之间的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表1 大鼠心肌 MDA 及 SOD 含量的比较

Tab 1 Comparison of MDA and SOD contents in myocardial tissues

(n=10, $\bar{x}\pm s$)		
Group	MDA $\mu\text{B}/(\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1})$	SOD $\mu\text{B}/(\text{NU}\cdot\text{mg}^{-1})$
Sham	1.18±0.16	39.14±5.72
CLP	2.74±0.34**	31.66±5.18**
SXN	2.36±0.37** Δ	34.95±5.02** $\Delta\Delta$

** $P<0.01$ vs Sham group; $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$ vs CLP group表2 3组大鼠血浆 TnT、TNF- α 与 IL-1 β 含量的比较Tab 2 Plasma TnT, TNF- α , and IL-1 β levels in the three groups

(n=10, $\bar{x}\pm s$)			
Group	TnT $\rho\text{B}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	TNF- α $\rho\text{B}/(\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1})$	IL-1 β $\rho\text{B}/(\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1})$
Sham	0.32±0.26	0.125±0.056	0.084±0.031
CLP	1.71±0.85**	0.220±0.097**	0.173±0.043**
SXN	1.34±0.72** $\Delta\Delta$	0.203±0.092** Δ	0.151±0.045** Δ

** $P<0.01$ vs Sham group; $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$ vs CLP group

3 讨论

脓毒症是危重症患者常见的并发症之一,常导致严重休克、多器官功能障碍。心肌损伤是脓毒症的并发症之一,发生率较高,常伴有心律失常、低血压及心功能不全表现,可加重其他器官功能的进一步损害。脓毒症心肌损伤的具体机制目前尚未完全明确,但目前一般认为脓毒症心肌损伤与下列因素有关:(1)脓毒症休克时的低血压和低血容量导致冠状动脉灌注减少,引发心肌缺血性损伤;(2)细菌内毒素的直接心肌毒性;(3)炎性介质的毒性作用;(4)缺血/再灌注引发的钙离子超载及氧自由基损伤。业已证明在心肌损伤的众多机制中,氧自由基起到非常重要的作用^[9]。心肌缺血/再灌释放的大量炎性介质,可以促使大量氧自由基及其降解产物 MDA(细胞膜脂质过氧化产物,是评价心肌缺血损伤的较好指标之一)的产生。同时,心肌自由基清除系统如 SOD 活性的降低,使心肌细胞内氧化还原系统失衡,导致自由基堆积,自由基可转变为毒性更强的羟自由基($\cdot\text{OH}$),最终加剧细胞膜结构和功能的损伤,线粒体肿胀,继而使肌浆网钙依赖性 ATP 失活,肌浆网摄钙能力下降,兴奋收缩偶联受损,心肌收缩能力下降。

舒血宁注射液系银杏叶提取物配制成的无菌水溶液,其有效成分主要是黄酮苷类和萜类内酯活性物质,包括银杏三酯、银杏内酯、苦内脂等,具有扩张心脑血管、改善微循环、抗血小板激活因子以及抑制

2.3 各组大鼠血浆 TnT、TNF- α 和 IL-1 β 含量的变化 结果如表 2 所示,盲肠结扎穿孔 6 h 后,CLP 组血浆 TnT、TNF- α 与 IL-1 β 水平较 Sham 组明显升高,差异具有统计学意义($P<0.01$);应用舒血宁后,与 Sham 组相比,三者虽亦有不同程度升高,但较 CLP 组却显著下降,差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。

氧自由基生成等药理作用,目前被广泛应用于脑血管疾病^[10]和心肌缺血疾病^[11]等疾病的辅助治疗。因此,理论上舒血宁注射液可以减轻脓毒症诱发的心肌损伤。TnT 是心肌特异性标志物,其升高提示心肌存在不同程度的损害,是公认的反映心肌损伤程度高敏感、高特异的指标,可反映心肌损伤的严重程度,并对心肌损伤的预后具有评估价值,因此广泛应用于心肌损伤的诊断。本实验结果表明,舒血宁可以降低盲肠结扎穿孔大鼠血液中 TnT 的含量,同时病理学结果也显示应用舒血宁后脓毒症大鼠心肌组织灶性心肌纤维断裂、间质水肿等改变有所减轻,表明舒血宁对脓毒症损伤心肌有保护作用。

本实验还观察到脓毒症组大鼠心肌组织 MDA 含量明显升高, SOD 活性明显降低,表明脓毒症导致心肌损伤时,有大量氧自由基参与,且清除氧自由基的能力下降。与模型组相比,舒血宁能够降低心肌组织 MDA 含量,增加心肌组织 SOD 活性,说明舒血宁可以降低氧自由基对心肌的损伤。

盲肠结扎穿孔后,释放的细菌及内毒素可以诱发机体炎症“级联反应”,释放过多的炎性介质如 TNF- α 与 IL-1 β 等^[12],这些炎性因子可上调黏附分子,增强激活的淋巴细胞和中性粒细胞对心肌细胞的黏附,促进中性粒细胞释放氧自由基^[13-14],并启动其他生物学途径损伤心肌细胞。目前尚无足够证据表明舒血宁可以抑制心肌细胞产生 TNF- α 与 IL-1 β ,结合本实验的结果,即舒血宁可以下调血中 TNF- α 与 IL-1 β 的含量,推测此结果很可能是因舒

血宁对受损肠道有保护作用,从而减少了细菌及内毒素的释放,间接减轻了心肌的损伤,但这尚待进一步的实验证实。

[参考文献]

[1] Angus D C, Linde-Zwirble W T, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky M R. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care[J]. Crit Care Med, 2001, 29: 1303-1310.

[2] Turner A, Tsamitros M, Bellomo R. Myocardial cell injury in septic shock[J]. Crit Care Med, 1999, 27: 1775-1780.

[3] De Kock I, Van Daele C, Poelaert J. Sepsis and septic shock: pathophysiological and cardiovascular background as basis for therapy[J]. Acta Clin Belg, 2010, 65: 323-329.

[4] Price S, Anning P B, Mitchell J A, Evans T W. Myocardial dysfunction in sepsis: mechanisms and therapeutic implications [J]. Eur Heart J, 1999, 20: 715-724.

[5] Larche J, Lancel S, Hassoun S M, Favory R, Decoster B, Marchetti P, et al. Inhibition of mitochondrial permeability transition prevents sepsis-induced myocardial dysfunction and mortality[J]. J Am Coll Cardiol, 2006, 48: 377-385.

[6] 高曦明. 舒血宁注射液临床应用近况[J]. 现代医药卫生, 2006, 22: 997-999.

[7] Fan L H, Wang K Z, Cheng B. Effects of Ginkgo biloba extract on lipid peroxidation and apoptosis after spinal cord ischemia/

reperfusion in rabbits[J]. Chin J Traumatol, 2006, 9: 77-81.

[8] Wichterman K A, Baue A E, Chaudry I H. Sepsis and septic shock-a review of laboratory models and a proposal[J]. J Surg Res, 1980, 29: 189-201.

[9] Cuzzocrea S, Riley D P, Caputi A P, Salvemini D. Antioxidant therapy : a new pharmacological approach in shock, inflammation and ischemia reperfusion injury[J]. Pharmacol Rev, 2001, 53: 135-159.

[10] 黄平富, 魏宝强. 舒血宁联合敏使朗治疗椎-基底动脉供血不足疗效分析[J]. 实用中医药杂志, 2010, 26: 76-77.

[11] 穆晓璐, 吕晓东. 舒血宁注射液治疗冠心病不稳定型心绞痛 24 例[J]. 实用中医内科杂志, 2010, 24: 51-52.

[12] Feng H, Guo L, Song Z, Gao H, Wang D, Fu W, et al. Caveolin-1 protects against sepsis by modulating inflammatory response, alleviating bacterial burden, and suppressing thymocyte apoptosis[J]. J Biol Chem, 2010, 285: 25154-25160.

[13] Yuksel B C, Serdar S E, Tuncel A, Uzun N, Ataoglu O, Atan A, et al. Effect of tempol, a membrane-permeable radical scavenger, on mesenteric blood flow and organ injury in a murine cecal ligation and puncture model of septic shock[J]. Eur Surg Res, 2009, 43: 219-227.

[14] Zapelini P H, Rezin G T, Cardoso M R, Ritter C, Klamt F, Moreira J C, et al. Antioxidant treatment reverses mitochondrial dysfunction in a sepsis animal model[J]. Mitochondrion, 2008, 8: 211-218.

[本文编辑] 孙 岩

· 书 讯 ·

《针灸腧穴图解》已出版

本书由严振国主编,第二军医大学出版社出版,ISBN 978-7-5481-0022-5,32开,定价:29.00元。

本书由上海中医药大学终身教授、博士生导师严振国编写。本图解共有彩图 58 幅,包括经穴定位方法,十四经络循行图、十四经穴定位、人体各部经外奇穴、耳针腧穴及头针穴线图。本图解配有说明,内含 361 个经穴及 48 个经外奇穴等全身穴位的定位、解剖、主治、针灸法,以及耳针和头针穴位的定位和主治。

本书由第二军医大学出版社发行科发行,全国各大书店均有销售。

通信地址:上海市翔殷路 800 号,邮编:200433

邮购电话:021-65344595,65493093

http://www.smmup.com