

芝麻素对大鼠心肌缺血再灌损伤的保护作用

涂鹏程¹ 郑书国² 杨解人² 任尤楠² 陶善珺² 赵梦秋² 曹雨朦¹ 许梦情¹ 李方圆¹

(皖南医学院 1. 临床医学院; 2. 药理学教研室, 安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的: 探讨芝麻素对缺血再灌所致大鼠心肌损伤的保护作用及其可能机制。方法: SD 大鼠 50 只随机分为正常对照组、模型组、假手术组、芝麻素低剂量组 [80 mg/(kg · d)] 及芝麻素高剂量组 [160 mg/(kg · d)], 每组 10 只。芝麻素组灌胃给予芝麻素 7 d, 每日 1 次。结扎冠状动脉左前降支建立心肌缺血再灌模型; 假手术组大鼠只穿线, 不接扎。HE 染色观察心肌病理学变化, 比色法测定血清肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD) 水平及心肌组织 MDA、SOD 水平。结果: 芝麻素明显改善缺血再灌所致大鼠心肌损伤, 减轻细胞水肿、变性、坏死及心肌间质炎症细胞浸润, 降低血清 CK、LDH 水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。芝麻素显著提高大鼠血清和心肌组织 SOD 活力, 降低 MDA 水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 改善缺血再灌诱导的氧化应激。结论: 芝麻素可明显改善缺血再灌所致大鼠心肌损伤, 其机制与提高机体抗氧化能力、减轻缺血再灌所致氧化应激损伤有关。

【关键词】心肌缺血再灌损伤; 芝麻素; 氧化应激; 抗氧化剂

【中图分类号】R 285.5 **【文献标识码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2015.05.003

Protective effect of sesamin on myocardial ischemia reperfusion injury in rats

TU Pengcheng ZHENG Shuguo YANG Jieren REN Younan TAO Shanjun ZHAO Mengqiu CAO Yumeng XU Mengqing LI Fangyuan
School of Clinical Medicine, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To investigate the protective effect of sesamin and its potential mechanisms against myocardial ischemia reperfusion injury in rats. **Methods:** Fifty SD rats were randomly divided into 5 groups: namely control group, model group, sham group, low dose of sesamin group [80 mg/(kg · d)] and high dose of sesamin group [160 mg/(kg · d)]. Rats in sesamin groups were intragastrically administered with sesamin for 7 d(qd) . Then all rats except those in control and sham groups were subjected to myocardial ischemia for 40 min by coronary artery ligation and subsequent reperfusion for 120 min. Rats in the sham group underwent the same operation without occlusion. Pathological changes of myocardial tissue were examined by hematoxylin and eosin (HE) staining. Colorimetric assay was performed to determine the serum levels of creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH), oxidative stress indexes including superoxide dismutase (SOD) activity and malondyaldehyde (MDA) content in serum and myocardial tissues. **Results:** Pretreatment with sesamin evidently ameliorated myocardial injury induced by ischemia and reperfusion in rats as confirmed by histopathological examination and reduced serum levels of LDH and CK activity ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Supplementation with sesamin resulted in a significant increase of SOD activity and decrease of MDA content in serum and myocardial tissues ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** Sesamin effectively attenuated myocardial ischemia reperfusion injury in rats of which the underlying mechanisms might involve enhancement of antioxidant capacity.

【Key words】myocardial ischemia reperfusion injury; sesamin; oxidative stress; antioxidants

心肌缺血再灌注损伤是指心肌缺血一段时间后恢复供血, 心肌功能未能恢复, 损伤反而加重的现象。缺血再灌注损伤机制复杂, 目前认为再灌注过程中大量产生的自由基是造成损伤的重要因素之一^[1]。大量研究表明, 补充抗氧化剂可明显减轻心肌缺血再灌所致损伤, 改善心脏功能^[2-3]。芝麻素是芝麻中含量最多活性最强的成分之一^[4], 具有显著抗氧化作用^[5-6], 但其对心肌缺血再灌损伤是否

具有改善作用未见报道。本研究观察了芝麻素对大鼠心肌缺血再灌损伤的影响, 并从改善氧化应激角度探讨其可能机制。

1 材料与方法

1.1 动物 清洁级雄性 SD 大鼠, 体质量(220 ± 20) g, 购于浙江省实验动物中心, 许可证号: SCXK (浙) 2014-0001。

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目(201410368046)

收稿日期: 2015-03-17

作者简介: 涂鹏程(1993-), 男, 2011 级临床医学本科生, (电话) 15955118747, (电子信箱) manutu@qq.com;

郑书国, 男, 教授, 硕士生导师, (电话) 13955300871, (电子信箱) zhengsg2000@163.com, 通讯作者。

1.2 药物与试剂 芝麻素(sesamin) 纯度98% ,上海纯优生物科技有限公司; 肌酸激酶(CK) 试剂盒、乳酸脱氢酶(LDH) 检测试剂盒 ,南京建成生物工程研究所; 丙二醛(MDA) 、超氧化物歧化酶(SOD) 、蛋白测定试剂盒 ,碧云天生物技术研究所; 其他试剂均为国产分析纯。

1.3 方法

1.3.1 分组及给药 50 只大鼠随机分为正常对照组、模型组、假手术组、芝麻素低剂量组 [80 mg/(kg·d)] 及芝麻素高剂量组 [160 mg/(kg·d)] ,每组10 只。按上述设定剂量灌胃芝麻素 ,其余各组灌胃给予等容量0.5% 羧甲基纤维素钠 ,每日1 次 ,共7 d。

1.3.2 模型制备 于末次给药后 ,戊巴比妥钠(30 mg/kg) 腹腔注射麻醉大鼠 ,仰卧固定 ,气管插管 ,小动物呼吸机进行人工呼吸。连接RM6240 生物信号采集系统记录心电图Ⅱ导联 ,沿胸骨正中线偏左0.5 cm处剪开皮肤 ,钝性开胸 ,暴露心脏。于左心耳根部下方2 mm 处进针 ,进针深度0.5 mm; 以6/0缝线穿过心肌表层 ,垫硅胶管结扎 ,心电图Ⅱ导联示ST 段明显抬高、心尖部心肌苍白表示结扎成功。结扎40 min 后剪断硅胶管上手术线 ,再灌注2 h。假手术组只穿线不结扎。再灌结束时腹主动脉取血 ,3000 r/min 离心15 min ,分离血清。摘取心脏 ,分离左心室 ,切取心尖部分组织 ,多聚甲醛固定 ,其余组织-80 ℃ 保存。

1.3.3 HE 染色 多聚甲醛固定的心肌组织 ,常规

石蜡包埋、切片(5 μm) ,HE 染色 ,光镜下观察心肌组织病理学变化。

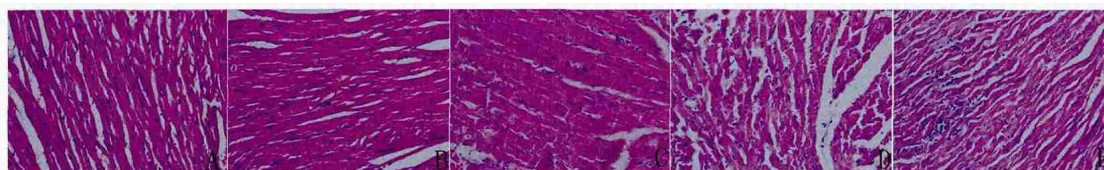
1.3.4 生化指标检测 取心肌组织 ,制备10% 组织匀浆 ,3000 r/min 离心10 min ,取上清液。组织匀浆及血清SOD、MDA ,血清CK 及LDH 检测均按试剂盒说明书进行。组织匀浆以每毫克蛋白表示 ,蛋白测定采用BCA 法 ,按试剂盒说明书进行。

1.3.5 统计学处理 采用DAS 1.0 统计软件 ,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$) 表示。多组均数比较 ,使用单因素方差分析 ,两两比较采用q 检验 ,以P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 实验过程中大鼠死亡9 只 ,主要原因是气管分泌物增多引起的支气管阻塞及突发恶性心律失常。

2.2 芝麻素对大鼠心肌组织病理学改变的影响 光镜下可见 ,正常组及假手术组大鼠心肌细胞排列规则 ,结构完整 ,着色均匀 ,未见水肿、变性、坏死及心肌间质炎症细胞浸润。模型组大鼠心肌纤维排列紊乱 ,部分心肌纤维断裂 ,坏死区域界线模糊 ,存在间质水肿及细胞核固缩现象。芝麻素高剂量组心肌细胞轮廓完整 ,胞质轻度水肿 ,心肌细胞变性、坏死较少。芝麻素低剂量组细胞边界模糊 ,心肌纤维变形 ,细胞核聚集 ,可见少量心肌细胞变性、坏死 ,见图1。



A: 正常组; B: 假手术组; C: 模型组; D: 芝麻素低剂量组; E: 芝麻素高剂量组

图1 芝麻素对缺血再灌所致大鼠心肌组织病理学改变的影响(HE 染色 ,×400)

2.3 芝麻素对大鼠血清LDH 及CK 活性的影响 与正常对照组相比 ,假手术组大鼠血清LDH 及CK 活性无明显变化 ,而缺血再灌模型组大鼠血清LDH、CK 活性显著升高(P < 0.01) 。与缺血再灌模型组相比 ,芝麻素能明显减少血清LDH 和CK 活性(P < 0.05 或 P < 0.01) ,见表1。

2.4 芝麻素对大鼠血清及心肌组织SOD、MDA 水平的影响 与正常对照组相比 ,模型大鼠血清及心肌组织SOD 活力显著降低(P < 0.01) ,脂质过氧化产物MDA 生成明显增多(P < 0.01) ,而假手术组大鼠血清及心肌组织SOD、MDA 水平均无明显变化。预先给予芝麻素显著升高缺血再灌损伤大鼠血清及

心肌组织中SOD 活性 ,降低MDA 水平(P < 0.05 或 P < 0.01) ,见表2。

表1 芝麻素对大鼠血清LDH、CK 活性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CK (U/ mL)	LDH (U/L)
正常组	10	0.57 ± 0.10	5788.4 ± 714.9
模型组	7	1.36 ± 0.26**	10049.7 ± 932.0**
假手术组	9	0.61 ± 0.18##	6077.3 ± 736.0##
芝麻素低剂量组	7	1.13 ± 0.19	9006.2 ± 785.8#
芝麻素高剂量组	8	0.94 ± 0.20##	8025.4 ± 802.1##
F 值	-	15.21	44.7
P 值	-	<0.01	<0.01

注:与正常组相比**P < 0.01; 与模型组相比#P < 0.05 ##P < 0.01

表2 芝麻素对大鼠血清及心肌组织 SOD、MDA 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血清 SOD(U/ mL)	血清 MDA($\mu\text{mol/L}$)	组织 SOD(U/mgprot)	组织 MDA($\mu\text{mol/gprot}$)
正常组	10	76.31 ± 8.41	5.56 ± 1.23	8.62 ± 1.23	11.50 ± 1.84
模型组	7	41.64 ± 5.86**	10.23 ± 0.94**	4.45 ± 0.83**	19.36 ± 2.44**
假手术组	9	74.46 ± 9.64###	6.04 ± 1.56###	8.19 ± 1.54###	11.21 ± 1.76###
芝麻素低剂量组	7	50.10 ± 9.29	8.94 ± 1.13#	5.60 ± 0.56#	16.73 ± 1.89#
芝麻素高剂量组	8	57.76 ± 8.14###	8.17 ± 1.06###	6.61 ± 1.22#	15.87 ± 1.83###
F 值	-	26.22	21.26	19.16	26.74
P 值	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:与正常组相比* *P < 0.01;与模型组相比#P < 0.05 ##P < 0.01

3 讨论

急性心肌梗死为临床常见的危急重症,发病凶险,猝死率高。通过溶栓治疗及冠状动脉介入术治疗等手段可以恢复心肌再灌注,改善心功能。但长期临床实践发现,再灌注会导致心肌发生二次损伤,即再灌注损伤。如何将损伤程度降到最低,已成为当前心血管疾病研究领域的热点和难点。缺血再灌注可以引起心肌细胞膜及线粒体膜损伤,导致膜通透性增加,心肌细胞内各种酶释放入血,因此测定血清心肌酶(LDH、CK)有助于判断心肌细胞损伤程度^[7]。本研究发现心肌缺血再灌注大鼠血清 CK 及 LDH 水平显著升高,而给予芝麻素可有效降低血清 CK 及 LDH 水平。同时显微镜下观察到缺血再灌注大鼠心肌纤维排列紊乱,部分心肌纤维断裂,坏死区域界线模糊,存在间质水肿及细胞核固缩现象。而芝麻素高、低剂量组大鼠上述现象均明显减轻,提示芝麻素可有效改善大鼠心肌缺血再灌注所致的损伤。

目前认为心肌缺血再灌注损伤与再灌注后产生的大量氧自由基有关^[1]。大量自由基可引起心肌细胞膜脂质过氧化,破坏细胞膜的正常结构,进而导致膜电位不稳^[8]、细胞内钙超载^[9]等,加重心肌损伤。MDA 是脂质过氧化反应的终产物,可与蛋白质、核酸、磷脂等结合,使其功能丧失,其含量可反映脂质过氧化损伤程度^[10]。SOD 是体内重要的抗氧化酶,具有清除氧自由基的作用。文献报道心肌缺血再灌注时 MDA 明显升高,而提高 SOD 活性,抑制脂质过氧化反应可有效减轻缺血再灌注损伤^[11]。本研究发现,心肌缺血再灌注损伤可导致血清及心肌组织中 SOD 活性明显下降,MDA 水平显著升高。而芝麻素可提高 SOD 活性,降低 MDA 水平,提示芝麻素改善心肌缺血再灌注损伤与减轻氧化应激损伤有关,这与文献报道的抗氧化剂能够减轻心肌缺血再灌注损伤的结果一致^[2-3]。

综上所述,芝麻素可明显减轻缺血再灌注所致大鼠心肌损伤,其机制可能与增强抗氧化能力、减轻缺血再灌注所致氧化应激损伤有关。

【参考文献】

- [1] 许波华,许立. 中药抗心肌缺血作用机制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 265-269.
- [2] 春玉虎,党宏伟,闫业军. 番茄红素对大鼠心脏缺血再灌注的保护作用及其机制研究[J]. 现代药物与临床, 2014(9): 974-979.
- [3] 张国霞,武艳,韩冬梅,等. 原花青素对大鼠心肌缺血-再灌注损伤的保护作用[J]. 中国生化药物杂志, 2010, 31(3): 170-172.
- [4] Ali AM, Afaf KE. Sesame Seed Is a Rich Source of Dietary Lignans [J]. JAOCS, 2006, 83(8): 719-723.
- [5] Zhang Junxiu, Yang Jieren, Chen Guoxiang, et al. Sesamin ameliorates arterial dysfunction in spontaneously hypertensive rats via downregulation of NADPH oxidase subunits and upregulation of eNOS expressions [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2013, 34: 912-920.
- [6] Zheng Shuguo, Zhao Mengqiu, Ren Younan, et al. Sesamin suppresses STZ induced INS-1 cell apoptosis through inhibition of NF- κ B activation and regulation of Bcl-2 family protein expression [J]. Eur J Pharmacol, 2015, 750: 52-58.
- [7] 邵莹,吴启南,周婧,等. 竹叶黄酮对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. 药理学通报, 2013, 29(2): 241-247.
- [8] Koid S S, Ziogas J, Campbell D J. Aliskiren Reduces Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury by a Bradykinin B2 Receptor- and Angiotensin AT2 Receptor-Mediated Mechanism [J]. Hypertension, 2014, 63(4): 768-773.
- [9] Webster K A. Mitochondrial membrane permeabilization and cell death during myocardial infarction: roles of calcium and reactive oxygen species [J]. Future Cardiol, 2012, 8(6): 863-884.
- [10] Chang Guanglei, Zhang Peng, Ye Lin, et al. Protective effects of sitagliptin on myocardial injury and cardiac function in an ischemia/reperfusion rat model [J]. Eur J Pharmacol, 2013, 718(1): 105-113.
- [11] 陈洁. 香菇多糖对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护与抗氧化作用[J]. 数理医药学杂志, 2014, 27(2): 141-143.