

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2016.19.017

藏医佐木阿汤对大鼠胚胎心肌细胞 H9C2 缺氧损伤的影响

郭鑫¹, 尼玛次仁^{2*}, 于天源¹, 王淑艳¹, 于雪¹, 张林峰¹, 次仁德吉², 鲁梦倩¹, 巴桑德吉², 贾文端¹, 多杰仁青², 马驰¹, 陶艳红¹, 刘瑄慈¹

(1. 北京中医药大学, 北京市朝阳区北三环东路 11 号, 100029; 2. 西藏藏医学院)

摘要 目的 探讨佐木阿汤对 H9C2 心肌细胞缺氧损伤的保护作用及可能作用机制。方法 50 只大鼠随机分为佐木阿汤组 [20 ml/(kg·d)] 30 只, 依那普利组 [10 mg/(kg·d)] 10 只, 生理盐水组 [10 ml/(kg·d)] 10 只, 各组大鼠均灌胃 1 周, 腹主动脉取血, 制备含药血清。采用培养的 H9C2 心肌细胞株, 分为正常组、模型组、生理盐水组、依那普利组及佐木阿汤 5%、10%、15% 组, 通过含药血清干预与建立缺氧模型, 检测各组细胞活力与存活率, 测定培养液中肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH) 释放量及超氧化物歧化酶 (SOD) 和丙二醛 (MDA) 活性。结果 与正常组比较, 模型组和生理盐水血清组细胞活力及细胞存活率降低, CK、LDH 释放量升高, MDA 活性升高, SOD 活性降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 佐木阿汤 5%、10%、15% 组及依那普利组细胞活力升高, CK、LDH 释放量降低 ($P < 0.05$); 佐木阿汤 15% 血清组细胞存活率、SOD 活性较模型组和生理盐水组升高, CK、LDH 释放量及 MDA 活性降低 ($P < 0.05$)。结论 佐木阿汤可减轻心肌细胞的缺氧损伤, 其机制可能与降低心肌细胞膜 CK、LDH 的释放, 提高心肌细胞 SOD 活性, 降低 MDA 活性有关。

关键词 心肌细胞缺氧损伤; 佐木阿汤; 藏医; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

心肌缺氧损伤是临床常见的心血管疾病之一, 佐木阿汤是治疗心肌缺氧损伤的经典方剂, 是藏族同胞多年来验证行之有效的方药。佐木阿汤最早载于藏医典籍《临床经验纪要》^[1]中, 由藏锦鸡、巴夏嘎、兔耳草、儿茶、矮紫堇等藏药组成。我们的前期研究发现, 佐木阿汤对高原缺氧地区的心肌损伤具有一定的治疗作用, 可保护与改善因缺氧造成的心肌损伤^[2-3]。本研究在此基础上从细胞分子水平的层面, 进一步观察佐木阿汤对心肌细胞缺氧损伤保护作用的可能机制。

1 材料

1.1 实验细胞与动物

大鼠胚胎心肌细胞 H9C2 (购自中国医学科学院基础医学研究所细胞中心); SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只, 6~7 周龄, 体重 200~250 g, 由斯贝福 (北京) 实验动物科技有限公司提供, 实验动物许

可证号: SCXK (京) 2011-0004。

1.2 主要药品与试剂

佐木阿汤组成: 藏锦鸡 11 g, 巴夏嘎 14 g, 兔耳草 11 g, 儿茶 7 g, 矮紫堇 7 g, 购自西藏甘露藏药股份有限公司; 马来酸依那普利片 (10 mg/片, 江苏扬子江制药有限公司, 国药准字 H32026567), 生理盐水 (北京欧北生物科技有限公司, 批号: ob20926)。高糖 DMEM 完全培养基 (Hyclone 公司, 批号: SH30022.01B), FBS 胎牛血清 (Invitrogen 公司, 批号: 1647565), 0.05% 胰蛋白酶 (Gibco 公司, 批号: 1627652), CCK-8 试剂盒 (Dojindo 公司, 批号: CK04), 乳酸脱氢酶 (LDH) 试剂盒 (批号: A020-1)、肌酸激酶 (CK) 试剂盒 (批号: A032)、超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒 (批号: A001-2)、丙二醛 (MDA) 试剂盒 (批号: A003-1) 均购自南京建成生物工程研究所, 高纯氮气 (北京氧利来科技发展有限公司)。

1.3 主要仪器

超净工作台 (FLC-3 型, 哈尔滨市东联电子技

基金项目: 国家自然科学基金 (81260567)

* 通讯作者: bairizerendawa@163.com, (0891) 6380242

术开发有限公司), 三气培养箱 (美国 Thermo 公司), 二氧化碳培养箱 (MC0175 型, 日本 SANYO 公司), 倒置显微镜 (CKX41 型, 日本 OLYMPUS 公司), 离心机 (5417R 型, 德国 Eppendorf 公司), 酶标仪 (352 型, 芬兰 Thermo Multisiskan MS 公司)。

1.4 含药血清的制备

采用完全随机区段分组法^[4], 将 50 只大鼠分为佐木阿汤组 30 只, 依那普利组 10 只, 生理盐水组 10 只。佐木阿汤组: 将上述佐木阿汤药物 50 g 加 500 ml 水, 煮 30 min, 缩汁至 350 ml, 每只大鼠灌胃 20 ml/(kg·d)。依那普利组: 将 20 mg 马来酸依那普利片溶于 20 ml 超纯水 (自制) 中, 每只大鼠灌胃 10 mg/(kg·d)。生理盐水组: 每只大鼠灌胃生理盐水 10 ml/(kg·d)。各组大鼠均灌胃 1 周后腹主动脉取血, 制备含药血清, 置于 56℃ 水浴锅灭活 30 min 后备用。

2 方法

2.1 细胞培养

大鼠 H9C2 心肌细胞应用含 12.5% FBS 的 DMEM 高糖培养基培养, 置于 37℃、5% CO₂ 的恒温培养箱中培养。当细胞长至 80% 左右融合时传代, PBS 冲洗 2 遍, 0.05% 胰蛋白酶消化, 置于 37℃、5% CO₂ 的恒温培养箱中 1~1.5 min, 显微镜下观察细胞由长梭形皱缩变圆时, 立即加入含 12.5% FBS 的 DMEM 高糖培养基终止消化, 用吸管轻轻吹打, 使细胞吹离细胞瓶壁。吹打均匀后吸取全部细胞液体于离心管中, 1000 r/s 离心 5 min 后, 倒掉离心管中上层液体, 加入含 12.5% FBS 的 DMEM 高糖培养基混匀, 计数后按 1:2 比例分瓶传代, 平均 2~3 天传代 1 次。

2.2 缺氧心肌细胞造模

取培养 3~4 天的 H9C2 心肌细胞, 倒掉培养基, PBS 冲洗 2 遍后, 换成无血清 DMEM 培养基, 将心肌细胞移入 95% N₂-5% CO₂、氧浓度 <1% 的 37℃ 电热三气培养箱中培养 24 h, 建立缺氧模型^[5]。

2.3 细胞分组及干预方法

将培养的心肌细胞按照完全随机区段分组法分为佐木阿汤 5%、10%、15% 组及依那普利组、生理盐水组、模型组、正常组。心肌细胞按正常培养条件 CO₂ 培养箱中培养 24 h, 之后将正常的细胞培养液换成无血清的 DMEM 培养基, 佐木阿汤 5%、10%、15% 组分别以 5%、10%、15% 的浓度加入

含佐木阿汤血清, 依那普利组以 10% 的浓度加入含依那普利血清, 生理盐水组以 10% 的浓度加入含生理盐水血清, CO₂ 培养箱中培养 48 h 后, 将细胞培养液换成无血清的 DMEM 培养基于三气培养箱内继续培养 24 h。模型组心肌细胞按正常培养条件 CO₂ 培养箱中培养 48 h, 之后将正常的细胞培养液换成无血清的 DMEM 培养基于三气培养箱内继续培养 24 h, 不进行药物干预。正常组心肌细胞用含 12.5% FBS 的 DMEM 培养基培养, 按正常培养条件 CO₂ 培养箱中培养 24 h 后, 换液继续正常培养 48 h 后, 将细胞培养液换成无血清的 DMEM 培养基, 正常培养 24 h。

2.4 细胞活力检测

取对数生长期的 H9C2 心肌细胞, 接种于 2 块 96 孔板, 接种密度为 1×10^5 /孔, 第 1 块接种 6 列 6 个复孔, 第 2 块接种 1 列 6 个复孔, 每孔加入 100 μl 含 12.5% FBS 的 DMEM 高糖培养基, 周围的孔每孔加入 100 μl PBS, 置于 37.5℃、CO₂ 培养箱中培养。待细胞贴壁且单层细胞铺满孔底后, 第 1 块板的 6 列分为 5%、10%、15% 佐木阿汤组及依那普利组、生理盐水组、模型组置于三气培养箱培养 24 h, 第 2 块板的 1 列作为正常组置于 CO₂ 培养箱培养 24 h, 按照前述细胞分组干预方法与给药时间进行实验后, 每孔加入 10 μl 的 CCK-8 溶液培养板在 37℃、CO₂ 培养箱内孵育 1~2 h, 用酶标仪测定在 450 nm 处的 OD 值, OD 值与细胞增殖活力成正比, OD 值越高, 细胞生长增殖活力越高。正常组细胞存活率设定为 100%, 其余各组细胞存活率 = 各组细胞 OD 值/正常组细胞 OD 值。

2.5 心肌细胞 CK、LDH、SOD、MDA 含量测定

取对数生长期的 H9C2 心肌细胞, 接种于 2 块 6 孔板, 接种密度为 2×10^5 /孔, 第 1 块接种 6 个复孔, 第 2 块接种 1 个复孔, 每孔加入 2 ml 含 12.5% FBS 的 DMEM 高糖培养基, 置于 37.5℃、CO₂ 培养箱中培养。待细胞贴壁且单层细胞铺满孔底后, 第 1 块板的 6 孔分为 5%、10%、15% 佐木阿汤组及依那普利组、生理盐水组、模型组置于三气培养箱培养 24 h, 第 2 块板的 1 孔作为正常组置于 CO₂ 培养箱培养 24 h, 按照前述细胞分组干预方法与给药时间进行实验后, 取各组细胞上清液, 按照试剂盒说明书, 测定各组上清培养液中的 CK、LDH 活性。取上清液后, 各组心肌细胞行低温超声粉碎, 粉碎条件: 工作时间 5 s, 间歇时间 8 s,

工作次数 15 次, 工作功率 350 W, 破碎后离心, 12 000 rcf、4℃, 10 min, 取上清, 按照试剂盒说明 SOD 活性和 MDA 含量。

2.6 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计软件处理, 以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间的两两比较, 数据呈正态分布且方差齐者采用单因素方差分析, 数据不呈正态分布或方差不齐者采用非参数检验的 *Nemenyi* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组细胞活力与存活率比较

表 1 示, 与正常组比较, 模型组与生理盐水的细胞活力显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组和生理盐水组比较, 佐木阿汤 5%、10%、15% 组与依那普利组细胞活力明显升高 ($P < 0.05$), 并与正常组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 佐木阿汤 5%、10%、15% 组与依那普利组细胞活力比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。与正常组比较, 模型组与生理盐水组细胞存活率显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 佐木阿汤 15% 组与依那普利组的细胞存活率显著升高 ($P < 0.05$), 并且佐木阿汤 15% 组细胞存活率显著高于生理盐水组 ($P < 0.05$); 5%、10%、15% 佐木阿汤组与依那普利组之间细胞存活率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组心肌细胞活力与存活率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	孔数	细胞活力 (OD 值)	存活率 (%)
正常组	6	2.929 $\pm$ 0.124	100
模型组	6	1.095 $\pm$ 0.321 [*]	38.03 $\pm$ 11.19 [*]
生理盐水组	6	1.718 $\pm$ 0.342 [*]	57.85 $\pm$ 10.85 [*]
依那普利组	6	2.744 $\pm$ 0.156 Δ $\blacktriangle$	94.14 $\pm$ 5.75 Δ
佐木阿汤 5% 组	6	2.435 $\pm$ 0.144 Δ $\blacktriangle$	83.83 $\pm$ 5.96
佐木阿汤 10% 组	6	2.479 $\pm$ 0.215 Δ $\blacktriangle$	84.47 $\pm$ 6.25
佐木阿汤 15% 组	6	2.841 $\pm$ 0.131 Δ $\blacktriangle$	97.88 $\pm$ 6.31 Δ $\blacktriangle$

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与生理盐水组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

表 2 各组细胞 CK、LDH 释放量和 MDA、SOD 活性比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	孔数	CK (U/L)	LDH (U/L)	MDA (nmol/mL)	SOD (U/mL)
正常组	6	74.76 $\pm$ 9.10	116.34 $\pm$ 5.28	4.55 $\pm$ 0.06	227.68 $\pm$ 4.21
模型组	6	221.27 $\pm$ 10.11 [*]	1852.93 $\pm$ 42.19 [*]	32.58 $\pm$ 3.02 [*]	94.26 $\pm$ 3.15 [*]
生理盐水组	6	149.51 $\pm$ 6.01 [*]	1730.04 $\pm$ 53.06 [*]	27.47 $\pm$ 0.77 [*]	110.59 $\pm$ 3.87 [*]
依那普利组	6	130.38 $\pm$ 2.98 Δ	296.09 $\pm$ 40.39 Δ $\blacktriangle$	18.55 $\pm$ 1.48 Δ $\blacktriangle$	200.62 $\pm$ 4.52 Δ $\blacktriangle$
佐木阿汤 5% 组	6	137.71 $\pm$ 24.85 Δ	420.46 $\pm$ 35.68 Δ $\blacktriangle$	21.62 $\pm$ 1.42	153.76 $\pm$ 3.26
佐木阿汤 10% 组	6	119.08 $\pm$ 5.75 Δ	262.27 $\pm$ 10.25 Δ $\blacktriangle$	20.53 $\pm$ 1.39	184.36 $\pm$ 3.91
佐木阿汤 15% 组	6	110.52 $\pm$ 2.11 Δ $\blacktriangle$	235.05 $\pm$ 23.35 Δ $\blacktriangle$	17.74 $\pm$ 1.78 Δ $\blacktriangle$	213.96 $\pm$ 3.72 Δ $\blacktriangle$

注: CK, 肌酸激酶; LDH, 乳酸脱氢酶; MDA, 丙二醛; SOD, 超氧化物歧化酶; 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与生理盐水组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

3.2 各组细胞 CK、LDH 释放量和 MDA、SOD 活性比较

表 2 示, 与正常组比较, 模型组、生理盐水组 CK、LDH 释放量显著升高, MDA 活性升高, SOD 活性下降 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 佐木阿汤 5%、10%、15% 组与依那普利组 CK、LDH 释放量显著降低, 并且佐木阿汤 15% 组 CK 释放量明显低于生理盐水组, 佐木阿汤 5%、10%、15% 组 LDH 释放量明显低于生理盐水组 ($P < 0.05$)。与模型组、生理盐水组比较, 佐木阿汤 15% 组与依那普利组 MDA 活性显著降低, SOD 活性明显升高 ($P < 0.05$)。佐木阿汤 5%、10%、15% 组与依那普利组比较, CK、LDH 释放量和 MDA、SOD 活性差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

4 讨论

近年来, 心血管疾病已经成为严重影响人类身体健康的疾病之一, 心肌缺氧损伤作为临床常见的心血管疾病, 越来越引起人们的重视。心肌缺氧损伤主要表现为各种原因引起的冠状动脉血流量降低, 心肌氧等物质供应不足与代谢产物清除减少导致的心肌细胞缺氧损伤^[4], 主要原因为冠状动脉狭窄引起的供血不足, 或海拔高度造成的气压、含氧量、空气湿度等改变导致的血氧分压降低, 可严重影响患者的身心健康和生活质量^[5]。随着越来越多的药物、中草药、民族药等^[8-9]被发现具有抗心肌缺氧作用, 其对心肌缺氧损伤保护的起效机制逐渐成为心血管疾病研究的热点。心肌细胞缺氧产生的自由基等可引起体内氧化与抗氧化的失衡, 而心肌细胞自身的功能与代谢特点决定了心肌细胞对缺氧敏感^[10-11]。

藏医学认为, 人体的血液容量超过正常范围的“多血症”, 类似于高原红细胞增多症造成的心肌缺氧损伤, 病位主要在肝, 兼“木布”病证^[12-13]。佐木阿汤具有清血火、调理血液黏稠度、消除肝火

盛的作用,方中藏锦鸡有消血栓、清血火、改善血液循环的作用,可缓解心肌缺氧损伤导致的血液黏稠以及头痛、头晕等^[14];巴夏嘎具有清血火的作用,是针对心肌缺氧病理性质和部位的;兔耳草和儿茶、矮紫堇共同具有治火亢的作用^[15],缓解心肌缺氧造成的血量增多,消除口唇发紫、眼部充血等症,尤其是矮紫堇,可治木布病证,消除心肌缺氧产生的血热证症状,防止心肌缺氧损伤引发的重症疾病的发生和发展。

本实验通过 H9C2 心肌细胞体外培养并建立缺氧模型从细胞水平进行研究,结果表明,缺氧心肌细胞的细胞活力和细胞存活率较正常心肌细胞明显降低,低、中、高 3 种浓度(5%、10%、15%)的佐木阿汤血清干预心肌细胞并缺氧造模后,细胞活力较缺氧心肌细胞均显著升高,均接近正常心肌细胞的细胞活力;而且高浓度(15%)的佐木阿汤血清干预心肌细胞并缺氧造模后的细胞存活率较缺氧心肌细胞明显升高。说明佐木阿汤血清对心肌细胞缺氧损伤具有一定的保护作用,一定范围内的高浓度佐木阿汤血清较低浓度对心肌细胞缺氧损伤具有更好的预防和保护作用。

心肌细胞缺氧时,心肌细胞膜结构和功能发生损害,可引起细胞膜通透性增高,导致细胞内 CK、LDH 释放到细胞外^[16]。CK、LDH 作为心肌细胞内酶和心肌细胞受损伤的指标,其释放量可反映心肌细胞功能和心肌细胞膜受损程度^[17-18]。本实验结果显示,心肌细胞缺氧后 CK、LDH 释放量较正常心肌细胞明显增多,低、中、高 3 种浓度(5%、10%、15%)的佐木阿汤血清干预心肌细胞并缺氧造模后,CK、LDH 释放量较缺氧心肌细胞均显著降低,提示佐木阿汤血清可降低心肌细胞缺氧后的 CK、LDH 的释放,减轻心肌细胞损伤,可在一定程度上维持缺氧损伤后心肌细胞功能与膜结构的完整性。心肌细胞缺氧产生的自由基可导致体内氧化与抗氧化的失衡。MDA 是机体脂质过氧化反应终产物,可反映出心肌细胞受氧自由基损伤的程度,而 SOD 作为抗氧化酶,其活性高低反映心肌细胞的抗氧化能力^[19]。实验中,心肌细胞缺氧后 MDA 较正常心肌细胞明显升高, SOD 活性明显降低,而高浓度(15%)的佐木阿汤血清干预心肌细胞并缺氧造模后,MDA 活性较缺氧心肌细胞显著降低, SOD 活性显著升高。结果表明,佐木阿汤血清可降低 MDA 活性,同时提高 SOD 活性,说明佐木阿汤血清可能通过提高心肌细胞清除

氧自由基和抗氧化的能力,在一定程度上提高预防和保护心肌细胞缺氧损伤的能力。

综上所述,藏医佐木阿汤对于心肌细胞缺氧损伤确实具有一定的预防和保护作用,其机制可能与降低心肌细胞膜 CK、LDH 的释放,提高心肌细胞 SOD 活性,降低 MDA 活性有关,佐木阿汤是否通过控制某些信号通路以及相关蛋白表达保护心肌细胞,还有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 贡觉·旺堆. 贡珠藏医纪要及其注释 [M]. 北京: 中国藏学出版社, 2014: 173-178.
- [2] 鲁梦倩, 于天源, 吴剑聪, 等. 藏医佐木阿汤与放血疗法对高原红细胞增多症模型大鼠的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(8): 2461-2463.
- [3] 吴剑聪, 尼玛次仁, 张晓晖, 等. 藏医佐木阿汤与放血疗法保护 HAPC 大鼠心肌的形态学研究 [J]. 山东中医药大学学报, 2013, 37(6): 519-521.
- [4] 许汝福, 尹全焕. 各组例数不等的完全随机区段分组法 [J]. 中国卫生统计, 1993, 10(5): 45-46.
- [5] REGULA KM, ENS K, KIRSHENBAUM LA. Inducible expression of BNIP 3 provokes mitochondrial defect and hypoxia-mediated cell death of ventricular myocytes [J]. Circ Res, 2002, 91(3): 226-231.
- [6] 徐丹令. 乙醛脱氢酶 2 (ALDH2) 对大鼠心肌缺氧损伤的保护作用 [D]. 上海: 复旦大学, 2006.
- [7] 邹晓春, 杨琦. 复方丹参滴丸治疗慢性高原反应 39 例的临床体会 [J]. 吉林医学, 2010, 31(6): 787-788.
- [8] 陈海娟, 张国燕, 曾阳. 抗缺氧藏药的研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2012, 8(2): 180-181.
- [9] 任红英. 活血化瘀类中药抗缺氧治疗的研究现状 [J]. 山东医药, 2014, 54(10): 97-99.
- [10] 徐丹令, 孙爱军, 王时俊, 等. 乙醛脱氢酶 2 在大鼠心肌缺氧损伤中的抗凋亡作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(4): 683-686.
- [11] 张建武, 闵冬雨, 周云, 等. 番茄红素对 H₂O₂ 致乳鼠心肌细胞氧化应激损伤的保护作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(12): 160-164.
- [12] 德措. 浅析藏医对培根木布综合征的认识 [J]. 中国民族医药杂志, 2013, 19(4): 69-70.
- [13] 久西杰. 论藏医木布病的分型与诊治 [J]. 中国民族医药杂志, 2012, 18(6): 26-27.
- [14] 房士明. 藏药昌都锦鸡儿化学成分的研究 [D]. 天津: 天津大学, 2007.
- [15] 黄志芳, 陈燕, 易进海. 兔耳草药材薄层色谱鉴别与含量测定 [J]. 中成药, 2007, 29(8): 1243-1244.
- [16] 王诗才, 陈太军, 黄美松. 脑源性神经营养因子可减轻 H9c2 心肌细胞缺氧/复氧损伤 [J]. 天津医药, 2015, 43

(11):252-256.

[7] HE HB, SHI MQ, LUO T, et al. Total saponin from *Rhizoma Panacis majoris* protects neonatal rat cardiomyocytes against oxidative stress-induced injuries by improving Nrf2 translocation [J]. J Third Mil Med Univ, 2012, 34 (15): 1527-1532.

[8] DONG SY, TONG XH, LIU H, et al. Protective effects of

pomegranate polyphenols on cardiac function in rats with myocardial ischemia/re-perfusion injury [J]. J South Med Univ, 2012, 32 (7): 924-927.

[9] YU J, WEI J, JI L, et al. Exploration on mechanism of a new type of melatonin receptor agonist Neu-p11 in hypoxia-reoxygenation injury of myocardial Cells [J]. Cell Biochem Biophys, 2014, 70 (2): 999-1003.

Impact of Tibetan Medicine *Zuomu'a Decoction* (佐木阿汤) on Hypoxia Injury of H9C2 Myocardial Cells

GUO Xin¹, NIMaciren², YU Tianyuan¹, WANG Shuyan¹, YU Xue¹, ZHANG Linfeng¹, CIREndeji², LU Mengqian¹, BASangdeji², JIA Wenduan¹, DUOJierenqing², MA Chi¹, TAO Yanhong¹, LIU Xuanci¹

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029; 2. Tibet College of Tibetan Medicine)

ABSTRACT Objective To explore the protecting effect of *Zuomu'a Decoction* (佐木阿汤) on hypoxia injury of H9C2 myocardial cells and the possible mechanism. **Methods** Fifty rats were randomized into the *Zuomu'a Decoction* group [20 ml/(kg · d)] (n = 30), the enalapril group (n = 10) and the normal saline group [10 ml/(kg · d)] (n = 10). Rats in each group were given intragastric administration for 1 week. Then rats' blood was taken from abdominal aorta to prepare drug containing serum. H9C2 myocardial cell lines cultured were divided into the normal group, the model group, the normal saline group, the enalapril group, the *Zuomu'a Decoction* 5%, 10% and 15% group. After drug containing serum intervention and hypoxia model establishment, cell viability and survival rate in each group were examined. The release of creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH), as well as the activity of superoxide dismutase (SOD) and malonyldialdehyde (MDA) were detected. **Results** Compared with the normal group, cell viability and survival rate in the model group and the normal saline serum group decreased. The release of CK and LDH increased. The activity of MDA increased, while the activity of SOD decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, cell viability in the *Zuomu'a Decoction* 5%, 10% and 15% group and the enalapril group increased, while the release of CK and LDH decreased ($P < 0.05$). Cell survival rate and the activity of SOD in the *Zuomu'a Decoction* 15% serum group were higher than those in the model group and the normal saline group. The release of CK and LDH, as well as the activity of MDA decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** *Zuomu'a Decoction* might relieve the hypoxia injury of myocardial cells. The mechanism might relate to reducing the release of myocardial cell membrane CK and LDH, increasing myocardial SOD activity and reducing MDA activity.

Keywords myocardial hypoxia injury; *Zuomu'a Decoction* (佐木阿汤); Tibetan medicine; superoxide dismutase; malonyldialdehyde

(收稿日期: 2015-12-07; 修回日期: 2016-04-07)

[编辑: 邓媛]