

(5): 317-320.

[9] 陈玉敏, 陈海平, 冯浩楼. 脑缺血再灌注损伤机制与治疗现状[J]. 医学研究与教育, 2012, 29(6): 47-54.

[10] 陈 龙, 朱祖康, 王丙云, 等. 花生四烯酸代谢物在炎症中的作用[J]. 国外畜牧科技, 2000, 27 (4): 31-34.

[11] Magnusson C, Liu J, Ehrnström R, *et al.* Cysteinyl leukotriene receptor expression pattern affects migration of breast cancer cells and survival of breast cancer patients[J]. *Int J Cancer*, 2011, 129(1): 9-22.

[12] Alfadda A A, Sallam R M. Reactive oxygen species in health and disease[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012: 936486.

[13] Zhao Z Q. Post conditioning in reperfusion injury: a status report[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2010, 24(3): 265-279.

[14] Rosenberg G A, Estrada E Y, Dencoff J E. Matrix metalloproteinases and timp3 are associated with blood-brain barrier opening after reperfusion in rat brain[J]. *Stroke*, 1998, 29 (10): 2189-2195.

[15] 谢志坚. 巨噬细胞异质性[J]. 医学综述, 2001, 7(6): 367-370.

[16] 赵清杰, 朱琳楠, 丁文军, 等. 巨噬细胞极化与细胞代谢的相互调控[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2015, 31(3): 408-411.

苗岭纳豆素胶囊对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

向红霞^{1,3}, 王鹏娇^{1#}, 刘 燕¹, 张 硕², 孟小夏^{1,3}, 王 佳¹, 高秀丽^{1,3*}
(1. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学实验动物中心, 贵州 贵阳 550025; 3. 贵州医科大学微生物与生化药学工程中心, 贵州 贵阳 550025)

摘要: **目的** 探讨苗岭纳豆素胶囊对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用。**方法** 48 只 SPF 级雄性 SD 大鼠随机分为假手术组, 缺血再灌注模型组, 阳性药物普萘洛尔组, 苗岭纳豆素胶囊高、中、低剂量组; 假手术组及模型组每天按 1 mL/100 g 灌胃生理盐水, 普萘洛尔阳性组, 高、中、低剂量组, 药物用生理盐水配置, 灌胃给药, 每天 2 次。用 8% 水合氯醛麻醉, 按结扎大鼠心脏左冠状动脉前降支方法造模, 缺血 30 min, 再灌注 180 min, 实时监测心电图 ST 段及 T 波的变化。假手术组只穿线不结扎冠状动脉前降支。再灌注末股动脉采血, 检测血清中谷草转氨酶 (AST)、乳酸脱氢酶 (LDH)、肌酸激酶同工酶 (CK-MB)、肌钙蛋白 I (cTnI)、超氧化歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 等相关指标变化, 同时利用 TTC 染色法对各组心肌梗死面积进行测定。**结果** 与假手术组比较, 模型组 ST 段明显抬高或 T 波高耸, 血清中 AST、LDH、CK-MB 活性及 cTnI、MDA、TNF- α 的量均明显升高, SOD 活性显著降低, 梗死面积显著增大 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与模型组比较, 普萘洛尔组和苗岭纳豆素胶囊各剂量组抑制 ST 段抬升或 T 波增大, 降低 AST、LDH、CK-MB 释放, 同时显著抑制血清中 cTnI、MDA、TNF- α 上升, 提高 SOD 活力 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 并且心肌梗死面积明显减小 ($P < 0.001$)。**结论** 苗岭纳豆素胶囊对心肌缺血再灌注损伤的心肌具有保护作用。

关键词: 苗岭纳豆素胶囊; 溶栓激酶 DCK; 心肌缺血再灌注; 梗死面积

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2018)05-1025-06
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.05.004

Miaoling Natto Capsules in protection against myocardial ischemia-reperfusion injury in rats

XIANG Hong-xia^{1,3}, WANG Peng-jiao^{1#}, LIU Yan¹, ZHANG Shuo², MENG Xiao-xia^{1,3},
WANG Jia¹, GAO Xiu-li^{1,3*}

收稿日期: 2017-09-04
基金项目: 贵州省科技合作计划项目 (黔科合 LH 字 [2015] 7354); 贵州省普通高等学校工程研究中心建设项目 (黔教合 KY 字 [2015] 338)
作者简介: 向红霞 (1992—), 女, 硕士生, 从事中药药理研究。Tel (0851) 6780461, E-mail: 954004384@qq.com
#并列第一作者: 王鹏娇 (1978—), 女, 副教授, 从事药物制剂质量研究与新药研发工作。Tel: 18985419011, E-mail: 25209728@qq.com
***通信作者:** 高秀丽 (1965—), 女, 教授, 从事新药研发及药物分析研究。Tel: (0851) 6780461, E-mail: 1550434689@qq.com

(1. College of Pharmacology, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. Laboratory Animal Center, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 3. Microbiological and Biochemical Pharmacy Engineering Center, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the protective effects of Miaoling Natto Capsules (MNC) on myocardial ischemia-reperfusion injury (MIR) in rats. **METHODS** Forty-eight healthy male Sprague-Dawley (SD) rats randomly divided into sham group, model group, positive control group (propranolol), MNC groups (low dose, medium dose, and high dose groups) underwent corresponding 7-day oral administration at a frequency of twice daily (rats of the sham group and the model group were dosed with saline water at 1 mL/100 g). Anesthetized by 8% chloral hydrate, rat models were made by left anterior descending coronary artery ligation, 30 min coronary occlusion followed by 3 h of reperfusion for ST segments and T waves monitoring, and rats in the sham group were performed opening and suture procedures. The rats had their serum levels of acetic transaminase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase isoenzyme (CK-MB), cardiac troponin-I (cTn-I), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) detected, real time ECG changes monitored and myocardial infarction area assessed by TTC. **RESULTS** Compared with the sham group, the model group was observed with markedly elevated ST segments or high T waves rise, significantly increased activities of CK-MB, LDH, AST and the content of cTnI, MDA, TNF- α , and decreased activity of SOD ($P < 0.01$ or $P < 0.001$). Compared with the model group, the positive control group and the low, medium and high dose MNC groups achieved controlled ST segments elevation or greater T waves amplitude, significantly decreased activities of CK-MB, LDH, AST and the content of cTnI, MDA, TNF- α increased activity of SOD ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) and myocardial infarction range reduction ($P < 0.001$). **CONCLUSION** MNC is protective to rats with myocardial ischemia-reperfusion injury.

KEY WORDS: Miaoling Natto Capsules (MNC); fibrinolytic kinase DCK; ischemia-reperfusion; myocardial infarction range

本实验室从贵州特色发酵豆豉中分离出特有并且能产生纤溶活性酶的菌株，命名为 DCK- β 菌株，其产生的纤溶活性酶被命名为溶栓激酶 DCK。经活性检测证明，它具有较强的溶栓活性，其研究开发的市场前景非常广阔。实验室前期工作已经完成菌株的纯化、鉴定、液体发酵工艺的优化、DCK 酶质量标准建立，并开发出功能性食品—苗岭纳豆素胶囊。本品除了含有 DCK 酶，还含有大豆异黄酮、大豆皂苷、大豆多糖、卵磷脂、超氧化歧化酶和丰富的游离氨基酸等多种生物活性成分。其中贺欢等证实该溶栓激酶 DCK 在体内溶栓抗栓作用^[1]，胡少瑾等研究其对临床急性脑梗死患者有治疗作用^[2]，基于以上研究，开展关于苗岭纳豆素胶囊对心肌缺血再灌注的研究。

1 材料与仪器

1.1 动物 SPF 级 SD 大鼠 48 只，雄性，体质量 (220 ± 20) g，由贵州医科大学实验动物中心提供，合格证号为 SCXK (黔) 2012-0001。

1.2 药品与试剂 苗岭纳豆素胶囊主要活性成分

为溶栓激酶 DCK、大豆异黄酮、大豆皂苷、大豆多糖，已获得生产食品批件 (黔卫食准字 [2005] 77 号)，由贵州秀生堂医药生物有限公司提供，批号 20161009；盐酸普萘洛尔 (江苏亚邦爱普森药业有限公司，批号 1610271)；谷草转氨酶 (AST)、乳酸脱氢酶 (LDH)、超氧化歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 测定试剂盒均购自南京建成生物研究所，批号分别为 20170410、20170411、20170408、20170411；肌酸激酶同工酶 (CK-MB)、肌钙蛋白 I (cTnI)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 测定试剂盒均购自武汉伊莱瑞特生物技术有限公司，批号分别是 E-EL-R1327c、E-EL-R0055c、E-EL-R0019c；红四氮唑 (TTC)，北京索莱宝科技有限公司，批号为 204H034。

1.3 仪器 BL-420S 生物机能实验系统、HX-100E 动物呼吸机、BI-2000 图像分析仪 (成都泰盟科技有限公司)；Dk-98-IIA 电热恒温水浴锅 (天津市斯特仪器有限公司)；FA1004 N 电子天平 (上海菁海仪器有限公司)；UV-2700 紫外可见分光光度计 (岛津仪器公司)；Varioskan LUX 多功能微孔

板读数仪(美国 Thermo 公司); TGL-10B 高速离心机(上海安亭科技仪器厂)。

2 实验方法

2.1 分组及给药 取雄性 SD 大鼠 48 只, 体质量 (220 ± 20) g, 称重, 标记, 将其随机分为 6 组, 每组 8 只, 分别为假手术组(冠状动脉左前降支下穿线不结扎), 缺血再灌注模型组, 苗岭纳豆素胶囊高、中、低剂量组(取胶囊内容物采用生理盐水配制成药液灌胃, 给药剂量分别为 1.36、0.68、0.34 g/kg), 普萘洛尔组(38 mg/kg)。各组大鼠连续灌胃给药 7 d, 每天 2 次, 其中假手术组和模型组每天按 1 mL/100 g 灌胃生理盐水。

2.2 心肌缺血再灌注损伤模型建立 (1) 术前禁食 6 h, 末次给药 45 min 后, 8% 水合氯醛(0.5 mL/100 g)腹腔注射麻醉, 仰卧位固定, 打开电脑及 BL-420S 生物机能实验信号采集系统。(2) 连接小动物呼吸机(频率为 80 次/min, 潮气量 10.5 mL, 呼吸比为 2:1)。(3) 连接肢体导联 II 线, 大鼠平衡约 15 min, 记录正常心电图。(4) 剪去胸前手术区毛, 消毒, 从第 2~3 肋骨间钝性分离组织与肌肉, 打开胸腔, 暴露心脏, 用开睑器扩张胸腔, 使心脏充分暴露, 分离开心包膜。在肺动脉圆锥与左心耳的交界处, 找到与左冠状动脉伴行的冠状静脉, 用 5-0 无损伤缝合线在左心耳下方 1.5~2 mm 处进针, 与肺动脉圆锥侧旁出针, 结扎冠状动脉左前降支, 造成心肌缺血, 用止血钳夹紧胸腔, 抽出胸腔里面的空气, 以恢复胸腔压力。(5) 以左室前壁呈紫绀色及同步心电图显示 ST 段抬高或 T 波高耸为结扎成功标志^[3-5]。(6) 结扎 30 min 后松开止血钳, 再次打开胸腔, 剪开结扎线, 恢复血液灌注, 将胸腔内的气体排出, 用缝线逐层缝合胸腔, 再灌注 180 min。记录心电图并以 ST 段下降 50% 以上或 T 波下降作为再灌注成功的标准。符合该标准者入选实验。假手术组按照以上方法操作, 仅穿线不结扎。实验过程中, 由于出现心室颤动、大出血等现象, 各组大鼠均有 2~3 只死亡, 保证各组 8 只大鼠进行相关指标检测。

2.3 心电图 ST 段、T 波的测定 分别于冠状动脉左前降支结扎前 (BL-15 min), 结扎 15 min (I-15 min)、30 min (I-30 min), 再灌注 30 min (R-30 min)、90 min (R-90 min)、180 min (R-180 min) 时(假手术组对应的时间为穿线前、穿线 15、30 min、取线 30、90 min、180 min), 记录心电图, 观察 II 导联 ST 段及 T 波的变化。

2.4 血清生化指标测定 再灌注 180 min 结束后, 各组大鼠股动脉取血, 室温放置 1 h 后, 3 500 r/min 离心 10 min 分离血清, 于 -80 ℃ 分装保存。(1) 血清心肌酶活性 (LDH、CK-MB、AST) 及肌钙蛋白 I 测定。(2) 氧化应激指标及炎症因子测定。LDH 用微量酶标法, AST 用微板法, MDA 用 TBA 法, SOD 用 WST-1 法, cTnI、CK-MB、TNF- α 采用 ELISA 方法, 严格按照试剂盒说明书测定。

2.5 心肌梗死面积 (myocardial infarction size, MIS) 的测定 采血后取出大鼠心脏, 用生理盐水冲洗后, 除去心房和右心室放入 -20 ℃ 的冰箱中冷冻 20 min 取出, 然后平行房室沟并把左心室切成约 0.2 mm 的 5~6 片, 放入 37 ℃ 预热的 0.2% 的 TTC 磷酸缓冲液 (pH 7.4) 中染色 20 min 后取出, 再用生理盐水将 TTC 磷酸缓冲液冲洗干净, 置入 4% 的甲醛溶液中固定 24 h 以增强颜色对比。实体拍照后用图像分析仪 BI-2000 计算心肌梗死面积与总面积的百分比为心肌梗死面积 = 梗死面积/心肌片总面积 $\times 100\%$ ^[6-7]。

2.6 统计学分析 对数据进行统计分析采用 SPSS18.0 软件, 数据均以平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 模型组大鼠的心电图改变 心肌缺血再灌注模型肢体 II 导联心电图上的表现为, 缺血时期 ST 段上抬, T 波高耸; 再灌注后, ST 段下降 50% 以上或 T 波下降; 证明模型建立成功, 见图 1。

3.2 苗岭纳豆素胶囊对大鼠心电图 ST 段的影响 由图 2 可见, 与假手术组比较, 模型组缺血 15、30 min 时 ST 段显著升高 ($P < 0.01$, $P < 0.001$), 再灌注 30 min 时, ST 段快速下降 50% 左右, 表明模型建立成功。与模型组比较, 苗岭纳豆素胶囊各剂量组在缺血 15、30 min 时能显著抑制 ST 段的抬高 ($P < 0.05$); 在再灌注时期抑制 ST 段抬高, 但经统计学分析差异无显著性。阳性药物组在缺血 15、30 min 时能显著抑制 ST 段的抬高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 在再灌注时期抑制 ST 段抬高, 差异具有显著性差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。说明苗岭纳豆素胶囊高、中、低剂量组能抑制缺血再灌注损伤引起的心电图 ST 段抬高, 对心肌组织有保护作用。

3.3 苗岭纳豆素胶囊对大鼠心电图 T 波变化绝对值的影响 由图 3 可见, 假手术组穿线后, 与自身基础状态相比, T 波增加, 可能开胸、穿线等手术

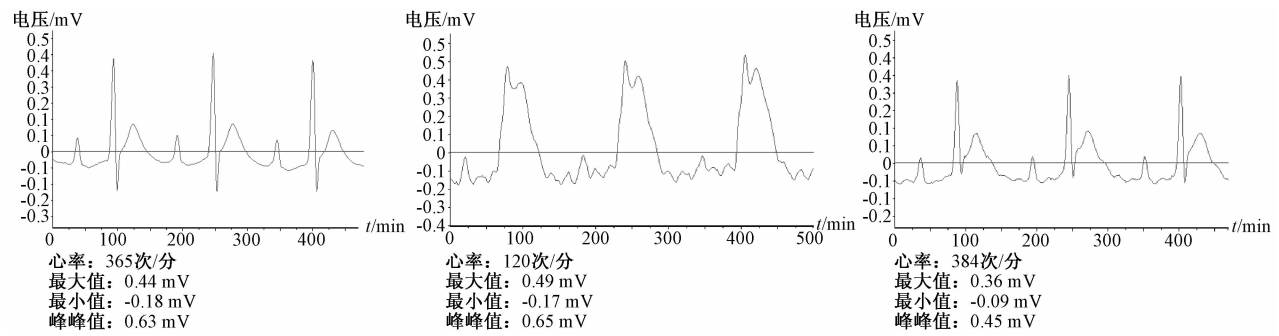


图 1 大鼠模型心电图
Fig. 1 Changes of ECG in model rats

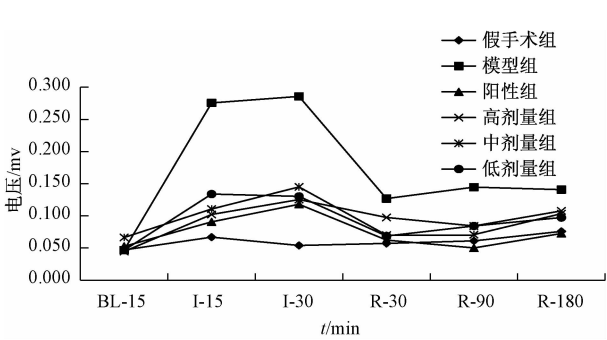


图 2 苗岭纳豆素胶囊对心肌缺血再灌注损伤大鼠心电图 ST 段变化
Fig. 2 Changes of ST-T of ECG in MIR rats after MNC treatment

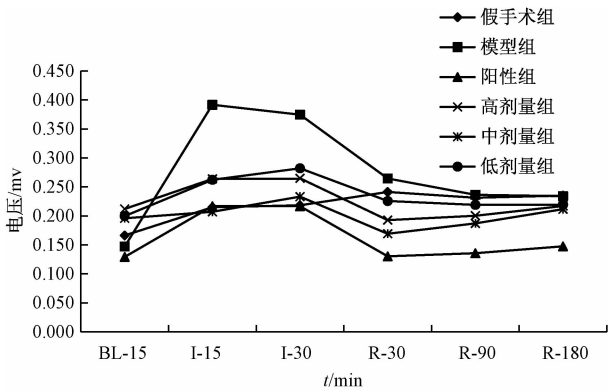


图 3 苗岭纳豆素胶囊对心肌缺血再灌注大鼠 T 波变化绝对值的影响
Fig. 3 Changes of T waves of ECG in MIR rats after MNC treatment

操作对老鼠存在一定的损伤。与假手术组比较，模型组缺血 15、30 min 时，T 波显著升高 ($P < 0.01$, $P < 0.001$)，但再灌注后 T 波无明显差异，因此模型建立成功。与模型组比较，苗岭纳豆素胶囊各剂量组均能抑制缺血 15、30 min 时 T 波抬高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，再灌注后 T 波无明显差异。阳性药物组在缺血 15、30 min 时能显著抑制 T 波抬高 ($P < 0.01$)；在再灌注时期抑制 T 波抬高，差异具有显著性差异 ($P < 0.05$)。因此苗岭纳豆素胶囊对心肌缺血再灌注损伤有保护作用。

3.4 苗岭纳豆素胶囊对大鼠血清中 AST、LDH、CK-MB 活性及 cTnI 含有量的影响 与假手术组比较，模型组大鼠血清中 AST、LDH、CK-MB 活性及 cTnI 含有量明显升高 ($P < 0.01$ 、 $P < 0.001$)。与模型组比较，对于 AST 活性，高剂量组与阳性组能显著降低，其他剂量组没有显著性差异。对于 LDH、CK-MB 活性，各给药组均能显著性降低 ($P < 0.01$ 、 $P < 0.001$)。对于 cTnI 含有量，低剂量组降低效果不明显。结果见表 1。

表 1 苗岭纳豆素胶囊对血清中 AST、LDH、CK-MB 活性及 cTnI 含有量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)
Tab. 1 Effects of MNC on serum AST, LDH, CK-MB and cTnI content ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	AST/(IU·L ⁻¹)	LDH/(U·gprot ⁻¹)	CK-MB/(pg·mL ⁻¹)	cTnI-/ (pg·mL ⁻¹)
假手术组	132.177 ± 6.322	4149.281 ± 131.634	534.596 ± 54.559	7.703 ± 0.843
模型组	175.299 ± 28.427 ^{###}	5318.345 ± 419.065 ^{###}	635.198 ± 70.264 ^{##}	11.080 ± 2.045 ^{###}
阳性组	148.307 ± 10.216 [*]	4255.396 ± 337.267 ^{***}	490.161 ± 51.208 ^{***}	8.493 ± 1.311 ^{**}
苗岭纳豆素高剂量组	152.301 ± 8.856 [*]	4262.590 ± 314.273 ^{***}	466.922 ± 48.479 ^{***}	8.263 ± 1.391 ^{**}
苗岭纳豆素中剂量组	154.107 ± 15.005	4548.561 ± 356.983 ^{***}	536.825 ± 39.000 ^{**}	8.744 ± 1.120 [*]
苗岭纳豆素低剂量组	156.992 ± 16.156	4771.583 ± 375.595 [*]	553.467 ± 54.375 [*]	9.039 ± 1.512

注:与假手术组比较,^{##} $P < 0.01$,^{###} $P < 0.001$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,^{***} $P < 0.001$

3.5 苗岭纳豆素胶囊对大鼠血清中 SOD 活力和 MDA、TNF-α 水平的影响 与假手术组比较,模型组大鼠血清中 SOD 活力降低,MDA、TNF-α 水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.001$)。与模型组比较,各给药组大鼠血清中 SOD 活力提高,MDA 水平降低,差异具有显著性 ($P < 0.05$),其中 TNF-α 的水平,阳性组和高剂量组降低,差异具有显著性 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$),其他治疗组没有统计学意义。结果见表 2。

表 2 苗岭纳豆素胶囊对血清中 SOD 活力和 MDA、TNF-α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Tab. 2 Effects of MNC on serum SOD activity, and MDA, TNF-α content ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	SOD/(U·mL ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)
假手术组	13.315 ± 0.728	7.114 ± 0.662	148.576 ± 8.253
模型组	12.022 ± 0.560 [#]	10.891 ± 1.161 ^{###}	212.096 ± 26.276 ^{###}
阳性组	13.324 ± 0.929 [*]	8.657 ± 1.226 ^{**}	170.641 ± 9.522 ^{***}
高剂量组 [△]	13.753 ± 0.405 ^{***}	8.125 ± 0.615 ^{***}	187.687 ± 15.932 [*]
中剂量组 [△]	14.508 ± 1.344 ^{***}	8.404 ± 1.120 ^{***}	191.814 ± 15.292
低剂量组 [△]	13.259 ± 0.427 [*]	8.516 ± 1.059 ^{***}	194.067 ± 14.240

注:与假手术组比较,[#] $P < 0.05$,^{###} $P < 0.001$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,^{***} $P < 0.001$;[△]为苗岭纳豆素

3.6 苗岭纳豆素胶囊对心肌缺血再灌注损伤大鼠梗死面积的影响 与假手术组比较,模型组大鼠梗死面积的平均范围明显升高 ($P < 0.001$),普萘洛尔组与苗岭纳豆素胶囊各治疗组大鼠心肌梗死范围均出现明显的降低,与模型组比较具有统计学差异 ($P < 0.001$)。见表 3,图 4。

表 3 苗岭纳豆素胶囊对心肌缺血再灌注损伤大鼠梗死面积的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Tab. 3 Effects of MNC on myocardial infarction area in rats with MIR injury ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	梗死面积/%
假手术组	0 ± 0
模型组	23.16 ± 4.75 ^{###}
阳性组	11.17 ± 3.88 ^{***}
苗岭纳豆素高剂量组	10.36 ± 3.68 ^{***}
苗岭纳豆素中剂量组	11.53 ± 3.07 ^{***}
苗岭纳豆素低剂量组	12.06 ± 4.56 ^{***}

注:与假手术组比较,^{###} $P < 0.001$;与模型组比较,^{***} $P < 0.001$

4 讨论

苗岭纳豆素胶囊中溶栓激酶 DCK 来源于食品,具有溶栓活性强,安全性高,特异性强等特点^[8-9]。根据文献报道,大豆含游离型异黄酮的含量较少^[10],但大豆苷元拥有较高的生物活性,而本产品通过发酵后,能将结合型异黄酮转化成苷元状态更好的发挥作用^[11];大豆皂苷可以激活纤维

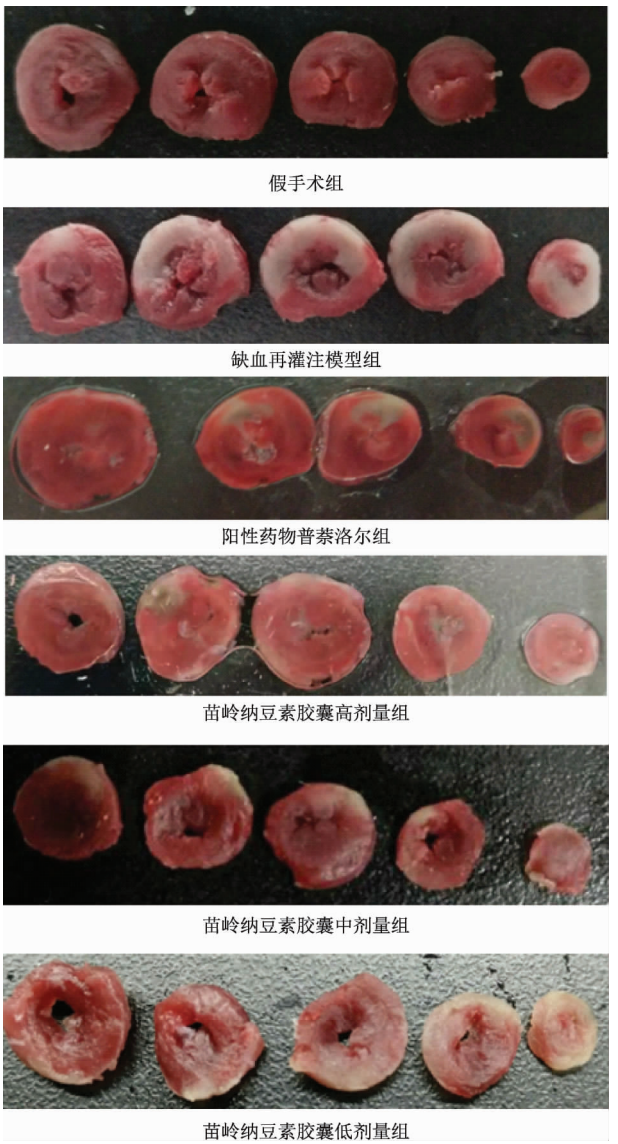


图 4 苗岭纳豆素胶囊对心肌缺血再灌注损伤大鼠梗死面积的影响

Fig. 4 Effects of MNC on myocardial infarction area in rats with MIR injury

蛋白溶血酶系统,抑制血栓纤维蛋白的形成,同时可以改善缺血心肌对氧的需求^[12];大豆多糖具有调节血脂、抗高血压、抗氧化、调节血糖、抗动脉粥样硬化等多种功能^[13]。基于苗岭纳豆素胶囊多种活性物质的功能,探讨其对心肌缺血再灌注的保护作用及其可能的作用机制。阳性药物普萘洛尔又名心得安,临床上常用于心律失常、心绞痛、心肌梗死等多种疾病的防治,其疗效确实可靠,临床应用较为广泛。因此本实验选取其为药性药物对照组。

心肌缺血再灌注损伤可造成心脏形态及功能方面的改变,因此,可进行心电图、组织学和生化酶

学等多项指标的检测和综合判定分析,以确定心肌缺血再灌注梗死范围和损伤程度^[14]。心肌缺血时,心电图 ST 段的抬高及 T 波高耸程度与心肌缺血程度相关。心肌梗死一段时间后,细胞中脱氢酶因细胞膜损伤而丢失,TTC 不被还原,故梗死部位的心肌不被染色。心肌梗死面积被认为是评价保护心肌最具特征的金标志^[15]。AST、LDH 及 CK-MB 是临床上判断心肌细胞损伤和坏死最常用的生化标志物及诊断标志物,称为心肌酶;在临床治疗中有着极其重要意义^[16]。很多医院还采用心肌肌钙蛋白来辅助诊断,对诊断心肌梗死有一定价值^[17]。研究结果表明,苗岭纳豆素胶囊能明显降低 ST 段的抬高和 T 波的增大,可明显降低心肌梗死面积,显著抑制心肌酶及肌钙蛋白 I 的升高,证明苗岭纳豆素胶囊对心肌缺血再灌注损伤具有保护作用。

当发生心肌缺血再灌注时,会产生大量的氧自由基,它主要攻击生物膜上的不饱和脂肪酸,引起脂质过氧化。细胞内存在的超氧化酶歧化酶(SOD)等抗氧酶是自由基清除剂,阻断脂质过氧化的连锁反应,降低对心肌组织的损伤。而丙二醛(MDA)是脂质过氧化的最终产物,因此 SOD 及 MDA 浓度的高低可以反应组织损伤的情况^[18-19]。研究表明,在心肌缺血再灌注过程中,炎症因子贯穿于心肌损伤的全过程,而且能够渗透到其他损伤的因素中发挥作用,因此炎症反应是导致心肌缺血再灌注损伤严重病理损伤的重要机制之一。TNF- α 是一种重要的炎症因子,心肌细胞在缺血再灌注的刺激下可合成和分泌大量 TNF- α ,在一定程度上体现了炎症的严重程度,其水平越高则炎症越重。本实验结果表明,苗岭纳豆素胶囊能升高 SOD 活性,降低 MDA 和 TNF- α 水平。

综上所述,苗岭纳豆素胶囊对心肌缺血再灌注损伤具有保护作用,能明显降低 ST 段的抬高和 T 波的增大,减少心肌梗死面积,抑制心肌酶 LDH、AST、CK-MB 的漏出,降低血清中 MDA、cTn-I、TNF- α 的量,改善 SOD 活性。对心肌缺血再灌注损伤的保护作用可能是通过抑制自由基的产生、增强自由基的清除功能、维持心肌细胞氧化和抗氧化的动态平衡、抑制炎症反应,从而达到对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用。但是苗岭纳豆素胶囊干预的具体有效过程及信号通路有待进一步研究。

参考文献:

[1] 贺 欢,张 硕,张 敏,等. 豆豉溶栓激酶 DCK 的体

内溶栓抗栓作用[J]. 中国实验方剂学,2016,22(14): 135-138.

[2] 胡少瑾,马世江,高秀丽. 纳乐胶囊治疗急性脑梗死的临床研究[J]. 中国民康医学,2013,25(6): 52-55.

[3] 温剑艺,谭 宁,杨大浩. 大鼠心肌缺血再灌注模型心电图变化[J]. 岭南心血管病杂志,2011,17(14): 503-506.

[4] 王砚青,江时森,刘 平,等. 大鼠心肌缺血再灌注模型心电图变化分析[J]. 医学研究学报,2006,19(8): 700-702.

[5] 刘艳伟,刘水平,成建定,等. 大鼠心肌缺血再灌注模型的改进及心电图判断指标[J]. 实用儿科临床杂志,2007,22(7): 525-527.

[6] 杨建业,张迎春,唐俊明,等. 大鼠心肌缺血再灌注后心功能变化与心肌梗死面积相关性分析[J]. 实验动物与比较医学,2008,28(1): 4-9.

[7] 孟增慧,杨承志,田爱炬,等. 小鼠心肌缺血再灌注损伤模型制备及心肌梗死面积评价方法学比较[J]. 中国心血管杂志,2014,19(2): 123-127.

[8] Sumi H, Hamada H, Tsushima H, *et al.* A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese Natto; a typical and popular soybean food in the Japanese diet[J]. *Experientia*, 1987, 43(10): 1110-1111.

[9] Ji H R, Yu L, Liu K Y, *et al.* Mechanisms of Nattokinase in protection of cerebral ischemia[J]. *Eur J Pharmacol*, 2014 (745): 144-151.

[10] 陆 琪,陈 均,周海云. 纳豆中异黄酮组成含量变化研究[J]. 食品科技,2007(9): 66-68.

[11] Lichtenstein A H. Soy protein, isoflavones and cardiovascular disease risk[J]. *J Nutr*, 1998, 128(10): 1589-1592.

[12] 于国萍,程建军,等. 功能性食品[M]. 中国轻工业出版社,2011: 154-178.

[13] 张 猛. 大豆低聚糖对心肌缺血再灌注损伤大鼠心脏保护作用及相关机制[D]. 青岛: 青岛大学,2016.

[14] 魏 伟,吴希美,李元建. 药理实验方法[M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社,2010: 876-892.

[15] Thibault H, Gomez L, Donal E, *et al.* Acute myocardial infarction in mice: assessment of transmural by strain rate imaging[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293(1): H496-502.

[16] 项贵明,刘琳琳,杜春兰,等. 快速检测心肌标志物诊断急性心肌梗死的价值[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(17): 1932-1933.

[17] 胡春丽. 血清中 cTnI、MYO、CK-MB 联合检测在急性心肌梗死诊断中的应用[J]. 临床医学,2014,34(3): 38-39.

[18] 廖日滔,饶平凡. 自由基相关细胞信号传导的研究进展[J]. 中国细胞生物学报,2014,36(11): 1573-1583.

[19] Wang B, Xu X, He X. Berberine improved Aldo-Induced podocyte injury *via* inhibiting oxidative stress and endoplasmic reticulum stress pathways both *in vivo* and *in vitro*[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39(1): 217-228.