

复方萨都那保对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用

何苗^{1,2}, 蒋宝平^{1,2}, 余黎^{1,2}, 方泰惠^{1,2}, 许立^{1,2*}

(1. 南京中医药大学, 南京 210029; 2. 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 南京 210029)

[摘要] **目的:**观察复方萨都那保对大鼠心肌缺血/再灌注的保护作用。**方法:**60 只 SD 大鼠随机分为假手术组(只穿线不结扎)、模型组、阳性组(复方丹参片, 1.08 g·kg⁻¹)、复方萨都那保低、中、高剂量组(2.9, 5.8, 11.6 g·kg⁻¹)。连续 ig 给药 7 d, 结扎/松绑 SD 大鼠冠状动脉左前降支, 制成急性缺血/再灌注模型, 记录各组大鼠 II 导联心电图, 监测心律失常的情况, 及对心肌梗死面积的影响。**结果:**与假手术组比较, 模型组心律失常发生率、心肌梗死面积、心电图 ST-T 波和 J 点的升高程度均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 阳性组和复方萨都那保低、中、高剂量组再灌注时心律失常发生率, 心肌梗死范围, 心电图 ST-T 波和 J 点的升高程度均降低 ($P < 0.01, P < 0.05$), 且复方萨都那保组呈现剂量依赖性。**结论:**复方萨都那保对心肌缺血再灌注损伤具有一定的保护作用, 可能与其降低心律失常发生率、减小梗死面积, 降低心电图 ST-T 波和 J 点的升高程度有关。

[关键词] 复方萨都那保; 心肌缺血/再灌注损伤; 心律失常; 心电图

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0262-04

Protective Effect of *Nepeta angustifolia* on Myocardial Ischemic/Reperfused Injury in Rats

HE Miao^{1,2}, JIANG Bao-ping^{1,2}, YU Li^{1,2}, FANG Tai-hui^{1,2}, XU Li^{1,2*}

(1. Nanjing University of China Medicine, Nanjing 210029, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for Pharmacology and Safety Evaluation of Chinese Materia Medica, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effects of compound *Nepeta angustifolia* on myocardial ischemia/reperfusion-induced injury (I/R) in rats. **Method:** Sixty SD rats were divided into 6 groups randomly: sham group (only needle not ligation), model group, positive group (compound danshen tablets, 1.08 g·kg⁻¹), *N. angustifolia* groups low-does, medium-does and high-does group (2.9, 5.8, 11.6 g·kg⁻¹). Rats were continuous gavaged for 7 days, the ligation/relaxation of left anterior descending artery was used to establish acute ischemia/reperfusion model. meanwhile monitoring II ECG, arrhythmia and infarcted zone. **Result:** Compared with control, I/R group increased the incidence of reperfusion arrhythmia, infarcted zone and growth of J point and ST-T wave ($P < 0.01$). Compared with I/R group, *N. angustifolia* groups reduced the incidence of reperfusion

[收稿日期] 20120810(001)

[第一作者] 何苗, 硕士研究生, E-mail: hemiao_622@163.com

[通讯作者] * 许立, 教授, 硕士生导师, 从事心血管药理学研究, E-mail: xuli64@163.com

[9] Yu T, Calvo L, Anta B, et al. Regulation of trafficking of activated TrkA is critical for NGF-mediated functions [J]. Traffic, 2011, 12(4):521.

[10] Yuan Z, Gong S, Luo J, et al. Opposing roles for ATF2 and c-Fos in c-Jun-mediated neuronal apoptosis [J]. Mol Cell Biol, 2009, 29(9):2431.

[11] Verma I M, Ransone L J, Visvader J, et al. fos-jun

conspiracy: implications for the cell [J]. Ciba Found Symp, 1990, 150(6):128.

[12] Ramirez-Carrozzi V, Kerppola T. Asymmetric recognition of nonconsensus AP-1 sites by Fos-Jun and Jun-Jun influences transcriptional cooperativity with NFAT1 [J]. Mol Cell Biol, 2003, 23(5):1737.

[责任编辑 聂淑琴]

arrhythmia; delaying arrhythmia time; shorten the arrhythmia duration; diminished infarcted zone; reduced the growth of J point and ST-T wave on ECG, also slowed the heart rate of rats ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusion:** *N. angustifolia* can play a protective role in myocardial ischemia/reperfusion-induced injury, which maybe relate to that *N. angustifolia* can reduce the incidence of arrhythmia; diminish infarcted zone; reduce the growth of ST-T wave and J point.

[**Key words**] *Nepeta angustifolia*; myocardial ischemia and reperfusion injury; Arrhythmia; ECG

冠状动脉缺血引起的缺血性心脏病,是心血管系统疾病的主要死亡原因。临床治疗主要是解除冠状动脉的痉挛,恢复血流的供应。部分患者冠脉再灌注后会发生心功能的不全和心律失常等。解除和减轻再灌注的损伤,已经成为缺血性心脏病防治研究的重点。

复方萨都那保是西藏民间的经验方,主要由萨都那保、藏红花、扁蕾等藏药制成,临床对缺血性心脏病有良好疗效。其中萨都那保为唇形科植物萨都那保 *Nepeta angustifolia* C. Y. Wu 的全草,为传统常用藏药材,味苦,性凉,开窍醒神,主治神昏惊厥、癫痫、中风,脑溢血、疮伤及疼痛等症^[1]。本研究采用在体大鼠结扎冠状左前降支及再灌注的动物模型,观察复方萨都那保对再灌注时心律失常的影响;不同时间点心电图 J 点位移、ST-T 波的变化,以研究复方萨都那保对心肌缺血/再灌注损伤的保护作用,为该复方藏药的开发应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠(清洁级)60 只,体重 90~100 g,雌雄各半,由上海斯莱克实验动物有限公司提供,许可证号 SCXK(沪)2007-0005。

1.2 药物及试剂 复方萨都那保(主要由萨都那保、藏红花、扁蕾等组成,南京中医药大学植物深加工中心,批号 110329)。生理盐水(南京小营药业集团有限公司,批号 2011050905),复方丹参片(惠州大亚制药股份有限公司,批号 111202),乌拉坦(上海青析化工科技有限公司,批号 20100208)。

1.3 仪器 小动物呼吸机(北京众实迪创科技发展有限公司),多导生理记录仪及附件(澳大利亚 ADInstruments 公司)。

2 方法

2.1 动物分组 大鼠随机分为 6 组,每组 10 只,假手术组和模型组:给予等剂量的无菌水;阳性药(复方丹参片):剂量为 $1.08 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$;相当于人用量的 12 倍;复方萨都那保 $2.9, 5.8, 11.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,相当于人用量的 6, 12, 24 倍。

2.2 模型制备 连续给药 7 d,最后 1 d 灌胃 30 min

后,除假手术组外各组均行冠脉结扎。方法参考文献稍做改动^[2-3],具体步骤为:以 20% 乌拉坦($1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)ip 麻醉,仰卧固定,暴露气管,开胸前气管插管,连接动物呼吸机行人工呼吸(呼吸比 1:2,呼吸频率 70 次/min,潮气量 3 mL/100 g)。四肢皮下连接心电图电极,记录 II 导联心电图。在胸骨左侧 3、4 肋骨处切断皮肤,逐层钝性分离皮下组织、肌肉、剪断肋骨,用开睑器撑开胸腔,剥离心包膜暴露心脏,在左心耳与肺部动脉圆锥间,左心耳下方约 1~2 mm,用 0/6 号缝合针,进针深度控制在 0.1 cm 左右,结扎冠状动脉左前降支,结扎处放一长约 0.5 cm、直径约为 1.5 mm 小铁针。结扎后迅速清除胸腔内多余血液,观察心电图变化,以心电图 J 点(QRS 波群的终点与 ST 段交接处)和 T 波明显抬高并稳定 10 min 以上,伴心脏局部发绀为模型成功标志。假手术组只穿线不结扎。结扎 30 min 后,撤去小铁针,再灌注 120 min。记录结扎 15, 30 min,再灌注 15, 30, 45, 60, 90, 120 min 时的心电图;记录再灌注 30 min 内心律失常出现时间、持续时间和发生率。

2.3 心肌梗死面积 再灌注 120 min 后,迅速取下心脏,生理盐水将心脏内残血洗净,剔去非心肌组织,吸水纸吸干水分。左心室称重后,冠脉结扎线下,平行于冠状沟,将大鼠心室肌横切成厚度相等的 5 片,放入 1% 氯化三苯基四氮唑(TTC)溶液中,37℃ 孵育 15 min,染色过程要轻微晃动,染色结束后立即用水冲洗多余的染料,心肌梗死区域不显色,心肌非缺血区域被染成红色,应用 Image-Pro Plus 软件分析照片,计算心肌梗死面积和心肌总面积,计算心肌梗死面积比(%)^[4]。

$$\text{心肌梗死面积} = \frac{\text{梗死区域心肌面积}}{\text{心肌总面积}} \times 100\%$$

2.4 统计方法 采用 SPSS 13.0 统计软件,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠一般状况 实验大鼠共 60 只,因手术意外死亡(结扎后严重心律失常或再灌注过程中死

亡)4 只,其中模型组 2 只,中剂量 1 只,低剂量 1 只。为统计方便,每组选 8 只进行统计。

3.2 对大鼠心律失常发生率及梗死面积的影响
在心肌再灌注 30 min 内,假手术组未出现任何心律失常的改变;阳性组与中、高剂量组心律失常出现的

时间延长,与模型组比较有显著差异($P < 0.01, P < 0.05$);阳性组与高剂量组心律失常结束的时间缩短,与模型组比较有显著差异($P < 0.05$)。与模型组比较,阳性组、低、中、高剂量组的心梗面积均减小($P < 0.01, P < 0.05$)。结果见表 1。

表 1 复方萨都那保对再灌注性心律失常及梗死面积的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	心律失常出现时间 /min	心律失常结束时间 /min	心律失常 发生率/%	心肌梗死面积 /%
假手术	-	-	-	0	0
模型	-	2.02 ± 0.68	13.42 ± 1.53	62.5	44.18 ± 6.81
复方丹参片	1.08	6.05 ± 1.20 ¹⁾	9.97 ± 0.86 ¹⁾	25	20.93 ± 4.12 ²⁾
复方萨都那保	2.9	2.85 ± 0.80	10.44 ± 2.28	50	31.72 ± 3.83 ¹⁾
	5.8	3.91 ± 0.79 ¹⁾	12.64 ± 5.04	37.5	28.53 ± 4.55 ²⁾
	11.6	5.53 ± 0.98 ²⁾	9.53 ± 1.48 ¹⁾	25	23.78 ± 5.69 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 复方萨都那保对大鼠心电图 ΔT 值的影响
在心肌缺血 30 min,再灌注 120 min 时,假手术组 ΔT 波值无明显改变;模型组 ΔT 波值明显增加($P < 0.01$)。阳性组和低、中、高剂量组均能降低 ΔT 波值增加的程度,与模型组比较有显著差异($P < 0.01, P < 0.05$)。见表 2。

模型组与假手术组比较 J 点显著抬高($P < 0.01$)。与模型组比较,阳性组结扎 15,30 min,复方萨都那保高剂量组结扎 30 min J 点位移有显著差异($P < 0.01, P < 0.05$)。再灌注后,阳性组、复方萨都那保高、中剂量组各时间点与模型组比较,均有显著差异($P < 0.01, P < 0.05$);低剂量组再灌注 15,45,60,90,120 min 时,与模型组比较有显著差异($P < 0.01, P < 0.05$)。见表 3。

3.4 复方萨都那保对大鼠心电图 J 点位移的影响
结扎前,各组心电图 J 点均无显著差异。结扎后,

表 2 复方萨都那保对大鼠心肌缺血再灌注各组 ΔT 波值的变化($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	结扎		再灌注					
		15 min	30 min	15 min	30 min	45 min	60 min	90 min	120 min
假手术	-	0.017 ± 0.011	0.017 ± 0.012	0.031 ± 0.011	0.029 ± 0.007	0.039 ± 0.029	0.024 ± 0.039	0.04 ± 0.052	0.05 ± 0.03
模型	-	0.226 ± 0.029 ¹⁾	0.247 ± 0.077 ¹⁾	0.252 ± 0.084 ¹⁾	0.225 ± 0.074 ¹⁾	0.222 ± 0.113 ¹⁾	0.205 ± 0.098 ¹⁾	0.217 ± 0.096 ¹⁾	0.209 ± 0.08 ¹⁾
复方丹参片	1.08	0.113 ± 0.02 ²⁾	0.107 ± 0.043 ²⁾	0.084 ± 0.053 ²⁾	0.05 ± 0.033 ²⁾	0.055 ± 0.035 ²⁾	0.063 ± 0.042 ²⁾	0.072 ± 0.051 ²⁾	0.081 ± 0.047 ²⁾
复方萨都那保	2.9	0.192 ± 0.02 ³⁾	0.166 ± 0.038 ³⁾	0.161 ± 0.051 ³⁾	0.124 ± 0.031 ²⁾	0.121 ± 0.045 ³⁾	0.127 ± 0.034 ³⁾	0.131 ± 0.04 ³⁾	0.138 ± 0.053 ³⁾
	5.8	0.151 ± 0.033 ²⁾	0.159 ± 0.048 ³⁾	0.132 ± 0.037 ²⁾	0.116 ± 0.037 ²⁾	0.118 ± 0.023 ³⁾	0.108 ± 0.041 ³⁾	0.129 ± 0.048 ²⁾	0.115 ± 0.032 ³⁾
	11.6	0.135 ± 0.017 ²⁾	0.141 ± 0.044 ²⁾	0.109 ± 0.048 ²⁾	0.114 ± 0.043 ³⁾	0.106 ± 0.046 ³⁾	0.108 ± 0.046 ³⁾	0.113 ± 0.035 ³⁾	0.117 ± 0.039 ³⁾

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.05$ (表 3 同)。

表 3 复方萨都那保对大鼠心肌缺血再灌注各组结扎前后 J 点位移的变化($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	结扎前	结扎		再灌注					
			15 min	30 min	15 min	30 min	45 min	60 min	90 min	120 min
假手术	-	0.05 ± 0.024	0.036 ± 0.029	0.044 ± 0.036	0.044 ± 0.015	0.053 ± 0.047	0.051 ± 0.036	0.063 ± 0.046	0.058 ± 0.047	0.082 ± 0.044
模型	-	0.061 ± 0.023	0.352 ± 0.166 ¹⁾	0.361 ± 0.072 ¹⁾	0.272 ± 0.072 ¹⁾	0.262 ± 0.107 ¹⁾	0.272 ± 0.085 ¹⁾	0.273 ± 0.096 ¹⁾	0.272 ± 0.086 ¹⁾	0.278 ± 0.068 ¹⁾
复方丹参片	1.08	0.053 ± 0.018	0.168 ± 0.073 ³⁾	0.189 ± 0.049 ²⁾	0.139 ± 0.036 ²⁾	0.117 ± 0.048 ²⁾	0.114 ± 0.038 ²⁾	0.108 ± 0.041 ²⁾	0.122 ± 0.035 ²⁾	0.12 ± 0.056 ²⁾
复方萨都那保	2.9	0.054 ± 0.016	0.281 ± 0.172	0.307 ± 0.109	0.146 ± 0.042 ²⁾	0.182 ± 0.046	0.169 ± 0.047 ²⁾	0.184 ± 0.041 ³⁾	0.157 ± 0.038 ²⁾	0.168 ± 0.026 ²⁾
	5.8	0.057 ± 0.021	0.295 ± 0.066	0.279 ± 0.038 ³⁾	0.17 ± 0.039 ²⁾	0.167 ± 0.053 ³⁾	0.159 ± 0.040 ²⁾	0.189 ± 0.045 ³⁾	0.172 ± 0.033 ²⁾	0.192 ± 0.081 ³⁾
	11.6	0.061 ± 0.016	0.218 ± 0.08	0.233 ± 0.031 ²⁾	0.122 ± 0.051 ²⁾	0.139 ± 0.055 ²⁾	0.135 ± 0.037 ²⁾	0.148 ± 0.042 ²⁾	0.129 ± 0.040 ²⁾	0.14 ± 0.041 ²⁾

4 讨论

心肌缺血/再灌注损伤在临床上是一种多见却很难克服的病理变化,在溶栓治疗、心脏移植等手术中逐渐引起了人们的重视。由于心电图在急性心肌缺血的诊断中具有特征性改变规律,特异性强,敏感性高,以及无创、便捷、可重复的特点,所以心电图不仅在临床诊断具有不可或缺的地位,在急性心肌缺血/再灌注的有关实验中,实验动物的心电图改变是最重要的观察指标之一,常被用来判断急性心肌缺血模型的复制是否成功及评价药物对心肌缺血/再灌注损伤的保护作用^[5-6]。

本实验采用大鼠冠状结扎 30 min,再灌注 120 min所致的心肌缺血再灌注模型,观察萨都那保对大鼠心肌缺血再灌注的影响。冠状动脉左前降支为左心室前壁、室间隔以及左心室前侧壁提供血液的重要血管,结扎冠状动脉左前降支是目前研究心肌缺血/再灌注最常用的方法。大鼠心脏侧支循环较少,模型复制成功率高,重复性好,因此冠状结扎法制心肌缺血大鼠模型已公认为研究缺血性心脏病得经典实验动物模型^[7]。

心肌缺血/再灌注损伤是临床上一种严重的心肌损伤类型,其中由再灌注引起的严重室性心律失常是造成冠心病患者猝死的重要原因。本实验结果表明:复方萨都那保组心律失常的发生率、出现时间和持续时间均明显低于模型组,提示其可有效的对抗缺血再灌注造成的损伤。心肌梗死面积是反映急性心肌缺血程度的重要指标之一,复方萨都那保组能明显缩小心肌梗死的面积。

S-T 段代表心室肌除极完毕后至心室肌开始复极的电位变化,由于大鼠心电图中没有明显的 S-T 段,基本与 T 波融合,因此我们将大鼠缺血/再灌注时 ST-T 波抬高或下降幅度即 ΔT 波值作为评价大鼠心肌损伤的标志。本实验结果表明:缺血时,模型组的 ΔT 波值明显增加,复方萨都那保不同剂量组均能降低 ΔT 波的升高程度,并且呈现剂量依赖性;再灌注时,复方萨都那保不同剂量组能使心电图 ST 段明显回落。这表明复方萨都那保能有效缓解缺血/再灌注对心肌造成的损伤。

心电图上 J 点是指 QRS 波群与 ST 段交界处的一个突发性转折点,它标志着心室除极的结束、复极的开始。J 点后的顿挫称为 J 波,J 波多表现为拱顶状或驼峰状,曾被命名为“驼峰征”、“奥司本波”、“J 点波”等^[8]。在临床中,J 波多见于早期复极综合

征、急性心肌缺血、心包炎、束支传导阻滞及神经系统疾患等。大鼠冠状结扎致心肌缺血模型中,J 值的位移值可视为心肌缺血模型成功的一个重要指标,J 点上升或下降 0.1 mV 即可视为心肌缺血^[9-10]。本实验结果表明:复方萨都那保组能够降低心电图 J 点升高程度,减轻缺血/再灌注时对大鼠心脏的损伤。

综上所述,复方萨都那保可以明显降低再灌注心律失常发生率,延迟心律失常出现时间,缩短心律失常延续时间,缩小心肌梗死面积;降低 ST-T 波值,减少 J 点位移,使再灌注期间心电图 ST 段明显回落,提示其对心肌缺血再灌注损伤有一定的保护作用。因此,我们有必要进行更深一步研究,探讨复方萨都那保保护心肌缺血/再灌注损伤的机制,以期为预防和治疗心肌缺血/再灌注损伤开发出一种民族新药。

[参考文献]

- [1] 西藏自治区藏医院药物研究所. 中华本草·藏药卷 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 2002:359.
- [2] 周文武,林玲,陈军,等. 冠脉结扎法制大鼠心肌缺血模型[J]. 中国实验动物学, 2004,12(4):226.
- [3] Samsamshariat S A, Samsamshariat Z A, Movahed M R. A novel method for safe and accurate left anterior descending coronary artery ligation for research in rats [J]. Cardiovascular Revascularization Medicine, 2005, (6):121.
- [4] 任钧国,马晓斌,林成仁,等. 加味生脉散对急性心肌缺血再灌注损伤大鼠的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010,116(2):78.
- [5] 鲁端. 心电图诊断心肌梗死的研究进展[J]. 心电图学杂志, 2001,20(2):115.
- [6] 周从义. 急性心肌梗死心电图进展[J]. 实用心电图学杂志, 2008,17(1):44.
- [7] 陈修,陈潍州. 心血管药理学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2002:405.
- [8] 杨旭明,李小彩. J 波研究的历史和现状[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 1999,13(1):441.
- [9] 陈奇. 中药药理研究方法[M]. 北京:人民卫生出版社, 1996:441.
- [10] 王道成,李七一,朱萱萱,等. 冠心平对异丙肾上腺素至心肌缺血的试验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010,16(10):143.

[责任编辑 聂淑琴]