



·综合医学·

普罗布考预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用的研究

徐陵琦 (岳阳职业技术学院 湖南岳阳 414000)

摘要: **目的** 评价经普罗布考预处理后缺血再灌注大鼠心肌损伤情况及线粒体功能的变化,探讨普罗布考在大鼠心肌缺血再灌注损伤中的作用及对缺血再灌注损伤中线粒体功能的影响。**方法** 采取实验法对动物进行心肌方面实验。**结果** 经缺血干预后大鼠心肌组织变性坏死情况有所改善,但仍有散在的肌纤维变性、肿胀或断裂等情况。**结论** 普罗布考能够改善缺血再灌注对心肌造成的损伤,改善因缺血再灌注对心肌线粒体结构和功能的影响,对缺血再灌注损伤有保护作用。

关键词: 普罗布考 缺血再灌注 线粒体 缺血预处理

中图分类号: R541 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187 (2017) 13-218-02

1. 材料与方法

1.1 材料

健康洁净的雄性 Wistar 大鼠,体重 230~300g;

肝素钠、3%戊巴比妥钠、盐酸右美托定注射液、育亨宾、丙二醛 MDA 及超氧化物歧化酶 SOD 检测试剂盒等;全自动化学发光免疫分析仪进行实验。

1.2 方法

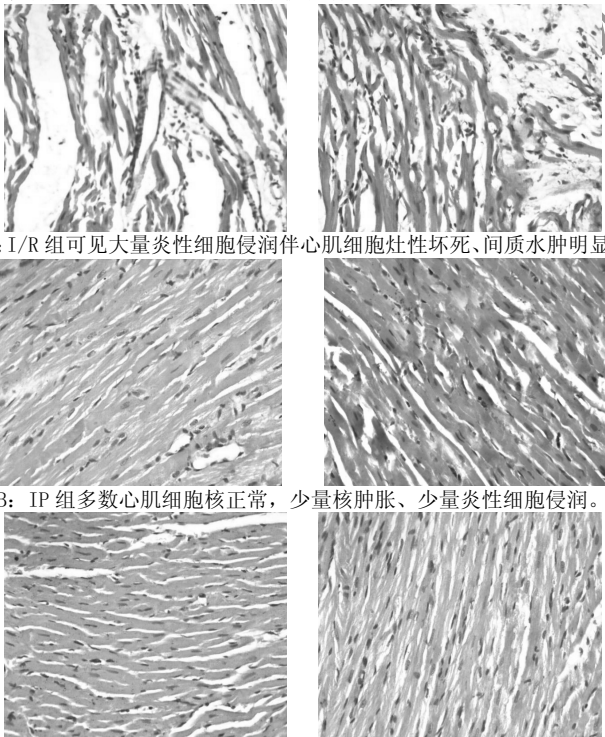
健康成年雄性 Wistar 大鼠 30 只随机分为对照组 (10 只):缺血 30min,再灌注 120min;普罗布考组 (10 只):普罗布考 60mg/kg·d 灌胃 1 周后,先给予缺血预处理干预 (给予 2 轮 2min 缺血/2min 再灌),余同缺血再灌注组。盐水对照组 (10 只):5ml/d 灌胃 1 周后,先给予缺血预处理干预 (给予 2 轮 2min 缺血/2min 再灌),余同缺血再灌注组。

采用 SPSS19.0 进行统计学分析。所得数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料用 χ^2 检验,计量资料用 t 检验,假定 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2. 实验结果

2.1 各组大鼠心肌组织形态学分析

通过对各组大鼠心肌组织的形态学进行分析结果显示,在缺血再灌注组大鼠心肌组织中心肌纤维排列紊乱,肌纤维溶解、断裂及间质水肿显著,组织间隙出现大量灶状炎性细胞浸润及红细胞,细胞核消失或固缩 (如图 1-1A);经缺血干预后大鼠心肌组织变性坏死情况有所改善,但仍有散在的肌纤维变性、肿胀或断裂,细胞兼肌水肿轻微,组织间隙少量灶状炎性细胞浸润及红细胞 (如图 1-1B);经普罗布考预处理组大鼠心肌形态学效果改善明显,心肌纤维排列整齐,组织间隙仅有极少量红细胞,心肌纤维横纹清晰 (如图 1-1C)。



A: I/R 组可见大量炎性细胞浸润伴心肌细胞灶性坏死、间质水肿明显。

B: IP 组多数心肌细胞核正常,少量核肿胀、少量炎性细胞浸润。

C: Probucol+IP 组肌纤维相对排列整齐核完整

图 1-1 各组大鼠心肌组织显微镜观察组织病理变化 (HE, $\times 400$)

2.3 各组大鼠心肌梗死面积比较

通过对各组大鼠心肌组织经 TTC 染色检测心肌梗死面积进行比较结果显示,与缺血再灌注组相比,普罗布考预处理组的梗死面积显著降低了 ($20.2 \pm 1.6\%$);缺血干预组大鼠心肌梗死面积也较缺血再灌注组显著降低了 ($11.8 \pm 1.3\%$),见图 1-4。

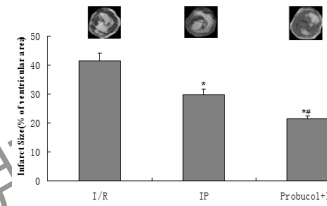


图 1-4 各组大鼠缺血再灌注后心肌梗死面积比较

注: * 与 I/R 组, $P < 0.05$, # 与 IP 组, $P < 0.05$

2.4 血清样本中 MDA、SOD、NO 及 NOS 比较

通过对各组大鼠血清样本中 MDA、SOD、NO 及 NOS 的含量进行比较结果显示,在普罗布考预处理组大鼠血清中 MDA 的水平较缺血再灌注组及缺血预处理组水平显著降低,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),SOD、NO 及 NOS 的水平在普罗布考预处理组大鼠血清中显著较缺血再灌注组及缺血预处理组升高, ($P < 0.05$)。

表 1 血清样本中 MDA、SOD、NO 及 NOS 比较

组别	MDA (nmol/mL)	SOD (U/mL)	NO (nmol/mL)	NOS (nmol/mL)
I/R	9.18 ± 1.73	169.31 ± 4.97	19.83 ± 2.74	16.39 ± 4.05
IP	$8.92 \pm 1.52^*$	$181.96 \pm 3.28^*$	$38.19 \pm 6.27^*$	$18.51 \pm 4.17^*$
Probucol+IP	$6.23 \pm 1.02^{* \#}$	$187.63 \pm 3.12^{* \#}$	$46.72 \pm 3.69^{* \#}$	$24.04 \pm 3.76^{* \#}$

注: * 与 I/R 组, $P < 0.05$, # 与 IP 组, $P < 0.05$

3. 分析与讨论

本研究对线粒体的呼吸功能进行分析结果显示在经缺血预处理后线粒体复合物的活性较缺血再灌注组显著上升,在经普罗布考预处理的大鼠心肌线粒体复合物分析结果显示,复合物 I、II、III、IV、V 活性要显著较缺血再灌注组和缺血预处理组的活性显著升高,差异均具有统计学意义。线粒体功能紊乱往往伴随着钙超载,有研究显示缺血再灌注后线粒体钙离子浓度显著升高 [57-60],线粒体是细胞钙离子平衡的主要细胞器,钙作为第二信使参与细胞多种生物学过程 [61-63],本研究结果显示在普罗布考预处理组大鼠心肌线粒体 Ca^{2+} 含量要显著较缺血再灌注组及缺血预处理组降低,差异均有统计学意义; Mg^{2+} 含量较缺血再灌注组差异显著,但与缺血预处理组差异无统计学意义,提示普罗布考预处理可能通过增加 Ca^{2+} Mg^{2+} -ATP 酶的活性抑制钙超载,保护线粒体功能。

综上所述,普罗布考预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤具有明显的保护作用。普罗布考预处理能够显著改善缺氧再灌注对大鼠心肌线粒体功能造成的损伤,对缺氧再灌注损伤有保护性作用。普罗布考可能通过减少缺血再灌注后大鼠心肌的凋亡,降低缺血再灌注后心肌细胞过氧化物水平和提高组织抗氧化能力发挥其对心肌缺血再灌注损伤的保护作用,其具体机制尚需进一步研究。

4. 结论

(下转第 219 页)



潘立民治疗不寐 1 例

王曼雅¹ 赵海深¹ 潘立民²

1.黑龙江中医药大学 黑龙江哈尔滨 150040;

2.黑龙江中医药大学附属第二医院 黑龙江哈尔滨 150001

摘要: 失眠是临床常见疾病之一,潘立民运用中医经典理论,充分发挥中医中药的优势,在治疗失眠方面取得显著的临床疗效。

关键词: 黄连阿胶汤 不寐 潘立民

中图分类号: R567.5+2

文献标识码: A

文章编号: 1009-5187 (2017) 13-219-01

潘立民,男,副主任医师,硕士生导师,医学博士,名老中医学术继承人。笔者曾有幸跟随潘师学习,现精选不寐病例 1 例,以供临床学习。

一、病例介绍

赵某,男,44岁,教授,2017年3月13日初诊。主诉:失眠3年,加重1个月。病史:患者三年前无明显诱因逐渐出现睡眠减少,每因思虑过度或压力增大而加重,自述现每晚睡眠仅3-4小时并伴有入睡困难,多梦易醒,未就医,常自服用“艾司唑仑片”以缓解症状,但醒后多困倦不堪,全身乏力,严重影响白天工作。曾就诊于当地医院,给予抗焦虑、镇静治疗,未见明显好转。为求中西医结合治疗特来王东岩教授门诊,现患者失眠多梦,眠差易醒,兼见头晕健忘,口咽干燥,口苦易怒,腰膝酸软,潮热盗汗,二便调,舌边、尖红少苔,脉弦细数。诊断:不寐;证型:心肾不交;治法:滋阴降火,交通心肾。病机分析:患者平素工作压力大,思虑过度,久则气郁化火而耗伤阴血,心神失于濡养而睡眠逐减。阴血耗伤,心火上冲,故见失眠多梦,心烦易怒;阴虚者,易虚热内扰,津液不足,见患者口干咽燥;肾阴亏虚,肾精不足,脑髓失养,故见头晕健忘,多梦易醒;腰者,肾之府也,故常见腰膝酸软,疲乏无力;又见患者多怒,舌红脉弦,此为心火亢盛,肾水不济兼有肝阳上亢之证。故当以清心降火,滋阴补肾,柔肝敛阴,交通心肾为主,法当实者泻之,虚者补之,安神养心,调整一身脏腑阴阳。予以黄连阿胶汤合酸枣仁汤加减:黄连 9g、黄芩 12g、阿胶 15g(化)、芍药 15g、鸡子黄(调) 2 枚、酸枣仁 15g、知母 9g、柴胡 12g、郁金 12g、川芎 9g、炙甘草 6g。7 付,水煎服,日一剂早晚温服。嘱其保持心情愉悦。

二诊:2013年3月20日,患者自述睡眠略有好转,偶有心烦、口苦汤药加竹叶 9g、龙胆草 9g、生地 15g、百合 20g。7 付,煎服同上。三诊:

汤剂加青蒿 9g,鳖甲 15g(先),煎服同上。

四诊:2013年4月3日,患者自述夜间睡眠改善,醒后精力充沛,已能满足白天工作需要,

四诊:予以中药巩固,前方继服 7 付。后随诊,半年内未见病情反复。

作者简介:王曼雅(1973—),女,黑龙江中医药大学 2016 级硕士研究生。通讯作者简介:潘立民(1973—),男,副主任医师,主要从事中医药防治糖尿病及其合并症的临床研究工作。

(上接第 218 页)

1. 缺血预处理能够减轻缺血再灌注损伤,具有保护作用。

2. 普罗布考可能通过减少缺血再灌注后大鼠心肌的凋亡,降低缺血再灌注后心肌细胞过氧化物水平,提高组织抗氧化能力及改善缺血再灌注对大鼠心肌线粒体功能造成的损伤发挥其对心肌缺血再灌注损伤的保护作用。

参考文献

- [1]江龙,杨人强,程晓曙等.缺氧诱导因子-1 在缺血性心脏病治疗中的研究进展[J].广东医学,2012,33(16):2509-11.
- [2]Green DR, Galluzzi L, Kroemer G.Cell biology.Metabolic control of cell death.[J]Science.2014.345(6203):1250256
- [3]Yang Z, Chen P, et al.Combinatorial effects of conception and governor vessel electroacupuncture and human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells on pathomorphologic

二、体会

潘师认为,寤寐由心神主控,导致不寐原因众多,如饮食不节,情志失常,思虑太过等均可致心神不宁,神不守舍,阴阳失衡而发病。临床发病原因虽多,但其病机可概括为阳盛阴衰,阴阳失衡。其病位主要在心,脾、肝、肾也与之相互关联。该患病位与心、肾,肝密切相关。心神神明,神安则寐。脏腑之阴阳由肾主之,因“五脏之阳气,非此不能发”;“五脏之阴气,非此不能滋”,肾、心于五行之中分主水、火,二者既济则神宁,水火不济则难安。另,血藏于肝,肝调一则有利心血机能正产运行,二则利于心神内收。若肝阳上亢则扰神魂,魂不归舍则不寐。

方解分析:《药性解》曰:“黄连,味苦,性寒,无毒,入心经。主心火炎……”,黄连有清火除烦之功。黄芩味苦性寒归肺经,《珍珠囊》中记载:“除阳有余,凉心去热”。用黄芩一则佐黄连以增清心火之力,二则防心火传于肺。阿胶味甘性平归肾经,《医方论》中记载“但阿胶一味,所重在井水,而不在驴皮。因济水伏流,惟阿井通于济,故有平肝滋肾之功。”其性善滋阴,又善潜伏,能直入肾中以生肾水可益肾水。方中妙用鸡子黄,鸡子黄味甘性平入心肾经,《本草再新》记载其“养肾益阴”《本草纲目》又言其:“补阴血”,可滋阴血而安神,阿胶与鸡子黄均为血肉有形之品,两者相伍以增滋肾水之功。白芍味苦酸性微寒归肝经,《长沙药解》记载:“善调心中烦悸”,既可与黄连、黄芩相配,以清火除烦,又因古有“白补赤泻”之说,且性微寒可与阿胶、鸡子黄养血柔肝,滋肾安神。酸枣仁味甘酸性平入心肝之经,《本草思辨录》曰:“心得之则神安,肝得之则魂藏”,可养心血以安神,滋肝阴以安魂。方中知母苦寒,归肾经,《药鉴》曰:“主滋阴降火,……补肾水”,既能滋肾阴,又因其苦寒之性清火除烦。佐以柴胡、郁金、川芎辛散以疏肝理气,与酸枣仁相配伍以疏肝、养肝而安眠,予以少量炙甘草以调和诸药,平和药性。妙用上方,则肾阴可滋,心火可清,心肾相安,肝郁得舒,诸症悉平。二诊,加以竹叶 9g、龙胆草 9g、生地 15g、百合 20g,以清心火除烦,泻肝热除口苦,滋肾阴而安眠。三诊,加青蒿 9g,鳖甲 15g(先),以滋阴清热止汗。四诊见患者症状明显好转,基本痊愈,遂守方不变以尽药力。

esion and cellular apoptosis in rats with cerebral ischemia/reperfusion.[J]Tradit Chin Med. 2013 Dec; 33(6):779-86.

[4]Aundhakar SC, Mahajan SK, et al.Reactive thrombocytosis leading to acute myocardial infarction.[J]Assoc Physicians India. 2013 Oct; 61(10):745-7.

[5]Mittal SR.Acute myocardial infarction in a 20 year pregnant female with prosthetic mitral valve.[J]Assoc Physicians India. 2013 Sep; 61(9):664-5.

[6]Lexis CP, van der Horst IC, et al.Effect of metformin on left ventricular function after acute myocardial infarction in patients without diabetes: the GIPS-III randomized clinical trial.JAMA. 2014 Apr 16; 311(15):1526-35.

[7]Galluzzi L, Bravo-San PJM, Kroemer G.Organelle-specific initiation of cell death.[J]Nat Cell Biol.2014.16(8):728-36.